

# Doksorubisin ile Oluşturulmuş Deneysel Kardiyotoksisite Üzerine Nikotinamidin Etkisi

Şule Ayla<sup>1</sup>, Hüseyin Oktar<sup>1</sup>, Gamze Tanrıverdi<sup>1</sup>, Müjgan Cengiz<sup>2</sup>, Anıl Çağla Özkılıç<sup>2</sup>, Nazan Böttjer<sup>3</sup>, Tuncay Altuğ<sup>4</sup>, Şebnem Batur<sup>5</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı, İstanbul

<sup>5</sup>Avrasya Hospital Patoloji Bölümü, İstanbul

## Özet

**Amaç:** Çalışmada, doksorubisinin neden olduğu kardiyotoksisitedeki morfolojik değişiklikleri ve nikotinamidin koruyucu etkisini araştırılma amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada 30 adet Wistar-Albino erkek sıçan, bir grup 6, diğer gruplar 8'er hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı. 1. gruba (kontrol) 7 gün serum fizyolojik; 2. gruba 7 gün 200 mg/kg/gün nikotinamid; 3. gruba tek doz 20 mg/kg/gün doksorubisin; 4. gruba 7 gün doksorubisin + nikotinamid kombinasyonu intraperitoneal olarak verildi. Deney sonunda, tüm deneklerin kalp örnekleri alınarak ışık ve elektron mikroskopu ile incelendi; dokudaki katalaz, glutatyon, glutatyon-S-tranferaz, glutatyon peroksidaz ve protein oksidasyon aktivitelerine bakıldı.

**Bulgular:** Kontrol ve nikotinamid grubu deneklerde kalp dokusu normal yapıdaydı. Üçüncü grupta, iltihap hücre infiltrasyonu, miyokard liflerinde düzensizlik vardı. Dokuda katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon-S-tranferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi azalmış, protein oksidasyonu artmıştı. Doksorubisinle birlikte nikotinamid verilen grupta GSH-Px, CAT, GSH, GST'nin yükseldiği, histopatolojik olarak nikotinamidin kardiyomiyopatiyi önlediği gözlemlendi.

**Sonuç:** Antioksidan olarak kullanılan nikotinamidin doksorubisin kardiyotoksisitesinin azalmasına yardımcı olduğu ve ileride yapılacak geniş kapsamlı çalışmalarla klinik uygulamalara katkıda bulunabileceğinden düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Antineoplastik ajan, doksorubisin, nikotinamid, deneysel kardiyotoksisite, antioksidan

Cerrahpaşa Tıp Derg 2008; 39: 7-14

## Effect of nicotinamide on doxorubicin induced experimental cardiotoxicity

### Abstract

**Objectives:** We investigated the morphologic changes showing cardiotoxicity caused by use of the doxorubicin which is an antineoplastic agent, and the protective effect of nicotinamide.

**Methods:** We assigned thirty Wistar Albino male rats were randomly to four groups: Group 1 (Control) had %0.9 NaCl for 7 days, group 2 had Nicotinamide 200 mg/kg/day for 7 days, group 3 had single dose injection of Doxorubicin (20 mg/kg), group 4 had combination of Doxorubicin and Nicotinamide intraperitoneally. At the end of the experiment, the hearts were removed for light and electron microscopic investigations. We determined the tissue activities of catalase, glutathione-S-transferase, glutathione, glutathione peroxidase.

**Results:** Control and Nicotinamide rats showed a normal heart tissue morphology. The rats in group 3 exhibited disorganization of the myocardial fibres, and infiltration of inflammatory cells. The rats in group 4 displayed a significant decrease in morphological damage, with the disappearance of inflammatory cell infiltration.

**Conclusion:** Our findings suggested that the use of antioxidants of Nicotinamide may help to reduce Doxorubicin cardiotoxicity, thus contributing to clinical applications.

**Key words:** Antineoplastic agents, doxorubicin, nicotinamide, experimental cardiotoxicity, antioxidant

Cerrahpaşa J Med 2008; 39: 7-14

**Alındığı Tarih:** 03 Aralık 2007

**Yazışma Adresi (Address):** Dr. Şule Ayla

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

34098 - Cerrahpaşa - İstanbul

**e-posta:** suleayla@istanbul.edu.tr

**D**oksorubisin (Doks.), çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan antrasiklin grubu antineoplastik bir ajandır. Kardiyak oksidatif stres, ilacın kanser tedavisinde terapötik kullanımını kısıtlamaktadır. Doksorubisin

nedenli kardiyotoksiteden serbest radikaller, membran lipid peroksidasyonu ve mitokondrial hasar sorumlu tutulmaktadır [1]. Doksorubisinin kimyasal yapısı oksidatif stresi artırarak serbest radikallerin oluşmasını sağlayarak hücre hasarına yol açmaktadır [2]. Normal koşullarda, aerobik metabolizmanın ürettiği reaktif oksijen türleri sürekli olarak inhibe edilir. Bu işi, organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri gerçekleştirdiği için patolojik bir olay gözlenmez. Serbest radikallerin oluşum hızı ile savunma sistemlerinin gücü arasındaki denge bozulmadığı sürece, organizma oluşan bu radikallerden etkilenmez. Bu denge, antioksidan sistemlerin aleyhine bozulduğu zaman, potansiyel bir hasar meydana gelir ki buna 'oksidatif stres' adı verilir [2-4]. Doksorubisin serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik nedenlerinden biridir[5]. Oksidan ve antioksidan sistemlerdeki bu karmaşa doku hasarı ile sonuçlanır ki, bu da dokuda protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile görülür [5]. Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol oynadığına ait bulguların belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir [6].

Nikotinamid (Nad), B vitaminleri ailesinden niasinin iki temel formundan biridir. Niasinin diğer önemli formu ise nikotinic asittir. Nikotinamid ya da diğer bilinen adı ile niasinamid; aynı zamanda nikotinic asid amid, vitamin B3 ve de vitamin PP olarak da adlandırılır. Yapısal formülü  $C_6H_6N_2O$  dur [7]. Nikotinamid, organizmada pek çok biyolojik reaksiyonun gerçekleşmesi için kullanılan  $NAD^{++}$  (nikotinamid adenin dinükleotid)'in temel metabolitidir. Enerji üretiminde, kolesterol ve steroid sentezinde, sinyal transdüksiyonunda ve genom bütünlüğünün sağlanmasında önemli görevleri olup, antioksidan, antienflamatuar ve antikarsinojenik aktiviteye sahiptir. İn vitro ve in vivo çalışmalarda, membranlarda süperoksit ve hidroksil radikallerini, lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur [7-9].

Çalışmada, antioksidan bir madde olduğu bilinen nikotinamidin, kemoterapide kullanılmakta olan doksorubisinin yol açtığı akut kalp hasarında koruyucu etkisinin var olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Çalışma, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında, doku enzim analizleri Tıbbi Biyoloji A.D'da gerçekleştirildi. Çalışma için etik kurul onayı alındı (Sayı: 2187, 02.02.2006). Günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle beslenen, ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen üç aylık, 30 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan bir grup altı, diğer gruplar sekizer hayvandan oluşan dört gruba ayrıldı. 1. Grup (Kontrol) (n=6): yedi gün süre ile her gün, %0.9'luk NaCl (Serum fizyolojik), intraperitoneal (i.p.) olarak; 2. Grup (Nikotinamid)(Nad) (n=8): yedi gün süre ile her gün, %0.9'luk NaCl içinde çözülmüş 200mg/kg Nad (Sigma) i.p. olarak; 3. Grup (Dokso-rubisin)(Doks.) (n=8): Deney başlangıcında tek doz 20mg/kg/gün Doks (Adriablastina, Pharmacia) i.p. olarak; 4. Grup (Dokso-rubisin + Nikotinamid) (n=8): Deney başlangıcından bir gün önce 200 mg/kg/gün dozunda Nad, deney başlangıcında tek doz 20 mg/kg/gün Doks. verilen hayvanlara yedi gün süre ile aynı dozda Nad i.p. olarak verildi.

Deney süresi sonunda hayvanlara intraperitoneal sodyum pentobarbital (6.5 mg/kg) (Na pental İ.E. Ulagay) anestezisi yapıldı, kalp dokusu (ventrikül) örneklerinin bir kısmı ışık mikroskobunda incelenmek üzere %10'luk formaldehit içerisinde tespit edilip parafine gömüldü ve bloklandı. Bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilin+ Eosin (H+E) ile boyandı.

Elektron mikroskobu incelemeler için 1 mm'lik parçalar, pH: 7.4'lük Soransen fosfat tamponunda hazırlanan %4'lük glutaraldehit ile 1 saat tespit edildi. Soransen fosfat tamponunda 1 saat yıkanan parçalar, daha sonra Millioning tamponu ile tamponlanmış pH: 7.2 olan %1'lük  $OSO_4$  ile 1 saat ikincil olarak tespit edildi. Yükselen alkol serilerinde suyu giderilen parçalar, araldit gömme ortamına alındı. Elde edilen bloklardan Riechert UM2 ve UM3 ultramikrotomu ile 500-700 Å'luk kesitler alındı. Bakır gridler üzerine alınan kesitler uranil asetat ve Reynold'un kurşun sitrat çözeltileri ile ikili olarak kontrastlaştırıldılar. Bu kesitler Jeol marka elektron mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Doku enzimlerini incelemek üzere alınan örnekler GSH, GST, CAT, GPx ve Protein oksidasyon düzeyleri

çalışmak üzere -70 °C'de üç gün saklandı. Doku GSH ve GSH-Px aktivitesi Beutler ve ark. [10]'nın, GST aktivitesi Habig ve ark. [11]'nin, CAT aktivitesi ise Aebi ve ark. [12]'nin, protein oksidasyonu Levine [13] yöntemiyle ile tayin edildi. Tüm ölçümler spektrofotometri ile yapıldı.

SPSS 10.0 paket programı kullanılarak verilerin istatistiksel analizleri yapıldı. Ölçüm değerleri homojen dağılım göstermediği için non-parametrik testlerle çalışıldı. Gruplar arası farkın anlamlılığını değerlendirmede Kruskal- Wallis Varyans çözümlemesi ile denemeden geçirildi. Anlamlı bulunan değişim analiz sonuçları Mann-Whitney U ile sorgulandı.  $p < 0.05$  anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

## Bulgular

### Işık Mikroskobu Bulguları

Kontrol ve Nad grubu sıçanlardan hazırlanan örnekler H+E ile boyanıp incelendiğinde normal kalp dokusu yapısı gözlemlendi (Şekil 1A,B).

Sadece Doks. verilen grupta kalbin genel yapısında bozukluklar gözlenirken, histopatolojik olarak miyokardial liflerin düzenlerinin bozulduğu, iltihap hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 1C,D).

Doks + Nad grubunda; miyokardial liflerinin düzeninin büyük oranda korunduğu, çoğu sahada iltihabi hücre infiltrasyonunun doks. grubuna göre azaldığı gözlemlendi (Şekil 1E).

### Elektron Mikroskobu Bulguları

Kontrol grubuna ait kalp elektron mikrograflarında, nüveler, miyokard lifleri ve mitokondriler normal yapıdaydı (Şekil 2A).

Sadece Nad uygulanan gruplarda, kontrol grubuna yakın bulgular gözlemlendi (Şekil 2B).

Sadece Doks uygulanan gruplarda, mitokondrilerde belirgin genişleme, kristalarda ve matrikste kayıplar gözlemlendi (Şekil 2C). Bu bulgulara ek olarak miyofibrillerde yozlaşmalar, dizilim bozuklukları ve litik alanlar, nüve membranlarının düzgün yapılarını kaybettiği gözlemlendi (Şekil 2D).

Doks + Nad grubunda, elektron mikroskobu bulgu-

larının kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği gözlemlendi (Şekil 2E).

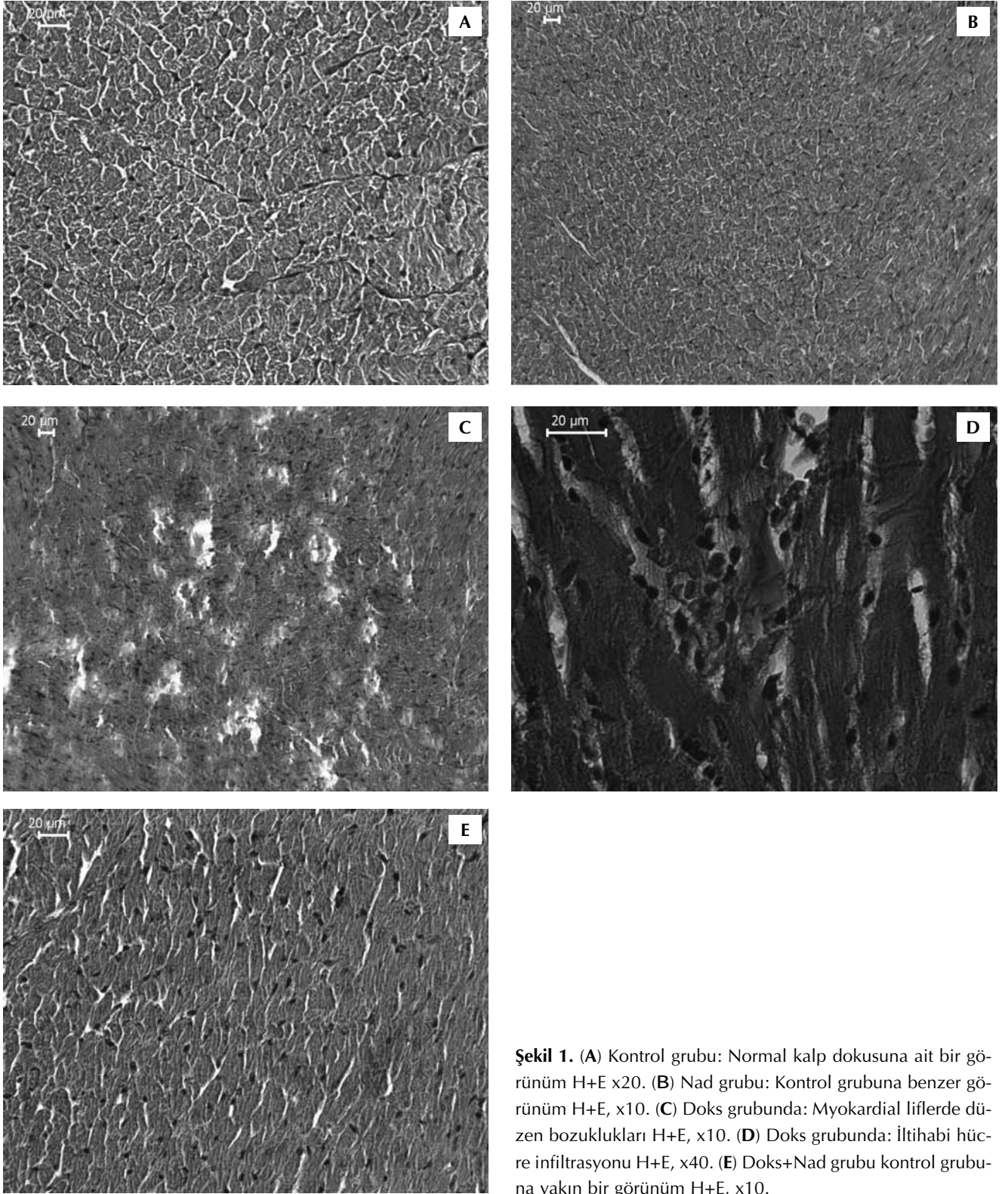
### Biyokimyasal Parametreler

Doku GSH (Glutasyon), GST (Glutasyon S transferaz), GPx (Glutasyon peroksidaz), CAT (Katalaz) ve protein oksidasyon değerleri kontrol, Nad, Doks ve Doks + Nad gruplarında incelendi ve bu parametrelerin gruplar içindeki değerleri birbirleri ile kıyaslandı. GSH, GST, GPx ve CAT değerleri kontrol grubuna göre incelendiğinde, Doks grubunda enzim değeri anlamlı ölçüde azalmıştı, protein oksidasyon değeri de artmıştı ( $p < 0.05$ ). Doks+ Nad grubunda ise Doks grubuna göre GSH, GST, GPx ve CAT değerlerinin artış gösterdiği, bununla beraber protein oksidasyon değerlerinin azaldığı ( $p < 0.05$ ) gözlemlendi (Tablo 1).

### Tartışma

Etkin bir antitümör ajan olan doksorubisinin kardi-yotoksik yan etkisi, kanser tedavisinde doz sınırlayıcı bir faktördür [14]. Doksorubisine bağlı kardi-yotoksitenin patogenezinde; serbest radikal oluşumunun, antioksidan enzimlerde azalmanın ve lipid peroksidasyonunda artmanın rol oynadığı düşünülmüştür [6,14,15]. Patogenezinde sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksittir (NO). Doksorubisinin, serbest radikal oluşumuna neden olması yanında; glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon (GSH), katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimleri azaltarak da toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir [15]. Bu maddelerin en önemli özelliği, zar yapısında bulunan lipidleri peroksidasyona karşı korumaktır. Bunu da peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak yapmaktadır [16].

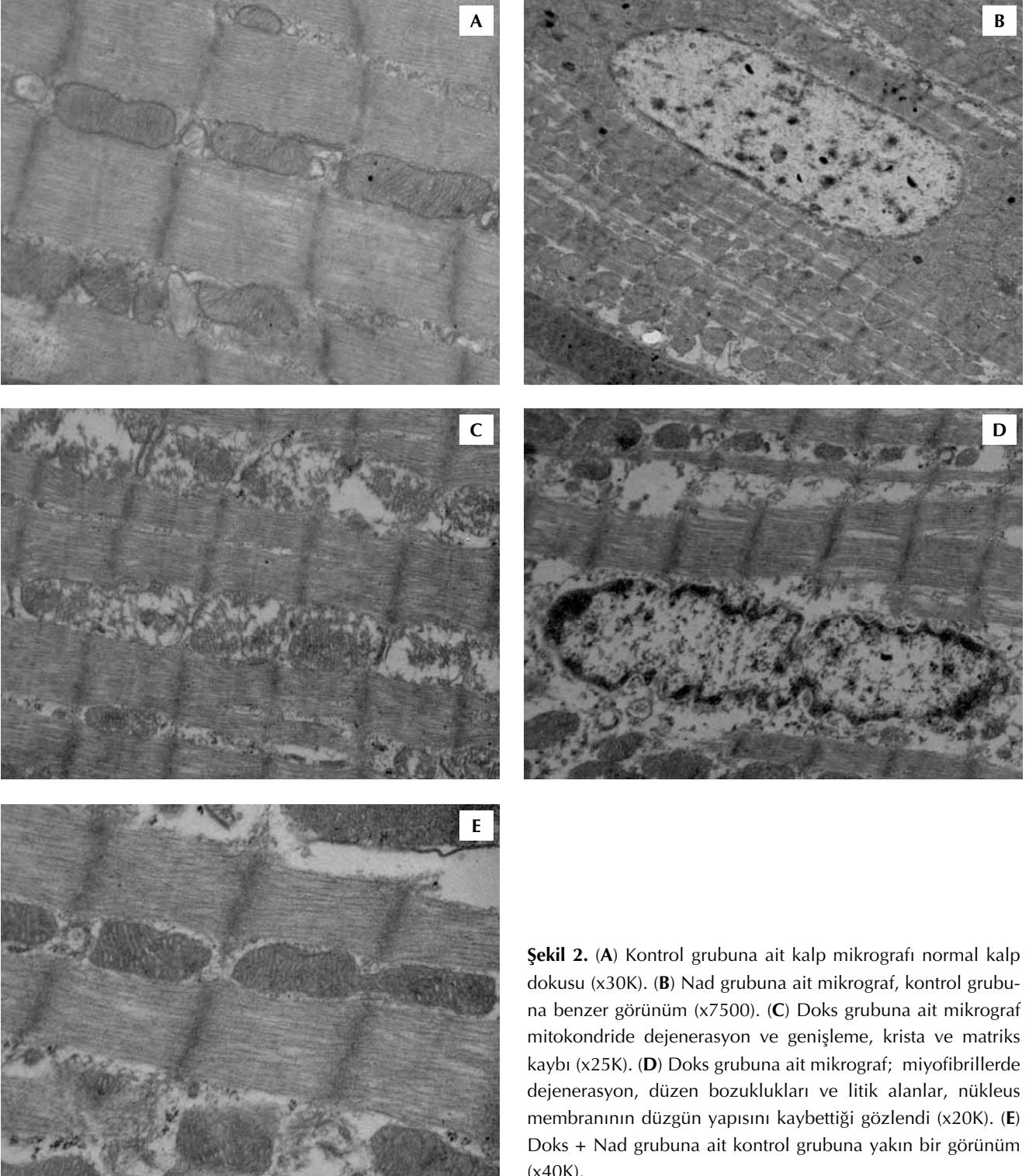
Fadıllıoğlu ve ark. [17]'nin çalışmasında doksorubisinin neden olduğu kalpteki doku hasarı biyokimyasal ve mikroskobik olarak değerlendirilmiş ve doksorubisinin nedenli protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu gösterilmiştir. Serbest radikal hasarı için en kritik bölgeyi plazma membranı oluşturur. Hücre dışı kompartmanlarda meydana gelen serbest radikaller, hücre içi kompartmanlarla reaksiyona girebilmek için plazma membranını geçmek zorundadırlar. Bu yüzden zararlı etkile-



**Şekil 1.** (A) Kontrol grubu: Normal kalp dokusuna ait bir görünüm H+E x20. (B) Nad grubu: Kontrol grubuna benzer görünüm H+E, x10. (C) Doks grubunda: Myokardial liflerde düzen bozuklukları H+E, x10. (D) Doks grubunda: İltihabi hücre infiltrasyonu H+E, x40. (E) Doks+Nad grubu kontrol grubuna yakın bir görünüm H+E, x10.

rini ilk olarak membranlarda başlatırlar [7]. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış

bağları, serbest radikaller ile kolayca etkileşirler ve peroksidasyon ürünlerini açığa çıkarırlar. Poliansature yağ



**Şekil 2.** (A) Kontrol grubuna ait kalp mikrografı normal kalp dokusu (x30K). (B) Nad grubuna ait mikrograf, kontrol grubuna benzer görünüm (x7500). (C) Doks grubuna ait mikrograf mitokondride dejenerasyon ve genişleme, krista ve matriks kaybı (x25K). (D) Doks grubuna ait mikrograf; miyofibrillerde dejenerasyon, düzen bozuklukları ve litik alanlar, nükleus membranının düzgün yapısını kaybettiği gözlemlendi (x20K). (E) Doks + Nad grubuna ait kontrol grubuna yakın bir görünüm (x40K).

asitlerinin (PUFA), bu oksidatif yıkılımı, lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır [7]. Yine Sacco ark.[18]'nın bir çalışmasında hücresel yapıda oksidan hasarın iki

önemli sonucu olarak, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu gösterilmiş, doksorubisin nedenli kardiyo-toksistide serbest oksijen radikallerinin ve süperoksitle-

rin artışının hücre hasarını meydana getirebileceği söylenmiştir [18,19].

Doksozobisine bağıli kardiotoksisitenin patogenezi tam olarak açıklanamasa da, bulgular kardiotoksisite gelişmesinde serbest radikallerin açığa çıkmasının ve antioksidan enzimlerin azalmasının ana rol oynadığını ortaya koymuştur [20,21]. Kardiyomiyositleri serbest oksijen radikallerine karşı koruyan temel antioksidan enzim GSH-Px'dir [22]. Yine Yağmurca ve ark. [5]'nin yaptığı çalışmada da CAT ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinde azalma bulunmuştur. Malarkodi ve arkadaşlarının Doks. kullanarak oluşturdukları böbrek hasarında CAT, GSH, GST enzimlerinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı gösterilmiştir [23]. Bizim çalışmamızda da bu bulgulara paralel olarak biyokimyasal sonuçlarımızda, Doks. uygulanan dokunun CAT, GST, GSH, GSH-Px enzim analizleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalma, protein oksidasyon değerlerinde ise anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Tesoriene ve ark. [24] ile Van Vleet ve ark. [25]'nin farklı deney hayvanlarında uyguladıkları hasarlanma modelinde miyokardial nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, miyokardial fibrillerde düzen bozuklukları, interstisyel ödem gibi kardiak histopatolojik bulgular öne çıkmaktadır. Çalışmamızın sonuçları da bu bulgularla paralel göstermektedir.

Yine Balli ve ark. [26]'nın yaptığı bir çalışmada elektron mikroskopuna ait doks uygulanan grubun bulguların da, dejenerer mitokondri, miyofibrillerde dejenerasyon ve düzen bozuklukları, Z çizgilerinin yoğunluğunda artış gösterilmiştir. Biz de çalışmamızın elektron mikroskopik incelemelerinde, nüvenin düzgün yüzeyini kaybettiğini, mitokondrilerde belirgin genişleme, krista ve matriks kaybı gözlemlendiğini, miyofibrillerde düzen bozuklukları, miyofibriller arasında lipid damlacıkları gözlemlendi..

Araştırmacılar oksidatif strese dayalı miyokard hasarının altında yatan hücresele mekanizmaları açıklamak ve bunların önüne geçebilmek için pek çok sitotoksisite modeli ortaya koymuşlardır, antioksidan tedaviler ile de bu hasarı önlemeye ya da geri çevirmeye çalışmışlardır. Antioksidan maddelerin en önemli özelliği, zar yapısında bulunan lipidleri peroksidasyona karşı korumaktır. Bunu da peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak yaparlar [7]. Pek çok araştırmacı Nad'ın IL-12 (interlökin-12), TNF- $\alpha$  (Tümör nekrozis faktör- $\alpha$ ), MHC-II (histokompatibilite kompleksi-II), ICAM-I (intraselüler adezyon molekülü-1) ve iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz)'ı inhibe edip, serbest radikal yakalayıcısı olarak işlev gördüğünü ve lipid peroksidasyonunu önlediğini çalışmalarında göstermiştir [28]. Fukuzawa ve ark. [28], oksidatif stres sonucu IFN- $\delta$  (İnterferon- d) ve TNF- $\alpha$ 'nın  $\beta$  hücrelerinin

**Tablo 1.** Grupların, Glutasyon (GSH), Glutasyon S transferaz (GST), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Protein oksidasyonu enzim aktiviteleri (ortalama  $\pm$  Standart Sapma).

Gruplar (n=8)	GSH ( $\mu\text{mol mg protein}^{-1}$ )	GST ( $\mu\text{mol } \mu\text{g}^{-1}$ )	CAT ( $\mu\text{mol } \mu\text{g}^{-1}$ )	GSH-Px ( $\mu\text{mol } \mu\text{g}^{-1}$ )	Prot. Okd. ( $\text{nmol } \mu\text{g}^{-1}$ )
Kontrol	3.61 $\pm$ 1.83	0.09 $\pm$ 0.02	7.86 $\pm$ 4.21	0.81 $\pm$ 0.49	0.18 $\pm$ 0.07
NAD	1.37 $\pm$ 0.46	0.01 $\pm$ 0.07	2.05 $\pm$ 0.90	0.17 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.27
DOX	0.58 $\pm$ 0.25	0.22 $\pm$ 0.04	1.76 $\pm$ 1.68	0.03 $\pm$ 0.01	1.99 $\pm$ 0.35
DOX+NAD	2.31 $\pm$ 0.70	0.50 $\pm$ 0.25	2.07 $\pm$ 0.86	0.90 $\pm$ 0.30	0.36 $\pm$ 0.11
P Değerleri (p<0.05)					
Kontrol-NAD	0.008	0.001	0.005	0.004	0.001
Kontrol-DOX	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Kontrol-NAD+DOX	0.2	0.001	0.001	0.005	

de NO yapımını indüklediğini, NO'ın ise nükleer ve mitokondrial DNA'da hasar meydana getirdiğini söylemişlerdir. Nad bir iNOS inhibitörü oluşu ile, NO'ın vereceği zararları en aza indirir. Yine aynı çalışmada, Nad'ın TNF- $\alpha$  üretimini baskıladığını ve bu şekilde oksidatif yıkımı engellediğini göstermişlerdir

Doks. toksisitesine bağlı patogenezin ana bölümü inflamasyondur. Yağmurca ve ark. [5]'nin yaptığı çalışmada Erdosteine ile tedavi edilen grupta, iltihabi hücre topluluğunun azaldığı ve iltihaba bağlı gelişen doku hasarının engellendiği gözlenmiştir. Bizde ışık ve elektron mikroskobu bulgularımızda, Nad ile beraber Doks. verilmiş gruplarımızda en az hasarlı, normale yakın bir morfoloji gözlemledik. Nad'ın serbest radikal yakalayıcısı olarak iş gördüğünü, hücrenin GSH, CAT gibi endojen antioksidanlarını yüksek tutarak lipid peroksidasyonunu engellediğini ve bu şekilde dokuyu Doks.'un açığa çıkardığı serbest radikallerin zararlı etkisinden koruduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; çalışmamızın biyokimyasal, ışık ve elektron mikroskobu bulguları, Nad gibi antioksidanların Doks. nedenli deneysel kardiyotoksitenin azalmasına yardımcı olabileceğini düşündürmüştür.

## Kaynaklar

1. Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC. The preventive role deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43: 211-218.
2. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995.
3. Kavas (Özelçi) G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 9: 1-8.
4. Meram İ., Aktaran Ş. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri. *Arşiv* 2002; 1: 299-304.
5. Yağmurca A, Bas O, Mollaoglu H, et al. Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2007; 38: 380-385.
6. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention review of the literature. *Med Sci Monit* 2000; 6: 411-412.
7. Tanrıverdi G. Karbon tetraklorür (CCL4) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskobik olarak incelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.; 2005.
8. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D, et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135-159.
9. Damcı T. Koruyucu girişimler. *Diabetes Mellitus Sempozyumu*. İstanbul; 151-156.
10. Beutler E, Blurne KG, Kaplan JC, et al. International Comitte for Standardization in Haematology: Recommended methods for red blood cell enzyme analysis. *Br J Haematol* 1977; 35: 331-340.
11. Habig WH, Pabst MJ, Jacob WB. Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
12. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer H.U, ed. *Methods of enzymatic analysis*. Newyork: Academic Press; 1974; 673-677.
13. Levine RL, Garland D, Oliver CV, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol* 1990; 186: 464-473.
14. Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara: Güneş Basımevi; 2000; 1011-1013.
15. Singal PK, Iliskovic N, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. *FASEB J* 1997; 11: 931-936.
16. el-Shazly MO, Afify MM, el-Dieb MK. Histopathological study into side-effect toxicity of some drugs used in treatment of cancer. *Arch Exp Veterinarmed* 1989; 43: 319-326.
17. Fadillioğlu E, Oztas E, Erdoğan H, et al. protective effects of caffeic acid phenethyl ester on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 47-52
18. Sacco G, Bigio M, Evangelista S, et al. Cardioprotective effects of zofenopril, a new angiotensin-converting enzyme inhibitor, on doxorubicin-induced cardiotoxicity in the rat. *Eur J Pharmacol* 2001; 414: 71-78.

19. Venditti P, Balestrieri M, De Leo T, Di Meo S. Free radical involvement in doxorubicin-induced electrophysiological alterations in rat papillary muscle fibres. *Cardiovasc Res* 1998; 38: 695-702.
20. Siveski-İliskovic N, Kaul N, Signal PK. Probucol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Circulation* 1994; 89: 2829-2835.
21. Sadzuka Y, Sugiyama T, Shimoi K, et al. Protective effect of flavonoids on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Toxicol Lett* 1997; 92: 1-7.
22. Myers C. The role of iron in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 1998; 25: 10-14.
23. Malarkodi PK, Balachandar AV, Varalakshmi P. Protective effect of lipoic acid on adriamycin induced lipid peroxidation in rat kidney. *Mol Cell Biochem* 2003; 247: 9-13.
24. Tesoriene L, Ciaccio M, Valenza M, et al. Effect of vitamin A administration on resistance of rat heart against doxorubicin-induced cardiotoxicity and lethality. *J Pharm Exp Ther* 1994; 269: 430-6.
25. Van Vleet JF, Ferrans VJ, Weirich WE. Cardiac disease induced by chronic adriamycin administration in dogs and an evaluation of vitamin E and selenium as cardioprotectants. *Am J Pathol* 1980; 99: 13-42.
26. Balli E, Mete ÖU, Tuli A, et al. Effect of melatonin on the cardiotoxicity of doxorubicin. *Histol Histopatol* 2004; 19: 1101-1108.
27. Ungersted JS, Blömbäck M, Söderström T. Nicotinamide is a potent inhibitor of proinflammatory cytokines. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 48-52.
28. Fukuzawa M, Satoh J, Muto G, et al. Inhibitory effect of nicotinamide on in vitro and in vivo production of tumor necrosis factor-alpha. *Immunol Lett* 1997; 59: 7-11.