



Tuncay KULOĞLU<sup>1, a</sup>  
Nevin KOCAMAN<sup>1, b</sup>  
Gökhan ARTAŞ<sup>2, c</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji Embriyoloji  
Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Patoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000 0001 9874 3838

<sup>b</sup> ORCID: 0000 0002 6682 6345

<sup>c</sup> ORCID: 0000 0001 5529 4155

Geliş Tarihi : 11.10.2021

Kabul Tarihi : 08.12.2021

Yazışma Adresi  
Correspondence

Nevin KOCAMAN  
Fırat Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji Embriyoloji  
Anabilim Dalı,  
Elazığ - TÜRKİYE

drnkocaman@gmail.com

## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.  
2022; 36 (1): 13 - 18  
http://www.fusabil.org

# Doksorubisin'in Sıçan Böbrek Dokularında Yaptığı Hasar Üzerine Vitamin D'nin Etkilerinin ve Asprosin ile İlişkisinin İncelenmesi

**Amaç:** Bu çalışmada doksorubisin kaynaklı böbrek hasarında Vitamin D'nin iyileştirici etkileri ve asprosin ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Erkek Wistar Albino sıçanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadı. Vitamin D grubundaki sıçanlara oral olarak 200 IU/gün D Vitamini verildi. Doksorubisin grubundaki sıçanlara deneyin ilk gününde intraperitoneal (i.p.) olarak tek doz doksorubisin 10 mg/kg oranında uygulandı. Doksorubisin+D vitamini grubundaki sıçanlara tek doz doksorubisin i.p. verildi. Deneyin ilk gününde 10 mg/kg ve 14 günlük deney periyodu boyunca her gün oral olarak 200 IU/gün D vitamini verildi. Çalışma sonunda tüm gruplardaki sıçanlar dekapite edilerek doku ve kan örnekleri alındı. Toplam oksidan seviyesi, kan örneklerinden ELISA yöntemi ile ölçüldü. Böbrek dokuları TUNEL ve immünohistokimyasal boyama ile incelendi.

**Bulgular:** Bu çalışmada doksorubisinin toplam oksidan düzeylerini ve TUNEL pozitifliğini artırdığı, asprosin düzeylerini düşürdüğü, tedavi olarak verilen D vitamininin toplam oksidan düzeyini ve TUNEL pozitifliğini azalttığı, asprosin düzeyini değiştirmediği belirlendi.

**Sonuç:** Doksorubisin'in asprosin azaltarak doku hasar mekanizmalarında etkili olabileceği ve tedavide D vitamininin iyileştirici etkisinin olduğu ancak bu iyileştirici etkinin asprosin bağımsız bir mekanizma ile sağlandığı gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Doksorubisin, asprosin, tunel, vitamin D, immünohistokimya

## Investigation of the Effects of Vitamin D on Damage Due to Doxorubicin in Rat Renal Tissue and its Relationship with Asprosin

**Objective:** In this study, it was aimed to investigate effects of vitamin D and its relationship with asprosin in rats with doxorubicin-induced kidney damage.

**Materials and Methods:** Male Wistar Albino rats were divided into 4 groups with 6 animals in each group. No procedure was applied to the control group. Rats in the vitamin D group were given 200 IU/day vitamin D orally. A single dose of doxorubicin 10 mg/kg was administered intraperitoneally (i.p.) to the rats in the doxorubicin group on the first day of the experiment. A single dose of doxorubicin i.p. was administered to rats in the doxorubicin + vitamin D group. Vitamin D was given as 10 mg/kg on the first day of the experiment and 200 IU/day orally every day during the 14-day experimental period. At the end of the study, rats in all groups were decapitated and tissue and blood samples were taken. Total oxidant levels was measured from blood samples by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) method. Kidney tissues were examined by TUNEL and immunohistochemical staining.

**Results:** It was determined that doxorubicin caused increase in total oxidant level and TUNEL positivity, and decrease in asprosin levels, vitamin D given as treatment decreased total oxidant level and TUNEL positivity, and did not change asprosin level.

**Conclusion:** It has been shown that doxorubicin may be effective in tissue damage mechanisms by reducing asprosin, and that vitamin D has a curative effect in treatment, but this curative effect is provided by a mechanism independent of asprosin.

**Key Words:** Doxorubicin, asprosin, tunel, vitamin D, immunohistochemistry

## Giriş

Doksorubisin sitotoksik antibiyotikler grubunda yer alan geniş spektrumlu bir ilaç olup hızlı proliferasyon olabilen hücrelerde DNA sentezini önlemektedir (1). Doksorubisin demir ile güçlü bir biçimde şelat oluşturup hücre membranlarına ve DNA'ya bağlanabilir ve DNA'yı ve hücre membranlarını kolayca parçalayabilen serbest radikaller üretebilir. Doksorubisin genellikle, meme, uterus, tiroid, özefagus, over ve akciğer kansinömları, akut lösemi, hodgkin ve non-hodgkin lenfoma ve yumuşak doku sarkomlarının tedavilerinde kullanılmaktadır (2). Yüksek antitümör özelliğine karşın, doksorubisinin renal, kardiyak, pulmoner, hematolojik ve testiküler toksisitesi nedeniyle kemoterapi ajanı olarak kullanımı sınırlı düzeydedir (3). Adipoz doku vücuttaki temel görevi enerji depolaması olmakla birlikte immünite ve inflamasyon gibi süreçlerde aktif olarak rol oynamaktadır (4). Adipokinler, başlıca beyaz yağ dokudan salgılanan, birçok parakrin ve endokrin fonksiyonu olan, heterojen bir peptid grubudur. Pek çok dokudan, adipokinler

salgılanabilmekte ve hedef organlarda farklı fonksiyonlar gösterebilmektedir (5). Yağ hücrelerinin zarlarında ve sitoplazmalarında farklı hormon ve sitokinlere ait reseptörler bulunmaktadır. Bu reseptörlerin indüklenmesi sonucu oluşan sinyaller hücre fonksiyonlarını uyararak veya önleyerek düzenlemektedir (6).

Son zamanlarda kanda glikoz dengesini düzenleyen asprosin isimli yeni bir protein keşfedilmiştir. Glikojenik bir protein olup karaciğer hücrelerine etki ederek enerji ve lipid metabolizmasını düzenlemektedir (7). Son zamanlarda bazı adipokinlerin, endokrin özelliklerinin dışında, farklı fonksiyonlarının keşfedilmesi, pek çok araştırmamanın konusu olmalarına sebep olmuştur. Vitamin D (VD3, kolekalsiferol), proliferasyon, diferansiasyon, apoptozis ve anjiogenezisi üzerine odaklanmış 200'den fazla geni kontrol eden bir vitamin olup glutatyon (GSH) sentezini arttıran gama glutamil transpeptidaz (GGT) ekspresyonunu arttırmakta, artan GSH sentezi ise oksijen radikali üretiminin azaltmaktadır. D vitamini ayrıca, glikoz 6 fosfat dehidrogenaz, glutamat sistein ligaz, glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırarak, majör redoks tamponu olan GSH'ın üretimini arttırmakta; glutatyon peroksidaz ekspresyonunu arttırarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'in suya dönüşümünü sağlamakta olup son zamanlarda araştırmacıların dikkatini çekmiştir (8). Bu çalışmada vitamin D'nin, doksorubisin ile indüklenen sıçan böbrek hasarına karşı iyileştirici etkileri ve asprosin ile ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

**Araştırma ve Yayın Etiği:** Bu çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 17.10.2018 tarih ve 167 Sayılı kararı ile etik olarak uygun bulunmuş olup Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji bölümü laboratuvarında yapıldı.

Örnek boyutu, örnek boyutu hesaplama yazılımı olan GPower sürüm 3.1.9.2 (Almanya) kullanılarak her grup için örneklem büyüklüğü 6 olarak hesaplanmıştır.

Deneylerde ağırlıkları ortalama 250 gr ağırlığında, 8-10 haftalık Wistar Albino cinsi 24 adet erkek sıçanlar kullanıldı ve her grupta altı hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı.

**Kontrol grubu (n=6);** Deney süresi olan 14 gün boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

**Vitamin D grubu (n=6);** Tüm sıçanlara 14 gün süresince damlalık aracılığıyla oral yolla 200 IU/gün vitamin D verildi.

**Doksorubisin grubu (n=6);** Bu gruptaki sıçanlara 10 mg/kg olacak şekilde deneyin 1. günü tek doz intraperitoneal (ip) doksorubisin uygulandı.

**Doksorubisin+Vitamin D grubu (n=6);** Bu gruptaki sıçanlara 10 mg/kg olacak şekilde deneyin 1. günü tek doz doksorubisin ip verilip birlikte 14 günlük deney süresince oral yolla damlalık aracılığıyla 200 IU/gün vitamin D uygulandı.

Deney sonunda tüm deney hayvanları ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p uygulanarak dekapite edildi. Deney hayvanlarının böbrek dokuları çıkarılarak rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı.

**Terminal Deoxynucleotidyl Transferase(Tdt)-Mediated Deoxyuridine Triphosphate (dUTP)-Biotin Nick End-Labeling (TUNEL) Metodu:** Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındıktan sonra üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTagPlus (Chemicon, cat no: S7101) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Xylene ile deparafinize edilen kesitler, dereceli alkol serilerinden geçirilip phosphate buffered saline (PBS) ile yıkanmaya alındı. 0.05 %'lik proteinaz K ile 15 dakika inkübe edilen dokular daha sonra endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için %3 hidrojen peroksid ile 10 dakika inkübe edildi. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37°C'de nemli ortamda çalışma solüsyonu ile 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından dokular Stop/Wash Buffer'da 10 dakika bekletildi. Daha sonra Anti-Digoxigenin-Peroksidaz ile 40 dakika muamele edilen dokulara Diaminobenzidine (DAB) substratı damlatılıp apoptotik hücreler görüntüledi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan dokular, entellan ile kapatılıp Leica DM500 mikroskobu kullanılarak değerlendirildi ve fotoğraflandı (DFC295; Leica, Wetzlar, Almanya). Kesitlerde 10'luk büyütmede normal ve apoptotik ortalama 500-1000 hücre sayıldı. Apoptotik hücreler, toplam (normal-apoptotik) hücrelere oranlanarak apoptotik indeks (AI) hesaplandı.

**İmmünohistokimyasal Çalışma:** Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında alınan kesitler lamlara alınıp deparafinize edildi. Ardından alkol serilerinden geçirilen kesitler sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Kaynatmanın ardından soğutmak için oda ısısında bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için 6 dakika hidrojen peroksid solüsyonu uygulandı. PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara 5 dakika blok solüsyonu uygulandıktan sonra 1/250 oranında dilue edilen primer antikorlar (anti- Asprosin antibody, FNab09797, Fine Test) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra primer antikor ile uyumlu sekonder antikor ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkanıp Streptavidin ile 40 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen solüsyonu damlatılıp ışık mikroskobunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak tüm gruplar PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar

Leica DM500 mikroskobu kullanılarak değerlendirildi ve fotoğraflandı (DFC295; Leica, Wetzlar, Almanya).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı ve esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet

**Biyokimyasal Çalışma:** Jelli biyokimya tüpleri içine alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Serum örnekleri -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Serum örneklerinde ELISA yöntemi ile Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçüldü.

TOS (Rat TOS Katalog no: YLA1392Ra YL Biotechnology Co., Ltd, Shanghai, China) düzeyleri, kitlerin kataloğunda belirtilen prosedürlere uygun olarak ölçüldü. Rat TOS elisa kitinin ölçüm aralığı ise: 0.02-60 U/ml, Intra-Assay: CV değeri <10%, Inter-Assay: CV değeri <12%, Sensitivitesi 0,013 U/mL idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorban okumalarında Chromate, Microplate Reader P4300 cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçlarının birimi serum örnekleri için U/mL, doku örnekleri için ise dilüsyon faktörü ile çarpılarak U/mg cinsinden belirtildi.

**İstatistiksel analiz:** İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Sayısal ölçümler median ve minimum - maksimum olarak özetlendi. İki den fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kruskal Wallis testi sonrasında grupların ikili karşılaştırmasında ise Post Hoc Dunn's testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

## Bulgular

**Biyokimyasal Bulgular:** Tüm gruplara ait serum TOS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada TOS düzeyleri, kontrol ve vitamin D grubu gruplarında benzerdi ( $p=0.065$ ). Kontrol grubuyla kıyaslandığında doksorubisin grubunda TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış izlendi ( $p=0.002$ ). Doksorubisin grubu ile kıyaslandığında ise doksorubisin+vitamin D grubu grubunda TOS düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $p=0.026$ ) Tablo 1.

**Tablo 1.** Serum TOS düzeyleri

	TOS (U/mL) Medyan (min-maks)
Kontrol	0.37 (0.19-0.63)
Vitamin D	0.54 (0.41-0.69)
Doksorubisin	0.98 (0.83-1.21) <sup>a</sup>
Doksorubisin+vitamin D	0.76 (0.51-0.87) <sup>ab</sup>

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>: Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

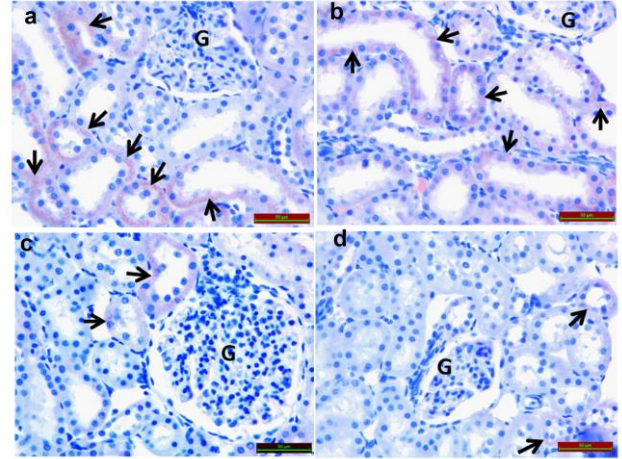
<sup>b</sup>: Doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında ( $p<0.05$ ).

## İmmünohistokimyasal Bulgular

**Asprosin immünreaktivitesi:** Asprosin immünreaktivitesi için yapılan boyamanın ışık mikroskopi

altında incelenmesi sonucu asprosin immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübüllerde (siyah ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda asprosin immünreaktivitesi, kontrol (Şekil 1a) ve vitamin D (Şekil 1b) gruplarında benzerdi ( $p=0.818$ ). Kontrol grubuyla kıyaslandığında doksorubisin (Şekil 1c) grubunda asprosin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştı ( $p=0.002$ ). Doksorubisin grubu ile kıyaslandığında ise doksorubisin + vitamin D (Şekil 1d) grubunda asprosin immünreaktivitesinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p=0.310$ ) Tablo 2.



**Şekil 1.** Gruplar arası Asprosin immünoreaktivitesi a: Kontrol grubu, b: Vitamin D grubu, c: Doksorubisin grubu, d: Doksorubisin+Vitamin D grubu. İmmün pozitif hücreler (siyah ok).

**Tablo 2.** Asprosin immünreaktivitesi histoskoru

	HİSTOSKOR Medyan (min-maks)
Kontrol	2.15 (1.20-2.70)
Vitamin D	2.05 (1.20-2.70)
Doksorubisin	0.35 (0,20-0,45)
Doksorubisin+Vitamin D	0.42 (0.30-0.60)

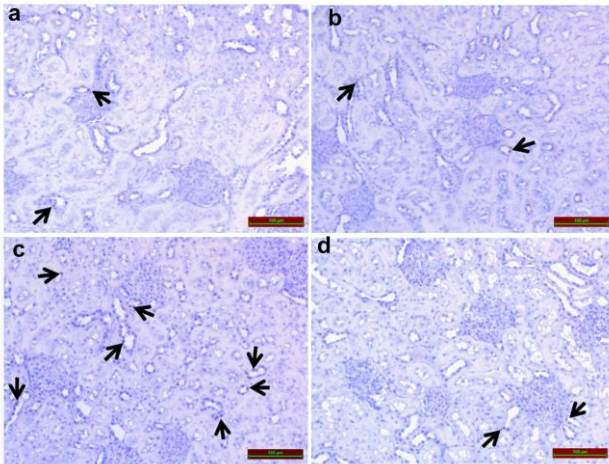
Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>: Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>: Doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında ( $p<0.05$ ).

**TUNEL Bulguları:** Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda tübüllerde (siyah ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği, kontrol (Şekil 2a) ve vitamin D (Şekil 2b) gruplarında benzerdi ( $p=0.699$ ). Kontrol grubuyla kıyaslandığında doksorubisin (Şekil 2c) grubunda TUNEL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştı ( $p=0.002$ ). Doksorubisin grubu ile kıyaslandığında ise doksorubisin+vitamin D (Şekil 2d) grubunda TUNEL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olarak gözlemlendi ( $p=0.002$ ) Tablo 3.



**Şekil 2.** Gruplar arası TUNEL pozitifliği **a:** Kontrol grubu, **b:** Vitamin D grubu, **c:** Doksorubisin grubu, **d:** Doksorubisin+Vitamin D grubu TUNEL pozitif hücreler (siyah ok).

**Tablo 3.** Apoptotik İndeks (%)

	Apoptotik İndeks (%) Medyan (min-maks)
Kontrol	1.66 (1.00-3.00)
Vitamin D	1.83 (1.00-3.00)
Doksorubisin	8.50 (6.00-12.00) <sup>a</sup>
Doksorubisin+Vitamin D	2.00 (1.00-3.00) <sup>b</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>: Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>: Doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında (p<0.05).

## Tartışma

Doksorubisin geniş spektrumlu bir antineoplastik ajan olup uterus, over, meme ve akciğer kanserlerinin tedavisi, çocukluk çağı solid tümörleri, hodgkin ve non-hodgkin lenfomalar, yumuşak doku sarkomları ve diğer kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (9). Kanser hücreleri için yüksek sitotoksik özellikte olmasının yanı sıra en yaygın yan etkileri olan kardiyotoksisite ve nefrotoksisite kullanımını sınırlandırmaktadır. Doksorubisin, böbrekte direkt toksik etkiyle glomerüler hasara, tübüler dilatasyon ve atrofiye, renal fibroze neden olur. Glomerüler endotel hücreleri, bazal membran ve podositlerin yer aldığı glomerüler filtrasyon bariyerinde değişikliklere neden olur. Glomerüler hücrelerde proteoglikan ve glikozaminoglikan sentezinde azalma sonucu glikokaliks kalınlığı azalır, glomerüler endotel hücre porlarının çapı artar, glomerüler seçicilik azalır, podosit hücrelerinde füzyon meydana gelir. Hayvan modelindeki histolojik değişiklikler insanlarda görülen, podosit füzyonu ile fokal glomerüloskleroz, fokal segmental ve global glomerüloskleroz, tübulo-interstiyel inflamasyon ve fibrozis ile benzer olup sıçanlarda serum kreatinindeki artış, kreatinin atılımındaki düşüş, azalan serum albümini, dislipidemi ve idrarla atılan protein miktarının artması ile görülen renal fonksiyonların etkilenme durumu, kronik böbrek hastalığı ve nefrotik sendromla tutarlı bulunmuştur (10). Bu sebeple hayvan çalışmaları

oldukça değerli olup bu çalışmada doksorubisin kaynaklı böbrek hasarını incelemek istedik. Doksorubisin'in böbrek hasarını mekanizmaları henüz bilinmemekle birlikte, dengesiz oksidan-antioksidan sistemlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (11). Yapılan çalışmalar doksorubisin'in antioksidan dengesi bozarak dokuda hasar meydana getirdiği ve TOS değerlerini yükselterek ciddi toksiteye neden olduğunu göstermiştir (12). Doksorubisin'in aşırı ROS üretimi sonucu oksidatif stres kaskadının aktivasyonuna ve endojen antioksidanların azalmasına neden olarak hücre apoptozun artmasına ve dokuda hasar oluşumuna neden olduğuna inanılmaktadır (13). Apoptozun yanlış düzenlenmesi kanser, otoimmün hastalıklar, iltihaplanma ve nörolojik hastalıklar dahil birçok hastalığa neden olmaktadır (14). Bu çalışmada doksorubisin grubuna ait örneklerde apoptotik hücre artışı bu bilgilerle örtüşmekte olup tsang ve ark. da böbrek dokusunda doksorubisin'in apoptozu tetiklediğini göstermişlerdir (15). Doksorubisin sonrası vitamin D verilen tedavi grubunda TOS düzeylerinin ve apoptozun azalması, vitamin D'nin doksorubisin toksisitesine karşı tedavi amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir. Vitamin D'nin glikoz-6-fosfat-dehidrogenazı artırarak TOS değerini düşürdüğü ve dokuda antioksidan kapasiteyi artırıp apoptotik hücreleri azalttığı bilinmektedir. Vitamin D'nin, antiproliferatif, prodiferansiyatif, ve immunomodülatör özelliklere sahip olması, doku hasarlarında önemli bir redüktan olarak işlev görmesini sağlamaktadır (16). Her ne kadar antioksidan kapasitenin artırılarak doku hasarının önlenmesi veya azaltılmasına yönelik çalışmalar olsa da, nefrotik sendrom hayvan modelinin oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan doksorubisin nefrotoksisitesindeki mekanizmalar hâlâ açıklanamamıştır (17).

DeneySEL ve klinik çalışmalar adipokinlerin akut ve kronik böbrek hasarı üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (18). Adipokinler adipoz dokudan salgılanan bioaktif maddeler olup iştah, enerji, lipid, karbonhidrat metabolizması, kan basıncının düzenlenmesi ve inflamasyon üzerinde çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Bunlardan biri de 2016 yılında keşfedilen ve beyaz adipoz dokudan salgılanan asprosinler. Asprosin, açlık süresince salınmakta ve nanomolar düzeyde sirküle olmaktadır. FBN1 geninin iki egzonu tarafından kodlanan asprosinin, glikoz metabolizması gibi bazı metabolik süreçlerde doğrudan etkili olduğu bilinmekte ve hâlen araştırılmaktadır (7). Bu çalışmada doksorubisin grubu sıçanlarda inflamasyon, ve apoptoz üzerinde etkili olabileceği düşünülen asprosinin böbrek dokularında azaldığı görüldü. Asprosin'nin inflamasyon, hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve apoptoz üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Lee ve ark. (19) da  $\beta$  hücre fonksiyonlarının korunmasında asprosinin yerinin olabileceği ve yeni tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Başka bir araştırma, asprosin konsantrasyonları ile diyabetik nefropati arasında bir ilişki olduğunu ve asprosinin diyabetik nefropati değerlendirmesi için yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (20). Bu çalışmada doksorubisin grubu sıçanların böbrek dokularında asprosin düzeylerinin çok düşük

olarak belirlenmesi, asprosinin doku hasar oluşum mekanizmalarında rolü olduğunu, doksorubisinin asprosin düzeylerini azaltarak da patolojik süreçlerde etkili olduğunu gösterebilir. Çünkü asprosinin enerji metabolizmasında önemli fonksiyonları olan bir adipokin olması yanında artan SOD 2 aktivasyonu sebebiyle antioksidan fonksiyon gösterdiği de bilinmektedir. Asprosin, farklı dokularda farklı hücre içi yollar kullanmaktadır. Mezenşimal kök hücrelerinde ERK1/2-SOD2 yolağını kullanarak apoptozu azaltması yanında insulin-like growth factor 1 (IGF-1) salınımını arttırarak da apoptozu inhibe etmektedir (21-22). Koroner arter hastalığına yönelik bir çalışmada da yazarlar, asprosinin, hipoksiye yanıt olarak mitokondriyal solunumu iyileştirerek kardiyomyositleri doğrudan koruduğunu öne sürmüşlerdir (23). Doksorubisin verilip sonrasında vitamin D uygulanan sıçan dokularında ise asprosin ekspresyon düzeyi doksorubisin grubu ile benzerdi. Bu sonuç vitamin D'nin iyileştirici etkilerini asprosinde bağımsız bir mekanizma ile yaptığını gösterebilir. Çünkü D vitamininin, kemik kalsiyum homeostazındaki rolünün yanı sıra, farklı etkileri de bilinmektedir. TNF-alfa, iNOS ve COX-2 ekspresyonlarını önemli ölçüde inhibe eden vitamin D'nin periferik ve merkezi antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri belirlenmiştir (24). Vitamin D'nin ayrıca insan nötrofillerinin proinflamatuvar

mekanizmasına yani hücre degranülasyonu ve oksidatif hasara da etki ettiği, bunun vitamin D reseptörü ile etkileşiminden kaynaklandığı ve bu etkileşimin, inflamatuvar bir yanıtın modülasyonuna ve inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin ekspresyonlarının azalmasına ve ayrıca NF-kB sinyalinin inhibisyonuna yol açtığına inanılmaktadır. Tüm bu etkiler vitamin D'nin potansiyel terapötik bir hedef olabileceğini göstermektedir (24).

Asprosin'in apoptotik yollarda etkili olması doku hasarına yönelik çalışmalara konu olmasına da neden olmaktadır. Bu çalışma doksorubisin'in asprosin azaltarak doku hasar mekanizmalarında etkili olabileceğini, vitamin D'nin tedavide iyileştirici etkisinin olduğunu ancak bu iyileştirici etkiyi asprosinde bağımsız bir mekanizma ile yaptığını göstermiştir.

Sonuç olarak, literatürdeki tüm bu verileri bir araya getirip değerlendirdiğimizde asprosin proteininin henüz keşfedilmemiş pekçok değişkene bağlı olarak değişebileceği ve bu parametrelerle ilişkilerinin net olarak tanımlanması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu ve doksorubisin, asprosin ve vitamin D'nin irdelendiği ve böbrek dokularındaki hasar ile ilişkilerinin belirlenmesine yönelik hücreyel sinyal yollarının araştırıldığı ileri çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## Kaynaklar

- Cullu E, Ozkan I, Culhaci N, et al. Doksorubisinin sıçan iskelet kasında kemomiyektomi etkisi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2003; 37: 323-329.
- Oktar N, Sadat M, Dalbastı T, et al. Adriamycin Impregnated Polymers for Local Treatment of Gliomas. *Journal of Neurological Sciences* 1999; 16: 2.
- Ayla S, Seckin I, Tanriverdi G, et al. Doxorubicin Induced Nephrotoxicity: Protective Effect of Nicotinamide. *Int J Cell Biol* 2011; 2011: 390238.
- Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: White adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc* 2001; 60: 329-339.
- Kovacs D, Fazekas F, Olah A, et al. Adipokines in the Skin and in Dermatological Diseases. *Int Mol Sci* 2020; 21: 9048.
- Frühbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, et al. The adipocyte: A model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: 827-47.
- Romere C, Duerschmid C, Bournat J, et al. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone. *Cell* 2016; 165: 566-579.
- Jain SK, Micinski D. Vitamin D upregulates glutamate cysteine ligase and glutathione reductase, and GSH formation, and decreases ROS and MCP-1 and IL-8 secretion in high-glucose exposed U937 monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 19: 7-11.
- Amandeep K, Manpreet K, Ramica S, et al. Doxorubicin: A critical review on toxicity. *J Pharma Res* 2012; 5: 2890-2894.
- Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, et al. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 114-122.
- Zhao L, Qi Y, Xu L, et al. MicroRNA-140-5p aggravates doxorubicin induced cardiotoxicity by promoting myocardial oxidative stress via targeting Nrf2 and Sirt2. *Redox Biol* 2018; 15: 284-296.
- Ghosh J, Das, J, Manna P, et al. The protective role of arjunolic acid against doxorubicin induced intracellular ROS dependent JNK-p38 and p53-mediated cardiac apoptosis. *Biomaterials* 2011; 32: 4857-4866.
- Rajendran P, Nandakumar, N, Rengarajan T, et al. Antioxidants and human diseases. *Clinical Chimica Acta* 2014; 332-347.
- Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21: 485-495.
- Tsang WP, Ho FY, Fung KP, et al. p53-R175H mutant gains new function in regulation of doxorubicin-induced apoptosis. *Int J Cancer* 2005; 114: 333-336.
- Kivity S, Agmon-Levin N, Zisapli et al. Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 243-247.
- Kolina IB, Stavrovskaia EV. Efficiency and safety of lipid-lowering therapy for chronic kidney disease. *Ter Arkh.* 2013; 85: 73-77.
- Zoccali C, Mallamaci F. Adiponectin and leptin in chronic kidney disease: Causal factors or mere risk markers? *Journal of Renal Nutrition* 2011; 21: 87-91.
- Lee T, Yun S, Jeong J, et al. Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. *Mol Cell Endocrinol* 2019; 486: 96-104.

20. Wang R, Lin P, Sun H, et al. Increased serum Asprosin is correlated with diabetic nephropathy. *Diabetol Metab Syndr* 2021; 13: 51.
21. Zhang Z, Tan Y, Liwen Z, et al. Asprosin improves the survival of mesenchymal stromal cells in myocardial infarction by inhibiting apoptosis via the activated ERK1/2-SOD2 pathway. *Life Sci* 2019; 15: 231.
22. Zhengbin Z. Insulin-like growth factors are mitogenic for human keratinocytes and a squamous cell carcinoma E. *Journal of Investigative Dermatology* 1991; 96: 104-110.
23. Wen MS, Wang CY, Yeh JK, et al. The role of Asprosin in patients with dilated cardiomyopathy. *BMC Cardiovasc Disord* 2020; 20: 402.
24. Lealb L, Limaa LA, Aquinoa PE, et al. Vitamin D (VD3) antioxidative and anti-inflammatory activities: Peripheral and central effects. *European Journal of Pharmacology* 2020; 879: 173099.