



RECEP TAYYIP
ERDOĞAN
ÜNİVERSİTESİ

T.C.

RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDAKİ SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE
ASTAKSANTİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Görkem AKÇA

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2017

**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDAKİ SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE
ASTAKSANTİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Görkem AKÇA

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN**

**UZMANLIK TEZİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

RİZE-2017

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

RATLARDAKİ SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE
ASTAKSANTİNİN KORUYUCU ETKİSİ

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN danışmanlığında, Dr. Görkem AKÇA tarafından hazırlanan bu çalışma, Fakülte Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 14/06/2017 tarihinde Üroloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ:

- 1. Doç. Dr. Hakkı UZUN**
- 2. Yrd. Doç. Dr. Nezih AKÇA**
- 3. Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN**
- 4. Yrd. Doç. Dr. Hasan Rıza AYDIN**
- 5. Yrd. Doç. Dr. Ahmet CALAPOĞLU**

Prof. Dr. Şaban ŞİMŞEK
Tıp Fakültesi Dekanı

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

‘Ratlardaki sisplatin nefrotoksisitesinde astaksantin koruyucu etkisi’ başlıklı bu tezi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. Görkem AKÇA

ÖNSÖZ

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesinde ara kademelerden biri olan asistanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve hastalarımın zarar vermeden faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkındayım.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Doç. Dr. Hakkı UZUN, Yrd. Doç. Dr. Nezh AKÇA, Yrd. Doç. Dr. Hasan Rıza AYDIN'a, tez çalışmamın her aşamasında ve uzmanlık eğitimim süresince tecrübe, bilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN'e, doku örneklerinin histolojik değerlendirmelerini gerçekleştiren Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Levent TÛMKAYA ve Yrd. Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE'ye, biyokimyasal değerlendirmelerini gerçekleştiren Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Adnan YILMAZ'a en derin minnet ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Eğitimimin birçok safhasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Dr. Mustafa Ozan HORSANALI'ya, çalışma arkadaşım Dr. Selim YAZAR'a ve Dr. Yusuf Önder ÖZSAĞIR'a, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum saygıdeğer bölüm hemşirelerimize ve yardımcı sağlık personellerimize teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam süresince sabırla bana destek olan sevgili eşim Büşra AKÇA'ya ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Görkem AKÇA

İÇİNDEKİLER

AKADEMİK KURUL KARARI	II
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	III
ÖNSÖZ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
TABLOLAR DİZİNİ.....	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kanser kemoterapisi ve böbrek.....	2
2.2. Sisplatin	3
2.2.1. Tarihçe	3
2.2.2. Kimyasal özellikleri	4
2.2.3. Etki mekanizması	4
2.2.4. Farmakokinetiği	4
2.2.5. Kullanım alanı ve uygulanması	5
2.2.6. Yan etkileri	5
2.2.7. Sisplatin nefrotoksitesisi	6
2.2.7.1. Patogenez	6
2.2.7.2. Oksidatif stress	7
2.2.7.3. İnflamasyon	8
2.2.7.4. Fibrozis	8
2.2.7.5. Apoptoz ve nekroz	9
2.2.8. Sisplatin nefrotoksitesisi klinik yansımaları ve önlenmesi	9
2.3. Karotenoidler	10
2.4. Astaksantin	10
2.4.1. Astaksantin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri	11
2.4.2. Astaksantin'in etki mekanizması	12
2.4.3. Astaksantin'in kaynakları	12
2.4.4. Astaksantin'in antioksidan etkisi ve yararları	13

3.GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1. Deney hayvanlarının temini ve hazırlanması	14
3.2. Kontrol ve deney grupları	14
3.3. Biyokimyasal analiz prosedürü	15
3.4. Histopatolojik takip protokolü	16
3.5. Semi-kantitatif analiz	16
3.6. İmmünohistokimya analiz prosedürü	17
3.7. Steorolojik analiz	18
3.8. İstatistiksel analiz	18
4.BULGULAR.....	19
4.1. Biyokimyasal bulgular	19
4.2. Histopatolojik bulgular	19
4.3. İmmunohistokimyasal bulgular	23
4.4. İstatistiksel bulgular	27
4.4.1 Biyokimya.....	27
4.4.2 Histopatoloji.....	28
5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	33
6.KAYNAKLAR.....	39
7.ÖZGEÇMİŞ.....	50

ÖZET

RATLARDAKİ SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE ASTAKSANTİNİN KORUYUCU ETKİSİ

Dr. Görkem AKÇA

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üroloji AnaBilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN

Amaç: Sisplatin kanser kemoterapisinde solid tümörlere karşı oldukça etkin ve geniş kullanıma sahip olan bir antineoplastik ajandır. Nefrotoksisite, sisplatinin kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisidir. Sisplatin ile gelişen akut böbrek hasarının patogenezi oksidatif stres, inflamasyon ve hücre siklus değişikliklerini de içerecek şekilde multifaktöriyeldir. Astaksantin haematococcus pluvialis adlı mikroalgden elde edilen, yüksek antioksidan, antiinflamatuvar, etki gösteren karotenoid pigmentdir. Yapılan çalışmalarda astaksantin inflamasyonu azalttığı, immün yanıtı artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmayla astaksantin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden yararlanarak deneysel olarak oluşturulacak olan sisplatin nefrotoksisitesini önlemedeki etkisi klinik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilecektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Sprague-Dawley cinsi, 48 adet, 250-350 gr ağırlığında erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 8 adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (Grup 1) enjeksiyon uygulanmadı. Zeytinyağı kontrol grubuna (Grup 2) sadece zeytinyağı uygulandı. Sham grubuna (Grup 3) sadece günlük 75 gr astaksantin ekstresi uygulandı. Sisplatin grubuna (Grup 4) sadece 5. gün 16mg/kg tek doz sisplatin uygulandı. Sisplatin+astaksantin 25 mg grubuna (Grup 5) 5. gün 16mg/kg tek doz sisplatin ve günlük 25 gr astaksantin ekstresi uygulandı. Sisplatin+astaksantin 75 mg grubuna (Grup 6) 5. gün 16mg/kg tek doz sisplatin ve günlük 75 gr astaksantin ekstresi uygulandı. Enjeksiyonlar intraperitoneal yolla uygulandı. Cerrahi girişim öncesi anestezi, intraperitoneal yolla 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulanarak sağlandı. 8.

günde tüm ratlar sakrifiye edilerek histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal incelemeleri yapıldı.

Bulgular: Biyokimyasal incelemede sisplatin grubunda TAS seviyesi anlamlı olarak azalırken TOS seviyesi anlamlı olarak artmış, sisplatin + astaksantin 25 mg ve sisplatin + astaksantin 75 mg gruplarında TAS seviyesi anlamlı olarak artarken TOS seviyesi anlamlı olarak azalmış bulunmuştur. Ratların böbreklerinden alınan kesitlerin mikroskopik histopatolojik incelemesinde kontrol, zeytinyağı kontrol ve astaksantin 75 mg kontrol grubunda böbrek yapılarının tamamen normal yapıda olduğu, Cisplatin grubunda ise böbrek yapılarının hasarlı olduğu tesbit edildi. Sisplatin grubunda izlenen patolojik değişikliklerin sisplatin + astaksantin 25 mg ve sisplatin + astaksantin 75 mg gruplarında izlenmediği ve böbrek dokusunun tipik histolojik yapı özellikleri sergilediği görüldü ve her iki grup arasında fark görülmedi. İmmünohistokimyasal incelemede pozitif immün hücre sayısal yoğunluğu sisplatin grubunda anlamlı olarak artmış bulunurken diğer tüm gruplarda tübül hücrelerinin immün negatif olduğu ve gruplar arasında anlamlı fark olmadığı saptandı. Bulgular doğrultusunda istatistiksel analiz yapıldığında sisplatin grubunda renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış olduğu saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: Sonuç olarak astaksantinın sisplatin nefrotoksisitesi üzerine koruyucu etkisinin olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Astaksantin, nefrotoksisite, sisplatin

ABSTRACT

PROTECTIVE EFFECT OF ASTAXANTHIN AGAINST CISPLATIN INDUCED NEPHROTOXICITY IN RATS

Görkem AKÇA, MD

Recep Tayyip Erdogan University
Faculty of Medicine Department of Urology Thesis
Hüseyin EREN, Associate Professor

Objective: Cisplatin is an antineoplastic agent that is highly effective and widely used against solid tumors in cancer chemotherapy. Nephrotoxicity is the most important side effect that limits the use of cisplatin. The pathogenesis of acute renal injury with cisplatin is multifactorial, including oxidative stress, inflammation and cell cycle changes. Astaxanthin is a high antioxidant, antiinflammatory, carotenoid pigment obtained from microalgae called *haematococcus pluvialis*. Studies have shown that astaxanthin reduces inflammation and improves the immune response. In this study, the effect of astaxanthin against cisplatin nephrotoxicity which will be formed experimentally by using antioxidant and antiinflammatory effect will be evaluated clinically, biochemically and histopathologically.

Material and Method: In our study, Spraque-Dawley genus, 48 male rats weighing 250-350 gr were used. Experimental animals were divided into 6 groups of 8 animals in each group. No injection was applied to the control group (Group 1). Olive oil control group (Group 2) was administered only olive oil. Sham group (Group 3) received 75 gr of astaxanthin extract per day. The cisplatin group (Group 4) received a single dose of cisplatin 16 mg/kg on day 5 only. Cisplatin + astaxanthin 25 mg group (Group 5) on the 5th day 16 mg / kg single dose cisplatin and daily 25 gr astaxanthin extract were administered. Cisplatin + astaxanthin 75 mg group (Group 6) on the 5th day 16 mg/kg single dose cisplatin and daily 75 gr astaxanthin extract were administered. Injections were administered intraperitoneally. Before surgical intervention, anesthesia was given by intraperitoneal administration of 50 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine. On day 8, all

rats were sacrificed and histopathologic, immunohistochemical and biochemical analyzes were performed.

Results: In the biochemical study, TOS levels were significantly increased and TAS levels were significantly decreased in the cisplatin group, TAS levels were significantly increased while TOS level was found to be significantly decreased in the cisplatin + astaxanthin 25 mg and cisplatin + astaxanthin 75 mg groups. Microscopic histopathological examination of sections from the kidneys of rats revealed that the kidney structures were completely normal in the control, olive oil control and astaxanthin 75 mg control groups, but it was not normal in the cisplatin group. Changes in the cisplatin group were not observed in the cisplatin + astaxanthin 25 mg and cisplatin + astaxanthin 75 mg groups, and the renal histology showed typical histologic features and there was no difference between the two groups. In the immunohistochemical study, the positive immunocytochemical density was found to be significantly increased in the cisplatin group, whereas in all other groups, the tubule cells were found to be immunologically negative and there was no significant difference between the groups. When statistical analysis was performed on the findings, it was found that the surface area of the renal corpuscle, proximal and distal tubules in the cisplatin group was significantly increased compared to the control group. No significant difference was found between the other groups.

Conclusion: With our findings, it is concluded that astaxanthin has protective effects on cisplatin induced nephrotoxicity.

Key words: Astaxanthin, nephrotoxicity, cisplatin

KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiribonükleid asit
RNA	Ribonükleik asit
ATP	Adenozin trifosfat
GFH	Glomerul filtrasyon hızı
DOQI	Dialysis outcome quality index
CDDP	Cis-diamminedichloroplatinum
ABY	Akut böbrek yetmezliği
SOD	Superoksit dismutaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
GPX	Glutasyon peroksidaz
MDA	Malondialdehid
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
TNFR	Tümör nekroz faktör reseptörü
ATP	Adenozin trifosfat
SPS	Statistical package for the social sciences
CAT	Katalaz
DMSO	Dimetil sulfoksit
FDA	Food and Drug Administration
RTEÜ	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
H&E	Hemotoksilen ve Eosin
PBS	Phosphate buffered saline
TAS	Total antioksidan seviye
TOS	Total oksidan seviye

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kemoterapiye bağlı nefrotoksisitenin DOQI'e göre (dialysis outcome quality index) sınıflaması.

Tablo 2. Denek grupları

Tablo 3. Biyokimya verileri

Tablo 4. Renal korpüskül yüzey alanı ölçüm (μm^2) verileri

Tablo 5. Proksimal tübül alan ölçüm (μm^2) verileri

Tablo 6. Distal tübül alan ölçüm (μm^2) verileri

Tablo 7. Kaspaz-3 pozitive ölçüm (mm^3) verileri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sisplatinin moleküler yapısı

Şekil 2. Sisplatin nefrotoksisitesindeki patofizyolojik olaylara genel bakış

Şekil 3. Astaksantin kimyasal yapısı

Şekil 4. Renal körpüskül alan ölçüm metodu

Şekil 5. Kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü (H&E)

Şekil 6. Yağ çözücü grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü(H&E)

Şekil 7. Sham (Astaksantin 75mg) grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü (H&E)

Şekil 8. Cisplatin grubuna ait hasarlı böbrek dokusu görüntüsü (H&E)

Şekil 9. Cisplatin+Astaksantin 25mg grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü (H&E)

Şekil 10. Cisplatin+Astaksantin 75 mg grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü (H&E)

Şekil 11. Kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü (Kaspaz-3)

Şekil 12. Zeytinyağı kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü (Kaspaz-3)

Şekil 13. Sham (Astaksantin 75mg) grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü (Kaspaz-3)

Şekil 14. Cisplatin grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü (Kaspaz-3)

Şekil 15. Cisplatin+Astaksantin 25 mg grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü(Kaspaz-3)

Şekil 16. Cisplatin+Astaksantin 75 mg grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü(Kaspaz-3)

Şekil 17. Renal korpüskül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği

Şekil 18. Proksimal tübül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği

Şekil 19. Distal tübül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği

Şekil 20. Kaspaz-3 pozitif hücre sayısal yoğunluk ölçüm box-plot grafiği

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Antineoplastik ajanlar uzun zamandır kemoterapotik olarak kullanılmaktadır. Bu ajanların tedavi edici etkisi hücre siklusunu bozmaya yönelik olduğundan, neoplastik hücrelerin yanında normal hücreler de bu tedaviden etkilenmektedir. Yan etki olarak nitelendirdiğimiz bu durum birçok dokuda karşımıza çıkmaktadır. Cisplatin gibi bazı antineoplastik ilaçlar böbrekleri etkilemekte ve sonucunda, karşımıza böbrek yetmezliği gibi bir sorun çıkmaktadır. Zaman zaman kemoterapiye bağlı sıklıkla akut böbrek yetmezliği oluşmasına karşın nadiren kronik böbrek yetmezliği de gözlenmektedir. Nefrotoksik özelliği olan antineoplastik ilaçların tümör tedavisinde kullanılmaları ile kemoterapiye bağlı kronik böbrek yetmezliği daha sık görülmeye başlanmıştır (1).

Sisplatin aralarında baş boyun, mesane, akciğer kanserinde bulunduğu insan vücudunun çeşitli kanserlerinde kullanılan etkili bir kemoterapötik ajandır. Hepatotoksisite, ototoksisite ve nefrotoksisite cisplatinin en önemli yan etkilerindedir. Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitenin, ortamda artmış serbest oksijen radikalleri ve bunların proksimal tübül hücrelerini etkilemesi sonucu oluştuğu gösterilmiştir (1, 2).

Astaksantin haematococcus pluvialis adlı mikroalgden elde edilen, yüksek antioksidan, antiinflamatuvar, etki gösteren karotenoid pigmentdir. Astaksantin serbest radikallerin neden olduğu deoksiribonükleid asid (DNA) hasarına karşı beta karotenden ve E vitamininden daha etkilidir (3). Yapılan çalışmalarda astaksantin inflamasyonu azalttığı, immün yanıtı artırdığı gösterilmiştir (4, 5)

Bu çalışmayla astaksantin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden yararlanarak deneysel olarak oluşturulacak olan sisplatin nefrotoksisitesini önlemedeki etkisi klinik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser Kemoterapisi ve Böbrek

Kanser kemoterapisi ile hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse onları yok etmek amaçlanır. Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Bu nedenle çoğu kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerine de yan etkileri vardır (6). Böbrek hücrelerinin bölünme hızı yüksek olmamasına rağmen, yüksek kan akımı ile karşılaşması, medüller interstisyumda toksinleri konsantre etme yeteneği ve tübüler epitelde spesifik taşıyıcılara sahip olması nedeniyle toksik zedelenmeye oldukça duyarlıdır (7). Sitotoksik ilaçlara bağlı nefrotoksisite kemoterapinin en sık görülen yan etkilerinden birisidir (6).

Antimetabolitler, alkilleyici ilaçlar, antrasiklinler, analjezikler ve antibiyotikler nefrotoksisiteye en sık neden olan ilaçlardır. Sisplatin, siklofosfamid ve yüksek doz sitozin arabinozidin nefrotoksik etkileri bilinmektedir. Kanser ilaçlarının nefrotoksik etkisi; serum elektrolit düzensizliği, serum kreatinin artışı, glomerül filtrasyon hızının (GFH) azalması ve kalıcı böbrek yetmezliğine kadar ciddi boyutta olabilir (8).

Kemoterapi hastalarında nefrotoksisite derecesi DOQI (dialysis outcome quality index) sınıflamasına göre değerlendirilmektedir (9). (Tablo 1)

Kanser hastalarında antineoplastik kemoterapinin gelişmesi ve destek tedavisi ile mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ile ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (10). Antineoplastik ilaçların toksik bileşiklerinin nötralize edilmesi ve hidrasyon gibi destekleyici tedavilerle böbrek toksisitesi azaltılabilir ve önlenebilir (8). Kemoterapi ilaçları böbrekte başlıca proksimal tübül, distal tübül ve glomerül olmak üzere nefronun üç ana bölümünde hasarlanmaya ve fonksiyon bozukluğuna neden olur (11).

Antineoplastik ilaçlar başlıca; glomerülü oluşturan endotelial hücreler, podositler, mezenşimal hücreler ve glomerül bazal membranına hasar verir. Glomerül bazal membranının yüksek negatif yükünden sorumlu olan siyaloglikoproteinden zengin endotelial hücreler ve podositlerin hasarı sonucunda glomerül bazal membranın negatif elektrik yükü bozulur (12). Ayrıca bazı kemoterapi ilaçları glomerüler podositlerin

yerinden ayrılmasına neden olur. Podositlerin ayrılması ile glomerül bazal membran bariyerinin boyutu değişir. Glomerüler bazal membranın negatif elektrik yükünün ve bariyer boyutunun değişmesi sonucunda glomerüler bazal membran geçirgenliği değişir. Buna bağlı olarak idrarda protein atılımı artar ve GFH düşmeye başlar (13,14,15).

Tablo 1. Kemoterapiye bağlı nefrotoksisitenin DOQI'e göre (dialysis outcome quality index) sınıflaması.

Evre	Tanım	GFH (ml/dk/1.73 m ²)
1	Böbrek Hasarı	>90
2	Hafif GFH azalması	60-89
3	Orta Düzeyde GFH azalması	30-59
4	Ağır GFH azalması	15-29
5	Böbrek yetmezliği (veya diyaliz)	<15

2.2. Sisplatin

Sisplatin (cis-diamminedichloroplatinum (II), CDDP) testis, over, mesane, prostat, serviks, özofagus ve akciğer kanserleri, baş ve boyun kanserleri, osteojenik osteosarkom ve nöroblastoma gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. Miyelosupresif etkinliği orta derecede olduğu için kombinasyonlar için elverişli bir ilaçtır (16).

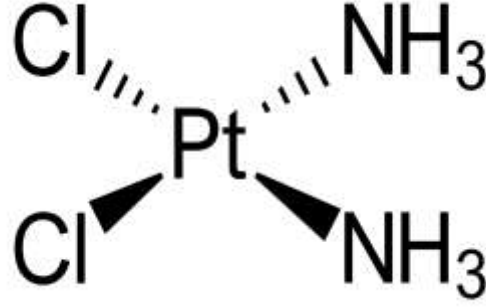
2.2.1. Tarihçe

Sisplatin ilk defa 1845'de Peyron tarafından tanımlanmıştır ve Peyron kloridi olarak bilinmektedir. 1960'larda biyofizikçi Barnett Rosenberg bakteri bölünmesini inhibe ettiğini keşfettikten sonra sisplatin potansiyel kemoterapi ajanı olarak kabul görmüştür. 1968 yılında sarkomlu bir farede intraperitoneal sisplatin uygulaması sonucunda tümör boyutunda belirgin gerileme olduğu gözlenmiştir.

Sisplatin ilk kez 1971 yılında faz 1 klinik çalışmalarına girmiştir. 1978 yılında over ve testiküler kanserlerin tedavisi için Amerika Gıda ve İlaç kurumu tarafından onaylanmıştır (17).

2.2.2. Kimyasal özellikleri

Sisplatin inorganik divalent, suda çözünebilen platinum içeren bir kompleksdir. İki değerlikli bir merkez atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor bağı içerir (18) (Şekil 1).



Şekil 1. Sisplatinin moleküler yapısı (18)

2.2.3. Etki mekanizması

Sisplatinin kansere karşı etki mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte yaygın görüş DNA'ya bağlandığı ve çeşitli sinyal yollarını etkin hale getirerek etkisini gösterdiğidir.

Bileşik cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir. Sadece cis formu sitotoksik özelliğe sahiptir (19). Sisplatin, DNA ile etkileşerek, zincir içi ile zincirler arasında ve en fazla da aynı DNA zincirindeki komşu guaninler arasında çapraz bağ oluşturur. Bu bağlar, DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu inhibe eder. Ortaya çıkan DNA hasarı apoptozisi başlatır. Daha az bir oranda protein ve ribonükleik asit (RNA) sentezini de inhibe etmektedir. Sisplatin ayrıca, hücre mitokondirisine zarar verir, adenosin trifosfat (ATP)'az aktivitesini inhibe eder, hücreyi G2 fazında hapseder ve hücrel transport sistemini inhibe eder (20,21).

2.2.4. Farmakokinetiği

Gastrointestinal kanaldan emilmediği için oral kullanılamaz. Sadece intravenöz veya intraperitoneal yolla uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında ve kısmen geri dönüşümsüz olarak bağlanır (19).

İntravenöz uygulamadan sonra, serbest sisplatin iki saat içinde plazmada tespit edilemez hale gelir. Hızlı bir şekilde tüm dokulara dağılır; karaciğer, böbrek ve prostat dokusunda yüksek konsantrasyonlarda bulunurken, mesane, kaslar, testis, pankreas ve dalakta daha düşük ve barsak, adrenal, kalp, akciğer, beyinde en düşük konsantrasyonlarda bulunur (22,23). Uygulanışından itibaren 4 ay süre ile böbrek dokusunda platin bulunabilir (24).

Sisplatinin yarıömrü 10-60 dakikadır, renal klirensi %90'dır (25). İnsan ve hayvan çalışmalarında ilk 24 saatte ilacın % 80'inin idrarla atıldığı tespit edilmiştir. İlacın % 8'i sonraki 24 saatte atılır. Sisplatinin safra kanalı yoluyla atılım oranı % 10'un altındadır. Uzamış infüzyonlarda azalmış böbrek klirensi nedeniyle total sisplatin ve değişmeden atılan ilaç yüzdesi azalır. Böbrek yetmezliklerinde sisplatinin yarı ömrü uzar (26).

2.2.5. Kullanım alanı ve uygulanması

Sisplatin testis tümörlerinin tedavisinde kombine kemoterapi rejimlerinin ana bileşenidir. Ayrıca metastatik over tümörlerinde, servikal tümörlerde, akciğer kanserinde, ilerlemiş mesane kanserinde, baş ve boyunun skuamoz hücreli karsinomlarında kullanılır. Geniş bir aralıktaki diğer solid tümörlere karşı da etkin olduğu bildirilmiştir.

Sisplatin intravenöz infüzyon, intra-arteriyel, intraperitoneal veya mesaneye aşılama yoluyla da verilebilir. Sisplatin monoterapide genellikle her 3-4 haftada bir 50-120 mg/m² olarak verilir. Alternatif olarak, her 3-4 haftada bir 5 gün boyunca 15-20 mg/m² verilir. Daha düşük dozlar genellikle kombine kemoterapi rejimlerinde kullanılır, 20 mg/m² veya daha fazlası her 3-4 haftada bir verilir (24,27).

2.2.6. Yan etkileri

Sisplatin tedavisine bağlı olarak bulantı-kusma, nefrotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite ve daha seyrek olarak da oküler toksisite gözlenebilir (28).

Nefrotoksisite, sisplatin tedavisinin en sık ve doz sınırlayıcı yan etkisidir. Yoğun profilaktik önlemlere rağmen geri dönüşümsüz böbrek hasarı sisplatin ile tedavi edilen hastaların üçte birinde ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda yaşlı hastalarda, kadınlarda, hipalbuminemi ve daha önce altta yatan renal yetmezliği olan hastalarda nefrotoksisite riski daha yüksek bulunmuştur (29). Bazı ilaçlar, örneğin aminoglikozitler sisplatin nefrotoksisitesini artırır (30).

Sisplatin alan hastalarda tedavinin 8-12 saat öncesinden tedavi bitiminden 6 saat sonraya kadar serum fizyolojik ile hidrasyon (150-200 ml/saat) yapıldığında nefrotoksisite

oranın belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Hidrasyonda amaç en az saatte 125 cc idrar çıkışı sağlamaktır. Ayrıca sisplatin toksisitesini azaltmak için hipertonic salin infüzyonu, mannitol ve furasemid ile diürez yapılabilir (31).

Potansiyel olarak mutajen ve teratojendir ve sekonder lösemilerin gelişimiyle ilişkili olabileceklerine dair bazı kanıtlar vardır (27).

2.2.7. Sisplatin nefrotoksitesisi

Sisplatinin doz kısıtlayıcı en önemli yan etkisi nefrotoksitesidir (32). Sisplatin nefrotoksitesisi doz bağımlıdır ve bu da ilaç etkinliğini kısıtlamaktadır (33). Sisplatin nefrotoksitesisinin en önemli komponenti, bazen ilerleyici olabilen böbrek yetmezliğidir. Diğer klinik yansımaları ise hipomagnezemi, tuz kaybı, Fanconi benzeri sendrom ve anemidir (34).

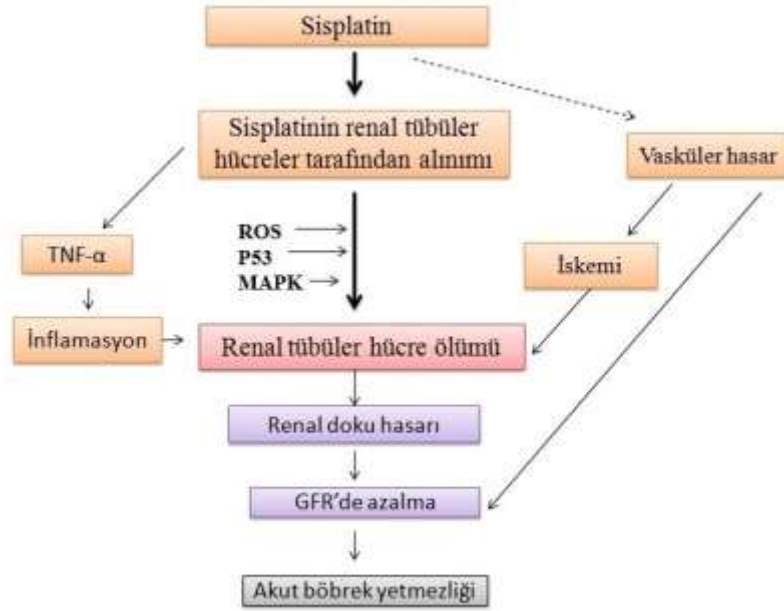
2.2.7.1. Patogenez

Sisplatin nefrotoksitesisi üzerinde son 40 yıldır çalışmalar yapılmaktadır. Sisplatin uygulaması renal tübül hücrelerde birçok sinyal yolağını aktive ederek hücre hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanır (Şekil 2). Doku hasarını daha da artıran güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşturur. Sisplatin ayrıca renal damarsal yapılara hasar vererek azalmış kan akımına ve böbreğin iskemik hasarına yol açarak GFH'nin azalmasına katkıda bulunur. Tüm bu olaylar sonucunda sisplatin nefrotoksitesisinde böbrek işlevini kaybeder ve akut böbrek yetmezliği (ABY) gelişir (21,35).

Sisplatinin asıl atılım yeri böbrekler olduğundan böbreklerde diğer organlardan daha fazla birikir. Proksimal tübül hücrelerindeki sisplatin konsantrasyonu, serum konsantrasyonunun beş katıdır (34). Sisplatinin böbrek dokusunda bu orantısız birikimi nefrotoksitesite oluşumuna katkıda bulunur (36). Proksimal tübülün S3 segmentinde en yüksek konsantrasyonda birikir, bunu distal toplayıcı tübül ve proksimal tübülün S1 segmenti izler (37). Bu segmentler, böbrekte en fazla mitokondri yoğunluğuna sahip olan bölgelerdir (38). Sisplatinin hücre içi konsantrasyonları ise en yüksek sitoplazma, mitokondri ve nükleusta bulunmuştur (39).

Sisplatin düşük klor ortamında potent bir hücresel toksindir. Hücre içinde sisplatindeki klor atomları su molekülleri ile yer değiştirerek daha toksik platinum deriveleri oluşur. Proksimal tübül hücrelerinde sisplatin toksitesisinin morfolojik değişiklikleri; tübül nekroz, mikro villüslerin kaybı, lizozomların sayı ve boyutlarında değişiklik ve mitokondrial vakuolizasyon ile karakterizedir. Bu yapısal değişiklikler

hücrel organellerin fonksiyonlarında bozulmayı da beraberinde getirir. Hücre hasarına iki patofizyolojik mekanizma yol açmaktadır. Bunlar; hücre içi protein sentezinin ve glutasyonun azalmasıdır. Sisplatinin atılımı başlıca glomerüler filtrasyon ile olur. Az bir kısmı ise tübüler sekresyon ile atılırken, tübüler reabsorpsiyonu yoktur (40).



Şekil 2. Sisplatin nefrotoksisitesindeki patofizyolojik olaylara genel bakış (21)

Sisplatin nefrotoksisitesine ait mekanizmalar oksidatif stres, apoptoz ve nekroz, inflamasyon, fibrojeniz, mitokondriyal hasarı içerir ve mekanizmaların birbiriyle bağıntıları ve karmaşıklığı dikkat çekicidir (36,39)

2.2.7.2. Oksidatif stres

Oksidatif stres sisplatin uygulanmasıyla indüklenen akut böbrek hasarında aktif olarak rol alır. Sisplatin, özellikle potent bir serbest radikal olan hidroksil radikalının üretimini artırır. Hidroksil, glutasyon gibi hücre içi antioksidan depoları tüketir, diğer serbest radikaller gibi doğrudan lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenleri üzerinde etki gösterir ve yapılarını bozar (40,41). Sisplatin ek olarak proksimal tübüler hücrelerde ve birçok hücrede dolaylı yoldan mitokondrileri hasarlayarak hidroksil radikali oluşumunu artırır (42,43). Sisplatinin mitokondri membranlarına olan hasarı oksidatif fosforilasyonu bozar, süperoksit salınımını artırır. Süperoksit; süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksite çevrilir, hidrojen peroksite daha sonra demir gerektiren fenton reaksiyonuyla

hidroksil radikallerine çevrilir. Ayrıca sisplatin sitokrom p450'den serbest demirin katalitik olarak salınımını indükleyerek hidroksil radikali oluşumunu kolaylaştırır (44,45).

Sisplatinin intraselüler kalsiyum seviyelerini arttırıp nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı uyarır ve reaktif oksijen türleri üretimine katkıda bulunur (46). Serbest radikaller peroksidasyon ile hücre membranının lipid yapılarına hasar verirler, proteinleri denatüre ederek enzimatik inaktivasyona yol açarlar, aynı zamanda mitokondride fonksiyon bozukluğuna sebep olurlar (47). Sisplatin nefrotoksitesinde reaktif oksijen türleri; süperoksid anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve reaktif nitrojen türleri; peroksinitrit, nitrik oksit böbreklerde artış göstermiştir (48,49,50). Sisplatinin antioksidan enzimleri inhibe ettiği ve bunun sonucunda SOD, glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz ve katalazın renal etkinliklerinin belirgin derecede azaldığı gözlenmiştir (51). Antioksidan sistemlerin hasar görmesi sonucunda lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehidin (MDA) de arttığı gösterilmiştir (52,53).

Sisplatinin oluşturduğu oksidatif hasarın belirlenmesinde farklı antioksidanların serum konsantrasyonları ölçülebilir, ancak bu ölçümler zaman alıcı, masraflı ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı antioksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi pratik değildir. Bu nedenle oksidatif hasarın belirlenmesinde total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres indeksi ölçülür (54).

2.2.7.3. İnflamasyon

Sisplatinle bağlı böbrek hasarında inflamasyonun önemli bir rolü vardır. Yapılan çalışmalarda sisplatinin proinflamatuvar sitokin ve kemokin seviyelerinde artışa yol açtığı, özellikle interlökin 1-beta, 16 ve 18'in önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (55,56). Tümör nekroz faktör alfa (TNF α)'nın renal hasarda merkezi bir rol oynadığı ve TNF- α inhibitörlerinin sisplatinle bağlı renal işlev bozukluğunu %50 oranında iyileştirdiğini ve yapısal hasarı azalttığı gözlenmiştir (57,58).

2.2.7.4. Fibrozis

Sisplatinin insanlarda interstisyel fibrozis ile kronik interstisyel nefrite neden olduğu bilinmektedir. Sisplatin, etkilenmiş tübüller etrafında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun da gözlendiği fibrozise neden olmaktadır (59).

2.2.7.5. Apoptoz ve nekroz

Sisplatinin yüksek konsantrasyonu proksimal tübül hücrelerinde nekrozu artırırken, düşük konsantrasyonu apoptozu artırmaktadır (21). Nekroz ciddi mitokondriyal hasar ve ATP sentezinde azalmaya neden olmaktadır. Ancak apoptoz ATP enerji bağımlı bir süreçtir ve bu nedenle terapötik dozlarda daha hafif mitokondriyal değişimler ile ilişkilidir (33). Mitokondriyal disfonksiyonun sisplatin ilişkili böbrek hasarında anahtar olay olduğu düşünülmektedir (60).

2.2.8. Sisplatin nefrotoksitesisi klinik yansımaları ve önlenmesi

Sisplatin nefrotoksitesisinin başlıca komponentleri, bazen ilerleyici olabilen böbrek yetmezliği, hipomagnezemi, tuz kaybı, Fanconi benzeri sendrom ve anemidir (61).

Sisplatine bağlı ABY genellikle nonoligürik şekilde olur ve günlük idrar miktarı 1000 ml/gün üzerindedir. Bu durum sisplatinin ya henle kulpunda hasara yol açarak sıvı emilimi için gerekli olan meduller osmolariteyi azaltarak ya da antidiüretik hormonun toplayıcı tübüllerde etki yerlerinde hasara yol açarak yaptığını düşündürmektedir. Toplayıcı tübüllerdeki etkisi aquaporin su kanallarının ekspresyonunun azalması ile ilişkili olduğu bilinmektedir (62).

Sisplatin verilen hastalarda hidrasyona dikkat edilmelidir, yakın elektrolit takibi yapılmalıdır. Sisplatin tedavisi esnasında idrarla magnezyum kaybı olabilir ve hastaların yaklaşık yarısında hipomagnezemi görülür. Dikkat edilmesi gereken husus, tedavi ile hipomagnezemi gelişebileceği gibi, kronik hipomagnezeminin de sisplatin nefrotoksitesisini arttırabileceğidir (63). Sisplatin tedavisi sırasında anoreksi ve diyare gibi ciddi gastrointestinal yan etkiler oluşabilir, bunun sonucunda magnezyum kaybı derinleşebilir ve nefrotoksitesite artabilir. Bu yüzden magnezyum desteği sisplatin toksitesisini azaltabilir (36).

Sisplatin nefrotoksitesisinde nadiren görülebilen Fanconi benzeri sendromda idrarda glukoz ve aminoasitler (alanin, valin, lösin, metionin gibi) ile beraber trikarboksilik asit siklüs metabolitleri (laktat ve pirüvat) bulunur. Tübüler hasarın göstergesi olan idrarda glukoz bulunması aynı zamanda sisplatine bağlı olarak gelişen, glukoz uyarısına anormal insülin ve glukagon cevabının olduğu glukoz intoleransına da bağlı olabilir (64,65).

Sisplatin bleomisin ile birlikte uygulandığında böbrek yetmezliğinin bir formu olan hemolitik üremik sendrom veya trombotik trombositopenik purpura gibi trombotik mikroanjiopatiye yol açabilir (66). Sisplatinin myelosüpresif etkilerinin bir sonucu olarak anemi görülebilir (67).

Salin ile güçlü hidrasyon ve sisplatin uygulamasından önce, esnasında ve sonrasında mannitol uygulanması sisplatin ilişkili nefrotoksisiteyi belirgin şekilde azaltmaktadır. Bu strateji standart tedavi olarak kabul edilmiştir (68). Ancak salin ve furosemid, salin ve mannitol uygulanmasına göre daha etkin bulunmuştur (69). Tuzun koruyucu etkisi tam olarak bilinmemekle beraber yüksek konsantrasyonda klor iyonu sağlayarak platin molekülünden klor iyonlarının ayrışmasını önler, böylece sisplatinin reaktif formunu azaltır (70).

2.3. Karotenoidler

Organizmadaki lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidrat gibi moleküller oksidatif hasar için hedef moleküllerdir. Antioksidanlar, oksidatif hasara karşı bu moleküllerin oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (71).

Bir antioksidan grubu olan karotenoidler; fitoplanktonlar, algler, bitkiler ile sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilen, 700'ün üzerinde yağda çözünebilir organik maddelerdir (72). Karotenoidler havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelere kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerini veren maddelerdir. Alglerin fotosentetik pigmentleri arasında yer alan karotenoidler fotosentez işleminde aktif olarak rol almamaktadır. Bu nedenle karotenoidler alglerde aksesuar pigmentler arasında kabul edilmekte ve pek çok alg grubunda yaygın olarak bulunmaktadır (73).

Karotenoidlerin çoğu çift halkalı, 40 karbon atomu içeren doymamış hidrokarbonlardır. Genel formülleri $C_{40}H_{56}$ 'dir. Karotenoidlerin oksijen içerenleri ksantofiller olarak adlandırılırken, tamamen karbon ve hidrojenle oluşanlar ise karotenler adlandırılır. Karotenoidler, çift bağ ihtiva ettikleri için havadaki oksijenle ve ultraviyole ışınlarla hızla oksitlenmektedirler (74).

Karotenoidler özelliklerine göre; karotenler, ksantofiller, karotenoid ketonlar ve karotenoid asitler olarak dört grupta adlandırılmaktadırlar (73). Astaksantin karotenoid keton grubunda yer alan bir antioksidan maddedir.

2.4. Astaksantin

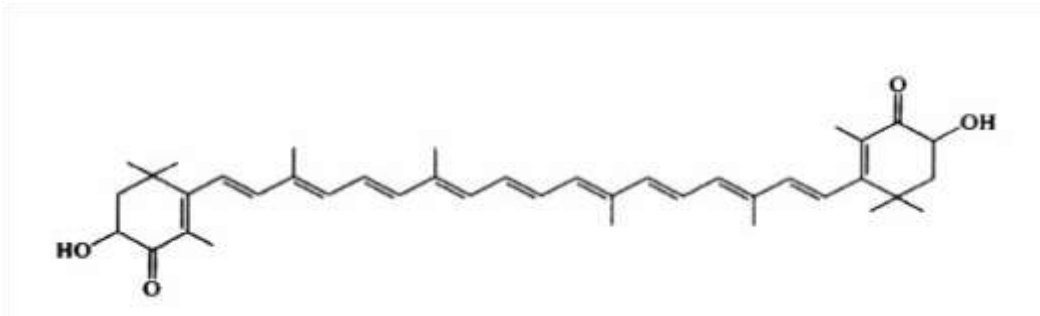
Astaksantin daha çok kabuklu deniz canlılarında (yengeç, karides, istakoz, somon, alabalık) bulunan kırmızı-turuncu renkli bir pigmenttir (75). Astaksantin ilk defa bir istakoz ekstresinden 1938 yılında karakterize edilmiş ve isimlendirilmiştir. 1944 yılına kadar 'Haematochrom' olarak bilinen bu pigmentin Tisher tarafından Haematococcus'un temel pigmenti olan astaksantin olduğunun belirtilmesi sonucunda yanlışlık düzeltilmiştir.

Astaksantini hücre içinde yüksek miktarda biriktirme özelliğine sahip olan Haematococcus pluvialis'in kapalı sistemlerde (panel ya da tübüler fotobiyoreaktörler) yüksek ışık şiddetine maruz bırakılarak ticari üretimi yapılmaktadır. Haematococcus pluvialis, uygun olmayan ortam koşullarında (başta yüksek ışık şiddeti olmak üzere, sıcaklık ve pH değerlerindeki dalgalanmalar, ortamda besin miktarının azalması vb.) biriktirdiği sekonder karotenoid olan astaksantin içermesi nedeniyle biyoteknolojik olarak öneme sahiptir (76,77,78).

Astaksantin lipid peroksidasyonuna ve oksidatif strese karşı hücre zarını ve dokuyu koruma özelliğindedir. Doğada bilinen en güçlü ve güvenli antioksidan olarak kabul edilmektedir. Antioksidan aktivitesinin E vitamininden 550 kat, C vitamininden 6000 kat, Koenzim Q10'dan 800 kat, Luteinden 4 kat, Karotenden 10 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur (79).

2.4.1. Astaksantin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kırmızı-turuncu renkli lipofilik özellikte bir karotenoid pigmentidir. İki uçta polar iyonon halkaları ve ortada non-polar konjuge karbon bağları bulunmaktadır (73) (Şekil 3).



Şekil 3. Astaksantin'in kimyasal yapısı (73)

Astaksantin diğer karotenoidlere kıyasla ısıya karşı dayanıklı olup, renk değişikliği göstermemektedir. Diğer antioksidanlara göre yapısında oksijen içermesi ve lipofilik olması nedeniyle kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilmektedir ve santral sinir sistemi ile beyin hücrelerini koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir (80,81,82).

2.4.2. Astaksantin'in etki mekanizması

Astaksantin diğer karotenoidler gibi tekli oksijenin uyarılmasıyla açığa çıkan enerjiyi emerek tekli oksijen ve diğer serbest radikalleri elektrondan zengin polien zincirlerini oluşturarak uzaklaştırılmasını sağlar. Bu şekilde astaksantin hücreleri ve dokuları hasardan korur. Karotenoid yapısı değişmeden kalır ve tekrar radikal tutucu olarak kullanılmaktadır.

Astaksantin aynı zamanda keto-hidroksil gruplarını içerdiğinden bu özel moleküler yapısından dolayı hücre zarına çok iyi oriyente olmakta ve hücrenin hem iç ve hem de dış membranında kalıcı olmasını sağlamaktadır. Astaksantin bu özelliği sayesinde sadece iç veya dış membranda lokalize olabilen beta-karotene and vitamin C'ye göre hücreyi membran peroksidasyonundan daha iyi bir koruma sağlamaktadır (83).

2.4.3. Astaksantin'in kaynakları

Denizsel ortamda astaksantin, birincil üretim olarak mikro algler ve fitoplankton tarafından besin zinciri içinde sentezlenir. Daha sonra bunlar zooplankton, böcekler veya krustaseler tarafından tüketilir ve son olarak da diğer canlılar tarafından alınır.

Yeşil alglerden *Haematococcus pluvialis* ve *Chlorella zofingiensis*, kırmızı bir maya olan *Phaffia rhodozyma* ve deniz bakterisi olan *Agrobacterium aurantiacum* tarafından sentezlenebilmektedir (84,85,86,87). Bakterilerle yapılan incelemelerde astaksantin varlığı, sadece *Micrococcaceae* ve *Mycobacteriaceae* ailesinde sınırlanmıştır. Mantarlarda ise astaksantin, *Basidiomycetes*'lerden *Peniophora aurantica* ve *Peniophora quercina*'dan izole edilmiştir (88).

Miktar olarak en fazla astaksantin sentezleyen mikroorganizmalar sırasıyla *Haematococcus pluvialis*, *Neochloris wimmeri* ve *Protosiphon bolryoides*'tir (89). Kırmızı bir maya olan *Phaffia rhodozyma*'da astaksantin serbest formu, yeşil alglerden *Haematococcus pluvialis* ve *Chlorella zofingiensis*'de ise esterleşmiş formları

bulunmaktadır. Haematococcus pluvialis'de bulunan esterleşmiş formdaki astaksantine göre Phaffia rhodozyma'da serbest formda bulunan astaksantinin ekstrakte edilmesi daha elverişli olmasına rağmen, astaksantin içeriği Haematococcus pluvialis'den daha düşüktür (90).

2.4.4. Astaksantin'in antioksidan etkisi ve yararları:

Astaksantin'in antioksidan etki mekanizması 2 şekildedir; serbest radikalleri temizleyip dağıtır ve serbest radikallerin yol açabileceği zincir reaksiyonlara karşı koruma görevi üstlenir ya da oluşmuş olan zincir reaksiyonları sonlandırır (91).

Astaksantin'in antioksidan özelliğinin insan sağlığı ve canlılar üzerine farklı olumlu etkileri mevcuttur. Antiinflamatuvar etki gösterirler. İmmün sistemi güçlendirirler. Kanser hücrelerinin oluşumunu önlemeye yardımcıdırlar. Alzheimer ve parkinson hastalığını önlemede yardımcıdırlar. Diyabeti önleyici ve azaltmaya yardımcı etkisi bulunmaktadır. Gözleri ve deriyi radyasyonun zararlı etkilerine karşı korur (92,93).

İnsan sağlığı üzerine olumlu etkilerinden dolayı besin takviyesi ve antioksidan olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır (94,95). Astaksantin'in insan diyet katkısı olarak kullanımı, US. Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır. Ayrıca kümes hayvanları üretiminde yumurta sarısının renklendirilmesinde de kullanılmaktadır. Bu nedenle, akuakültür ve kümes hayvanları endüstrisinde doğal bir yem katkısı olarak kullanımı gittikçe artmaktadır (96,97). Alabalık, karides, süs balığı ve somon balığı yetiştiriciliğinde pigment kaynağı olarak kullanılır (98).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Hazırlanması

Bu çalışmada toplamda 48 adet, erkek, erişkin (3-5 aylık), ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Spraque Dawley albino cinsi erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı alınarak (kabul numarası: 2016/32), Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Deney Hayvanları Uygulama Ünitesi'nden temin edildi.

Deney hayvanlarının bakımı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Deney Hayvanları Uygulama Ünitesi'nde yapıldı. Laboratuvar koşullarına uyum için yeterli süre geçtikten sonra 48 deney hayvanı 6 gruba ayrıldı. Tüm hayvanlar steril, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, % 55-60 nem oranı ve 22 ± 3 C° oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu.

3.2. Kontrol ve Deney Grupları

Laboratuvar koşullarına uyum için yeterli süre geçtikten sonra 48 deney hayvanı her grupta 8 denek olmak üzere rastgele 6 gruba ayrıldı (Tablo 2).

Grup 1 (Kontrol grubu / n=8); kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba enjeksiyon uygulanmadı.

Grup 2 (Zeytinyağı kontrol grubu / n=8); zeytinyağı kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba 8 gün boyunca günde bir kere intraperitoneal olarak zeytinyağı uygulandı.

Grup 3 (Sham/Astaksantin 75 mg grubu / n=8); Astaksantin 75 mg kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba sadece intraperitoneal astaksantin ekstresi 75 mg/kg (5mg/ml zeytin yağında içinde çözülmüş), distile su içeren çözücü 8 gün boyunca bir kere verildi. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 4 (Cisplatin grubu /n=8); cisplatin kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba 5.gün intraperitoneal 16mg/kg tek doz cisplatin (Cisplatin DBL 100mg/100 ml flakon, Orna İlaç, İstanbul) verildi. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 5 (Cisplatin+25 mg Astaksantin grubu/ n=8);16 mg/kg cisplatin ve astaksantin 25mg/kg grubu olarak belirlendi. Bu gruba 8 gün boyunca her gün i.p.25 mg/kg astaksantin ve 5. gün intraperitoneal 16 mg/kg tek doz cisplatin verildi. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Grup 6 (Cisplatin+75 mg Astaksantin grubu / n=8); 16 mg/kg cisplatin ve astaksantin 75mg/kg grubu olarak belirlendi. Bu gruba 8 gün boyunca her gün i.p.75mg/kg astaksantin ve 5. gün intraperitoneal 16 mg /kg tek doz cisplatin verildi. Ayrıca anestezi için yapılan ilaçlar haricinde herhangi bir ilaç enjekte edilmedi.

Tüm denekler 8. Günde ratlara anestezi verildikten sonra sakrifiye edildi. Anestezi için 50 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p) Ketamine hidroklorür (Ketalar ®, Eczacıbaşı Parke-Davis, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg dozunda i.p Xylazine HCl (Alfazyne ®, Alfasan International B.V. Woerden, Holland) ile anestezi uygulandı.

Tablo 2. Denek grupları

Grup Adı	Denek Sayısı
KONTROL	8
ZEYTİNYAĞI KONTROL	8
SHAM (ASTAKSANTİN 75 MG KONTROL, 5mg/ml Zeytin yağı içinde çözülmüş)	8
CİSPLATİN	8
CİSPLATİN+25 MG ASTAKSANTİN (5mg/ml Zeytin yağı içinde çözülmüş)	8
CİSPLATİN+75 MG ASTAKSANTİN (5mg/ml Zeytin yağı içinde çözülmüş)	8

3.3. Biyokimyasal Analiz Prosedürü

Sıçanlardan alınan böbrek dokusu soğuk fosfat tampon solüsyonunda yıkandı. Tüm böbrek numuneleri tartıldı ve fosfat tampon solüsyonu (pH 7.4) içinde beş dakika homojenleştirildi. Doku ağırlığının homojenleştirme tamponuna oranı 1:10 idi. Homojenatlar 4500 rpm'de 20 dakika boyunca 4°C'de santrifüje tabi tutuldu. Elde edilen süpernatantların bir kısmı, otoanalizör Architect C16000 Autoanalizyer tarafından total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviyenin (TOS) belirlenmesi için kullanıldı.

Total antioksidan seviye (TAS): Numunelerin total antioksidan düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini indirgemesi sonucu renkli radikalini

antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak rengini kaybetmesi prensibine dayanır. Sonuçlar mmol H₂O₂ Equivalent/L olarak ifade edildi (54).

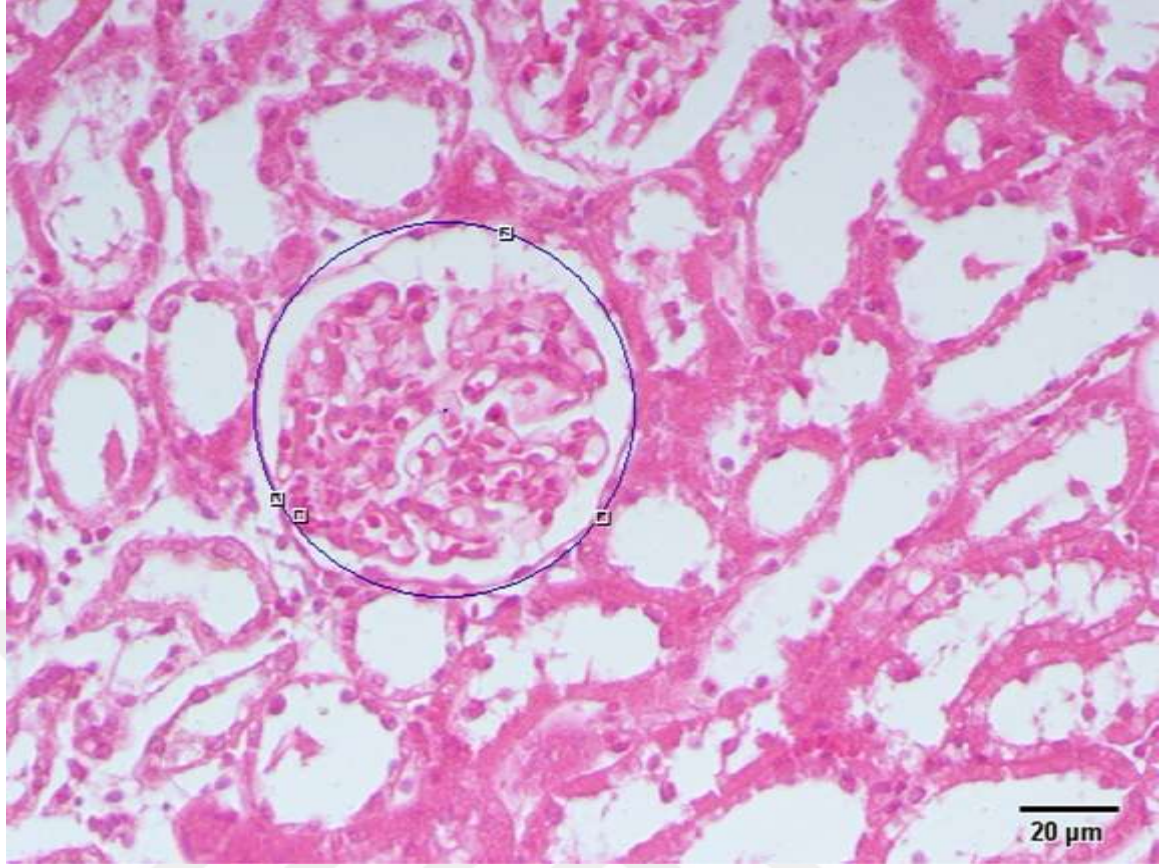
Total oksidan seviye(TOS): Numunelerin toplam oksidan seviye düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçümde örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesi prensibine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar µmol H₂O₂ Equivalent/L olarak ifade edildi (100).

3.4. Histopatolojik Takip Prosedürü

Sıçanlardan alınan böbrek dokusu %10 formalin solüsyonunda 48 saat boyunca fiksasyon işlemine uygulandı. Fiksasyon aşamasından sonra dokular sırası ile artan etil alkol serisi ile su çekme işlemi, ksilol ile şeffaflaştırma işlemleri uygulandı ve son olarak parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4-5µm kalınlığındaki kesitler mikrotom (Leica RM2125-Almanya) ile alındıktan sonra Harris'in hemotoksilen ve eosin G (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında (Leica DM6200-Germany) incelendi ve Olympus DP20 kamerası ile fotoğrafları çekildi.

3.5. Semi-kantitatif Analiz

Çalışmamızda renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanlarının (µm²) ölçümü Olympus DP2-BSW (Ver.2.1 to Ver.2.2, Build 6212, Tokyo, Japonya) programı kullanılarak ölçüldü. Bu ölçüm sistemi kamera (Olympus DP20, Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) yerleştirilmiş bir ışık mikroskobu (Leica DM6200, DM6200, Mannheim, Almanya) ve Olympus DP2-BSW yazılımlı bir bilgisayardan oluşmaktadır. H&E boyanmış preparatların ölçüm sınırları bağımsız olarak 2 farklı histopatolog tarafından belirlendi (Şekil 4).



Şekil 4. Renal körpüskül alan ölçüm metodu.

3.6. İmmunohistokimya Analiz Prosedürü

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT, Almanya) ile kesilen 3 µm'lik kesitler (poly-L-lisine, Isolab, Almanya) lamlar üzerine alındı. Bu kesitler böbrek dokusu hücrelerindeki Kaspas-3 ekspresyonlarını belirlemek amacıyla Kaspaz-3 (rabbit polyclonal, abcam, ab 13847, İngiltere) yöntemiyle boyandı. Görüntüleme kiti olarak DAB detection kiti (RP/DAB (ABC) Detection IHC Kit, abcam, ab 64261, İngiltere) kullanıldı.

Çalışmamızda preparatlar deparafinizasyon işlemine alındı. Bu amaçla oda ısısında üç kere 5 dakikalık ksilolde bekletildi. Daha sonra preparatlar birer kez de 5'er dakikalık sırasıyla %80, %90 ve absölu alkolde (etanol) inkübasyonları yapıldı. Distile su içerisinde 5 dakika yıkanmasını takiben sitrat tampon solüsyonu (pH=6) ile mikro dalga fırında 5x3 (15 dk) antijen retrieval işlemine tabi tutuldu. On beş dakika oda ısısında beklendi. Beş dakika fosfat tampon solüsyonunda (Phosphate Buffered Saline – PBS, pH=7.4) yıkandı. On dakika boyunca %3'lük H₂O₂ ile inkübe edildi. Beş dakika PBS'de yıkandı. PBS tamponunda yıkamanın ardından Kaspaz-3 solüsyonunda 60 dakika bekletildi. Tekrar PBS

ile 5 dakika yıkandı. DAP-KROMOJEN de 9 dakika bekletildi. Distile suda iyice yıkandı. Zıt boyama için Mayer'in hematoksileni ile 3 dakika boyanan lamalar akarsuda yıkanarak su bazlı kapatma ortamı ve lamel ile kapatıldıktan sonra Olympus DP20 (Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) marka dijital kamera ataçmanlı ışık mikroskop (Leica DM6200, Mannheim, Almanya) altında incelenerek fotoğraflandı.

3.7. Stereolojik Analiz

Ortalama Kaspaz-3 pozitif hücre sayısal yoğunluğu Stereoinvestigator 9.0 (MicroBrightField 9.0, Colchester, VT, CA, USA) programı ile sayıldı. Bu sistem kamera yerleştirilmiş bir ışık mikroskobu, mikroskop tablası içeren motorlu bir sistem ve yazılımlı bir bilgisayardan oluşmaktadır. Kaspaz-3 ile boyanmış preaparatlar Stereoinvestigator 9.0 programı kullanılarak tarafsız sayma çerçeveli stereolojik yöntemlerden biri olan fractinator probu kullanılarak hesaplandı. Sonra 60 farklı seçilmiş bölgede tüm grupların Kaspaz-3 pozitif hücre sayıları Mercantepe (99) tarafından tanımlanan metodla ölçüldü.

3.8. İstatistiksel Analiz

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda elde edilen biyokimyasal verilerin istatistik karşılaştırmaları bilgisayar ortamında statistical package for the social sciences (SPSS) 20.00 (IBM, New York, A.B.D.) paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin dağılımı için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Dağılımı normal olarak çıkan verilerin gruplar arası karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA testi uygulandı. Post-hoc karşılaştırılma Tukey testi ile yapıldı. $P < 0,01$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sürekli değişkenler, ortalama \pm standart sapma ve min-max değerler aralığında sunuldu.

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında semi-kantitatif ve stereolojik analiz sonucu elde edilen histopatolojik veriler statistical package for the social sciences (SPSS) 20.00 (IBM, New York, A.B.D.) programı kullanılarak hesaplandı. Verilerin dağılımı için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Dağılımı normal olarak çıkan verilerin gruplar arası karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA testi uygulandı. Post-hoc karşılaştırılma Duncan testi ile yapıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sürekli değişkenler, ortalama \pm standart sapma ve min-max değerler aralığında sunuldu.

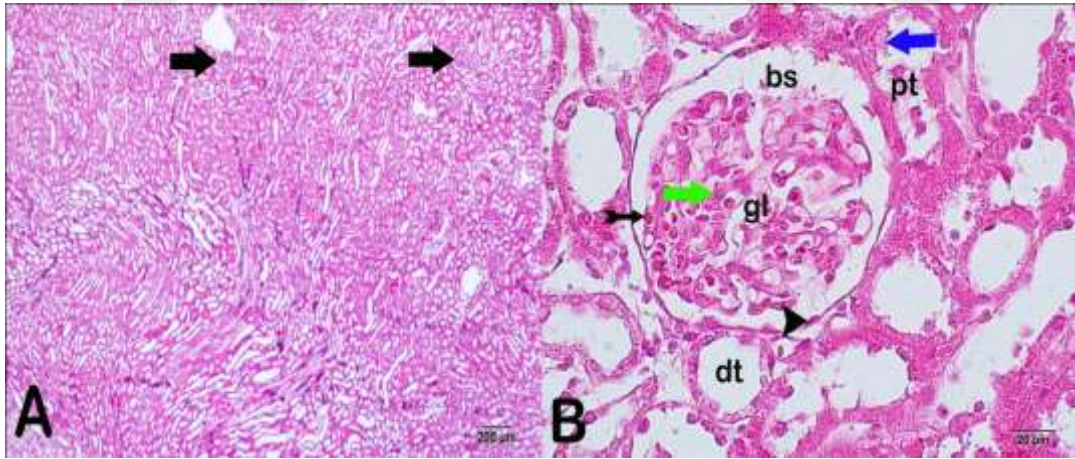
4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Cisplatin grubunda TAS seviyesi anlamlı olarak azalırken TOS seviyesi anlamlı olarak artmıştır. Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu ve Cisplatin + Astaksantin 75 mg grubunda ise TAS seviyesinin anlamlı olarak arttığı ve TOS seviyesinin anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

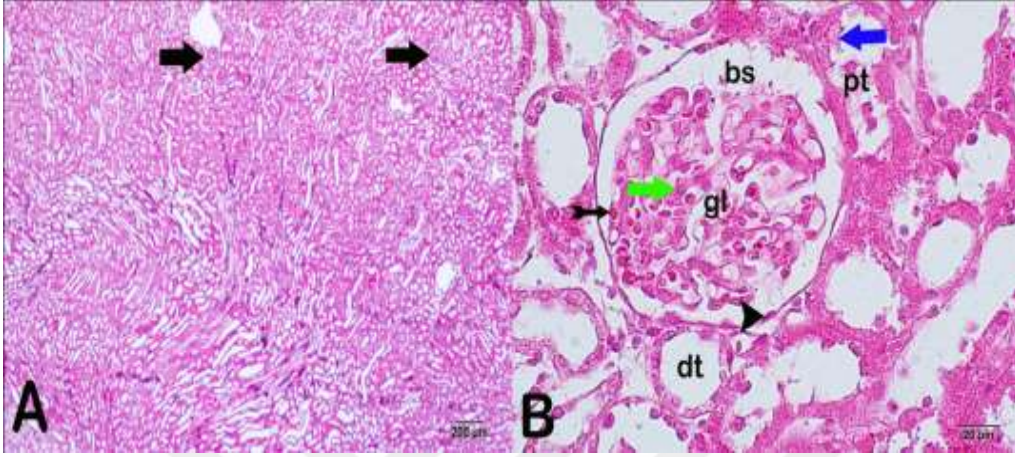
4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde böbrek korteksi ve medullasının normal histolojik yapı özellikleri sergilediği izlendi (Şekil 5A). Normal yapıdaki glomerül ve bowman kapsülü boşluğu izlendi. Proksimal ve distal tübüllerin epitel hücrelerinin tipik yapıda olduğu gözlemlendi. Proksimal ve distal tübüllerin bazal membranları oldukça belirgindi. Bowman kapsülünün pariyetal epitel hücrelerinin tipik yassı şeklinde olduğu izlendi (Şekil 5B).



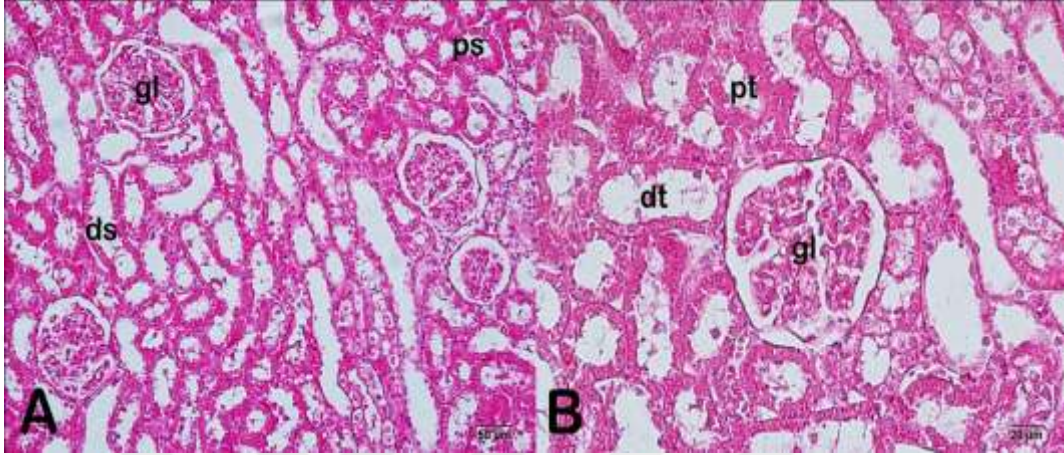
Şekil 5. Kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki glomerül (gl) bowman kapsülü boşluğu izlenmekte (bs). Proksimal (pt) ve distal tübüllerin (dt) tipik yapıda olduğu gözlenmekte. Podosit (kuyruklu ok), mesangiyal hücre (yeşil ok) ve pariyetal yassı epitel hücrelerinin (ok başı) normal yapıda olduğu izlenmekte. Proksimal tübülün fırçamsı kenarına sahip normal yapıdaki epitelium hücresi (mavi ok) **A)** x40. **B)** x400. H&E.

Zeytinyağı kontrol grubuna ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde kontrol grubuna benzer olarak böbrek korteks ve medullasının normal histolojik yapı özellikleri sergilediği izlendi (Şekil 6A-B).



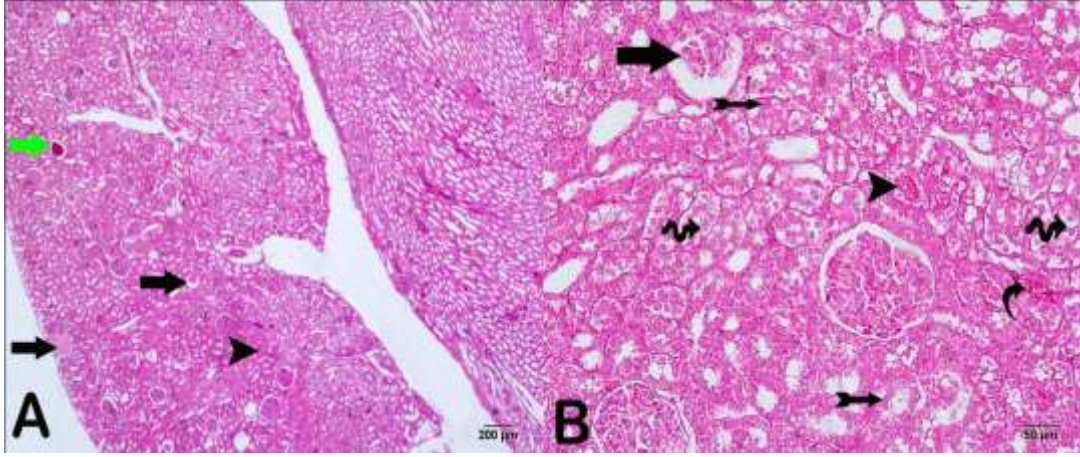
Şekil 6. Zeytinyağı grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki glomerül (gl) bowman kapsülü boşluğu izlenmekte (bs). Proksimal (pt) ve distal tübüllerin (dt) tipik yapıda olduğu gözlenmekte. Podosit (kuyruklu ok), mesangiyal hücre (yeşil ok) ve pariyetal yassı epitel hücrelerinin (ok başı) normal yapıda olduğu izlenmekte. Proksimal tübülün fırçamsı kenarına sahip normal yapıdaki epitelyum hücresi (mavi ok) **A**) x40. **B**) x400. H&E.

Sham (Astaksantin 75 mg) ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde kontrol grubuna benzer olarak böbrek korteks ve medullasının normal histolojik yapı özellikleri sergilediği izlendi (Şekil 7A-B)



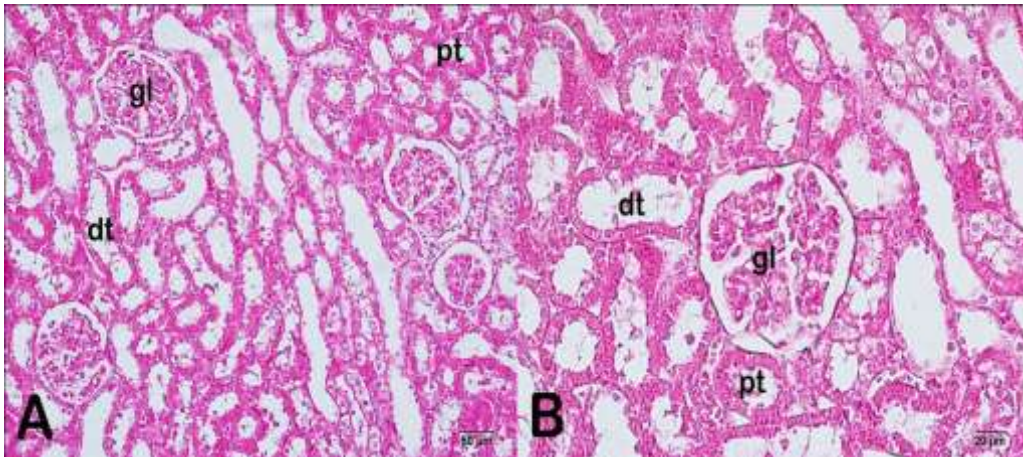
Şekil 7. Sham (Astaksantin 75mg) grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki glomerül (gl). Proksimal (pt) ve distal tübüllerin (dt) tipik yapıda olduğu gözlenmekte. **A)** x200. **B)** x400. H&E.

Cisplatin grubuna ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde böbrek korteks ve medullasının hasarlı yapıda olduğu izlendi (Şekil 8A). Tübüler nekrozla beraber yaygın tübüler dilatasyonlar izlendi (Şekil 8A-B). Proksimal ve distal tübüllerin epitel hücrelerinin nekrotik yapıda olduğu gözlemlendi. Proksimal ve distal tübüllerde hiyalizasyon (cast formation) oluşumları izlendi. Peritübüller alanlarda belirgin kapiler konjesyonlar izlendi (Şekil 8A-B).



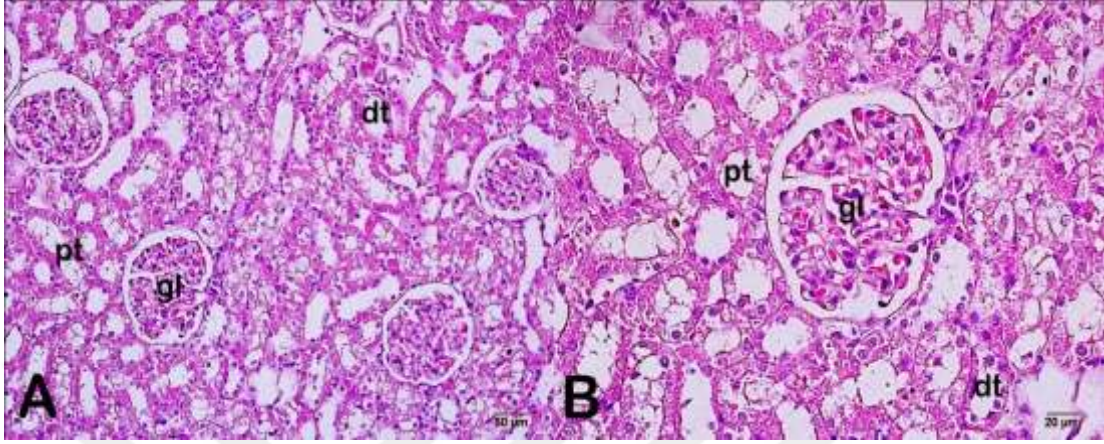
Şekil 8. Cisplatin grubuna ait hasarlı böbrek dokusu görüntüsü. Dejeneratif glomerul (ok) ve glomerular amyloidosis (yeşil ok) izlenmekte. Tübüler nekrozla beraber yaygın tübüler dilatasyonlar izlenmekte (kuyruklu ok). Tübüler kist oluşumu gözlenmekte (ok başı). Tübüllerde belirgin olarak hasarlı hücreler izlenmekte (spiral ok). Peritübüller alanda kapiler konjesyon gözlenmekte. **A)** x40. **B)** x400. H&E.

Cisplatin+Astaksantin 25mg grubuna ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde böbrek dokusunun tipik histolojik yapı özellikleri sergilediği izlendi (Şekil 8A-B). Bowman kapsülü normal yapıda olduğu izlendi (Şekil 9A-B).



Şekil 9. Cisplatin+Astaksantin 25mg grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki glomerül (gl). Proksimal (pt) ve distal tübüllerin (dt) tipik yapıda olduğu gözlenmekte. **A)** x200. **B)** x400. H&E.

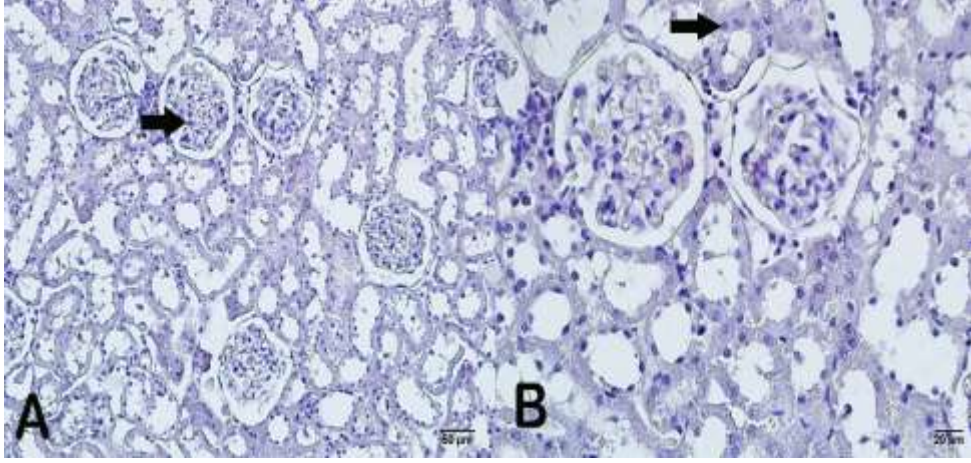
Cisplatin+Astaksantin 75mg grubuna ait deneklerin böbreklerinden alınan ışık mikroskopik kesitlerinde Cisplatin+Astaksantin 25mg grubuna grubuna benzer olarak böbrek korteks ve medullasının normal histolojik yapı özellikleri sergilediği izlendi (Şekil 10A-B).



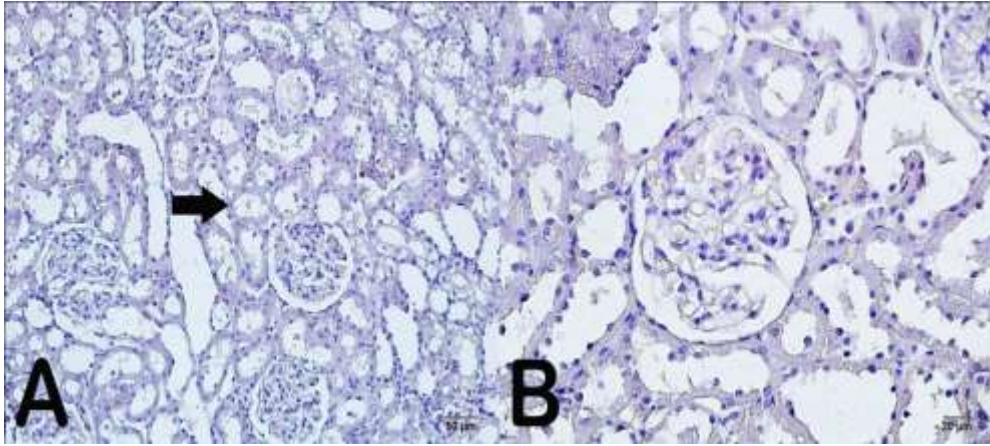
Şekil 10. Cisplatin+Astaksantin 75 mg grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki glomerül (gl). Proksimal (pt) ve distal tübüllerin (dt) tipik yapıda olduğu gözlenmekte. **A)** x200. **B)** x400. H&E

4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

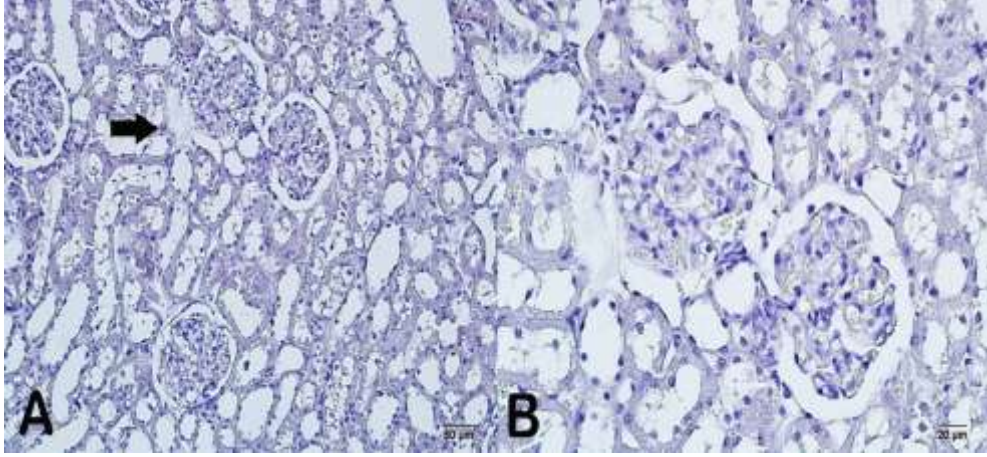
Kontrol, Zeytinyağı kontrol ve Sham grubuna ait böbrek dokusunda proksimal ve distal tübül epitel hücreleri immün negatif olarak saptanmıştır (Şekil 11, Şekil 12, Şekil 13). Cisplatin grubunda böbrek proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde yoğun immünpozitif hücreler saptanmıştır (Şekil 14). Cisplatin+Astaksantin 25 mg ve Cisplatin+Astaksantin 75 mg gruplarında ise proksimal ve distal tübül epitel hücreleri immün negatif olarak saptanmıştır (Şekil 15, Şekil 16).



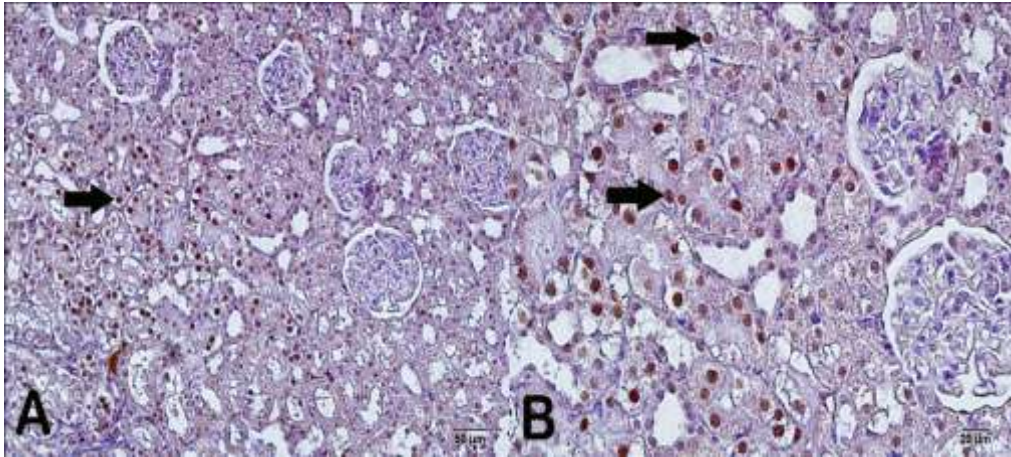
Şekil 11. Kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin (ok) immün negatif olduğu izlenmekte. **A)** x200. **B)** x400 Kaspaz-3.



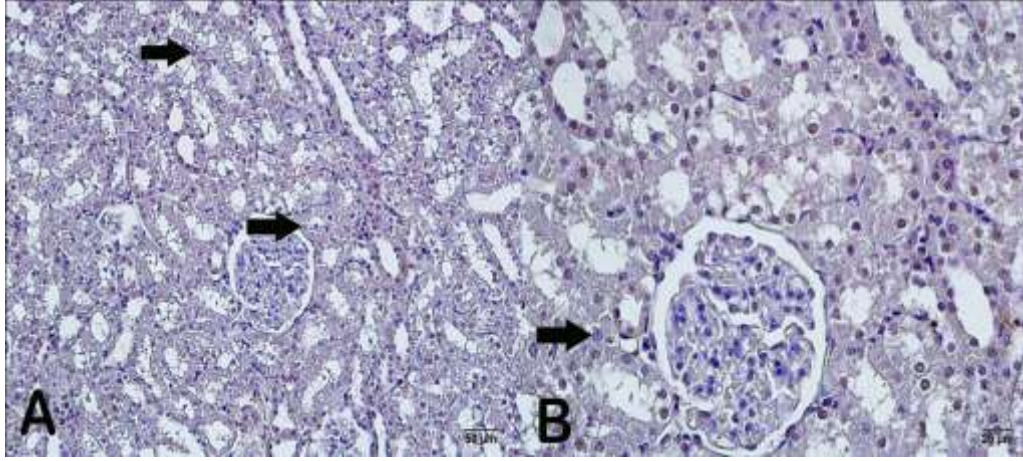
Şekil 12. Zeytinyağı kontrol grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin (ok) immün negatif olduğu izlenmekte. **A)** x200. **B)** x400 Kaspaz-3.



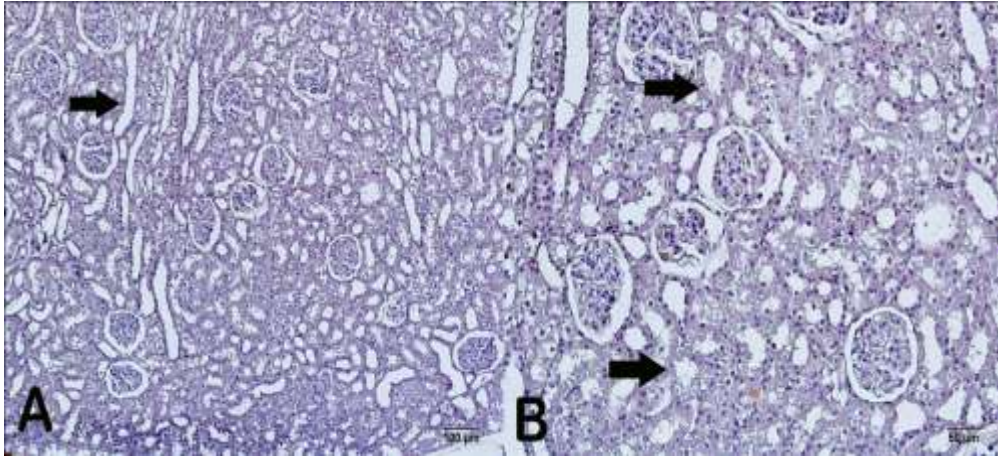
Şekil 13. Sham (Astaksantin 75mg) grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin (ok) immün negatif olduğu izlenmekte. **A)** x200. **B)** x400 Kaspaz-3.



Şekil 14. Cisplatin grubuna ait böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde yoğun immünpozitif hücreler gözlenmekte (ok). **A)** x200. **B)** x400 Kaspaz-3.



Şekil 15. Cisplatin+Astaksantin 25 mg grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin (ok) immün negatif olduğu izlenmekte. **A)** x200. **B)** x400 Kaspaz-3.



Şekil 16. Cisplatin+Astaksantin 75 mg grubuna ait sağlıklı böbrek dokusu görüntüsü. Proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin (ok) immün negatif olduğu izlenmekte. **A)** x100. **B)** x200 Kaspaz-3.

4.4. İstatistiksel Bulgular

4.4.1 Biyokimya

Kontrol grubu, zeytinyağı ve sham grubu ile kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark saptanamdı ($P>0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Cisplatin grubunda TAS seviyesi anlamlı olarak azalırken TOS seviyesi anlamlı olarak gözlendi ($P<0.01$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu ve Cisplatin + Astaksantin 75 mg grubunda TAS seviyesinin anlamlı olarak arttığı ve TOS seviyesinin anlamlı olarak azaldığı gözlendi ($P<0.01$). Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu ile cisplatin + Astaksantin 75 mg grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlendi ($P>0.05$). Zeytinyağı kontrol grubu ile kıyaslandığında Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu ve Cisplatin + Astaksantin 75 mg grubunda TAS seviyesinin anlamlı olarak arttığı ve TOS seviyesinin anlamlı olarak azaldığı gözlendi ($P<0.01$) (Tablo 3).

Grup	BÖBREK	
	TAS	TOS
KONTROL	8,69 ± 0,19 ^{c,d,e,f}	26,07 ± 0,71 ^{b,d,e,f}
ZEYTİNYAĞI	9,16 ± 0,15 ^{c,d,e,f}	24,81 ± 0,4 ^{d,e,f}
ASTAKSANTİN 75 MG	12,60 ± 0,7 ^{a,b,d,e,f}	25,06 ± 0,50 ^{a,c,d,e,f}
CISPLATIN	6,92 ± 0,75 ^{a,b,c,d,e}	34,13 ± 0,88 ^{a,b,c,d,e}
ASTAKSANTİN 25	10,47 ± 0,82 ^{a,b,c,f}	23,02 ± 0,92 ^{a,b,c,f}
ASTAKSANTİN 75	11,13 ± 0,34 ^{a,b,c,f}	22,20 ± 0,78 ^{a,b,c,f}

Tablo 3. Biyokimyasal veriler

^ap <0.01kontrol grubuna göre

^bp <0.01zeytinyağı grubuna göre

^cp <0.01sham (astaksantin 75mg) grubuna göre

^dp <0.01astaksantin 25mg grubuna göre

^ep <0.01astaksantin 75mg grubuna göre

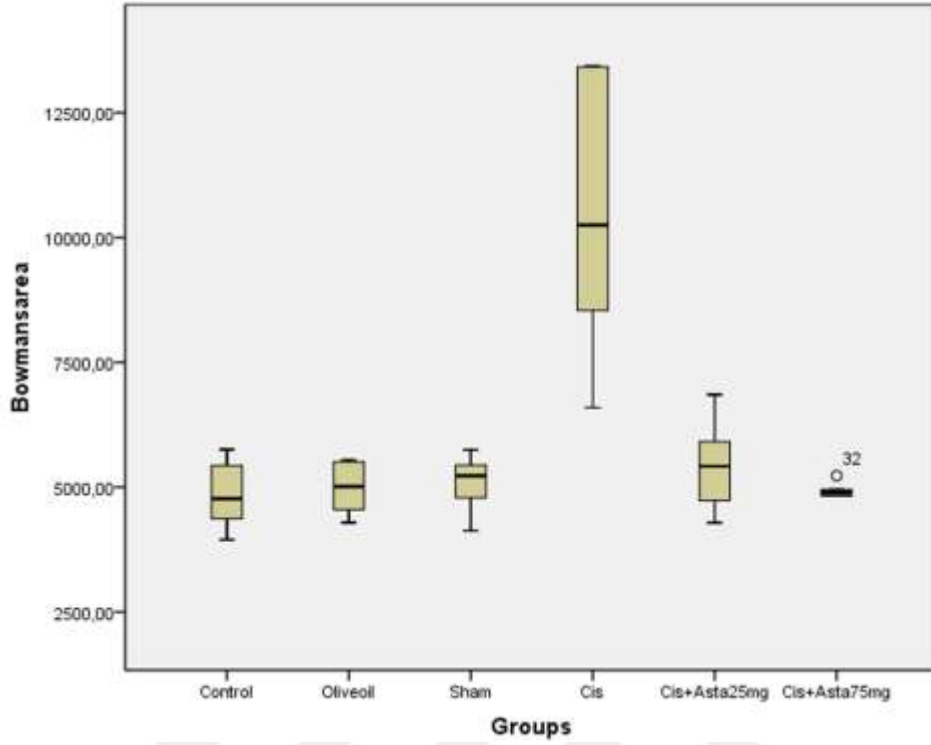
^fp <0.01cisplatin grubuna göre

4.4.2 Histopatoloji

Kontrol grubu (grup 1) ile zeytinyağı kontrol grubu (grup 2) arasında renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı ölçümü arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Aynı şekilde kontrol grubu (grup 1) ile sham grubu (grup 3) arasında renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı ölçümü arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile cisplatin grubu (grup 4) kıyaslandığında cisplatin grubunda renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı anlamlı olarak artmış olduğunu saptandı ($p<0.05$). Cisplatin grubu ile Cisplatin+Astaksantin 25 mg (grup 5) grubu kıyaslandığında renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5) grubunda anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0.05$). Kontrol grubu ile Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5) grubu kıyaslandığında renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı ölçümleri bakımından aralarında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Cisplatin+Astaksantin 25 mg grubu ile Cisplatin+Astaksantin 75 mg grubu (grup 6) kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 17, Şekil 18, Şekil 19, Tablo 4, Tablo 5, Tablo 6).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında pozitif immün hücre sayısal yoğunluğunun Cisplatin grubunda arttığı gözlemlendi ($P<0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu ve Cisplatin + Astaksantin 75 mg grubunda immün pozitif hücre sayısının anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. ($P<0.05$). Kontrol grubu, zeytinyağı kontrol ve sham grubu ile kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$). Cisplatin + Astaksantin 25 mg grubu, cisplatin + Astaksantin 75 mg grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$) (Şekil 20, Tablo 7).

Şekil 17. Renal korpüskül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği

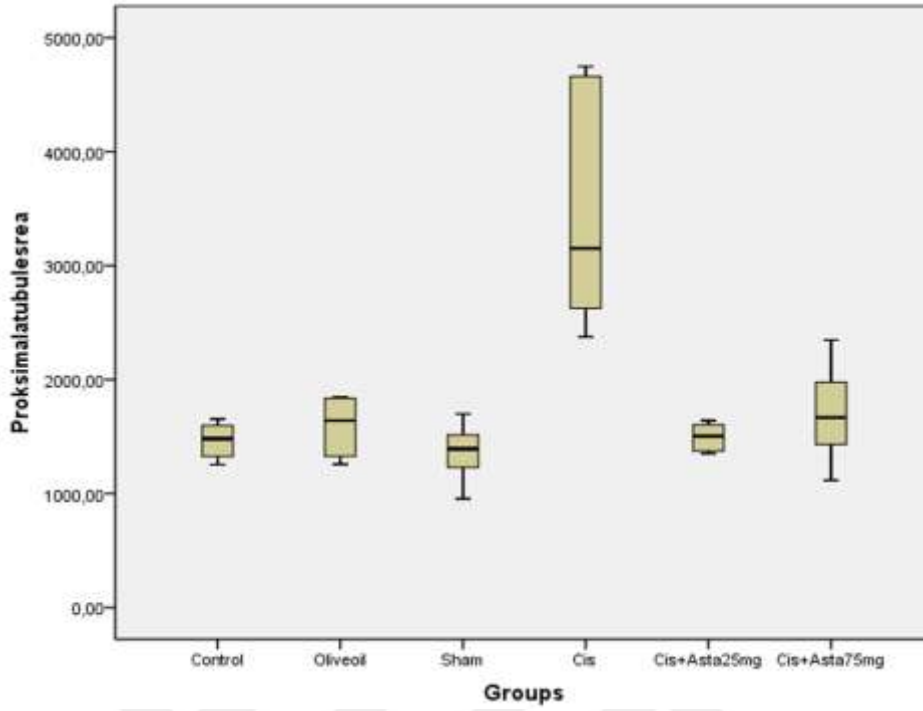


Tablo 4. Renal korpüskül yüzey alanı ölçüm (μm^2) verileri

Grup	Renal Korpüskül Alan ölçüm (Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma)
Kontrol (Grup 1)	4840.15 \pm 676.28 ^{c,d}
Zeytinyağı (Grup 2)	4986.76 \pm 551.44 ^{a,c,d}
Sham (Astaksaintin 75 mg) (Grup 3)	5093.14 \pm 568.26 ^{a,c}
Cisplatin (Grup 4)	10414.61 \pm 2712.56 ^b
Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5)	4373.14 \pm 904.04 ^{a,c,d}
Cisplatin+Astaksantin 75 mg (Grup 6)	4935.31 \pm 154.165 ^{a,c,e}

^aP >0.05kontrol grubuna göre
^bP <0.05kontrol grubuna göre
^cP <0.05cisplatin grubuna göre
^dP >0.05sham (astaksantin 75mg) grubuna göre
^eP >0.05cisplatin+Astaksantin 25 grubuna göre

Şekil 18. Proksimal tübül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği

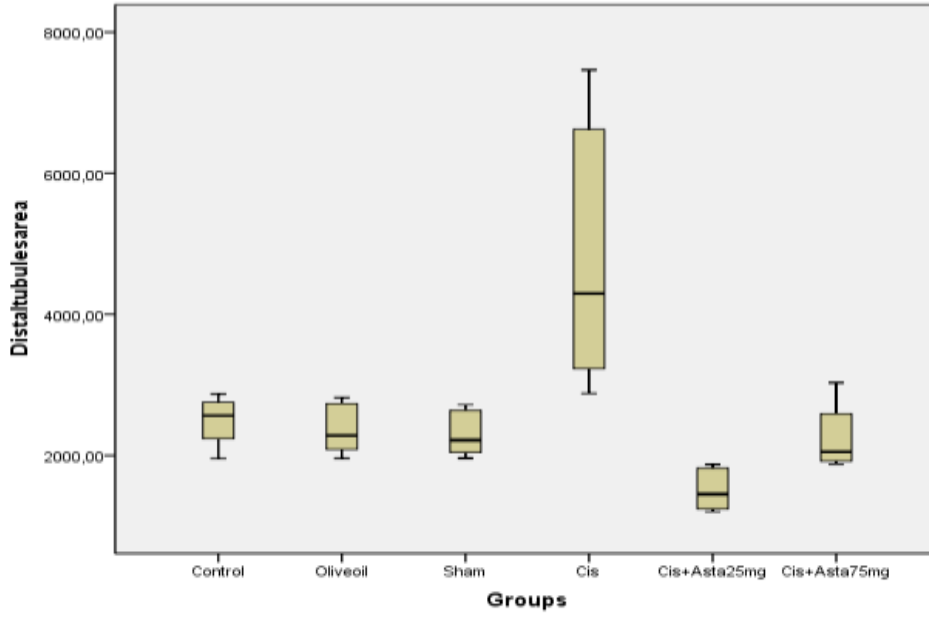


Tablo 5. Proksimal tübül yüzey alanı ölçüm (μm^2) verileri

Grup	Proksimal tübül yüzey alan ölçümü (Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma)
Kontrol (Grup 1)	1466.16 \pm 153.49 ^{c,d}
Zeytinyağı (Grup 2)	1591.28 \pm 256.01 ^{a,c,d}
Sham (Astaksaintin 75 mg) (Grup 3)	1364.83 \pm 256.00 ^{a,c}
Cisplatin (Grup 4)	3452.18 \pm 1058.12 ^b
Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5)	1496.54 \pm 123.32 ^{a,c,d}
Cisplatin+Astaksantin 75 mg (Grup 6)	1701.1723 \pm 427.15 ^{a,c,e}

^aP >0.05kontrol grubuna göre
^bP <0.05kontrol grubuna göre
^cP <0.05cisplatin grubuna göre
^dP >0.05sham (astaksantin 75mg) grubuna göre
^eP >0.05cisplatin+Astaksantin 25 grubuna göre

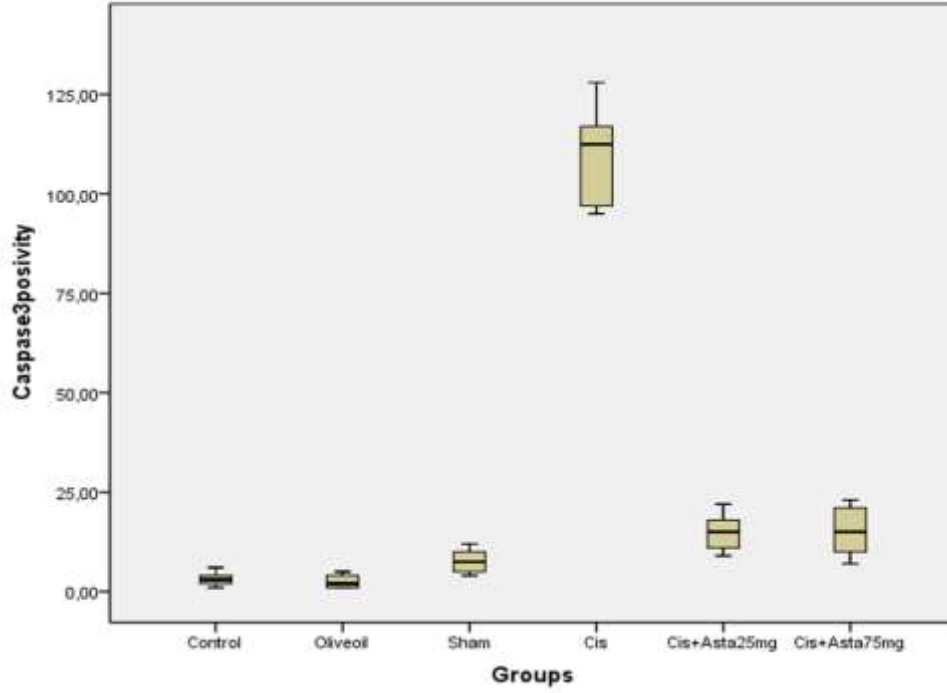
Şekil 19. Distal tübül yüzey alanı ölçüm box-plot grafiği



Tablo 6. Distal tübül yüzey alanı ölçüm (μm^2) verileri.

Grup	Distal tübül yüzey alanı ölçümü (Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma)
Kontrol (Grup 1)	2492.52 \pm 344.78 ^{c,d}
Zeytinyağı (Grup 2)	2362.15 \pm 359.304 ^{a,c,d}
Sham (Astaksaintin 75 mg) (Grup 3)	2299.48 \pm 322.09 ^{a,c}
Cisplatin (Grup 4)	4798.49 \pm 1848.47 ^b
Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5)	1508.07 \pm 311.16 ^{a,c,d}
Cisplatin+Astaksantin 75 mg (Grup 6)	2255.53 \pm 459.22 ^{a,c,e}
^a P >0.05kontrol grubuna göre ^b P <0.05kontrol grubuna göre ^c P <0.05cisplatin grubuna göre ^d P >0.05sham (astaksantin 75mg) grubuna göre ^e P >0.05cisplatin+Astaksantin 25 grubuna göre	

Şekil 20. Kaspaz-3 pozitif hücre sayısal yoğunluk ölçüm box-plot grafiği



Tablo 7. Kaspaz-3 pozitive ölçüm (mm³) verileri

Grup	Kaspaz-3 pozitive ölçümü (Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma)
Kontrol (Grup 1)	3.17±1.72 ^{c,d}
Zeytinyağı (Grup 2)	2.5±1.64 ^{a,c,d}
Sham (Astaksantin 75 mg) (Grup 3)	7.67±3.01 ^{a,c}
Cisplatin (Grup 4)	110.33±12.58 ^b
Cisplatin+Astaksantin 25 mg (Grup 5)	15.00±4.73 ^{a,c,d}
Cisplatin+Astaksantin 75 mg (Grup 6)	15.17±6.27 ^{a,c,e}

^aP >0.05kontrol grubuna göre
^bP <0.05kontrol grubuna göre
^cP <0.05cisplatin grubuna göre
^dP >0.05sham (astaksantin 75mg) grubuna göre
^eP >0.05cisplatin+Astaksantin 25 grubuna göre

5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Kanser kemoterapisinin amacı hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse onları yok etmektir. Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Bu nedenle çoğu kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerine de yan etkileri vardır ve bu etkiler ilaçların kullanımında kısıtlamalara yol açmaktadır (6).

Bu yan etkilerin ortaya çıkması sonucunda tedavi protokolü değiştirilebilmekte veya doz kısıtlamasına gidilebilmektedir. Ancak bu durumlar tedavi etkinliği açısından istenmeyen bir durumdur. Diğer bir seçenek ise istenmeyen bu yan etkileri önleyecek veya azaltacak diğer bir ajanın kullanılmasıdır ki bu da maliyeti oldukça arttıran bir seçenektir (101).

Antineoplastik ilaçlar arasında önemli bir yere sahip olan sisplatin testis, over, mesane, akciğer gibi solid organlara ait birçok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi nefrotoksitedir. Uygulanan hidrasyon tedavisi her zaman nefrotoksite gelişimini önleyememekte ve tedavinin kesilmesine neden olmaktadır (102,103).

Sisplatin hücre içi birçok sinyal ileti yolağını aktive ederek apoptoz, nekroz ve inflamasyona neden olur. Sisplatinin nefrotoksik etkisinin temelinde yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, oksidatif stresin önemli bir rolü olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Oksidatif hasar, hipoksi ve mitokondriyal hasar sisplatin nefrotoksitesinin patogenezinde yer alan önemli olaylardır. Bu mekanizmaların yanı sıra sisplatin böbrekte vasküler hasara yol açarak iskemiye, renal doku hasarına ve GFR'de azalma yaparak akut böbrek yetmezliğine neden olabilir (21,36).

Nefrotoksite patogenezinin aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalar sisplatin nefrotoksitesinin önlenmesinde yeni çözümler sunulmasına yardımcı olacaktır. Nefrotoksitenin önlenmesi ile ilgili; ilacın etki mekanizması ve patogeneze göz önünde bulundurularak birçok yol denenmiştir. Patogeneze oksidatif hasar önemli bir rol oynadığından bunu önlemeye yönelik çok sayıda antioksidan ajan çalışılmıştır (36,104). Biz çalışmamızı planlarken öncelikle sisplatin nefrotoksitesi üzerine antioksidan ajanların etkilerini araştıran çalışmaları inceledik.

Kanter ve ark.'nın yaptığı çalışmada sisplatin uygulanan sıçanlara E vitamini enjeksiyonu yapılmış, sıçanların böbrekleri ışık ve elektron mikroskopunda incelenmiştir. Uygulanan sisplatin ile renal tübüller ve Bowman kapsülünün bazal membranında

kalınlaşma, Bowman aralığında genişleme ve glomerül büyüklüğünde değişiklik, kortikomedüller bölgedeki tübüllerde genişleme, fırçamsı kenarlarda bozulma, mitokondriyal şişme ve interstisyel alanda infiltrasyon sahası izlenmiştir. E vitamini uygulaması ile bu değişikliklerin azaldığı ancak infiltrasyon odaklarının yer yer varlığını sürdürdüğü belirtilmiş, E vitamininin sisplatin nefrotoksisitesinde bulguların gerilemesinde etkili olduğu vurgulanmıştır (105). Benzer şekilde Söğüt ve ark.'nın yaptığı çalışmada E vitamininin sisplatin hasarını sınırlandırmak için glikoliz ve pentoz fosfat yolunu aktive ettiği kararına varılmıştır (106).

Francescato ve ark.'nın yaptığı çalışmada, sisplatin öncesi uygulanan güçlü bir antioksidan olan quercetin sığıçanlarda serum kreatinin düzeyindeki artışı önlediği ve renal hasarın daha az olduğu gösterilmiştir. Ayrıca quercetin sisplatin ile birlikte uygulandığında, sisplatine bağılı apoptotik etkiyi artırdığı ve bazen kemoterapötiklere karşı görülen rezistansın aşılmasına yardımcı olabileceği ileri sürülmüştür (107).

Son dönemdeki çalışmalarda sıklıkla araştırılan bir antioksidan olan likopenin, sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (108). Tapiero ve ark.'nın yaptığı çalışmada likopenin glutasyon, katalaz gibi antioksidanların düzeylerini artırdığı ve renal hasar parametrelerindeki değişiklikleri önlediği gösterilmiştir (109).

Minamiyama ve ark.'nın yaptığı çalışmada soya fasulyesi, susam, sitron, yeşil çay, lif ekstraktları, buğday, malt haline getirilmiş pirinç gibi işlenmiş gıdaların sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (110).

Abdel-Wahab ve ark.'nın yaptığı çalışmada taurinin memeli dokularında bulunan, sülfür içeren antioksidan bir bileşik olup sisplatine bağılı renal interstisyel fibroz gibi hasarları azalttığı gösterilmiştir (111,112).

Glutasyonun sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisi, hayvan çalışmaları ve klinik denemeler ile gösterilmiştir. Zunino ve ark.'nın sığıçanlarla yapılan bir çalışmada 6 mg/kg dozda uygulanan sisplatin enjeksiyonundan önce ve sonra 500 mg/kg glutasyon uygulanmış, 30 dk önce uygulanan glutasyonun sisplatinin renal toksisitesine karşı daha etkin koruma sağladığı gösterilmiştir (113).

Tapiero ve ark.'nın yaptığı çalışmada nöroprotektif bir radikal süpürücü olan edaravonun sığıçanlarda 3-10 mg/kg dozda verildiğinde sisplatine bağılı serum kreatinin düzeyindeki artışı anlamlı şekilde engellendiği gösterilmiştir (109).

Abdelrahman ve Nisar'ın arkadaşları ile yaptığı çalışmaları N-Asetil-Sistein uygulamasının sisplatinin böbreklerde oluşturduğu hemodinamik, biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri düzelttiği gösterilmiştir (114,115).

Literatürde yer alan bu ve benzeri çalışmalarda sispaltine bağı nefrotoksisite oluşumunda oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmüş, doğal ve sentetik antioksidanların toksik etkileri azaltabileceği gösterilmiştir (40,41,71). Bu bilgiler ışığında çalışmamızı planlarken antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin güçlü olması, literatürde sispaltin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisini değerlendiren çalışmaya rastlanmaması nedeniyle biz astaksantini seçtik.

Astaksantin *haematococcus pluvialis* adlı mikroalgden elde edilen, yüksek antioksidan, antiinflamatuvar, etki gösteren karotenoid pigmentdir. Astaksantin serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarına karşı beta karotenden ve E vitamininden daha etkilidir (3). Yapılan çalışmalarda astaksantin inflamasyonu azalttığı, immün yanıtı artırdığı gösterilmiştir (4,5).

Astaksantin biyolojik aktiviteleri arasında antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve antikarsinojenik, antianjiyogenik, nöroprotektif, immün modülatör, antidiyabet ve antiobezite etkileri olduğu literatürde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (116,117,118).

Tripathi ve Jena yapmış oldukları çalışmada sıçan karaciğerinde siklofosfamidin neden olduğu hasarda astaksantin toksik maddeden 3 gün önce uygulanmaya başlanması ve 4. gün toksik madde verilerek yaptıkları deneylerinde astaksantin karaciğerde koruyucu olduğunu görmüşlerdir (119).

Nakajima ve ark. ise yaptıkları çalışmada, retinal hücrelerde serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı üzerine astaksantin koruyucu etki yapması nedeniyle retinal bozukluklarda tedavi edici ilaç olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (120).

Mora ve ark. astaksantin gonad gelişimi ve oosit maturasyonu üzerine olumlu etki yaptığını (121), benzer bir çalışmada da Jang H.Y. ve ark. astaksantin in vitro embriyo gelişimini arttırdığını belirlemişlerdir. Astaksantin aynı zamanda apoptozisi önleyebildiğini de vurgulamışlardır (122).

Comhaire ve ark.'nın astaksantin insandaki infertiliteye etkisiyle ilgili olarak yaptıkları çalışmalarında 30 infertil erkeğe 3 ay boyunca diyet yoluyla uygulamışlar ve astaksantin Sertoli hücreleri tarafından inhibin B salgılanmasını artırarak sperm parametreleri ve fertilitte üzerine olumlu etkileri olduğunu görmüşlerdir (123). Ayrıca Tripathi ve Jena'nın çalışmasında siklofosfamid ile oluşturulan testis hasarında 5 hafta boyunca haftada 5 gün oral yolla verilen astaksantin sperm sayısı, sperm başı

morfolojisi, seminifer tübül çapı ve germ hücre sayısında görülen bozuk tabloda dolayısıyla testis hasarında belirgin bir düzelme olduğunu göstermişlerdir (124).

Literatürde yer alan bu ve benzeri çalışmalarda astaksantin antioksidan olarak karaciğer, göz, testis gibi çeşitli organlarda olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (125). Nefrotoksisite zerine olumlu etkileri gösteren çalışmalar da mevcuttur (3,4,5).

Gihlissi ve ark.'nın yaptığı çalışmada kolistin ile oluşturulan nefrotoksisitede astaksantin antioksidan özelliği ile koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (3). Wang ve ark.'nın yaptığı çalışmada inorganik arsenik ile oluşturulan nefrotoksisitede astaksantin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (4).

Augusti ve arkadaşları, civa kloridin böbreklerdeki oksidatif doku hasarı ve böbrek fonksiyonları bozukluklarının astaksantin ile düzeltilebildiğini göstermişlerdir (5).

Mosaad ve ark.'nın yaptığı çalışmada ratlarda oluşturulan gentamisine bağlı nefrotoksisitede astaksantin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Koruyucu etki, tedavi sonrası astaksantin uygulanmasına kıyasla, tedavi öncesi uygulanması durumunda daha belirgin saptanmıştır (126).

Sisplatin ile indüklenen böbrek hasarı çalışmalarında böbrekte dilate tübül, belli belirsiz glomerüller, dem, interstisyumda fokal inflamasyon alanları gibi değişiklikler izlenmiştir (127,128,129). Daha önce yapılmış bu çalışmalar ışığı altında biz de kendi çalışmamızda biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirme kriterleri belirledik.

Çalışmamızda ratlar sırasıyla kontrol (Grup 1), zeytinyağı kontrol grubu (Grup 2), astaksantin 75 mg (Grup 3), sisplatin (Grup 4), sisplatin + astaksantin 25 mg (Grup 5) ve sisplatin + astaksantin 75 mg (Grup 6) olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Ratlar 8 gün takip edilmiştir. Astaksantin 75 mg grubunda ratlara günlük 75 mg/kg astaksantin enjeksiyonu, sisplatin grubunda 5. gün 16 mg/kg sisplatin enjeksiyonu, sisplatin + astaksantin 25 mg grubunda günlük 25 mg/kg astaksantin ve 5. gün 16 mg/kg sisplatin enjeksiyonu, sisplatin + astaksantin 75 mg grubunda da günlük 75 mg/kg astaksantin ve 5. gün 16 mg/kg sisplatin enjeksiyonu, zeytinyağı kontrol grubuna sadece zeytinyağı enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonlar intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Uygulanan 16 mg/kg tek doz sisplatin ile ratlarda nefrotoksisite oluşturulmuştur. Bu yüksek doz sisplatin uygulamasının böbrek dokusunu ne oranda etkilediğini gösterebilmek için böbrek dokusu biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Sisplatin uygulaması ile oluşacak değişiklikleri astaksantin nasıl etkileyeceğini gözlemlemek amacıyla birer grup sıçana farklı dozda astaksantin uygulanmıştır.

Yapılan çalışmalarda sisplatinin böbrek dokusunda lipid peroksidasyonu oluşturarak oksidan/antioksidan parametrelerde anlamlı değişikliklere yol açtığı ve bir antioksidan olan erdosteine ile bu değişikliklerin vücudun yararına olacak şekilde düzeltildiği gösterilmiştir (130,131). Benzer şekilde bizim çalışmamızın biyokimyasal bulgularına baktığımızda sisplatin grubunda TAS seviyesi anlamlı olarak azalırken TOS seviyesi anlamlı olarak artmış, sisplatin + astaksantin 25 mg ve sisplatin + astaksantin 75 mg gruplarında TAS seviyesi anlamlı olarak artarken TOS seviyesi anlamlı olarak azalmış bulunmuştur. Yani astaksantin gruplarında antioksidan kapasitenin arttığı görülmüştür. Sonuçlarımıza göre sisplatin ile artan TOS ve azalan TAS hücrede oksidatif stresin yüksek olduğunu, nekroinflamasyonla birlikte hücre harabiyetinin olduğunu göstermektedir ve astaksantin'in ise bu hasarı önlemede güçlü bir antioksidan madde olduğu görülmektedir.

Ratların böbreklerinden alınan kesitlerin mikroskopik histopatolojik incelemesinde kontrol, zeytinyağı kontrol ve astaksantin 75 mg grubunda böbrek yapılarının tamamen normal yapıda olduğu izlenmiştir. Cisplatin grubunda böbrek korteks ve medullasının hasarlı yapıda olduğu, tübül nekrozla beraber yaygın tübül dilatasyonlar, proksimal ve distal tübüllerin epitel hücrelerinin nekrotik yapıda olduğu, proksimal ve distal tübülerde hiyalizasyon (cast formation) oluşumları ve peritübüller alanlarda belirgin kapiler konjesyonlar izlenmiştir. Bu da verilen sisplatin dozunun yeterli nefrotoksisite oluşturduğunun işaretidir. Bu değişiklikler sisplatin + astaksantin 25 mg ve sisplatin + astaksantin 75 mg gruplarında izlenmediği ve böbrek dokusunun tipik histolojik yapı özellikleri sergilediği görülmüş ve her iki grup arasında fark görülmemiştir. Çalışmamızda sisplatin ile birlikte astaksantin verilen deneklerde, bu antioksidanın sisplatinin açığa çıkardığı serbest oksijen radikallerini süpürmesi sonucu oksidatif hasar kısmen engellenmiş olacağından hasarlar da engellenme oranında ortadan kalkmış gibi görünmektedir.

İmmunohistokimyasal incelemede pozitif immün hücre sayısal yoğunluğu sisplatin grubunda anlamlı olarak artmış bulunurken diğer tüm gruplarda tübül hücrelerinin immün negatif olduğu ve gruplar arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Bulgular doğrultusunda istatistiksel analiz yapıldığında sisplatin grubunda renal korpüskül, proksimal ve distal tübül yüzey alanı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer bir veri ise uygulanan düşük doz (25 mg) ve yüksek doz (75 mg) astaksantin'in nefrotoksisitenin önlenmesi açısından anlamlı bir fark

oluşturmadığıdır. Çözücü olarak kullanılan zeytinyağının da nefrotoksisite üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı izlenmemiştir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen verilere göre, geniş kullanıma sahip bir antineoplastik ilaç olan sislptatin ile birlikte astaksantin kullanıldığında sislptatinin nefrotoksik etkisine bağlı olarak böbreklerde oluşan fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin şiddetinin anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Ancak kliniğe etkisinin görülebilmesi için astaksantin daha çok ve uzun süreli çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir. Yapılacak bu detaylı çalışmalar, tedavinin başarısı ve sonuç olarak hastalara daha iyi bir hayat kalitesi sunulması açısından büyük önem taşımaktadır.



6. KAYNAKLAR

1. Elsherbiny NM, Eladl MA, Al-Gayyar MM. Renal protective effects of arjunolic acid in a cisplatin-induced nephrotoxicity model. *Cytokine*. 2016 Jan;77:26-34.
2. Yapar K, Cavuşoğlu K, Oruç E, Yalçın E. Protective effect of royal jelly and green tea extracts effect against cisplatin-induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. *J Med Food*. 2009 Oct;12(5):1136-42
3. Ghilissi Z, Hakim A, Sila A, Mnif H, Zeghal K, Rebai T, Bougatef A, Sahnoun Z. Evaluation of efficacy of natural astaxanthin and vitamin E in prevention of colistin-induced nephrotoxicity in the rat model. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014 May;37(3):960-6.
4. Wang X, Zhao H, Shao Y, Wang P, Wei Y, Zhang W, Jiang J, Chen Y, Zhang Z. Nephroprotective effect of astaxanthin against trivalent inorganic arsenic-induced renal injury in wistar rats. *Nutr Res Pract*. 2014 Feb;8(1):46-53.
5. Augusti PR, Conterato GM, Somacal S, Sobieski R, Spohr PR, Torres JV, Charão MF, Moro AM, Rocha MP, Garcia SC, Emanuelli T. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *Food Chem Toxicol*. 2008 Jan;46(1):212-9.
6. Kintzel PE. Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety* 2001; 24:19-38.
7. Boogaard PJ, Nagelkerke JF, Mulder GJ: Renal proximal tubular cells in suspension or in primary culture as in vitro models to study nephrotoxicity. *Chem. Biol. Interact* 1990; 76: 281-291.
8. Fillastre JP, Godin M. Drug-induced nephropathies. In Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP, et al. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. New York: Oxford University 1998; 2645-2657.
9. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31-41.
10. Meister LA, Meadows AT. Late effects of childhood cancer therapy. *Curr Probl Pediatr* 1993; 23,102-131.
11. Ikarashi Y, Kakihara Y, Imai C et al. Glomerular dysfunction, independent of tubular dysfunction, induced by antineoplastic chemotherapy in children. *Pediatrics International* 2004; 46: 570-575.

12. Seiler MW, Rennke HG, Venatachalam MA, Cotran RS. Pathogenesis of polycation-induced alteration's 'fusion' of glomerular epithelium. *Lab. Invest* 1977; 36:48-61.
13. Andrews P. Morphological alterations of the glomerular (visceral) epithelium in response to pathological and experimental situations. *J Electron Microsc Tech* 1988; 9: 115-124.
14. Watanabe A, Kakihara T, Hara M et al. Morphological differences between glomerular epithelial cells (GEC) excreted during chemotherapy with antineoplastic drugs and GEC excreted in renal diseases. *Pediatr. Int* 2001; 43: 587-591.
15. Mehmet Ali Erkurt, İrfan Kuku, Emin Kaya, İsmet Aydoğdu. Kanser Kemoterapisi ve Böbrek. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2009; 16 (1) 63-68.
16. Cvitkovic E, Spaulding J, Bethune V, Martin J, Whitmore WF. Improvement of cisdichlorodiammineplatinum (NSC 119875): therapeutic index in an animal model. *Cancer* 1977; 39: 1357-1361.
17. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584.
18. Lebowhl D, Canetta R. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1522-1534.
19. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Carbonero RG, Calabresi P. Antineoplastic Agents 2001: 1432-1434.
20. Parker RJ, Gill I, Tarone R, Vionnet JA, Grunberg S, Muggia FM, et al. PlatinumDNA damage in leukocyte DNA of patients receiving carboplatin and cisplatin chemotherapy, measured by atomic absorption spectrometry. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1253-1258.
21. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int.* 2008;73(9):994-1007.
22. DeConti RC, Toftness BR, Lange RC, Creasey WA. Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1973; 33: 1310-1315.
23. Boulikas T, Vougiouka M. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. *Oncol Rep* 2003; 10: 1663-1682.
24. Kayaalp SO. *Tıbbi farmakoloji. Cilt-1. 9. Baskı. Ankara: Hacettepe-taş,2000.*
25. Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol.* 1999;17(1):409-22.
26. Casper ES, Kelsen DP, Alcock NW, Young CW. Platinum concentrations in bile and plasma following rapid and 6-hour infusions of cis-dichlorodiammineplatinum (II). *Cancer Treat Rep* 1979; 63: 2023-2025.

27. Sweetman SC. Martindale: The Complete Drug Reference. 36th. Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
28. Cooley ME, Davis LE, DeStefano M, Abrahm J. Cisplatin: a clinical review. Part I Current uses of cisplatin and administration guidelines. *Cancer Nursing* 1994; 17: 173-184.
29. Anand AJ, Basbey B. Newer insights into cisplatin nephrotoxicity. *Ann Pharmacother* 1993;23:1519-1527.
30. Edson RS, Terrell CL. The aminoglycosides: streptomycin, kanamycin, gentamicin, tobramycin, amikacin, netilmicin and sisomicin. *Mayo Clin Proc.* 1987 Oct;62(10): 916-20.
31. Goren MP, Wright RK, Horowitz ME, Pratt CB. Ifosfamide-induced subclinical nephrotoxicity despite MESNA. *Cancer Treat Rep* 1987; 71: 127-130.
32. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003;23:460-4.
33. Hanigan MH, Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Ther.* 2003;1:47-61.
34. Kuhlmann MK, Burkhardt G, Kohler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2478-2480.
35. Ludwig T, Riethmuller C, Gekle M, Schwerdt G, Oberleithner H. Nephrotoxicity of platinum complexes is related to basolateral organic cation transport. *Kidney Int* 2004; 66: 196-202.
36. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci.* 2007; 334(2): 115-124.
37. Kroning R, Lichtenstein AK, Nagami GT. Sulfur-containing amino acids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;45:43-9.
38. Qian W, Nishikawa M, Haque AM, Hirose M, Mashimo M, Sato E, Inoue M. Mitochondrial density determines the cellular sensitivity to cisplatin-induced cell death. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2005;289:C1466-C1475.
39. Gullans SR, Mandel LJ. Coupling of energy transport in proximal and distal nephron. In *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 3rd ed., Seldin DW, Giebisch G, Eds.; Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia, PA, USA, 2000; Volume 1, pp.445-482.
40. Townsend DM, Deng M, Zhang L, Lapus MG, Hanigan MH. Metabolism of cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. *JASN* 2003; 14: 1-10.

41. Masuda H, Tanaka T, and Takahama U. Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. *Biochem Biophys Res Commun.*1994; 203:1175–1180.
42. Chang B, Nishikawa M, Sato E, Utsumi K, Inoue M. L-Carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch Biochem Biophys.* 2002; 405: 55–64.
43. Brady HR, Kone BC, Stromski ME, Zeidel ML, Giebisch G, Gullans SR. Mitochondrial injury: An early event in cisplatin toxicity to renal proximal tubules. *Am J Physiol.* 1990; 258:F1181–F1187
44. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Ueda N, Shah SV. Role of cytochrome P-450 as a source of catalytic iron in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int.* 1998; 54: 1562–1569.
45. Rankin GO. Cisplatin- nephrotoxicity, in *Toxicology of the kidney*. 3rd Edition. Tarloff J, Lash L, eds. CRC Press.2005.
46. Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, Kohda Y, Gemba M. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to Cisplatin-related renal cell injury. *J Pharmacol Sci.* 2006;100:65–72.
47. Yilmaz HR, Iraz M, Sogut S, Ozyurt H, Yildirim Z, Akyol O, Gergerlioglu S. The effects of erdosteine on the activities of some metabolic enzymes during cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2004;50: 287–90.
48. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates Cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2683–90.
49. Kadikoylu G, Bolaman Z, Demir S, Balkaya M, Akalin N, Enli Y. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. *Hum Exp Toxicol.* 2004;23: 29–34
50. Chirino YI, Hernández-Pando R, Pedraza-Chaverrí J. Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacol.* 2004;4: 20.
51. Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci.* 2005;76(18):2125-35.
52. Mohan IK, Khan M, Shobha JC, Naidu MU, Prayag A, Kuppusamy P, Kutala VK. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by Spirulina in rats. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006 Dec;58(6):802-8.

53. Naziroglu M, Karaoğlu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*. 2004 Feb 15;195(2-3):221-30.
54. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004; 37(2): 112-9.
55. Ramesh G, Kimball SR, Jefferson LS, Reeves WB. Endotoxin and cisplatin synergistically stimulate TNF-alpha production by renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292(2): F812–F819.
56. Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, Ljubanovic D, Hoke TS, Somerset H, Oh DJ, Lu L, Klein CL, Dinarello CA, Edelstein CL. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 322(1): 8–15.
57. Dong Z, Atherton SS. Tumor necrosis factor-alpha in cisplatin nephrotoxicity: a homebred foe? *Kidney Int* 2007; 72: 5–7.
58. Ramesh G, Reeves WB. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor-alpha. *Kidney Int* 2004;65: 490–9.
59. Yamate J, Sato K, Ide M, et al. Participation of different macrophage populations and myofibroblastic cells in chronically developed renal interstitial fibrosis after cisplatin-induced renal injury in rats. *Vet Pathol* 2002; 39: 322-333.
60. Santos NA, Catao CS, Marrtins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state imbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arch Toxicol* 2007;81:495-504.
61. DeConti R, Toftness B, Lange R, Creasey W. Clinical and pharmacological studies with cis-Diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1973; 33: 1310-1315.
62. Kim SW, Lee JU, Nah MY, Kang DG, Ahn KY, Lee HS, et al. Cisplatin decreases the abundance of aquaporin water channels in rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 875-882
63. Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Christensen S, Jonassen T, Daugaard G. Magnesium and potassium homeostasis during cisplatin treatment. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 55: 231-236.
64. Cao L, Joshi P, Sumoza D. Renal salt-wasting syndrome in a patient with cisplatin-induced hyponatremia: case report. *Am J Clin Oncol* 2002; 25: 344-346.

65. Oeffinger KC, Hudson MM. Long-term complications following childhood and adolescent cancer: foundations for providing risk-based health care for survivors. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 208-236.
66. Jackson AM, Rose BD, Graff LG, Jacobs JB, Schwartz JH, Strauss GM, et al. Thrombotic microangiopathy and renal failure associated with antineoplastic chemotherapy. *Ann Intern Med* 1984; 101: 41-44.
67. Wood PA, Hrushesky WJ. Cisplatin-associated anemia: an erythropoietin deficiency syndrome. *J Clin Invest* 1995; 95: 1650-1659.
68. Cornelison TL, Reed E. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin and ormaplatin. *Gynecol Oncol* 1993;50:147-58.
69. Santoso JT, Lucci JA 3rd, Coleman RI, et al. Saline, mannitol and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003;52:13-18.
70. Daley-Yates PT, McBrien DC. A study of the protective effect of chloride salts on cisplatin nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 2363-2369.
71. Halliwell, B., 1990, How to characterize o biological antioxidant, *Free Radic Res Commun*, 9(1): 1-32 p.
72. Astorg, P.: Food Carotenoids and Cancer Prevention An Overview of Current Research. *Trend Food Science and Technol.* 12(8), 406-413,1997.
73. Bağdatlıoğlu, N., Demirbükler, B.: Gıda işlemede karotenoidlerde meydana gelen gelişmeler. *Gıda.* 9: 48-51,1999.
74. Yeşilayer, N., Doğan, G. ve Erdem, M., 2008, Balık Yemlerinde Doğal Karotenoid Kaynaklarının Üretimi, *Journal of Fisheries*, 2(3):241-251 p.
75. Gök, V., Kayacıer, A, Telli R.: Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı antioksidanlar. *Gıda teknolojileri dergisi* (2): 35-40,2006
76. Boussiba, S. (1999). Carotenogenesis in the Green Alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular Physiology and Stress Response, *Physiologia Plantarum* 108: 111-117.2000.
77. Masojidek, J., Torzillo, G., Kopecky, J., Koblizek, M., Nidiaci, L., Komenda, J., Lukavska, A., Sacchi, A., (2000). Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green alga *Chlorococcum* sp. grown under nitrogen deficiency and salinity stress, *Journal Applied Phycology*, 12: 417–426.
78. Torzillo, G. T., Göksan, C., Faraloni, J., Kopecky, J. Masojidek. (2003). Interplay between photochemical activities and pigment composition in an outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* during the shift from the green to red stage. *J. Applied Phycol.*, 15: 127-136.

79. Choi, H.D., et al., Effects of astaxanthin on oxidative stress in overweight and obese adults. *Phytother Res*, 2011. 25(12): p. 1813-8
80. Osterlie, M., Bjerkeng, B., Liaaen-Jensen, S. (1999). Accumulation of astaxanthin all-E, 9Z and 13Z geometrical isomers and 3 and 3' RS optical isomers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is selective. *J. Nutr.* 129, 2, 391-8.
81. Olaizola, M., Huntley, M.E., 2002, Recent advances in commercial production of Astaxanthin from microalgae (Eds: Fingerman, M., Nagabhushanam, R.), *Biomaterials and Bioprocessing*, Enfield, NH: Science Publishers.
82. Tinkler, J. H., Bohm, F., Schalch, W., Photochem J., Photobiol B., and Truscott, T.G., 1994, Dietary carotenoids protect human cells from damage, 26, 283-285 p.
83. Menteşe, A., Türkmen, S., Karagüzel, E., Karaca, Y., Tatlı, Ö., Uzun, Sümer, A., Yulug, E. and Turedi, S., 2012, The Predictive Value of Ischemia-modified Albumin in Long-term Results of Ischemia-reperfusion Injury in an Experimental Testicular Torsion Model, *Urology*, 80(3):68994 p
84. Kobayashi, M., Kakizono, T., and Nagai, S., 1992, Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*, *J. Ferment. Bioeng.*, 74: 61-63.
85. Bar, E., Rise, M., Vishkautsan, M. and Arad, So, 1995, Pigment and structural changes in *Chlorella zofingiensis* upon light and nitrogen stress, *Journal of Plant Physiology*, 146: 527—534.
86. Bon, J.A., Leathers, T.D. and Jayaswal, R.K., 1997. Isolation of astaxanthin-overproducing mutants of *Phaffia rhodozyma*, *Biotechnology Letters*, 19: 109—112.
87. Fraser, P.D., Miura, Y., and Misawa, N., 1997, In vitro characterization of astaxanthin biosynthetic enzymes, *J. Biol Chem*, 272: 6128-6135.
88. Denizci, A.A., 1990, *Phaffia rhodozyma* mayası ile astaksantin pigmentinin üretimi ile ilgili bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir.
89. Orasa, M., Valero, J.F., and Abalde, J., 2001, Comparison of the accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* and other green microalgae under N-starvation and high light conditions, *Biotechnology Letters*, 23: 1079-1085
90. Yuan, J.P, and Chen, F., 2000, Purification of trans- astaxanthin from a highyielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*, *Food Chemisfry*, 68:443-448.

91. Chen, Y., Li, De, and Lu, We, 2003, Screening and characterization of astaxanthin-hyperproducing mutants of *Haematococcus pluvialis*, *Biotechnology Letters*, 25: 527-529.
92. Fabregas, J., Dominguez, A., and Regueiro, M., 2000, Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*, *Appl. Microbiol Biotechnol*, 53: 530-535.
93. Hagen, Co, Grünewald, K, and Rothe, E., 2001, Effect of cultivation parameters on and pigment biosynthesis in flagellated cells of *Haematococcus pluvialis*, *Journal of Applied Phycology*, 13:79-87.
94. Anderson, M., 2001, Method of inhibiting 5- α -reductase with astaxanthin to prevent and treat benign prostate hyperplasia (BPH) and prostate cancer in human males. US Patent No: 6277417.
95. Guerin, Me, Huntley, M.E. and Olaizola, Me, 2003, *Haematococcus astaxanthin*: applications for human health and nutrition, *Trends in Biotechnology*, 21: 210-216.
96. Elwinger, K, Lignell, A. and Wilhelmson, M., 1997, Astaxanthin rich algal meal (*Haematococcus pluvialis*) as carotenoid source in feed for laying hens, in: *Proceedings of the VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*, Poman, Poland, pp. 52-59
97. Johnson, E.A., and Schroeder, W.A., 1996, *Biotechnology of astaxanthin production in Phaffia rhodozyma*, *Biotechnol. Improved Food Flavors*, 637: 39-50.
98. Lorenz, T., (1999). A technical review of *Haematococcus* algae, *Naturese Technical Bulletin*, 060: 9 pages
99. T. Mercantepe, D. Unal, J. Selli, F. Mercantepe, B. Unal, Protective effects of estrogen and bortezomib in kidney tissue of post-menopausal rats: an ultrastructural study, 6049 (2016). doi:10.1080/0886022X.2016.1184958.
100. Erel, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
101. Weichert-Jacobsen KJ, Bannowski A, Küppers F, Loch T, Stöckle M. Direct amifostine effect on renal tubule cells in rats. *Cancer Res* 1999; 59: 3451–3453.
102. Weiner, M.W and Jacobs, C.: Mechanism of cisplatin nephrotoxicity. *Fed Proc* ,1983; 42:2974-2978.
103. Goldstein, RS and Mayor GH.:The nephrotoxicity of cisplatin.*Life Sci* ,1983;32:685-690.

104. Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1173-1183
105. Kanter M, Taladaçalışır Y, Uygun M. Cisplatin nefrotoksisitesinde E vitamininin koruyucu etkileri: ışık ve elektron mikroskopik çalışma. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 2007;5:83-90.
106. Söğüt S, Yılmaz HR, Songur A. Sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 2004;2: 23-28.
107. Francescato HD, Coimbra TM, Costa RS, Bianchi Mde L. Protective effect of quercetin on the evolution of cisplatin- induced acute tubular necrosis. *Kidney Blood Press Res* 2004; 27:148–158.
108. Atessahin A, Yılmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatininduced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 2005; 212:116-23.
109. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmac- other* 2004; 58:100–110.
110. Minamiyama Y, Takemura S, Toyokuni S, Nishino Y, Yamasaki K, Hai S. Amelioration of cisplatin toxicity by a fermented grain food product. *Biofactors* 2002; 16: 105–115.
111. Abdel-Wahab WM, Moussa FI, Saad NA. Synergistic protective effect of N-acetylcysteine and taurine against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2017; 11: 901–908
112. Saad SY, Najjar TA, Daba MH, Al-Rikabi AC. Inhibition of nitric oxide synthase aggravates cisplatininduced nephro- toxicity: effect of 2-amino-4methylpyridine. *Chemotherapy* 2002; 48:309–315.
113. Zunino F, Pratesi G, Micheloni A, Cavaletti E, Sala F, Tofanetti O. Protective effect of reduced glutathione against cisplatin induced renal and systemic toxicity and its influence on the therapeutic activity of the antitumor drug. *Chem Biol Interact* 1989; 70:89-101.
114. Abdelrahman AM, Al Salam S, AlMahruqi AS, Al husseni IS, Mansour MA, Ali BH. N-acetylcysteine improves renal hemodynamics in rats with cisplatininduced nephrotoxicity. *J Appl Toxicol* 2010; 30:1521.

115. Nisar S, Feinfeld DA. N-acetylcysteine as salvage therapy in cisplatin nephrotoxicity. *Ren Fail* 2002; 24:529-533.
116. Hussein, G., et al., Antihypertensive and neuroprotective effects of astaxanthin in experimental animals. *Biol Pharm Bull*, 2005. 28(1): p. 47-52.
117. Ikeuchi, M., et al., Effects of astaxanthin in obese mice fed a high-fat diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007. 71(4): p. 893-9.
118. Naito, Y., et al., Prevention of diabetic nephropathy by treatment with astaxanthin in diabetic db/db mice. *Biofactors*, 2004. 20(1): p. 49-59.
119. Tripathi D.N. and Jena G.B, 2008, Astaxanthin Inhibits Cytotoxic And Genotoxic Effects Of Cyclophosphamide In Mice Germ Cells, *Toxicology*, 27; 248(2-3): 96-103 p.
120. Nakajima, Y., Inokuchi, Y., Shimazawa, M., Otsubo, K., Ishibashi, T. and Hara, H., 2008, Astaxanthin, a Dietary Carotenoid, Protects Retinal Cells Against Oxidative Stress in-vitro and in Mice in-vivo, *J Pharma Pharmacol*, 60(10):1365-74 p.
121. Mora G.I., Arredondo-Figueroa J.L., Barriga-Sosa Ide L., Bazan-Arias J., Vernon-Carter J., 2004, Effect of the dietary incorporation of caretenoid pigments on gonad development and oocyt maturity in females of rainbow trout, *Arch. Latinoam Nutr.*, 54, 235-240 p.
122. Jang H.Y., Ji S.J., Kim Y.H., Lee H.Y., Shin J.S., Cheong H.T., Kim J.T., Park I.C., Kong H.S., Park C.K. and Yang B.K., 2010, Antioxidative Effects of Astaxanthin against Nitric Oxide Induced Oxidative Stress on Cell viability and Gene Expression in Bovine Oviduct Epithelial Cell and the Developmental Competence of Bovine IVM/IVF Embryos, *Reprod Domest Anim*, 45(6): 967-74 p.
123. Comhaire, F.H., El Garem, Y., Mahmoud, A., Eertmans, F. and Schoonjans, F., 2005, Combined conventional/antioxidant "Astaxanthin" treatment for male infertility: a double blind, randomized trial., *Asian J Androl*, (3):257-62 p.
124. Tripathi, D.N. and Jena, G.B., 2009, Astaxanthin intervention ameliorates cyclophosphamide-induced oxidative stress, DNA damage and early hepatocarcinogenesis in rat: Role of Nrf2, p53, p38 and phase-II enzymes, *Mutat Res*, 696(1):69-80 p.
125. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Sisplatin toksisitesi: Oksidatif stresin önemi ve antioksidanların etkisi. *Gst Tıp Fak Derg* 2010; 73:3.
126. Mosaad YO, Gobba NA, Hussein MA, Astaxanthin; a Promising Protector Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016;17(13):1189-1197.

127. 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.
128. Ozyurt H, Yildirim Z, Kotuk M, Yilmaz HR, Yağmurca M, Iraz M, Söğüt S, Gergerlioglu S. Cisplatin-induced acute renal failure is ameliorated by erdosteine in a dose-dependent manner. *J Appl Toxicol.* 2004;24:269-275.
129. Işeri S, Ercan F, Gedik N, Yüksel M, Alican I. Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Toxicology.* 2007;230:256-264.
130. Yildirim Z, Söğüt S, Odacı E, et al. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 149-156
131. Söğüt S, Kotuk M, Yilmaz HR, Ulu R, Ozyurt H, Yildirim Z. In vivo evidence suggesting a role of purine-catabolizing enzymes in the pathogenesis of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats and effect of erdosteine against this toxicity. *Cell Biochem Funct.* 2004; 22(3): 157-62.

7. ÖZGEÇMİŞ

Görkem AKÇA, 06/04/1986 yılında Tokat'ta doğdu. İlköğrenimi 1997 yılında Niksar ilçesinde Ulucan ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini 2004 yılında Niksar Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2004 yılında yükseköğrenimi için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ne başlamış ve 2010 yılında mezun olmuştur. Tokat Yeşilyurt İlçe Hastanesi'nde 3 ay pratisyen hekim olarak çalışmıştır. Aralık 2011'de uzmanlık eğitimi için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Ana Bilim Dalına başlamıştır. Halen burada öğrenimini sürdürmektedir. Orta derecede İngilizce bilen Görkem AKÇA evlidir.

Bilimsel Çalışmaları ve Yayınları;

1. Zorba O., Oğullar S., Yazar S., Akça G., "CT-Based Determination of Ureteral Stone Volume: A Predictor of Spontaneous Passage." JOURNAL OF ENDOUROLOGY, vol.30, pp.32-6, 2016
2. Zorba O., Uzun H., Akça G., Yazar S., "The Effect of Different Metabolic Syndrome: Definitions on the Relationship Between Metabolic Syndrome and LUTS in Men With Benign Prostatic Enlargement.", AMERICAN JOURNAL OF MENS HEALTH, 2016
3. Uzun H., Oğullar S., Baydur Şahin S., Zorba O.Ü., Akça G., Sumer F., et al., "Increased Bladder Wall Thickness in Diabetic and Nondiabetic Women With Overactive Bladder.", INTERNATIONAL NEUROUROLOGY JOURNAL, vol.17, pp.67-72, 2013
4. Uzun H., Oğullar S., Şehitoğlu İ., Akça G., Zorba O.Ü., "Testis sparing surgery in a case of small unilateral testicular cancer." Turkish journal of urology, vol.39, pp.270-3, 2013
5. Zorba O.Ü., Akça G., Önem K., "Transobturator, Retropubik Slingler", Üriner İnkontinans: Tanı ve Tedavi, Onur R, Bayrak Ö, Ed., Nobel Tıp Kitabevi Yayınları, İstanbul, ss.456-464, 2015
6. Zorba O.Ü., Akça G., Yazar S., "Üretral Anomaliler", Üreter ve Üretranın Hastalıkları ve Tedavileri, Büyükalpelli R, Erdemir F, Aşçı R, Bolat MS, Ed., İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul, ss.503-508, 2015
7. Zorba O.Ü., Yazar S., Akça G., "Üriner Traktın Görüntülenmesi: Temel Prensipler", Campbell-Walsh Üroloji, Yaman Ö., Güneş Tıp Kitabevi, İstanbul, ss.99-139, 2014

8. Akça G., Zorba O.Ü., “Metabolik sendromlu olan ve olmayan postmenopozal kadınlarda cinsel işlev bozukluğu prevalansı”, ANDROLOJİ BÜLTENİ, Sayı 51, ss.276, Aralık 2012
9. Akça G., Zorba O.Ü., “9-HC-6-one penis ereksiyonunu ve ejakulasyon gecikmesini indükler”, ANDROLOJİ BÜLTENİ, Sayı 49, ss.110, Haziran 2012

