

**T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNE KARŞI AGMATİNE'İN
KORUYUCU ETKİSİNİN Tc-99m DMSA UPTAKE'İ VE SERUM
SİSTATİN C İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tarık ELRİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Y. Sami SALİHOĞLU

ZONGULDAK

2013

**T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNE KARŞI AGMATİNE'İN
KORUYUCU ETKİSİNİN Tc-99m DMSA UPTAKE'İ VE SERUM
SİSTATİN C İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tarık ELRİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Y. Sami SALİHOĞLU**

**ZONGULDAK
2013**

TEZ ONAY TUTANAĞI


Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Sisplatin Nefrotoksitesine Karşı Agmatine'in Koruyucu Etkisinin Tc 99m DMSA Uptake'i ve Serum Sistain C İle Değerlendirilmesi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Tark ELRİ

Tez Savunma Tarihi: 25/05/2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALİHOĞLU


Doç. Dr. Mehmet ÇABUK
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALİHOĞLU
Üye


Yrd. Doç. Dr. Rabiye USLU
Üye

UYGUNDUR
08/07/2013

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehmet ÇABUK'a; eğitimimde ve tez çalışmamın yürütülmesindeki değerli katkıları, sabrı ve hoşgörüsü için tez danışmanım değerli hocam Yrd. Doç Dr. Y. Sami SALİHOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesi ve yazılması sürecindeki değerli yardımları için Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Kanat GÜLLE'ye, Yrd. Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH'a ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Murat CAN'a; istatistik çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Füruzan KÖKTÜRK'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca tez konumun belirlenmesi sürecindeki değerli katkıları için Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum kısa sürede bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Rabiye USLU'ya; eğitimimin bir döneminde birlikte çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Uzm. Dr. Kevser KAVAK ve Uzm. Dr. Duygu YÖRÜK ATİK'e; uzmanlık eğitimim boyunca birlikte uyum içinde çalıştığım asistan arkadaşım, değerli dostum Dr. Turgay SOLAK'a ve anabilim dalımızın değerli çalışanlarına teşekkür ederim.

Zor zamanlarımda sabır ve desteğini esirgemeyen eşime ve bana sıkıntılarımı unutturan, mutluluk kaynağım olan oğullarıma ayrıca teşekkür ederim.

ÖZET

Elri T, Sisplatin Nefrotoksisitesine Karşı Agmatine'in Koruyucu Etkisinin Tc-99m DMSA Uptake'i ve Serum Sistatin C ile Değerlendirilmesi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Tezi. Zonguldak, 2013.

Amaç: Sisplatin nefrotoksik etkisi olduğu bilinen, ancak kanser tedavisinde yaygın kullanım alanı olan etkili bir anti tümör ajandır. Nefrotoksik etkisini azaltıcı ajanların geliştirilmesi ilgi duyulan bir araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Böylelikle halen klinikte en çok tercih edilen kemoterapötik ilaçlardan biri olan bu ajanın güvenle ve daha etkin kullanımı mümkün olacaktır.

Agmatin, hipoksik-iskemik beyin hasarında, diğer nöronal hasarlarda ve akut iskemiye bağlı renal hasarda koruyucu etkisi gösterilmiş bir ajandır. Ancak literatürde sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızın amacı sisplatin nefrotoksisitesinin erken tespitinde ve agmatinin bu komplikasyona karşı koruyucu etkisini değerlendirmede sintigrafik yöntemin katkısını, biyokimyasal yöntemler ve histolojik bulgular eşliğinde değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Wistar Albino cinsi ratlar her biri 8 hayvandan oluşan 4 grupta ayrılmıştır: 1) Serum fizyolojik verilen, 2) Agmatin verilen, 3) Sisplatin verilen ve 4) Sisplatin ile birlikte agmatin verilen. İlaç uygulama döneminin sonunda tüm deneklerin kan örneklerinden plazma kreatinin, üre ve serum sistatin c düzeylerinin ölçülmüştür. Tc-99m DMSA ile sintigrafik görüntüleme ve in vitro doku uptake ölçümleri yapılmıştır. Bu işlemlerin sonunda ratların böbrekleri çıkarılarak histopatolojik olarak incelenmiştir.

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi yapılarak; sisplatinin sebep olduğu nefrotoksisitenin erken tespitinde sintigrafik yöntemlerin ve serum sistatin C seviyelerinin etkinliği ile agmatinin sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisi değerlendirilmiştir.

Bulgular: Sisplatin uygulanan grupta biyokimyasal, sintigrafik ve histolojik bulgular sisplatin nefrotoksisitesini desteklemekteydi. Bu grupta serum üre, kreatinin ve sistatin c düzeyleri anlamlı olarak artmış; Tc-99m DMSA uptake'inin ise anlamlı derecede azalmış olduğu saptandı. Ayrıca yaygın proksimal tübül hasarının yanı sıra

glomerüler hasar bulguları da gözlemlendi. Agmatin uygulanan grupta biyokimyasal, sintigrafik ve histopatolojik olarak kontrol grubuna benzer sonuçlar elde edildi. Sisplatin ile beraber agmatin uygulanan grupta histopatolojik ve sintigrafik olarak kontrol grubu ile anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır. Sisplatin grubu ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı, büyük oranda düzelme izlenmiştir. Biyokimyasal indekslerden serum sistatin c düzeylerinde de histopatolojik ve sintigrafik bulgular ile paralel sonuçlar elde edilmiş olup sisplatin+ agmatin grubunda kontrol grubuna göre hafifçe artış gözlenmekle birlikte istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Serum kreatinin ve BUN değerleri ise sisplatin+ agmatin uygulanan grupta kontrol grubundan farklılık göstermemektedir.

Sonuç: Bu çalışmada agmatinin sisplatin nefrotoksitesini üzerinde koruyucu etkisinin olduğu Tc-99m DMSA uptake'i, histopatolojik ve biyokimyasal yöntemlerle ortaya konmuştur. Ayrıca sintigrafik yöntem düşük doz sisplatin uygulaması sonrası erken dönemde nefrotoksitesiyi saptamada başarılı bulunmuştur. Bu basit in vivo- in vitro radyofarmasötik modelin sisplatin gibi nefrotoksik ajanlara karşı potansiyel renoprotektif ajanların etkinliğinin değerlendirilmesinde önemli katkısı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, agmatin, Tc-99m DMSA, nefrotoksitesite, sistatin C

ABSTRACT

Elri T, Evaluation of Protective Effect of Agmatine Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity with Tc-99m DMSA Uptake and Serum Cystatin C, Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Thesis in Nuclear Medicine, Zonguldak 2013.

Objective: Cisplatin is a nephrotoxic but an effective anti-tumor agent which widely used for treating cancer. There is still a great interest in developing new agents to reduce it's nephrotoxicity. So it will be provide to use safely and more effective of this agent which is stil one of the most preferred chemotherapeutical drug clinically. Agmatine is a molecule which has shown protective effect against hypoxic-ischemic brain injury, other neuronal injuries and ischemic acute renal injury. But stil there is no reported study has known about effect of agmatine against cisplatin-induced nephrotoxicity. The aim of our study is assesment of Tc-99m DMSA uptake to early detection of cisplatin-induced nephrotoxicity and protective effect of agmatine against this complication with biochemical and histological findings.

Method: Wistar albino rats will be divided into four grous of eight animals each: 1) Saline (control); 2) Agmatine (AGM; 10mg/kg intraperitoneally); 3) Cisplatin (CIS; 7.5mg/kg intraperitoneally); 4) Cisplatine plus agmatine (CIS+ AGM). Agmatine will be injected 5 minutes before cisplatin and daily for 2 days alone in Group 4. After drug administration period, blood samples will be obtained and stored at optimal conditions. Tc-99m DMSA uptake and scintigraphy will be performed. Then rats will be killed and the kidneys will be removed by dissection. Renal tissues will be stored at optimal conditions for histopathological assesment. Renal function tests will be assessed by serum blood urea nitrogen (BUN), creatinine levels, serum cystatin C levels as well as scintigraphic and invitro ttissue radioactivity measurements with Tc-99 m DMSA.

Obtained data will be analyzed statisticaly. Effectiveness of Tc-99m DMSA uptake and serum cystatin-c level to early detect of cisplatin-induced nephrotoxicity and protective effect of agmatine against this complication will be assesed.

Results: Scintigraphic, biochemical and histopathological findings were compatible with nephrotoxicity in cisplatin administered group. Significant increase of serum BUN, creatinine and cystatin c and significant decrease of Tc-99m DMSA uptake,

extensive damage of proximal tubules and also signs of glomerular damage were observed in this group. In agmatine administered group, all findings were similar with control saline group. In agmatine with cisplatin administered group, scintigraphic and histopathological findings were not completely normal, but there was no statistically significant difference between cisplatin+ agmatine and control saline group. In this group statistically significant, largely improvement in scintigraphic and histopathologic findings were observed in comparison with cisplatin group. In cisplatin+ agmatine group, serum cystatin c levels were slightly increased but there was no statistically significant difference between cisplatin+agmatine group and control group. It was also compatible with scintigraphic and histopathologic findings. But there is no quantitative and statistically significant difference between cisplatin+ agmatine group and control group about serum BUN and creatinine levels.

Conclusion: In this study we showed protective effect of agmatine against cisplatin nephrotoxicity with Tc-99m DMSA uptake supported by histopathological, and biochemical findings. Additionally, this scintigraphic method has found successful to early diagnose of cisplatin nephrotoxicity. We suggest that this simple in vitro- in vivo radiopharmaceutical model can make a valuable contribution to assessment of the efficacy of potential renoprotective agents.

Key Words: Cisplatin, agmatine, Tc-99m DMSA, nephrotoxicity, cystatin c

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
TABLO DİZİNİ	xii
GRAFİK DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Böbrekler.....	3
2.1.1. Böbreklerin Genel Yapısı	3
2.1.2. Rat böbreğinin yapısı.....	5
2.1.3. Böbreğin fonksiyonları	5
2.1.4. Böbrek Fonksiyon Testleri	7
2.2. Sisplatin.....	9
2.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi.....	10
2.4. Agmatin	16
2.5. Statik Böbrek Sintigrafisi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Serum Fizyolojik ve İlaçların Uygulanması.....	25
3.3. Anestezi Uygulaması.....	26
3.4. Tc-99m DMSA Sintigrafisi	26
3.4.1. Radyofarmasötüğün hazırlanması ve uygulanması.....	26
3.4.2. Sintigrafik görüntüleme.....	27
3.4.3. Sintigrafik değerlendirme	27
3.5. Ratların Sakrifiye Edilmesi, Kan Ve Doku Örneklerinin Alınması.....	28
3.6. Tc-99m DMSA Uptake'inin İn Vitro Ölçümü	28
3.7. Serum Bun, Kreatinin Ve Sistatin C Düzeylerinin Ölçülmesi	29

3.8. Histolojik Değerlendirme	29
3.9. İstatistiksel Yöntem	30
4. BULGULAR	31
4.1. Biyokimyasal Bulgular	31
4.2. Tc-99m DMSA Uptake Bulguları	33
4.3. Sintigrafik Bulgular	34
4.4. Histolojik Bulgular	36
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR	49
7. KAYNAKLAR	50
8. EKLER	63
Ek 1: Etik Kurul Onayı	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADC	: Arjinin dekarboksilaz
BUN	: Kan üre nitrojeni
Ci	: Küri 'curie'
cpm	: Dakikada sayım miktarı 'count per minute'
cpp	: Piksel başına sayım miktarı 'count per pixel'
DAO	: Diamin oksidaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ERPF	: Efektif renal plazma akımı
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GGT	: Gama glutamil transferaz
GSH	: Glutatyon
IP	: İntraperitoneal
IV	: İntravenöz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LEHR	: Düşük enerjili yüksek çözünürlüklü 'low energy high resolution'
MSH	: Melanosit uyarıcı hormon ' α - melanocyte stimulating hormone'
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz SAM: S-adenozil metiyonin
NMDA	: N-Metil D-aspartat ' <i>N-Methyl-D-aspartate</i> '
NO	: Nitrik oksid
NOS	: Nitrik oksit sentaz
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
ROI	: Böbrek İlgili alanı
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSNA	: Renal sempatik sinir aktivitesi ' <i>renal sympathetic nerve activity</i> '
SF	: Serum fizyolojik
SNGFR	: Tek nefron glomerüler filtrasyon hızı ' <i>single nephron glomerular filtration rate</i> '
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPECT	: Tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi ' <i>single-photon emission computed tomography</i> '
Tc-99m DMSA:	Teknesyum-99m Dimerkaptosüksinik asit
TNF- α	: Tümör nekroz faktör- α

ŞEKİL DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Böbreğin kesitsel anatomisi.....	3
Şekil 2: Nefronun kısımları.....	4
Şekil 3: Sisplatin nefrotoksitesinde patafizyolojik olaylar.....	11
Şekil 4: Sintigrafik görüntüler üzerinde böbrek uptake'inin hesaplanması.....	28
Şekil 5: Pinhol kolimatör ile posterior pozisyonda alınan Tc-99m DMSA görüntüleri.	35
Şekil 6: Kontrol grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm.	38
Şekil 7: Kontrol grubuna ait sıçan böbreğinde makula densa ve bowman boşluğu.....	38
Şekil 8: Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinde korteks.	39
Şekil 9: Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapıların durumu.....	39
Şekil 10: Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm.	40
Şekil 11: Agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapıların durumu.....	40
Şekil 12: Agmatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm.	41
Şekil 13: Sisplatin+agmatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm.....	41
Şekil 14: Sisplatin+agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde korteks.....	42
Şekil 15: Sisplatin+ agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapılar.	42

TABLO DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Tc-99m DMSA sintigrafisi için çocuklarda radyasyon dozimetresi	21
Tablo 2. Deney hayvanlarına serum fizyolojik ve ilaçların uygulanması.....	26
Tablo 3. Grupların ortalama serum kreatinin, BUN, sistatin c değerleri	31
Tablo 4. Sol böbrek için grupların in vitro Tc-99m DMSA uptake'i	33
Tablo 5. Grupların in vivo (sintigrafik) böbrek Tc-99m DMSA uptake'i	35
Tablo 6. Grupların ortalama glomerül çapı ve alanı	37

GRAFİK DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Grafik 1. Grupların ortalama serum BUN değerleri	32
Grafik 2. Grupların ortalama serum kreatinin değerleri.....	32
Grafik 3. Grupların ortalama serum sistatin c değerleri.....	33
Grafik 4. Sol böbrek için grupların in vitro böbrek Tc-99m DMSA uptake'i	34
Grafik 5. Sol, sağ ve her iki böbrek için grupların in vivo (sintigrafik) böbrek Tc-99m DMSA uptake'i.....	36
Grafik 6. Sıçan gruplarının ortalama glomerül alanı.	43
Grafik 7. Sıçan gruplarının ortalama glomerül apı.....	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemoterapiyle ilişkili toksisite ve yan etkiler solid tümörlerin tedavisinde, özellikle tedavi olmuş ve uzun süre hayatta kalmayı başarmış hastalarda önemli bir kaygıdır (1). Sisplatin solid tümörlerin tedavisinde etkin olarak kullanılan en önemli antineoplastik ilaçlardan biridir (2). Testiküler ve overyan kanserli hastaların kombine kemoterapi küründe, osteosarkomda neoadjuvan tedavide, metastatik gastrointestinal, ürogenital, akciğer, baş ve boyun kanserlerinin palyatif tedavisinde sıklıkla kullanılır (3,4).

Sisplatinin uzun dönem, kısmen geri dönüşümsüz yan etkileri içinde en önemlileri nefrotoksisite, yüksek tonda işitme kaybı ve periferik nöropatidir (3,4). Böbrekler sisplatinin en çok biriktiren organlar olduğundan, bunlar içerisinde kullanımını kısıtlayan en önemli yan etki nefrotoksisitedir (5).

Sisplatin nefrotoksisitesi üzerinde yoğun olarak çalışmalar sürdürülmekle beraber nefrotoksisite patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Sisplatin nefrotoksisitesine ait mekanizmalar apoptoz, nekroz, oksidatif stres, inflamasyon, fibrojenizasyon, mitokondriyal hasarı içerir ve oldukça karmaşıktır. Sisplatinin nefrotoksisitesini azaltmak amacıyla birçok strateji geliştirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda nefrotoksisite patogenezi oksidatif hasarın önemli bir rolüne sahip olduğu anlaşılmış ve nefrotoksisiteyi önlemeye yönelik antioksidan ajanlarla yapılan çalışmalar artmıştır (3,6,7). Sisplatin'in indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) aktivasyonu ile nitrik oksit (NO) miktarını ileri derecede artırdığı, artan NO'nun oksijen radikalleri ile etkileşerek böbrek ve diğer organ hasarında önemli bir yere sahip olduğu öne sürülmüştür (8).

Literatürde NOS inhibitörlerinin sisplatin'e bağlı nefrotoksisite ve diğer organ toksisitelerine karşı koruyucu etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (8, 9, 10, 11). Bunlardan biri olan agmatin, L-arjinin metaboliti, endojen guanidoamin yapısında nörotransmitter-nöromodülatör bir moleküldür. Agmatinin hipoksik iskemik beyin hasarında ve kanser tedavisinde kullanılan ifosfamidin neden olduğu nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (12,13,14). İskemik akut böbrek hasarında renal kan akımını ve GFR yi artırarak renoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca NO sentezini azalttığı, GFR'deki azalmayı

belirgin olarak önlediği, renal fonksiyonlar ve glomerüler hücreler üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (15, 16). Ancak agmatin'in sisplatin nefrotoksisine karşı etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenlerle agmatin'in sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisinin araştırılmaya değer bir konu olduğunu dűřünüyoruz.

Bu çalışmada amacımız, sisplatinin sebep olduğu nefrotoksisitenin erken tespitinde sintigrafik ve biyokimyasal yöntemlerin rolünü ölçmek ve agmatinin sisplatine bağlı nefrotoksisiteyi önlemede etkinliğini değerlendirmektir. Bunun için böbreğin parankimal fonksiyonlarını in vivo en doğru ve en erken tayin edebilen ve böbreğe zararı olmayan Tc-99m DMSA sintigrafı yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca ıkarılan böbrek dokusundan in vitro Tc-99m DMSA uptake'i hesaplanmış ve böbrek dokusu ışık mikroskop ile incelenmiştir. Serum BUN, kreatinin ve GFR'deki azalmayı göstermede yeni ve daha etkin bir parametre olarak gösterilen sistatin c düzeyleri biyokimyasal olarak saptanmıştır (17). Böbrek sintigrafisi ile bölünmüş böbrek fonksiyonlarını hesaplamak ve vizüel değerlendirme yaparak böbreklerin yerleşimi ve morfolojisini değerlendirmek, böbreklerde var olan olası diğer patolojileri de saptamak mümkündür. Kreatinin düzeyi ancak belirgin böbrek fonksiyon kaybı sonrasında yükseldiğinden nefrotoksisite gelişme riski olan hastalarda böbrek fonksiyonlarının takibinde sorun oluşturmaktadır. GFR'deki azalmayı göstermede yeni ve daha etkin bir parametre olarak gösterilen serum sistatin c ise az sayıda hastada çalışılması maliyet etkin olmadığından rutinde kullanılmamakta ve her laboratuarda çalışılmamaktadır.

Çalışmamızda sintigrafik görüntülemenin nefrotoksisiteyi göstermedeki başarısı, biyokimyasal yöntemlerle karşılaştırılması ve histolojik inceleme sonuçları ile uyumu değerlendirilmiş olacaktır.

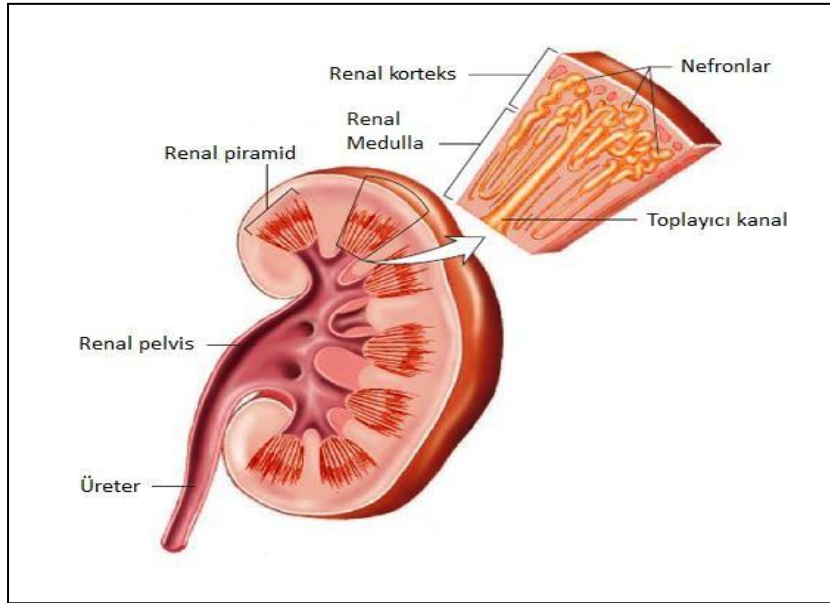
Sisplatinle meydana gelen böbrek hasarının önlenmesi morbidite ve komplikasyonları azaltacak, hastanede kalma maliyetini dűřürecek, bu kanser ilacının daha yüksek dozlarda daha etkin kullanılabilmesine izin verebilecektir (18).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrekler

2.1.1. Böbreklerin Genel Yapısı

Böbrekler, retroperitoneal alanda, vertebral kolonun her iki yanında torakal 12. ve lomber 3. vertebra seviyeleri arasında yerleşmiştir. Erişkin insanda bir böbreğin uzunluğu yaklaşık 12 cm, ağırlığı yaklaşık olarak erkeklerde 150 g, kadınlarda 135 g kadardır (19).

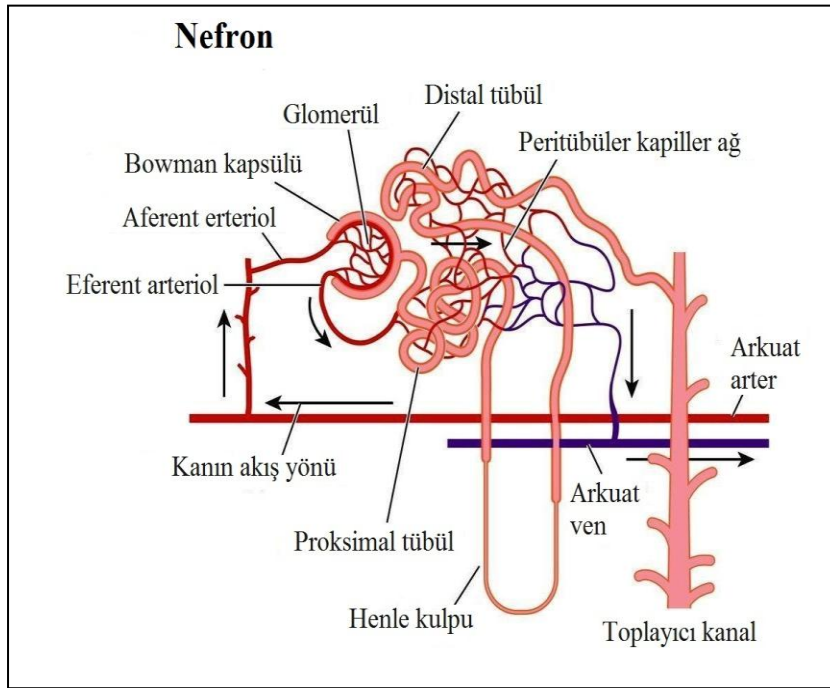


Şekil 1: Böbreğin kesitsel anatomisi

Her bir böbrek en dışta fibroz bir kapsül ile sarılıdır. Kapsülün altında dıştan içe doğru korteks ve en içte medulla tabakası bulunur. Medulla tabanı kortekse oturan ve uç kısımları (papilla) böbreğin kaliksleri içine uzanan piramitleri '*pyramides renalis*' oluşturur. Piramitlerin arasında renal korteksin uzantısı olan bertini sütunları '*columna renalis*' yer alır. Böbreğin ortasında ise sinus renalis denen bir boşluk vardır. Bu boşluğun içinde 2-3 minör kaliksin birleşmesinden oluşan major kaliksler bulunur. Major kaliksler birleşerek renal pelvisi oluşturur ve renal pelvis te üreterle birleşir. Sinus renaliste ayrıca sinirler ve damarlar bulunur.

İnsanda her bir böbrekte yaklaşık bir milyon nefron vardır. Nefron, plazmadan filtrasyon işlevini gerçekleştiren bir renal korpuskül ile glomerüler filtrattan seçici emilim işlevini gerçekleştiren ve toplayıcı kanala açılan bir renal tübül içerir (19-23).

Nefronun temel işlevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bunun için etkili olan temel mekanizmalar: a) Glomerüler filtrasyon, b) Tübüler reabsorbsiyon ve c) Tübüler sekresyondur (24).



Şekil 2: Nefronun kısımları

Renal korpuskül afferent ve efferent arteriollerden oluşan bir kapiller yumağı olan glomerül ile bunu saran bir kapsülden (glomerüler kapsül) meydana gelir. Bowman kapsülü de denen kadeh şeklindeki bu yapı renal tübülün kör ve genişlemiş ucu tarafından oluşturulur ve renal tübülün ilk kısmı olan proksimal kıvrımlı tübülün başlangıcını oluşturur. Renal tübülün diğer bileşenleri henle kıvrımının ince ve kalın uzantıları, distal tübül ve toplayıcı tübüldür (19-21, 25).

Nefronların %20-30 kadarının glomerülleri korteksin medullaya yakın bölgesinde yerleşmiştir ve jukstamedüller nefronlar olarak adlandırılır. Bu nefronların uzun henle kıvrımları vardır, damarları kortikal nefronlarınkinden farklı yapıdadır ve dış medullaya kadar uzanan efferent arteriyolleri vardır. Medullanın

derinliklerine doğru henle kıvrımı ile yan yana seyreden vaza rekta denilen özel bir peritübüler kapiller ağa sahiptir. Medulladaki bu özelleşmiş kapiller ağ idrarın yoğunlaştırılmasında önemli bir rol üstlenir (24).

Renal tübülün ilk kısmı olan proksimal tübül nefronun metabolik olarak en aktif bölümü olup glomerüler filtrat hacminin %60-80'inin geri emilimini sağlar. Filtre edilmiş sodyum, klor, sülfat, fosfat, bikarbonat, glukoz ve potasyumun büyük bir bölümünün geri emilimi burada gerçekleşir. Proksimal tübül önce Henle'nin aşağı doğru inen ince kulpuna boşalır. Henle kulpunun ana görevi hipotonik ve konsantre idrar üretimini sağlamaktır. Distal tübül yukarı doğru çıkan Henle kulpunu toplayıcı tübülle birleştirir. Na^+ , K^+ , Cl^- , H^+ atılımında ve geri emiliminde görev alır. Toplayıcı tübüller sıvıyı renal tübülden papiller kanala taşır. Papiller yüzeyler çok sayıda minik kanallar içerir (19-21).

2.1.2. Rat böbreğinin yapısı

Ratlarda bir çift böbrek dorsal abdominal kavitenin retroperitonealinde yerleşmiştir. Sol böbrek sağ böbrekten biraz kaudaldedir. Rat böbreği tek papillalıdır. Organ fibröz bir kapsül ile sarılmıştır ve yağ doku (kapsula adipoza) içinde gömülüdür. Her bir böbrek korteks, medulla, papilla ve pelvis renalisten oluşur. Korteste glomeruluslar ve "kortikal labirintler" olarak isimlendirilen medullaya uzanan kıvrımlar bulunur. Glomeruluslar Bowman kapsülü ile çevrelenmiştir. Medulla, medullar radiuslar ve daha alt kısımda papilladan oluşmaktadır. Bu bölgede proksimal, intermediyer, distal ve toplayıcı kanallar bulunmaktadır. Papillar kanallar pelvis renalise, o da üreterlere açılır. Ratlarda böbreğin besleyici damarlarının organa giriş ve seyir şekli diğer memeli türleri ile benzerdir. Dişilerde sıklıkla (%100'e yakın) kortikomedullar birleşim bölgesinde minerilizasyon (nefrokalsinozis) görülür (26).

2.1.3. Böbreğin fonksiyonları (27)

- a) Vücut sıvı ve elektrolit dengesinin korunması ve sürdürülmesi
- b) Metabolik atık ürünlerin (Üre, ürik asit, kreatinin) atılımı
- c) İlaçlar, toksinler ve bunların metabolitlerinin detoksifikasyonu ve atılımı
- d) Ekstrasellüler sıvı hacmi ve kan basıncının hormonal düzenlenmesi
- e) Hormon sentezi ve metabolizmasına katkı: Eritropoetin, D vitamini

- f) Peptid hormonlarının (insülin, glukagon) yıkımı
- g) Küçük molekül ağırlıklı proteinlerin (β_2 - mikroglobulin) yıkımı
- h) Metabolik etki: Glukoneogenez, lipid metabolizması

Böbreklerin temel fonksiyonlarından en önemlisi potansiyel toksik atık ürünlerin vücuttan uzaklaştırılması ve metabolik atıkların konsantre bir çözeltisi olan idrarın oluşumudur. Böbreklerin atılım fonksiyonu glomerüllerden plazmanın filtrasyonunu, tübüler lümeninden kana suda çözünen maddelerin taşınmasını ve tübüler hücrelerden lümene madde taşınmasını kapsamaktadır. İdrar, sağlıklı bireylerde steril, açık sarı renkte, hafif asit pH'sı ve karakteristik bir kokusu olan bir sıvıdır. İçinde çözülmüş bileşiklere ek olarak hücre parçaları, tam hücreler, proteinöz atıklar ve kristaller içerir (19). İdrar oluşumunda ilk basamak glomerüllerde bulunan plazma sıvısının filtrasyonudur. Filtre edilmiş sıvı ultrafiltrat olarak adlandırılır ve içeriği temelde plazma ile aynıdır. Glomerüllerden 24 saatte yaklaşık 170-200 L ultrafiltrat geçer. Suyun ve çözülmüş maddelerin tübüllerin değişik bölgelerinden geri emilimi total hacmi azaltır. Oluşan filtratın yaklaşık %1 kadarı günlük normal idrar miktarını (2000 mL) meydana getirir; filtratın %99'u geri emilir (20).

Tübülün değişik bölgeleri belirli işlevler için özellik kazanmıştır. Glomerüllerden filtre edilen glukozun tümü ve amino asitlerin çoğu buradan geri emilmektedir. Normal koşullarda filtre edilen glukozun tümü geri emildiği için idrarla glukoz atılmamaktadır. Henle kulplarında Cl^- ve daha fazla su içermeyen Na^+ geri emilerek seyreltik idrar oluşturulur. Distal tübüller ve toplayıcı kanallardaki su geri emilimi, vazopressin olarak ta bilinen antidiüretik hormon (ADH) tarafından düzenlenir (19, 20).

Glukoz, amino asitler, düşük molekül ağırlıklı proteinler, ürik asit, fosfat, sodyum, magnezyum, kalsiyum, klor ve bikarbonat gibi maddelerin kan düzeylerine ve vücudun ihtiyaçlarına göre böbrekler tarafından emilimi düzenlenmektedir. Su, üre ve Cl^- pasif geri emilim ile emilmektedir (20).

Böbrekler, vücut sıvılarının miktarını ve elektrolit içeriklerini düzenlemede önemli rol oynamaktadır. Elektrolit fazlalığında bunların idrarla atılımını sağlarken, azlığında ise böbrekler tarafından tutulmaktadır. Böbreklerde elektrolit dengesi

tübüler geri emilim ile düzenlenmektedir. HCO_3^- geri emilim miktarı glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve H^+ salgılanma hızına bağlıdır. Geri emilen PO_4^{3-} miktarı, Ca^{+2} konsantrasyonu ve kısmen de parathormonun etkisiyle kontrol edilir. Glukoz ve amino asitler hücre içi aktif taşıma sistemleri aracılığıyla proksimal kıvrımlı tübülde geri emilirler (19).

Vücut sıvılarının pH kontrolü akciğer ve böbrekler tarafından gerçekleştirilir. Bu organlar doku katabolizmasının yan ürünü olan fazla miktardaki H^+ atılımını gerçekleştirirler. Normal plazma pH'sını sürdürmek için distal tübül hücreleri H^+ sekresyonunu, amonyak (NH_3) oluşumunu ve $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değişimini azaltır ve HCO_3^- atılımını arttırlar. Tübüler sıvıda bulunan su içeriğinin yaklaşık % 70'i proksimal tübülde, % 5'i Henle kulpunda, % 10'u distal tübülde, geriye kalanı ise toplayıcı kanallarda geri emilir (19, 28-30).

Protein metabolizması sonucu oluşan üre, kreatinin ve ürik asit böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılır. Amino asit deaminasyonu ile ortaya çıkan NH_4^+ 'ün kanda toksik düzeylere ulaşması karaciğerde üre oluşumu ile engellenmektedir. Kandaki üre, kan üre azotu (BUN) olarak tanımlanır. Karaciğerde fazla amino asit metabolize edildiğinde üre oluşumu ve BUN düzeyleri artmaktadır. Kolay filtre olan ürenin %40-50 kadarı proksimal tübüllerde geri emilmektedir. Kreatinin iskelet kasında kreatinden enzimatik olmayan dehidrasyon ile oluşur. Glomerüllerden serbestçe filtre olan kreatinin, tübüllerden geri emilime uğramamaktadır. Bu özelliğinden dolayı GFR tahmininde kreatinin klirensi kullanılır. Ürik asit, pürin bazlarının oksidasyonu ile oluşur ve plazma düzeyi değişkendir. Tamamen filtre edilen plazma üratları proksimal tübüllerde geri emilir ve distal tübüllerden salgılanır (20).

2.1.4. Böbrek Fonksiyon Testleri

Böbreklerin konsantre ve dilüe etme yetenekleri ölçülerek renal fonksiyon bozukluğu tespit edilebilir. Ayrıca rutin idrar analizi, idrarda α_1 -mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein, gama glutamil transferaz (GGT), β_2 -mikroglobulin, Na^+ düzeylerinin ölçümü gibi testler de tübüler fonksiyon bozukluklarının incelenmesinde kullanılan diğer parametrelerdir. Renal enzim atılımı tübüler hücreler parçalandığında veya tübüler geçirgenliğin bozulduğu durumlarda belirgin artış gösterir (19-20, 31-32). GGT, g-glutamil grubunu bir peptid veya bu grubu taşıyan bir bileşikten bazı alıcılara

aktarılmasını katalize eder. Böbrekte glutatyon sentezi GGT tarafından dengelenir. İdrarda artmış enzim aktivitesi, akut renal infeksiyonlarda ve renal doku hasarına yol açan hastalıklarda görülür (33).

Glomerüler kapillerler, proteinlere karşı geçirgen olmadığından glomerüler filtrasyon sıvısı esas olarak proteinsizdir ve eritrosit dahil hücresel eleman içermez. Plazma kalsiyumunun yarısı ve plazma yağ asitlerinin çoğu proteinlere bağlıdır ve bu bağlı kısımlar glomerüler kapillerlerden filtre olmaz (19, 34).

GFR ölçümü tüm böbrek fonksiyonları içinde en önemlisidir ve her iki böbrek nefronlarında dakikada oluşan glomerüler filtrat hacmini ifade eder. Böbrek plazma akımının yaklaşık %20'si glomerüllerden filtre olur. GFR'nin normal referans aralığı 70-145 mL/dak'dır. GFR ölçümü ile glomerüllerde harabiyet olup olmadığı, varsa harabiyetinin derecesini belirlemek mümkündür. Total GFR, fonksiyon gören bütün nefronların filtrasyon hızlarının toplamına eşittir. Nefron kitlesindeki azalma, total GFR'yi düşürür (20, 24).

Renal klerens, bir maddenin böbrekler tarafından belirli bir zamanda temizlendiği plazma hacmi olarak tanımlanır. Klerens ölçümü için kullanılacak olan madde dolaşımında serbestçe bulunmalı, sabit hızda endojen üretilmeli; glomerülden serbestçe filtre olmalı, nefron boyunca sekrete edilmemeli, geri emilmemeli ve kolaylıkla ölçülebilir olmalıdır. Klinikte klerens ölçümünde kreatinin, sistatin c, üre ve düşük molekül ağırlıklı proteinler gibi endojen belirteçler ile inülin klirensi ve ioheksol klirensi gibi ekzojen belirteçler örnek verilebilir (19, 20, 27, 35). GFR hızının ölçülmesinde en sık kullanılan yöntem kreatinin klerensidir. Kreatinin daha çok iskelet kasında bulunan kreatin ve fosfokreatinden oluşur. Kreatin böbrekler, karaciğer ve pankreasta sentezlendikten sonra fosfokreatine dönüştürülmek üzere kan yolu ile kaslara ve beyine taşınır. Fosfokreatin ve kreatinin birbirlerine dönüşümü, kas kontraksiyonu ile ilgili metabolik olayların belirli bir özelliğidir. Kastaki serbest kreatin ve fosfokreatin toplamının belli bir oranı spontan ve geri dönüşümsüz olarak anhidrit formu olan kreatinine dönüşür. Serbest kreatinin tüm vücut sıvılarında, sekresyonlarda bulunur ve serbest olarak glomerüler filtrasyona uğrar. Kreatinin endojen olduğundan ve vücut sıvılarında sabit bir hızla salındığından, plazma düzeyleri dar sınırlar içinde korunur ve renal klerensi GFR'nin bir göstergesi olarak ölçülmektedir. Kreatinin klerensini ölçmek için kan ve idrar örneği kullanılır (34, 36-40).

Sistatin C, sistein proteinaz inhibitörlerinden sistatin üst ailesine ait 13 kDa molekül ağırlığına sahip endojen bir proteindir. Tüm çekirdekli hücrelerde sürekli ve sabit bir hızda üretilir. Kayda değer tübüler sekresyona uğramaksızın glomerülde serbestçe filtre edilir. Bu nedenle serum seviyesi kas kitlesi, yaş, ırk ve cinsiyet gibi değişkenlerden etkilenmez. Bir çok araştırmada bir GFR belirteci olarak serum sistatin C'nin, kreatinine üstün olduğu gösterilmiştir. Serum sistatin C ile GFR'deki hafif azalmaları tespit etmek, serum kreatinin seviyesi ile yapılan ölçümlere göre daha kolaydır. Çünkü serum sistatin C düzeyi GFR'deki azalmanın daha erken döneminde yükselmeye başlar. Bu nedenle hastalığın erken dönemlerinde ve özellikle böbrek fonksiyonlarındaki etkilenmenin az veya minimal olduğu durumlarda teşhis değerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (40-43).

2.2. Sisplatin

Sisplatin (*cis*-diaminodikloroplatinum (II)) ilk kez 1968'te antitümöral etkinliği bir hayvan modeli üzerinde gösterilmiş, 1971'de faz I klinik çalışmalarında kanser hastalarında kullanılmaya başlanmış ve 1978'de Amerikan Gıda ve İlaç Uygulamaları Kurumu'ndan onay almıştır. Sisplatin testis tümörlerinde, metastatik over tümörlerinde, servikal tümörlerde, akciğer kanserlerinde, ilerlemiş mesane kanserinde, baş ve boyunun skuamöz hücreli karsinomlarında ve bazı çocukluk çağı tümörlerinin tedavisinde kullanım alanı bulmaktadır. Genellikle solid tümörlerin tedavisinde diğer kemoterapötik ajanlarla kombine kullanılır. Tek başına veya radyoterapi ile birlikte kullanıldığı durumlar da vardır. Sisplatinin tedavi başarısı doz artışı ile birlikte belirgin olarak artar (2, 44).

Sisplatinin kemoterapötik etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Sitotoksik etkilerinden molekülün DNA ile çapraz bağlar oluşturarak DNA sentez ve replikasyonunu bozması ve bunun sonucunda çeşitli sinyal iletim yollarının aktive olmasının sorumlu olduğu şeklindedir. Oluşturulan çapraz bağlar kanser hücrelerinde olduğu gibi hızlı bölünen hücrelerde tamir edilemeyen ileri derecede DNA hasarına sebep olabilir (44). Geri dönüşümsüz olan bu durum mitokondriyal hasara, hücre siklusunun duraklamasına, hücre transport sistemlerinde aksaklıklara ve neticede apoptoz, inflamasyon, nekroz ve hücre ölümüne neden olur (2, 45).

Gastrointestinal sistemden absorbe edilmediğinden peroral kullanımı yoktur (46). İntravenöz, intraperitoneal, intraarteriyel veya intravezikal yolla kullanılır (46-49). Plazma proteinlerine %90 oranında ve kısmen geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Uygulama sonrası böbrek, karaciğer ve prostatta en yüksek seviyelere ulaşır. Sisplatin dokulara da bağlanabilir ve böbrek dokusunda 4-6 ay süre ile sisplatin bulunabilir (50). Çoğunlukla idrar ile atılır (renal klerensi %90'dır). Yarıömrü 43 dakika olup, yaklaşık ¼'ü ilk 24 saat içerisinde elimine edilir. Çok az miktarda hepatobiliyer ve gastrointestinal atılımı vardır (47, 50-51).

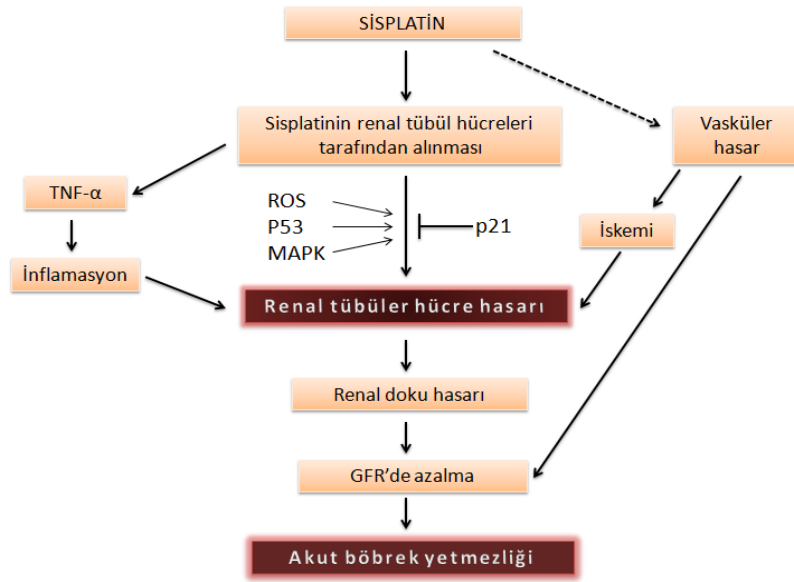
Sisplatinin bir kısmı doz kısıtlayıcı olan birçok yan etkisi vardır. En önemli doz kısıtlayıcı yan etkisi nefrotoksisitedir (52, 53). Doz kısıtlayıcı diğer yan etkileri myelosüpresyon, ototoksisite ve nörotoksisitedir. Etkiler genellikle doz bağımlı ve kümülatiftir (49). Yapılan çalışmalar sisplatin enjeksiyonu sonrasında böbrek kan akımında ve GFR'de belirgin azalma izlendiğini gösterilmiştir. GFR'deki azalma kümülatif doz ile ilişkili olabileceği gibi tek doz sisplatin uygulamasından sonra da olabilir (5, 53). Tek doz sisplatin verilen hastaların yaklaşık üçte birinde nefrotoksisite ve geri dönüşümsüz böbrek yetmezliği gelişir (5, 54-55). İlk defa sisplatin kullanan hastaların %25-42'sinde kısmen geri dönüşümlü renal hasar gelişir (56). Tekrarlanan dozlar böbrek yetmezliği sıklığı ve şiddetini artırır (49, 55). Sisplatinin vücuttan atılımında esas organ olan böbreklerdeki fazla birikimi nefrotoksisite gelişimine katkıda bulunur (5, 7, 57).

2.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi

Sisplatin nefrotoksisitesinin patofizyolojik temeli uzun yıllardır yapılan çalışmalara rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır. Birbiriyle bağlantılı ve oldukça karmaşık yapıda birçok mekanizmanın bulunduğu öne sürülmüştür. Bunlar arasında oksidatif stres, apoptoz, nekroz, inflamasyon, fibrozis ve mitokondriyal hasar sayılabilir (7).

Böbrek hücresinde en yüksek sisplatin konsantrasyonu sitozol, mitokondri, nükleus ve mikrozomlarda bulunur. Sisplatin uygulamasından 48-72 saat sonra proksimal ve distal tübüler reabsorpsiyonda ve vasküler dirençte artış izlenir (55, 58-59). Proksimal tübülde sodyum reabsorpsiyonu, distal tübülde de sodyum ve su reabsorpsiyonu artışı ile su ve sodyum atılımı artar. Poliüri genellikle sisplatin uygulaması ile birlikte görülür ve iki farklı fazda görülür. Birinci faz ilacın

uygulanmasından 24-48 saat sonra gerçekleşir. İdrar ozmolalitesi azalır ancak GFR’de değişiklik gözlenmez. Bu fazın prostoglandin aracılığı ile olduğu düşünülmektedir ve vazopressin ve aspirin ile engellenebilir. Erken fazda poliüri kendiliğinden düzelir. İkinci faz ise ilaç uygulamasından 72-96 saat sonra gerçekleşir ve GFR’de azalma ile karakterizedir. Bu fazda medüller tonisitede azalma ve proksimal tübül ve Henle kulpunun çıkan kolunda NaCl transportunda bozulma görülür. Bu faz herhangi bir ilaçla engellenemez. İdrarla sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum kaybı ile ortostatik hipotansiyon görülür (7). Renal asidoz, hipomagnazemi, hipofosfatem, hiponatremi veya hipokalemi gibi renal tübül bozukluklar normal glomerüler fonksiyon ile birlikte görülebilir. Hipomagnezemi tetaniye neden olacak kadar şiddetli olabilir (50).



Şekil 3: Sisplatin nefrotoksisitesinde patofizyolojik olaylar (64).

Sisplatin nefrotoksisitesi öncelikle tübülointersitisyel lezyonlara neden olur (7). Hayvan modellerinde sisplatinin proksimal tübülün özellikle S3 segmentini etkilediği saptanmıştır (3, 5, 7). Proksimal tübül hücrelerinde nekroz, apoptoz, sitoplazmik vaküolizasyon, lizozomlarda değişiklikler, karyopiknozis ve tübüllerde silendirler izlenmiştir. Aynı zamanda bazı proksimal tübül hücrelerinde apikal hücre membranında fırçamsı kenar mikrovillus hasarı saptanmıştır. Distal tübüllerde de sitoplazmik vaküolizasyon, apoptoz, mitokondriyal şişme ve nükleer solukluk

meydana geldiği gösterilmiştir (60-62). Yapılan çalışmaların çoğunda glomerüler morfoloji ve ultrastrüktürel yapı intakt olarak tanımlanmakla beraber glomerüler hasarın saptandığı çalışmalar da bildirilmiştir (60-63). Gentamisin ve sisplatin nefrotoksisitesinin incelendiği bir çalışmada hem sisplatin hem de sisplatin ve gentamisin verilen ratlarda tübüler hücrelerin yanısıra glomerülerde de önemli morfolojik değişiklikler saptanmıştır (63).

İnsanlarda sisplatin nefrotoksisitesi ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda hasar proksimal, distal tübüllerde ve diğer toplayıcı kanallarda saptanmıştır. Doza ve biyopsi zamanına bağlı olarak değişik yerlerde etkilenme gözlenmiştir. İlaç verildikten sonraki 3-60 gün içinde yapılan biyopsilerde segmental dejenerasyon, nekroz, proksimal tübülün pars konvolüta ve pars rekta kısımlarında epitel hücrelerin deskuamasyonu saptanmıştır. Akut böbrek yetmezliği olan hastalarda ise proksimal kıvrımlı tübüllerde belirgin nekroz izlenir. İntersitisyel nefrit görülmez. Kronik nefrotoksisite olan hastalarda ise atipik nükleus ve mitotik figürlerle, hyalin silindiri içeren yassı epitelle döşenmiş kistik dilate tübüller gözlenmiştir. Uzun süreli sisplatin tedavisi tübüllerde kist oluşumuna ve interstisyel fibrozise neden olabilir (7).

Vücutta serbest radikaller ve radikal olmadığı halde serbest radikallere dönüşüm potansiyeli olan maddeler reaktif oksijen türleri (ROS) olarak tanımlanır. Oksidatif stres ise bu reaktif oksijen türlerinin yapımı ve uzaklaştırılması arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmuş olduğu durumu tanımlar. Bu durum oksidan ürünlerin aşırı üretimi veya antioksidan mekanizmaların tüketilmesinden kaynaklanabilir. Hücrede oksidatif streste ksantin-ksantin oksidaz, mitokondri ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ROS için kaynak teşkil eder. Sisplatin tüm bu yolakları aktive ederek ROS üretimini artırır. Oluşan bu oksidan moleküller ise DNA, protein ve lipid gibi hücre komponentleri üzerinde doğrudan etki göstererek yapılarını bozar (65).

Sisplatin ile tedavi edilmiş deneklerin böbreklerinde süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının artmış olduğu saptanmıştır (66-68). Süperoksit anyonu genellikle respiratuar zincirde oksijen molekülüne bir elektron eklenmesiyle meydana gelir. Ancak ksantin oksidaz, NOS ve NADPH gibi enzimlerce de endojen olarak üretilebilir. Hidrojen peroksit ise hücre içinde bazı

enzimlerce süperoksit anyonuna bir elektron eklenmesiyle meydana gelir. Hidrojen peroksit kendisi radikal olmadığı halde Fenton reaksiyonu olarak bilinen ve metal iyonlarıyla katalizlenen bir reaksiyon ile hidroksil radikalini oluşturur. Ayrıca myeloperoksidaz tarafından hipoklorik aside dönüştürülür. Sisplatin verilen hastalarda gelişen böbrek hasarında oksidatif stresin aktif rol aldığı bilinmektedir. Sisplatin özellikle potent bir radikal olan hidroksil radikalini oluşumunu artırır. Sisplatin ayrıca mitokondriyal hasar ile süperoksit salınımını artırır. Süperoksit anyone süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksite çevrilir. Sisplatin sitokrom P450'den demirin katalitik olarak salınımını indükleyerek hidrojen peroksitten fenton reaksiyonu ile hidroksil radikali oluşumunu kolaylaştırır (69-70). Hidroksil radikali hücre içi antioksidan depolarını tüketerek ve diğer serbest radikallerde olduğu gibi doğrudan lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerinin yapılarını bozarak oksidatif strese neden olur (71-72). Sisplatin hücre içi kalsiyum seviyelerini artırarak NADPH oksidazı aktive eder ve hasar görmüş mitokondri tarafından ROS üretimini uyarır (65).

Birçok araştırmada sisplatinin antioksidan enzim aktivitesini ve intraselüler glutasyon (GSH) konsantrasyonu azaltarak renal epitelyal hücrelerde ROS'u indüklediği gösterilmiştir (73). Sisplatinin SOD, Glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin renal aktivitesinde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (74-77). Çeşitli antioksidanların sisplatin nefrotoksisitesinde koruyucu etkilerini gösteren bulgular elde edilmiştir (73). Ratlarla yapılan çalışmalarda SOD, dimetiltiyöre ve GSH gibi ajanların sisplatin ile birlikte verildiğinde renal yetmezliğin derecesini ve hücre hasarını azalttığı gösterilmiştir (78-80).

Sisplatin verilmiş ratlarda peroksinitrit ve NO gibi reaktif nitrojen türlerinin böbrekte artış gösterdiği saptanmıştır (9, 81). Peroksinitrit protein yapılarında bozulmaya, lipid peroksidasyonuna ve DNA'nın kimyasal yıkımına neden olur. Ancak NO'nun sisplatin nefrotoksisitesindeki rolü tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda NO'nun nefrotoksisite gelişiminde rol alıp NOS inhibitörlerinin nefrotoksisiteyi azaltıcı etkisinden bahsederken bazı çalışmalarda da tam tersi etkiden söz edilmektedir (66). Sirvastata ve ark.'nın yaptığı çalışmada sisplatin ile tedavi edilmiş ratlarda karaciğer ve böbreklerde iNOS seviyesinin belirgin şekilde arttığı

gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise selektif iNOS inhibitörü ve aynı zamanda bir agmatin derivesi olan aminoguanidinin sisplatin nefrotoksitesine karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (8). Ancak başka bir çalışmada NO'nun sisplatin nefrotoksitesindeki koruyucu rolüne dair bulgular elde edilmiştir. Buna göre bir NOS inhibitörü olan 2-amino-4-methylpyridine verilmesinin ratlarda sisplatin nefrotoksitesinin şiddetini artırdığı gözlenmiştir (82).

Sisplatin nefrotoksitesinde patolojik değişiklikler çoğunlukla böbrekte iskemiye oldukça duyarlı olan dış medullar bölgenin dış kesiminde proksimal tübülün S3 segmentinde meydana gelir ve diğer toksik akut böbrek yetmezliği modellerinde de bu bölgede hasar oluşur. Sisplatin nefrotoksitesiyle ilgili yapılan bir çalışmada dış medullar bölgeden elde edilen seri kesitlerin analizi hipoksik hücrelerin önemli bir kısmının proksimal tübül hücreleri olduğunu göstermiştir. Bu bulgu hipoksinin ve sonrasında gelişen mitokondriyal hasarın sisplatin nefrotoksitesinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu da muhtemelen sisplatin nefrotoksitesinde renal kan akımında azalmanın izlendiği erken fazda gerçekleşir (83-84).

Sisplatin uygulamasını takiben renal tübüllerde hem nekroz hem de apoptozun arttığı yapılan in vivo hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (85-87). Tübül hücrelerde apoptozu önlemeye yönelik alınan tedbirlerin aynı zamanda renal fonksiyon kaybında da iyileşme sağladığı görülmüştür (73). Hücre kültürü çalışmaları, uygulanan sisplatin dozunun nekroz ya da apoptoza gidişi belirlediğini göstermiştir. Yüksek doz sisplatin konsantrasyonu proksimal tübül hücrelerinde nekroza yol açarken daha düşük konsantrasyonların apoptoza yol açar (88).

Yapılan son çalışmalar sisplatine bağlı böbrek hasarında inflamasyonun önemli bir rolü olduğunu göstermişlerdir. Sisplatin TNF- α 'nın renal ekspresyonunu artırır. TNF- α renal hasarda da merkezi bir rol oynar; apoptozu indükler, ROS üretimine katkıda bulunur, böbrekte bir çok kemokin ve sitokinin aktivasyonunu koordine eder. Çalışmalar TNF- α inhibitörlerinin sisplatine bağlı renal disfonksiyonu %50 oranında düzelttiği ve yapısal hasarı azalttığını göstermiştir (7).

Sisplatin, etkilenmiş tübüller etrafında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun da gözleendiği fibrozise neden olur. Yapılan bir çalışmada bir hafta boyunca her gün 2 mg/kg sisplatin enjeksiyonu alan sıçanda bir hafta gibi kısa sürede kortikomedüller

bileşkede fibrotiklezyonların oluştuğu ve beş haftada maksimuma ulaştığı gözlenmiş, sisplatin uygulaması kesildikten sonra ise yaklaşık 19 haftalık gözlem süresi içerisinde fibrotik dokuların azaldığı ve renal tübüllerin rejenere olduğu gözlenmiştir (89). Aynı zamanda BUN ve kreatinin seviyelerinde de düşme görülmüştür. Bir çok kez sisplatin kemoterapisi almış insanlarda yaygın renal tübülointersitisyel nefroz gösterilmiştir (90).

Serum fizyolojik (SF) ile bol hidrasyon ve sisplatin uygulaması ile birlikte, öncesinde ve sonrasında mannitol verilmesi sisplatin nefrotoksitesini belirgin derecede azaltır (91). SF uygulamasının koruyucu etkisinin mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. SF veya hipertonic SF ile volüm ekspansiyonu sisplatinin atılım hızını artırıyor olabilir (92). Ayrıca SF verilmesi yüksek klorid iyon konsantrasyonu sağlayarak klorid iyonlarının platin molekülünden ayrılmasını önler. Bu da reaktif, hidrolize sisplatin türlerinin oluşumunu azaltır (93). Alternatif olarak Na⁺ iyonlarının da koruyucu etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. SF uygulamasının sisplatinin hücrel birikimini değiştirmedeği fakat hücrede sisplatin duyarlılığını modifiye eden bir stres yanıtını tetiklediği gösterilmiştir. Ozmotik stres yanıtı sisplatinin DNA ile etkileşimini azaltır, proksimal tübül hücrelerinin apoptoza karşı direnç geliştirmesini sağlar ve nefrotoksinlerin metabolik aktivasyonlarını değiştirir. Ne varki bu süreç tümorosidal etkileri bloke ederek sisplatinin antineoplastik aktivitesini olumsuz yönde etkileyebilir (94).

Simetidin, sistein, metiyonin, N-asetilsistein ve DL-homosisteinin proksimal tübül hücrelerinin S1, S3 kısmı ve distal toplayıcı tübüllerde sisplatin alımını engellediği gösterilmiştir (95, 96).

Prokainamidin böbrekte biriktikten sonra sisplatin ile reaksiyona girerek daha az toksik birkompleks oluşmasını sağladığı ve sıçanlarda sisplatin toksitesini azalttığı gösterilmiştir (97).

Nefrotoksisite patogenezinde oksidatif hasar önemli bir rol oynadığından nefrotoksisiteyi önlemeye yönelik çok sayıda antioksidan ajan çalışılmıştır (7). Yapılan hayvan çalışmalarında antioksidan özelliklere sahip olan glutamin, kaspaisin, silmarin, erdostein, edavorone, ebselen, allopürinol, N-asetilsistein, Vitamin C ve Vitamin E gibi ajanların nefroprotektif özellikleri saptanmıştır (3, 7, 98-100).

Sülfür içeren bileşenlerle yapılan çok sayıda çalışmada da bu ajanların sisplatinin antitümöral etkinliğini etkilemeden nefrotoksisiteyi azalttığı yönünde kanıtlar elde edilmiştir (7).

Bir organik tiyofosfat olan amifostinin malign hücelere seçici olan bir özellikle tiyol grubu bağışlayarak sisplatin toksisitesini azalttığı gösterilmiştir. Amifostin, sisplatin alan ileri evre overyen ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda kümülatif renal toksisiteyi azaltmaya yönelik Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin kullanımını onayladığı tek ilaçtır (101). Ancak yan etkileri ve maliyeti nedeni ile sınırlı kullanımı mevcuttur (7).

Sisplatin toksisitesinin geliştirildiği rat modellerinde yüksek doz salisilat kullanımının TNF- α üretimini zayıflattığı ve renal inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (85). Hayvan modellerinde TNF- α üretimini baskılayan α -melanosit uyarıcı hormon ' *α -melanocystestimulating hormone*' (α -MSH) ve interlökin 10'un sisplatine bağlı renal hasarı azalttığı gözlenmiştir (102). In vitro modellerde fibratların, sitratların mitokondriden çıkışını ve bax proteinlerinin sitoplazmadan mitokondriye geçişini önlemek sureti ile serbest yağ asidi oluşumunu engellediği ve apoptozu baskıladığı bildirilmiştir. Fibratların sisplatin nefrotoksisitesini azalttığı hayvan çalışması ile desteklenmiştir (103). Ancak bu ajanların nefrotoksisiteyi önleyip önlemediğini ortaya çıkarmak için insan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

2.4. Agmatin

Agmatin, L-arginin'in arginin dekarboksilaz (ADC) ile dekarboksilasyonu sonucu oluşan, endojen guanidoamin yapısında bir moleküldür. İlk kez 1910'da Kossel tarafından balık sperminde tespit edilmiş ve tanımlanmış olup bakterilerde, bitkilerde ve bazı omurgasızlarda sentezlendiği gösterilmiştir (104). Bakterilerde agmatin ürehidrolaz tarafından son ürün olarak pütresine metabolize edildiğinden pütresin prekürsörü olarak tanımlanmıştır (105). 90'lı yıllara kadar agmatinin memelilerde sentezlenmediği düşünülüyordu. 1994 yılında imidazolin reseptörleri için endojen ligand çalışmalarında beyin dokusunda bulunan molekülün ayrıntılı analizler sonucunda agmatin olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada agmatinin beyinde sentezlenen endojen bir madde olduğu ve antihipertansif olarak bilinen klonidini bağlandığı bölgeden uzaklaştırdığı gözlenmiştir (106). 90'lı yıllardaki bu keşif sonrasında agmatinin fizyolojik özelliklerini tespit etmeye yönelik çok sayıda

çalışma yapılmıştır. Bugün agmatinin glutamatın N-Metil D-aspartat '*N-Methyl-D-aspartate*' (NMDA) reseptör antagonisti ve NOS inhibitör aktivitesi olan bir nörotransmitter-nöromodülatör olduğu bilinmektedir (104).

Agmatin çeşitli doku, organ ve yapılarda farklı düzeylerde dağılım gösterir. Mide, aorta, ince barsak, adrenal bez, kalp, beyin, kalın barsak ve plazmada yaygın dağılım gösterir (104). Böbrek, karaciğer ve beyin agmatin sentezinde görevli enzim olan ADC aktivitesinin yüksek olduğu dokulardır. Benzer şekilde agmatin varlığı plazmada, çok sayıda doku ve hücre tipinde gösterilmiştir (15, 107-108). Agmatin plazmada mikromolar düzeyde salınırken böbreklerinde içinde yer aldığı organ ve hücrelerde daha yüksek düzeylere ulaşabilir (109). Beyindeki konsantrasyonu nispeten düşük bulunmuştur ancak diğer bazı nörotransmitterlerle kıyaslanabilir düzeydedir (106). Agmatin beyinde primer olarak akson ve akson terminallerindeki sinaptik veziküllerde bulunur. Agmatin beyinde sentezlenir, sinaptik veziküllerde depolanır, uptake ile veziküllere alınır ve depolarizasyon ile salınır. İmidazolin reseptörlerinin ve $\alpha 2$ adrenerjik reseptörlerin tüm alt sınıflarının bağlanma bölgelerine yüksek afinite ile bağlanır ve NMDA başta olmak üzere ligand kapılı katyon kanallarını bloke eder. L-arjinininden arjinaz aracılığı ile üre, ornitin ve son ürün olarak da putresin ve diğer poliaminler oluşurken nitrik oksit sentaz aracılığıyla NO ve sitrulin oluşur. Bu sentezdeki üçüncü yolak ise L-arjinininden dekarboksilasyonla agmatin oluşması ve oluşan agmatinin agmatinaz enzimiyle poliaminlere ve üreye, daimin oksidazla ise guanido butanoik aside dönüşmesidir (104).

Beyin dokusundaki biyolojik inaktivasyonu enerjiye bağımlı mekanizmalarla, tekrar sinaptozomlar içine alınarak, akson terminallerinden salınan ve mitokondrial matriks içinde bulunan agmatinaz ile enzimatik degradasyonu sonucu oluşur. Bu enzimatik degradasyon ile poliamin sentezinin diamin prekürsörleri olan putresin ve üre'ye metabolize olur. Agmatin'in diğer bir metabolize olma yolu, diamin oksidaz (DAO) ile γ -guanidino butirilaldehid'e oksidasyonu ve daha sonra γ -guanidinobutirat'a dehidrojenasyonu sonucu oluşur. (104)

Dekarboksile arjinin olan agmatin böbreklerde de sentezlenir, renal vazodilatasyon ve plazma akımında artış sağlayarak nefron ve böbrek filtrasyon hızını artırır (15, 110). Normal bir böbrekte agmatin sentezinin argininin ornitine dönüştürülmesi esnasında ve daha fazla olarak ta sitriline dönüştürülmesi esnasında

gerçekleştiği gösterilmiştir. Agmatin böbreklerde DAO ile metabolize olur. DAO böbrekte, esas olarak ta glomerüllerde bulunur (15).

Yapılan çalışmalarda agmatin sentezi ile sonuçlanan alternatif arginin metabolik yolağının renal fonksiyonlar üzerinde fizyolojik öneme sahip olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. Bir çalışmada agmatinin infüzyonunun nefron glomerüler filtrasyon hızındaki '*single nephron filtration rate*'(SNGFR) ılımlı azalmayı tamamen önlediği gösterilmiştir (15).

İskemik akut böbrek yetmezliği gelişen ratlarda intravenöz agmatin enjeksiyonu iskemi reperfüzyon hasarına bağlı renal disfonksiyonu doza bağımlı olarak önlemiştir. İskemi reperfüzyon hasarında iskemik peryotta artış gösteren renal sempatik sinir aktivitesinin (RSNA) IV agmatin enjeksiyonu ile doza bağımlı olarak belirgin şekilde baskılandığı gözlenmiştir. Ayrıca iskemi reperfüzyonun indüklediği renal hasarda histopatolojik değişiklikleri de önlediği gösterilmiştir (12).

Agmatinin intravenöz uygulamasının santral sinir sisteminde olduğu kadar bazı periferik mekanizmalar vasıtasıyla salınan norepinefrini de baskılandığı belirtilmiştir. Birçok araştırmacı agmatinin her ikisi de sempatik sinir uçlarından NE salınımıyla ilgili olduğu bilinen imidazolin I1 ve adrenalin alfa2 reseptörlerine yüksek afinite ile bağlandığını göstermiştir (106, 111).

Agmatinin renal mikroperfüzyonunun GFR'yi artırmasının alfa2 reseptörleri değil NO formasyonu ile ilişkili bir mekanizma üzerinden olduğu belirtilmiştir (110). Başka bir çalışmada agmatinin GFR'yi artırmasının bir imidazolin I2 agonisti tarafından taklid edildiği ve agmatinin bu etkisinin renal denervasyondan etkilenmediği ortaya konmuştur (12).

Hücrel stres döneminde uyarılabilir nitrik oksit sentazdan (iNOS) yüksek düzeyde NO üretilmesinin sitostatik ve sitotoksik etkilere sebebiyet verdiği bilinmektedir. Bunu onarım fazını başlatan ornitin sentezi takip eder (112). İn vitro şartlarda agmatinin iNOS sentezini ve biyoamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan ornitin dekarboksilazı (ODC) baskılandığı ve poliamin transportunu inhibe ettiği gösterilmiştir (16, 113). Agmatin ODC inhibisyonu ile düz kas hücre proliferasyonu inhibe eder (114). Bu bilgiler agmatinin inflamatuvar olaylarda NO üretimi ve hücre proliferasyonu üzerine önemli etkileri olabileceğini düşündürmektedir (16).

Deneysel olarak mezengial proliferatif nefrit (Thy-1 nefriti) oluşturulan ratlarda agmatinin renal fonksiyonlar ve glomerüler hücreler üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Buna göre agmatin verilmesi böbrekteki başlangıç hasar seviyesini değiştirmeksizin GFR'deki azalmayı belirgin olarak önlemiştir (16). Ayrıca agmatin ile tedavi edilmiş Thy-1 + ratlarda NO sentezinde azalma tespit edilmiştir. Agmatin NOS (cNOS) ve ryanodin kanalı bağımlı mekanizmalar üzerinden vazodilatasyona bağlı olarak böbrekte SNGFR'yi artırmak gibi fonksiyonel etkilere sahiptir (10, 12).

Agmatinin eNOS gibi fonksiyon gördüğünü gösteren çalışmalar vardır (115). Agmatinin renal interstisyum içine veya yüzeysel nefronların üriner mesafesi içerisine mikroperfüzyonunun nefron filtrasyon hızında artış sağladığı bunun da vazodilatasyon nedeniyle plazma akımında artışla gerçekleştirildiği gösterilmiştir (12). Agmatinin bu etkilerinin beraberinde verilen nonselektif NOS blokerleri ile önlenmesi agmatinin neden olduğu vazodilatasyonun özellikle NOS ilişkili mekanizmalara bağlı olduğunu düşündürmüştür (110). Lipopolisakkarit modeli (LPS) üzerinde yapılan bir çalışmada agmatin ile yapılan ön tedavinin kan basıncı ve GFR'deki azalmayı önlediği gösterilmiştir (113). Bu bilgiler glomerülonefrit gibi yüksek NO seviyesi ile ilişkili patolojilerde agmatinin eNOS benzeri etki gösterdiğini düşündürmüştür (16). Agmatinin özellikle iNOS inhibisyonu ile bir nöromodülatör olan NO üretiminin azalmasını sağladığı (116), hipoksik-iskemik beyin hasarında NO üretimini baskılayarak hasarı azalttığı ve astrositlerde iNOS'un transkripsiyonu süprese ettiği (13, 117), L-arjinin'den L-sitrülin oluşumuyla ölçülen NOS aktivasyonuna göre agmatin'in özellikle iNOS formuna karşı potent inhibitör özelliği olduğu gösterilmiştir (118).

Bunların dışında agmatinin çoğu santral sinir sistemi üzerine olmak üzere birçok fizyolojik ve patolojik süreçte kritik rolü bulunmaktadır. Bu küçük endojen aktif molekülün antinosiseptif, antiinflamatuvar, noröprotektif, antikonvülsan, antidepresan, anksiyolitik, morfin bağımlılığı semptomlarının inhibisyonu gibi çok geniş spektrumda farmakolojik etkileri gösterilmiştir. Ayrıca agmatinin öğrenme ve bellek gibi bilişsel fonksiyonların gerçekleştirilmesinde görev aldığı ve kognitif bozuklukları düzeltebileceği ile ilgili çalışmalar günümüzde giderek artmaktadır (104).

2.5. Statik Böbrek Sintigrafisi

Statik böbrek sintigrafisi (Renal kortikal sintigrafi) böbrek parankiminin yapısal (atnalı böbrek vb.) ve fonksiyonel olarak değerlendirildiği bir tetkiktir. En sık idrar yolu enfeksiyonlarına(özellikle veziko ureteral reflüye) bağlı renal kortikal hasarın tespitinde ve takibinde kullanılır. Kortikal hasarı göstermede USG ve İVP'ye oranla daha duyarlı bir yöntemdir. Statik böbrek sintigrafisi akut enfeksiyon ve kronik hasarın gösterilmesinde en uygun tetkik olarak kabul edilmektedir (119, 120). Özellikle akut pyelonefritte izlenen reversibl defektlerin ve kalıcı parankim hasarlarının (skar) tanımlanmasında önemlidir. Bunun için belli aralıklarla yapılan görüntülemeler önerilmektedir. Kullanılan radyofarmasötiklerin böbreklerde tutulumu kan akımı ve fonksiyoneparankim ile orantılı olduğundan, diferansiye renal fonksiyonlar da hesaplanabilir (121). Statik böbrek sintigrafisinin başlıca endikasyonları şunlardır:

- a) Akut pyelonefrit tanısı
- b) Akut pyelonefrit sonrası kalıcı parankim hasarının tespiti
- c) Ektopik böbreklerin lokalizasyonu
- d) At nalı böbrek, atrofik böbrek, çift toplayıcı sistem, displastik böbrek gibi parankim anomalilerinin tanısı
- e) Transplante böbreğin değerlendirilmesi
- f) Böbrekte yer işgal eden oluşumların (kist, kitle vb) tespiti, lokalizasyonu ve fonksiyonel durumlarının değerlendirilmesi
- g) Diferansiye böbrek fonksiyonlarının hesaplanması
- h) Renal korteksin ve parankim fonksiyonunun değerlendirilmesini gerektiren diğer durumlar

Statik böbrek sintigrafisi için en yaygın kullanılan radyofarmasötik Tc-99m DMSA (Tc-99m dimercaptosuccinic acid) dır. İntravenöz enjeksiyondan sonra %90 oranında plazma proteinlerinde, %5 oranında eritrositlere bağlanır. Plazmadan temizlenmesi oldukça yavaş olup tekli eksponansiyel bir eğri gösterir. Enjeksiyondan 2 saat sonar enjekte edilen dozun %40-%65'i proksimal tubuler hücrelere bağlanır. Geri kalan kısmı başta karaciğer ve dalak olmak üzere diğer organlar tarafından elimine edilir. Ortalama plazma yarılanma ömrü 56 dakika olup enjeksiyondan 14

saat sonra enjekte edilen dozun %6-9 u kanda bulunur. Enjekte edilen dozun yaklaşık %65'i glomerüler filtrasyona, %35'i ise tübüler sekresyona uğrar. Tübüler reabsorbsiyonu yoktur. Kümülatif üriner ekskresyonu 1. saatte %6, 2. saatte %10-12, 14. saatte ise %25 olarak bildirilmiştir (121-124).

Birçok çalışmada renal Tc-99m DMSA tutulumunun renal kan akımı ve/veya böbrek kitlesinin miktarı ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Tc-99m DMSA tutulumu efektif renal plazma akımının da (ERPF) iyi bir göstergesidir. ERPF konjenital tübüler asidoz gibi nadir patolojilerde ve daha sık olarak görülen kemoterapiye bağlı renal toksisite de tübüler disfonksiyonun bir belirteci olarak kullanılabilir (121, 123).

Ticari olarak satışa sunulan formunda DMSA %90 oranında meso-izomer, %10 oranında d,I-izomer içerir. Her vialde DMSA ve liyofilize formda stannöz klorid dihidrat bulunur. Vial içerisine uygun miktarda Tc-99m PO₄ eklendikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletilerek kullanıma hazır hale getirilir. Kit hazırlandıktan sonra ince tabaka kromatografisi ile bağlanma yüzdesi kontrol edilmelidir. Bağlanma verimliliği %90'nın üzerinde olmalıdır. Bağlanma yüzdesi ne kadar fazla ise kitin stabilitesi ve kullanım süresi o kadar fazla olur (125).

Kitin hava ile temas etmemesine ve hazırlandıktan sonra 30 dakika içinde kullanılmasına dikkat edilmelidir. Aksi takdirde stabilitesi olumsuz yönde etkilenecek görüntülerde böbrek dışı tutulumun yüksek olmasına neden olur. Hazırlanan kit oda sıcaklığında (15-30°C) ve ışığa karşı hassas olduğundan karanlıkta bekletilmelidir.

Tc-99m DMSA intravenöz olarak verilir. Erişkin dozu 2-5 mCi'dir. Hastaların ağırlığına göre verilen aralıkta doz düzenlemesi yapılabilir. Çocuklarda ise vücut ağırlığı veya vücut yüzey alanına göre doz hesaplaması yapılır. Vücut ağırlığına göre yapılan hesaplamada 0.05 mci/kg formülü kullanılır. En fazla radyasyon maruziyeti böbreklerde görülmektedir (Tablo1.).

Tablo 1. Tc-99m DMSA sintigrafisi için çocuklarda radyasyon dozimetresi (123).

Radyofarmasötik	Aktivite (MBq/kg)	En Fazla Doz (mGy/mBq)	Effektif Doz (mSv/mBq)
Tc-99m DMSA	1.5-1.9	0.45 (Böbrekler)	0.0039

Eğer hastalar sedatize edilmeyecekse testin yapılmasından önce özel bir hasta hazırlığına gerek yoktur. Sedasyon küçük ve/veya uzun süre hareketsiz duramayacak koopere olamayan çocuklarda yapılabilir. Görüntüleme öncesi bazı bilgiler edinilmesi sintigrafinin doğru yorumlanmasında önem taşır. Bunlar, idrar yollarına ait cerrahi, konjenital üriner anomaliler (çift toplayıcı sistem, ektopik renal doku, renal füzyon vs), idrar yolu obstrüksiyonu ve kitle varlığının sorgulanması vb. Ayrıca önceki radyografik, USG ve radyonüklid çalışmalarının bilinmesi çok önemli katkılar sağlar. Tetkik bir haftalık yeni doğan döneminde yapılabilir, ancak yenidoğan döneminde tübüler fonksiyonun olgun olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca renal tübüler asidozlu hastalarda azalmış tübüler Tc-99m DMSA konsantrasyonu ve artmış idrar ekskresyonu gösterecektir (126).

Görüntüleme işlemi enjeksiyondan 2-5 saat sonra yapılır (124). Hidronefroz, obstrüksiyon ve/veya renal fonksiyonların azalmış olduğu durumlarda 24. saatte geç görüntü alınması uygun olur. Görüntüleme planar, pinhol veya SPECT görüntüleme teknikleriyle yapılabilir. Yaygın olan uygulama yüksek çözünürlüklü paralel delikli kolimatör ile planar görüntüleme şeklindedir. İnfantlarda ve küçük çocuklarda, büyüterek görüntü elde etmeye imkân veren pinhol görüntüleme yapılmalıdır. SPECT görüntülemede gama kameranın hasta etrafında 360° dönmesi esnasında elde edilen görüntüler üç boyutlu olarak değerlendirilir. SPECT görüntüleme planar görüntülemeye göre daha doğru sonuçlar verir ve özellikle renal skarlaşmanın değerlendirilmesinde faydalıdır (121). Multidedektör kamera sistemi ile yapılacak SPECT görüntülemede konvansiyonel planar veya pinhol kolimatör tekniklerine göre renal lezyonları saptama oranı daha yüksektir (127).

Statik görüntüleme için hasta supin pozisyonda yatırılır. Paralel delikli yüksek çözünürlüklü kolimatör ile 256x256 matriks formatında; posterior, anterior, her iki posterior oblik ve her iki lateral pozisyonlarda görüntüler elde edilir. Her bir projeksiyonda 5-10 dakika süreli veya 300.000-500.000 sayım alınır. SPECT görüntüleme 128x128 matrikste, 360 derece rotasyon ile hasta sırtüstü pozisyonda yatarken elde edilmelidir. Nispeten uzun görüntüleme zamanının hareket artefakti ve normal görünümüleri dahi patolojik okumak gibi sorunları beraberinde getireceği göz önünde bulundurulmalıdır. Pinhole kolimatör ile görüntüleme yapmak mümkündür. Hasta yüzükoyun konumda da bulunabilir ve 150.000 sayım (minimum 10 dk) almak

gerekir. Transplante böbrekte veya böbrekte yerleşim veya rotasyon anomalisi mevcut ise anteriordan da görüntü alınmalıdır.

Her iki böbrek için posterior pozisyonda alınan görüntü üzerinde böbrek sınırları boyunca ilgi alanı (ROI) çizilir. Split renal fonksiyonların doğru hesaplanması için böbrek dışında küçük bir alanda background ROI çizilerek zemin aktivitesi düzeltilmesi yapılır. Rotasyon anomalilerinde aynı işlem anterior pozisyonda alınan görüntüde de yapılarak geometrik hesaplama yapılmalıdır. Kantitatif değerlendirme için gerekli bu işlemler gama kamera sisteminin çalışma istasyonlarındaki programlar vasıtasıyla gerçekleştirilir. Vizüel olarak böbreklerin sayısı, yerleşimi, ebatları, morfolojisi ve bölgesel renal parankim fonksiyonları değerlendirilmelidir (123).

Daha doğru bir değerlendirme için öncelikle normal varyasyonları ve olası artefakt nedenlerini bilmek ve dışlamak gerekir. Hasta hareketi görüntülerde artefakta neden olabilir. Gerekli durumlarda hareket artefaktı izlenen görüntüler tekrarlanmalıdır. Dehidratasyon varlığında böbrek/karaciğer aktivite tutulum oranı azalabilir. Bu nedenle hastanın hidrasyonu korunmalıdır (125). Ayrıca TC-99m DMSA kitinin hazırlanmasından enjeksiyon yapılmasına kadar geçen süre ile orantılı olarak kitin stabilitesini kaybetmesine bağlı olarak yine karaciğer/böbrek aktivite tutulumu azalabilir. Bu sorunun önüne geçmek için kit hazırlandıktan sonra kısa süre içerisinde enjeksiyonlar tamamlanmalıdır. Sol böbreğin süperolateralinde dalak basısına bağlı olarak düzleşme izlenebilir (127). Böbreklerin üst pollelerinde dalak ve karaciğer kaynaklı atenüasyon nedeniyle görece daha düşük düzeyde aktivite izlenebilir. Bebeklerde ve küçük çocuklarda böbrekler üçgen şeklinde görülebilir. Fetal lobülasyon izlenebilir (128, 129).

Normal görüntülerde kortekste oldukça homojen bir dağılım gözlenir (121). Renal konturlar düzgün olarak izlenir (127). Santralde kaliksler ve papiller piramitlere bağlı olarak rölatif azalmış tutulum izlenebilir. Bununla birlikte renal piramitlerin arasındaki kortikal dokular olan Bertini kolonlarındaki hiperaktif (normal) tutulum nedeniyle bu bölge görece heterojen olarak izlenebilir. Obstrüksiyon varlığı dışında toplayıcı sistemlerde aktivite izlenmez (121). Her iki böbreğin yaklaşık olarak aynı ebatta ve aynı yoğunlukta aktivite tutmuş olarak izlenmesi beklenir. Karaciğerde düşük düzeyde TC-99m DMSA tutulumu görülür.

Split renal fonksiyonların değerlendirilmesinde %45-55 aralığı normal olarak kabul edilir (123).

Akut pyelonefritte volüm kaybının ve renal konturlarda deformasyonun eşlik etmediği tek veya çok sayıda bölgesel fokal fotopenik alan izlenir. Alternatif olarak Tc-99m DMSA tutulumunda difüz azalma ve ödeme bağlı olarak böbrek ebatlarında artma ile karakterize tüm böbreğin etkilenmesi şeklinde kendini gösterebilir. Akut pyelonefritte izlenen defektler tipik olarak 6-12 ay içinde düzelir. Bu nedenle skar ayırımı için 6 ay sonra sintigrafik kontrolü önerilir. Ancak akut ve kronik pyelonefrit veya skarlaşma her zaman statik böbrek sintigrafisi ile ayırtedilemeyebilir. Kronik pyelonefrit ve skarlaşmada renal kontur kaybı, kortikal retraksiyonlar ve volüm kaybının eşlik ettiği defektler en sık izlenen patolojik bulgulardır. Kama şeklinde, ovoid ve kortikal düzleşmeye neden olan, kortikal kaybın eşlik ettiği defektler kortikal skarı işaret eder. Vakaların %10-20'sinde unilateral veya bilateral renal atrofi vardır. Böbrek yetmezliğinde hepatobiliyer eliminasyon ön planda olacağından böbrek tutulumunda azalma ile birlikte karaciğer, safra kesesi ve barsak tutulumunda artış izlenir. Bertini kolonlarının sayı ve ebatlarının kişiden kişiye farklılık göstermesi yanlış değerlendirmeye neden olabilir (121, 125, 129-130).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 30.05.2012 tarih ve 59 sayılı etik kurulu onayı alındı.

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada her biri 230-280 g ağırlığında olan 32 adet Wistar türü Albino suşu dişi sıçanlar kullanıldı. Denekler Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışma boyunca sıçanlar 12'şer saatlik ışık/ karanlık esasına göre aydınlatılan, sıcaklık kontrollü ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) standart laboratuvar şartlarında barındırıldı. Standart pelet yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Sıçanların çalışma boyunca suya serbestçe ulaşmaları sağlandı. Çalışma sonunda, anestezi altında iken sıçanlardan intrakardiyak kan örnekleri alınıp sakrifiye edildikten sonra böbrekleri çıkarıldı.

Deney hayvanları rastgele seçilerek, her birinde 8 sıçan bulunan 4 grup oluşturuldu:

Grup 1 (n=8): Serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu

Grup 2 (n=8): Sisplatin uygulanan grup

Grup 3 (n=8): Agmatin uygulanan grup

Grup 4 (n=8): Agmatin verildikten sonra sisplatin uygulanan grup

3.2. Serum Fizyolojik ve İlaçların Uygulanması

Sıçanlarda nefrotoksisite oluşturmak için sisplatin (CISPLATİN-Ebewe ® Flakon 50mg/100 mL, Liba İlaç) kullanıldı. Sisplatin çalışmanın birinci günü 7.5 mg/kg dozunda, intraperitoneal tek doz olarak verildi. Nefrotoksisiteyi engellemek amacıyla agmatin (Sigma®) kullanıldı. Agmatin, çalışmanın birinci, ikinci ve üçüncü günlerinde, bir doz olarak, intraperitoneal enjeksiyon (3mg/ml konsantrasyonda 10mg/kg doz) şeklinde uygulandı. Plasebo olarak sisplatin ve agmatin ile eşit hacimde serum fizyolojik (%0.9 NaCl) solüsyonu kullanıldı. Serum fizyolojik çalışmanın birinci, ikinci ve üçüncü günlerinde 5 ml/kg/dozunda, intraperitoneal

enjeksiyon şeklinde uygulandı. Deney hayvanlarına serum fizyolojik ve ilaçların uygulanması Tablo 2.' de gösterilmiştir.

Tablo 2. Deney hayvanlarına serum fizyolojik ve ilaçların uygulanması

	Uyg. Zamanı	1. gün	2. gün	3. gün
Grup 1 (SF [*])	0. dak.	SF	SF	SF
	15. dak.	SF	SF	SF
	30. dak.	SF		
Grup 2 (Sisplatin [‡])	0. dak.	SF	SF	SF
	15. dak.	SF	SF	SF
	30. dak.	Sisplatin		
Grup 3 (Agmatin [‡])	0. dak.	SF	SF	SF
	15. dak.	Agmatin	Agmatin	Agmatin
	30. dak.	SF		
Grup 4 (Agmatin+Sisplatin)	0. dak.	SF	SF	SF
	15. dak.	Agmatin	Agmatin	Agmatin
	30. dak.	Sisplatin		

*5 ml/kg, IP olarak verildi

‡7.5 mg/kg doz ve 0.5 mg/ml konsantrasyonda, IP olarak verildi

‡10 mg/kg doz ve 3 mg/ml konsantrasyonda, IP olarak verildi

3.3. Anestezi Uygulaması

Sintigrafik görüntüleme, deneklerin böbreklerinin çıkarılması ve kan örneklerinin alınması anestezi altında yapıldı. Anestezi 0.15 cc ketamin hidroklorid (Ketalar® 50mg flakon, Pfizer) ve 0.06 cc ksilazin hidroklorid (Rompun® %2 enj. çözelti, Bayer) intramusküler verilerek gerçekleştirildi.

3.4. Tc-99m DMSA Sintigrafisi

3.4.1. Radyofarmasötüğün hazırlanması ve uygulanması

Tc-99m DMSA radyofarmasötüğünü hazırlamak için Mo-99/Tc-99m jeneratöründen (Ultra-TechneKow ® FM, Covidien, Nepha Tıbbi Cihazlar San. ve Tic. A.Ş. İstanbul, Türkiye) sağım yapılarak elde edilen Tc-99m radyonüklidi ile ticari olarak satın alınan DMSA kiti (Renocis ®, CIS bio international Filiale de SCHERING S.A., Radmed Sağlık ürünleri ve Cihazları Pazarlama İthalat San. ve Tic. A.Ş.

Ankara, Türkiye) kullanıldı. 5 ml SF içerisinde bulunan 20 mCi Tc-99m, DMSA kitine eklendikten sonra 15 dk süreyle oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Ardından ince kağıt kromotografi yöntemiyle kalite kontrol işlemleri yapılarak bağlanma etkinliği %95'in üzerinde olduğu görülen kit kullanıldı.

Anestezi uygulanmış sıçanların kuyruk veninden, 24 G kanül yoluyla, 400 µCi Tc-99m DMSA intravenöz olarak verildi.

3.4.2. Sintigrafik görüntüleme

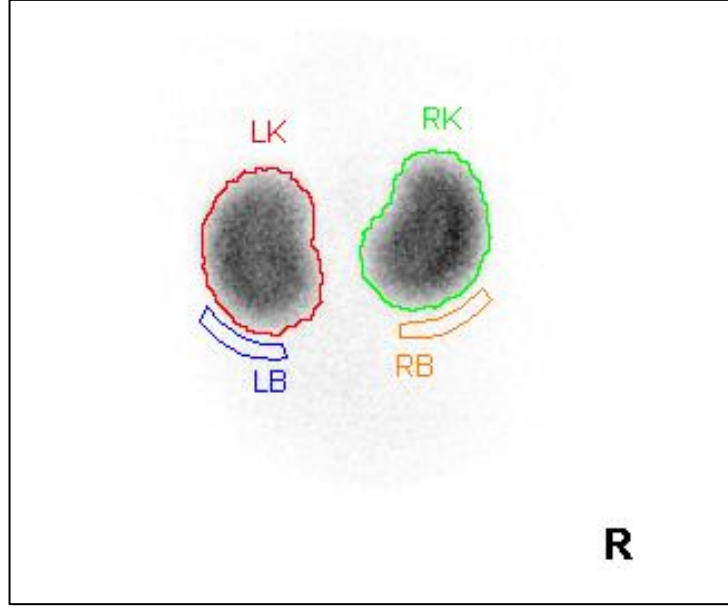
Radyofarmasötik enjeksiyonundan 4 saat sonra çift dedektörlü gama kamera (Siemens marka Symbia S model) ile sintigrafik görüntüler elde edildi. Anterior detektöre pinhole, posterior detektöre paralel hole (LEHR) kolimatör takıldı. Sıçanlar prone pozisyonda sabitlendikten sonra böbrekler görüntü alanına girecek şekilde gama kamera altına yerleştirildi. 256x256 matriks ve +2 büyütme uygulanarak her bir denekten 5 dakikalık statik imajlar (posterior pinhole ve anterior planar) alındı.

3.4.3. Sintigrafik değerlendirme

Elde edilen sintigrafik görüntüler üzerinde böbrek ve böbrek dışı (background) ortalama sayımları gama kameranın iş istasyonundaki software programı vasıtasıyla otomatik olarak hesaplandı. Böbreklerin parankim fonksiyonlarının değerlendirilmesinde sağ ve sol böbrek için ayrı ayrı böbrek Tc-99m DMSA uptake'i (böbrek /böbrek dışı ortalama sayım oranı) kullanıldı. Total fonksiyon değerlendirilirken ise sağ ve sol böbrekler için elde edilen oranların aritmetik ortalaması kullanıldı. Hesaplamalar şu formüller üzerinden yapılmıştır;

$$\text{ortalama sayım (cpp)} = \frac{\text{total sayım (count)}}{\text{piksel sayısı}}$$

$$\text{böbrek Tc - 99m DMSA uptake'i} = \frac{\text{böbrek ROİ ortalama sayımı (cpp)}}{\text{background ROİ ortalama sayımı (cpp)}}$$



Şekil 4. Sintigrafik görüntüler üzerinde böbrek uptake'ının hesaplanması. Posterior pozisyonda pinhole kolimatör ile alınan statik görüntülerde sol böbrek (LK), sol böbrek background'u (LB), sağ böbrek (RK) ve sağ böbrek background'una (RB) ait ROİ çizimi görülmektedir.

3.5. Ratların Sakrifiye Edilmesi, Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Ratlar anestezi altındayken torakotomi ile göğüs duvarı açılarak intrakardiyak 4-8 ml kan alınıp hipovolemi oluşturularak sakrifiye edildi. Sonrasında vertikal abdominal insizyon ile karın ön duvarı açılarak her iki böbrek cerrahi olarak çıkarıldı. Çıkarılan sol böbrek dokuları histopatolojik çalışmalar için formaldehid solüsyonuna konuldu ve -20 °C'de saklandı. Biyokimyasal çalışmalar için kanlar santrifüj cihazında (NF800, Nüve) 15 dk. süre ile 3000 devirde santrifüje edildikten sonra kuru tüpte -20 °C'de saklandı.

3.6. Tc-99m DMSA Uptake'inin İn Vitro Ölçümü

Alınan sol böbrek dokusundan ve lomber bölgeden alınan yumuşak dokudan gamma counter cihazında (LB 2111-LBIS, EG&G Berthold) 140 keV ve %20 pencere aralığında sayım yapıldı. Her bir örnekten 60 sn'lik sayımlar elde edildi. Tüm örneklerin ağırlık ölçümleri hassas bir terazi kullanılarak (High-precision Analytical

Electronic Balance, AFR-220CE Vibra, Shinko Denshi, Japan) yapıldı. Elde edilen sayımlar (cpm), dokuların ağırlıklarına bölünerek gram başına dakikalık sayım (cpm/g) hesaplandı. Sonrasında gram başına böbrek sayımı gram başına böbrek dışı yumuşak doku sayımına bölünerek böbrek/böbrek dışı Tc-99m DMSA tutulum (uptake) oranı hesaplandı. Değerlendirme için bu parametre kullanıldı (131). Yapılan hesaplamalar aşağıdaki gibi formülize edilmiştir;

$$\text{gram başına böbrek sayımı} = \frac{\text{böbrek dokusunun sayımı (cpm)}}{\text{böbrek dokusunun net ağırlığı (g)}}$$

$$\text{gram başına yumuşak doku sayımı} = \frac{\text{yumuşak doku sayımı (cpm)}}{\text{yumuşak dokunun net ağırlığı (g)}}$$

$$\text{böbrek Tc - 99m DMSA uptake'i} = \frac{\text{gram başına böbrek sayımı}}{\text{gram başına yumuşak doku sayımı}}$$

3.7. Serum Bun, Kreatinin ve Sistatin C Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum BUN ve kreatinin seviyeleri kolorimetrik yöntemle Advia 2400 (Siemens Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) otoanalizör cihazında aynı markalı kitlerle çalışıldı. Serum sistatin C düzeyleri ise ticari rat sistatin C kiti (ICL, Portland, USA) kullanılarak çalışıldı.

3.8. Histolojik Değerlendirme

Işık mikroskopik incelemeler için böbrek dokusuna ait biyopsi materyalleri, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Rutin Laboratuvarında, %10'luk formol fiksatoründe fikse edilip, parafin inklüzyonu yapılarak bloklandı. Bu bloklardan alınan 5 mikron kalınlığındaki kesitlere, böbrek dokusunun histolojik yapı özelliklerini ortaya koyacak hematoksilin-eozin (H-E) boyası uygulandı. Carl Zeiss Axio Lab A1 model ışık mikroskopunda bulgular görüntülendi.

Morfometrik incelemeler için, H-E ile boyanmış parafin kesitler değerlendirildi. Her bir sıçan için, bir kesit üzerinde 20 glomerül rastgele seçildi. Her bir glomerülün en geniş ve en dar olmak üzere iki farklı çapı ölçüldü, daha sonra ortalamaları alınarak glomerül çapları hesaplandı (132). Morfometrik ölçümlerden elde edilen veriler $\text{min} \pm \text{maks}$ şeklinde gösterildi.

3.9. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Biyokimyasal, histolojik ve sintigrafik değişkenler bakımından dört grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı. İki sayısal değişken arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

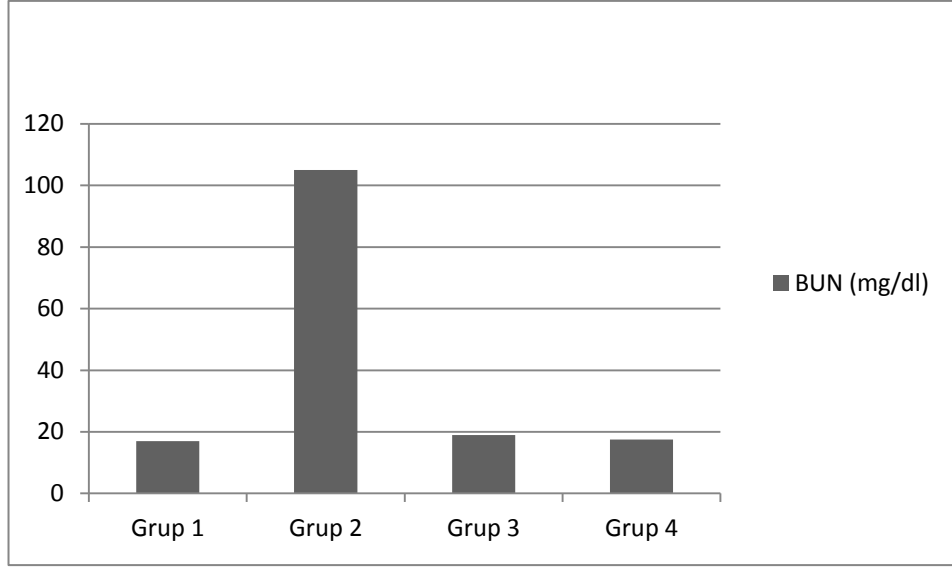
Deneklerin ortalama kreatinin, BUN ve sistatin c değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Ortalama serum kreatinin değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktaydı ($p<0,001$). Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmada Grup 1 ve Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ancak her iki grupta da serum kreatinin düzeyleri normal sınırlardaydı. Grup 2'de ise ortalama serum kreatinin değeri diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu (Grafik 1.).

Ortalama serum BUN değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi ($p=0,001$). İkili karşılaştırmalar sonucunda Grup 2'de ortalama serum BUN değeri diğer üç gruptan anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer ikili grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark elde edilmedi.

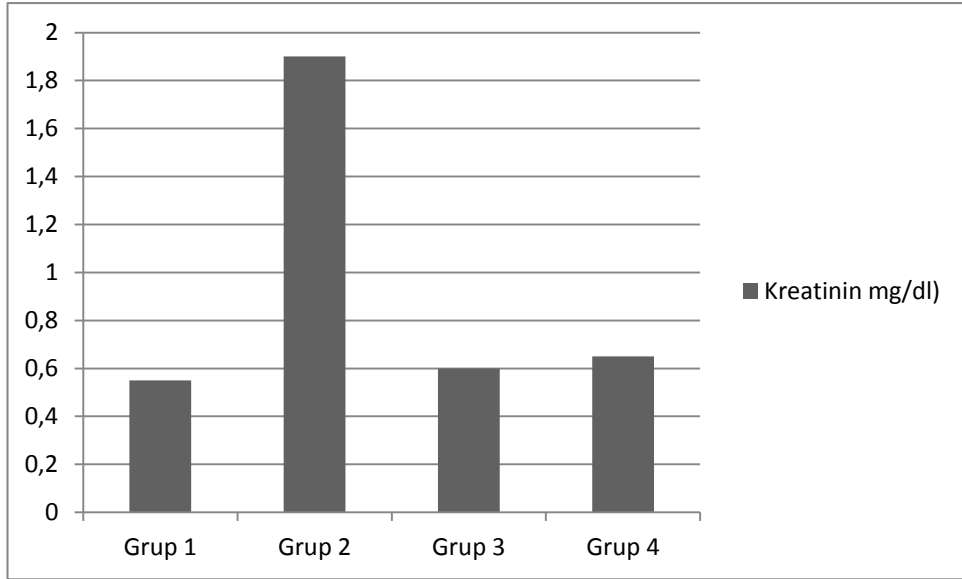
Tablo 3. Grupların ortalama serum kreatinin, BUN, sistatin c değerleri

Grup	Kreatinin (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Sistatin c (mg/L)
<i>Ortanca (minimum-maksimum)</i>			
Grup 1 (n=8)	0,55 (0,5-0,7)	17,0 (13-30)	3,31 (1,62-6,03)
Grup 2 (n=8)	1,90 (1,5-2,6)	105,0 (81-200)	7,96 (5,27-8,98)
Grup 3 (n=8)	0,60 (0,4-0,7)	19,0 (12-23)	4,78 (2,63-6,67)
Grup 4 (n=8)	0,65 (0,6-0,8)	17,5 (10-25)	4,69 (3,50-6,11)
	p< 0,001	p= 0,001	p= 0,001

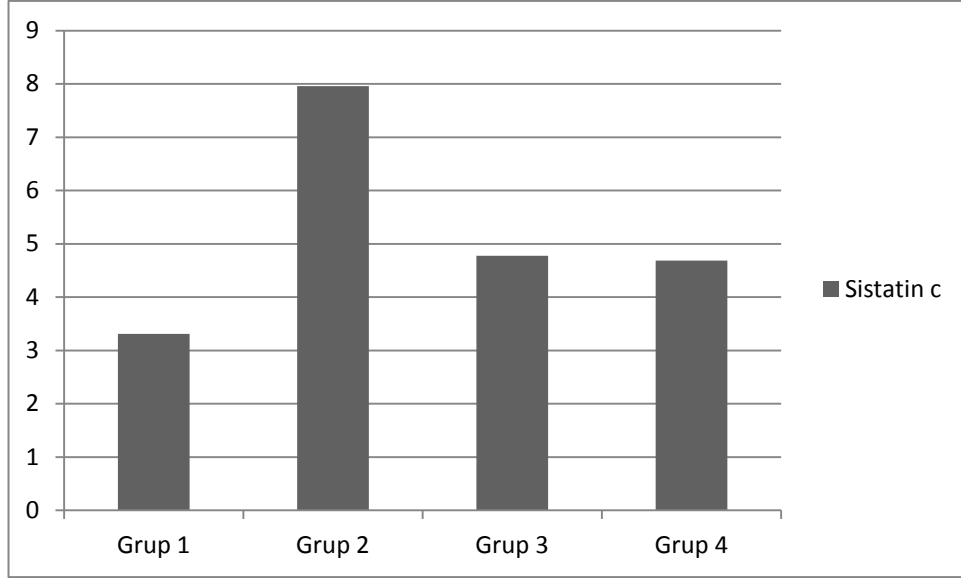
Ortalama serum sistatin c değerleri açısından değerlendirildiğinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda Grup 2'de ortalama serum sistatin c değeri diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ise anlamlı farklılık izlenmedi.



Grafik 1. Grupların ortalama serum BUN değerleri (ortanca değerler)



Grafik 2. Grupların ortalama serum kreatinin değerleri (ortanca değerler)



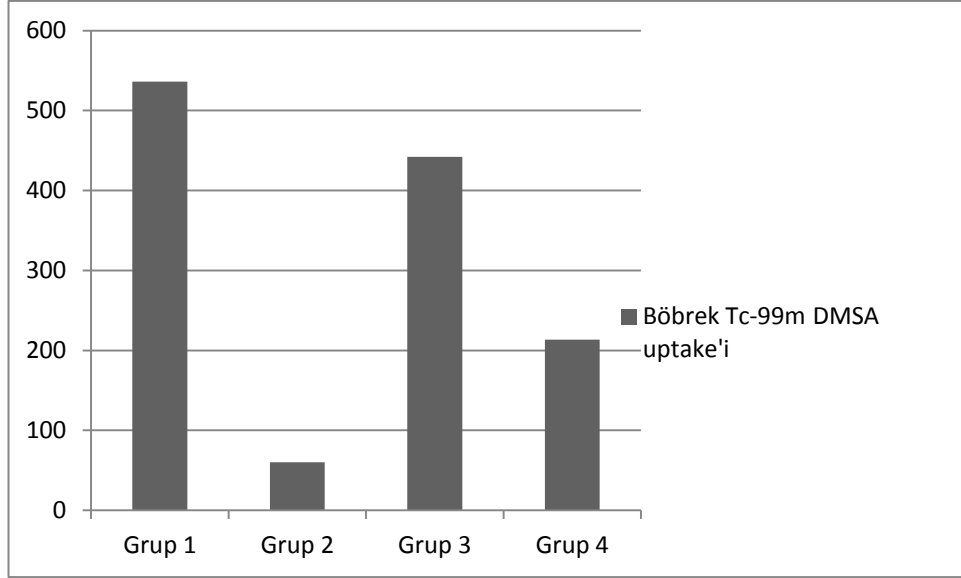
Grafik 3. Grupların ortalama serum sistatin c değerleri (ortanca değerler)

4.2. Tc-99m DMSA Uptake Bulguları

Sol böbrek için hesaplanan ortalama Tc99m-DMSA uptake değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.001$) (Tablo 4.). İkili karşılaştırmalarda Grup 2 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu grupların (Grup 2 ve Grup 4) ortalama böbrek/böbrek dışı uptake oranı değerleri diğer gruplardan (Grup 1 ve Grup 3) anlamlı farklılık göstermekteydi. Grup 1 ve Grup 3 arasında ise anlamlı farklılık saptanmadı (Grafik 4.).

Tablo 4. Sol böbrek için grupların in vitro Tc-99m DMSA uptake'i

Grup	Sol böbrek Tc-99m DMSA uptake'i (cpm/mg)
	<i>Ortanca (minimum-maksimum)</i>
Grup 1 (kontrol) (n=8)	536,10 (246,78-721,55)
Grup 2 (sisplatin) (n=8)	60,01 (16,63-124,56)
Grup 3 (agmatin) (n=8)	442,06 (256,42-712,25)
Grup 4 (agmatin + siplatin) (n=8)	213,50 (33,14-453,22)
$p < 0,001$	



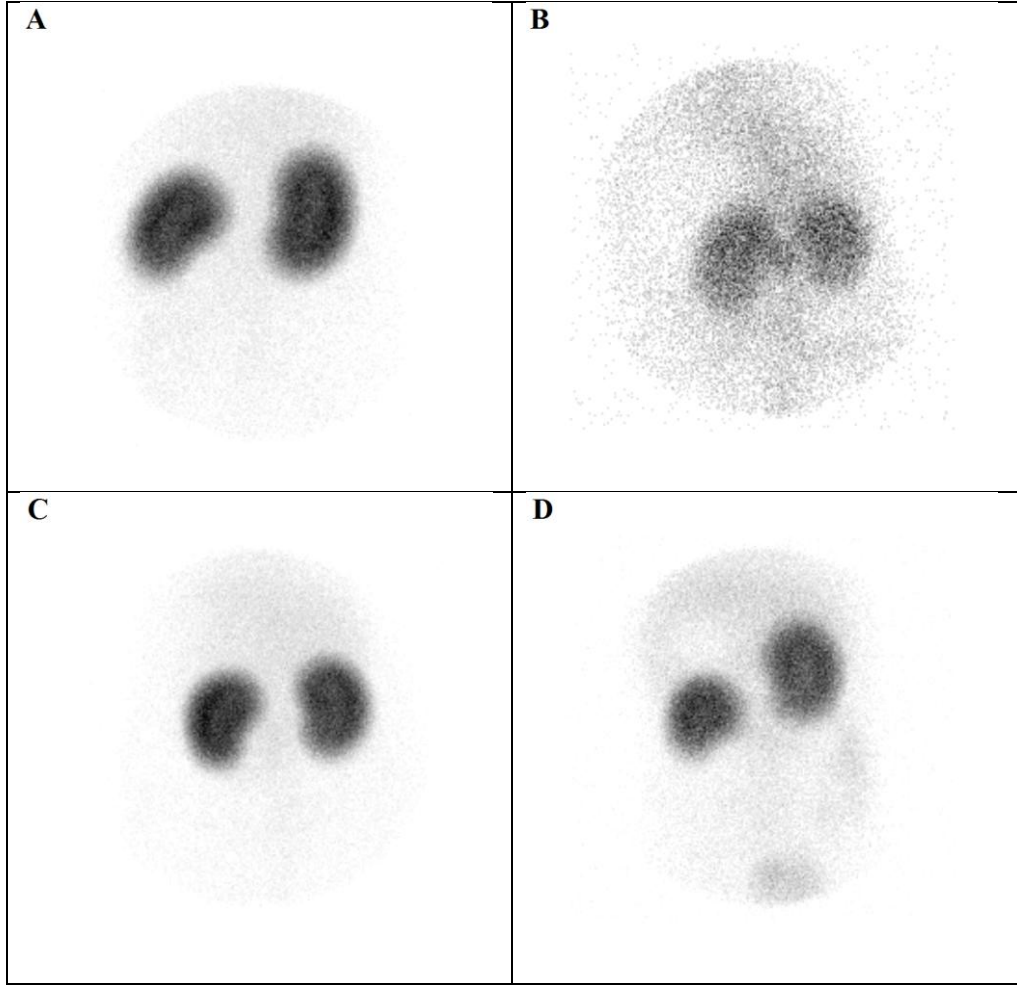
Grafik 4. Sol böbrek için grupların in vitro böbrek Tc-99m DMSA uptake'i (ortanca değerler)

4.3. Sintigrafik Bulgular

Sol böbrek, sağ böbrek ve her iki böbreğin toplamı (total) için ayrı ayrı Tc-99m DMSA uptake'inin bir göstergesi olarak böbrek-background ortalama sayımı oranları hesaplanmış ve bu orana göre istatistiksel değerlendirme yapılmıştır.

Buna göre sol böbrek için Tc-99m DMSA uptake'i açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Grupların ikili karşılaştırmalarında Grup 2'de Tc-99m DMSA uptake'i diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ise anlamlı farklılık izlenmedi. Sağ böbrekte Tc-99m DMSA uptake'i açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktaydı. Grupların ikili karşılaştırmalarında Grup 2'de Tc-99m DMSA uptake'i diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ise anlamlı farklılık saptanmadı.

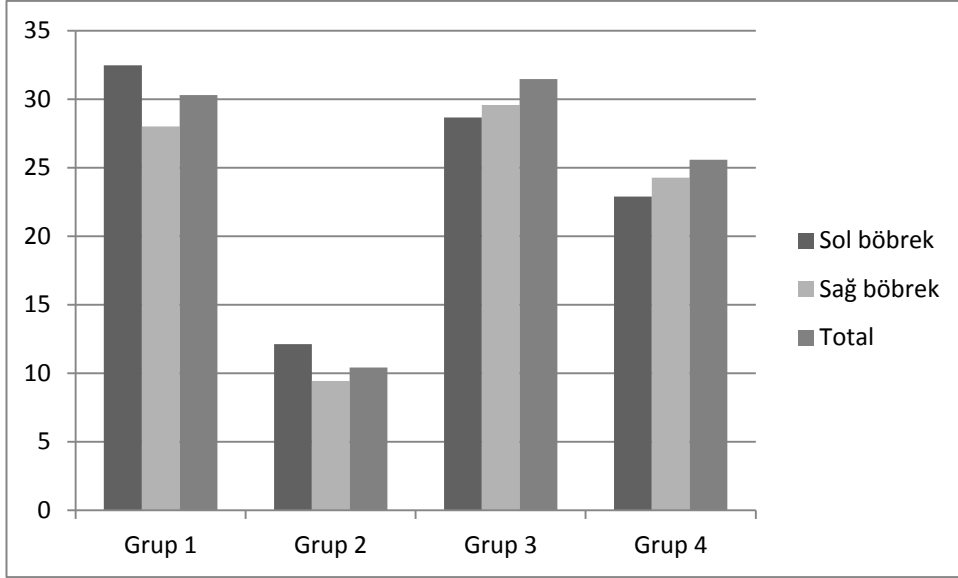
Gruplar arasında her iki böbrek için (total) ortalama Tc-99m DMSA uptake'i yönünden anlamlı farklılık saptandı. Yapılan ikili karşılaştırmalarda Grup 2'nin ortalama Tc-99m DMSA uptake'i diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü. Diğer grupların karşılaştırmalarında anlamlı farklılık yoktu (Tablo 5). Grup 1-4'e ait birer sintigrafi görüntüsü Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5: Pinhol kolimatör ile posterior pozisyonda alınan Tc-99m DMSA görüntüleri. Kontrol (A) ve agmatin (C) grubuna ait sintigrafik görüntülerde benzer böbrek ve böbrek dışı tutulum paterni izlenmekte. Sisplatin (B) grubuna ait sintigrafik görüntüde bilateral böbrek tutulumunda azalma ve background aktivitede belirgin artış dikkati çekmektedir. Sisplatin+ agmatin grubuna ait görüntüde ise böbrek tutulumu hafif azalmış olmakla birlikte kontrol ve agmatin grubuna yakın düzeyde olduğu görülmektedir.

Tablo 5. Grupların in vivo (sintigrafik) böbrek Tc-99m DMSA uptake'i

Grup	Sol Böbrek	Sağ Böbrek	Total
<i>Ortanca (minimum-maksimum)</i>			
Grup 1 (n=8)	32,48 (21,15-39,72)	28,01 (18,17-47,28)	30,29 (24,08-34,22)
Grup 2 (n=6)	12,13 (5,05-14,90)	9,45 (6,92-11,54)	10,42 (5,98-12,87)
Grup 3 (n=8)	28,67 (26,07-47,45)	29,58 (15,52-40,50)	31,47 (22,05-40,95)
Grup 4 (n=8)	22,88 (5,05-49,75)	24,27 (7,27-37,92)	25,57 (6,23-43,84)
	p= 0,009	p= 0,006	p= 0,005



Grafik 5. Sol, sağ ve her iki böbrek için grupların in vivo (sintigrafik) böbrek Tc-99m DMSA uptake’i (ortanca değerler)

4.4. Histolojik Bulgular

Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 6’da gösterilmiştir. Buna göre kontrol grubu sıçanların böbrek dokusunda yapılan ışık mikroskopik incelemeler sonucu glomerül yapısı, bowman kapsülü, bowman aralığı, interstisyel alan, proksimal ve distal tübüller histolojik açıdan normal morfolojik özellikler taşıyordu (Şekil 6, 7).

Grup 2’nin böbrek korteksine ait preparatları incelendiğinde, en çarpıcı değişikliklerin tübüllerde olduğu gözlemlendi. Korteks bölgesinde lümenleri genişlemiş, oval, uzun ve spiral şekilli tübüller gözlemlendi. Tübüller dejenerasyon alanları, apoptoz ve nekrozun bir bulgusu olarak piknotik çekirdekli tübül hücreleri ve bazı tübüllerde kistik oluşumların ortaya çıktığı gözlemlendi (Şekil 8, 9, 10). Glomerüler yapısı kısmen veya tamamen bozulmuş, bowman aralığı genişlemiş ve bu sebeple normal görünümünü kaybetmiş çok sayıda böbrek cisimciğine rastlandı (Şekil 8).

Grup 3’e ait preparatlarda yapılan incelemeler sonunda; böbrek korteksine ait yapıların kontrol grubuna benzer histolojik yapı gösterdiği izlendi (Şekil 11, 12).

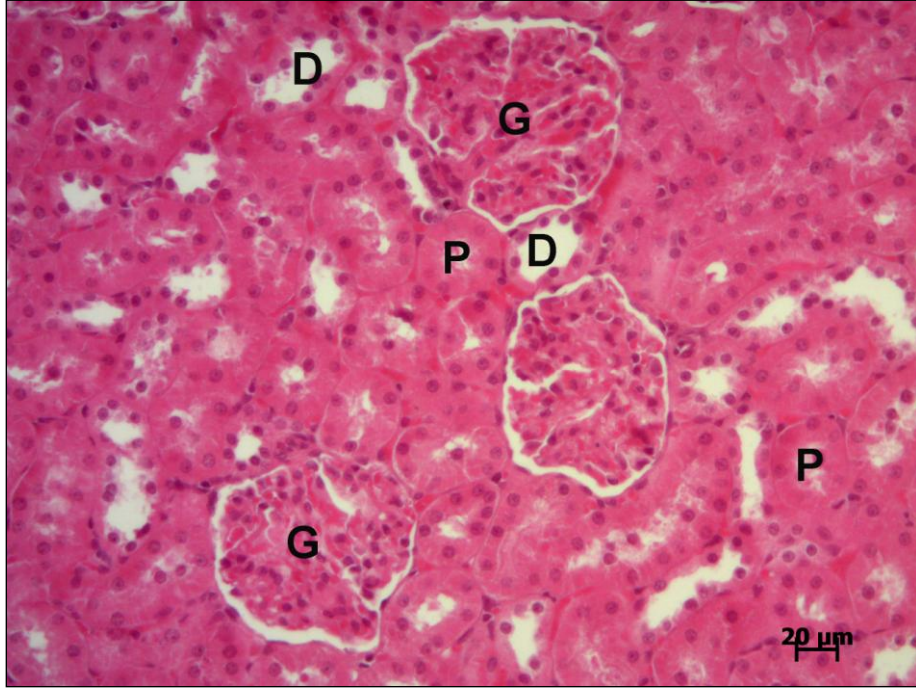
Sisplatin ile agmatin uygulanmış sıçanların böbrek korteksleri incelendiğinde, böbrek cisimciklerinin çoğunun normale yakın bir büyüklükte olmasına karşın, glomerülü hasarlanmış birkaç böbrek cisimciğinin olduğu gözlemlendi. Tübüllerdeki

dejenrasyonun kısmen azaldığı gözlemlendi. Ancak sadece cisplatin uygulanan gruptaki gibi tübüllerde kistik yapıların varlığı saptandı (Şekil 13, 14, 15).

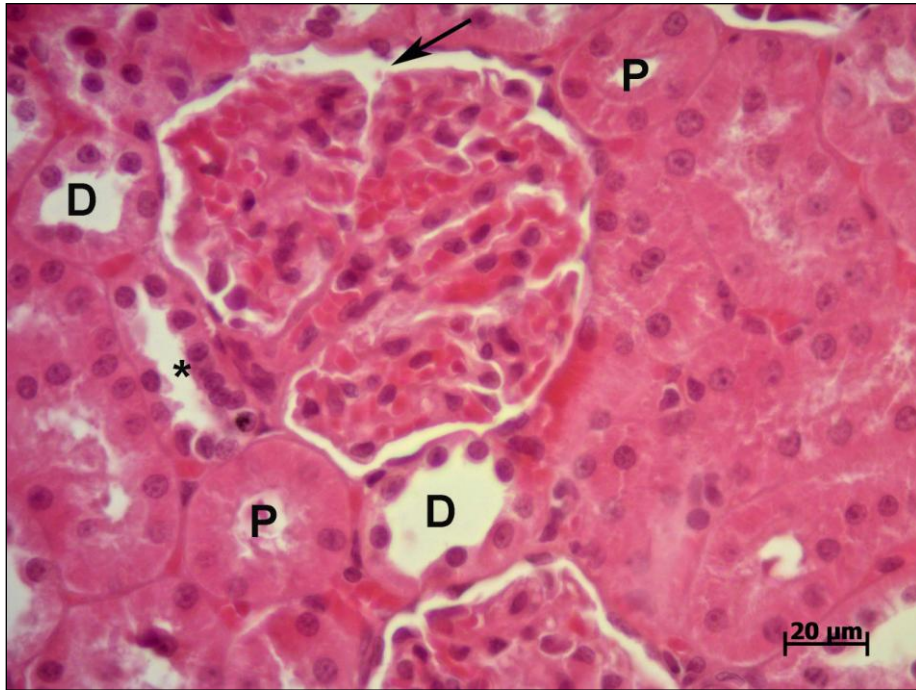
Morfometrik bulgulara bakılarak ortalama glomerül çapı için yapılan istatistiklerde, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamasına karşın, ortalama glomerül alanı için; gruplar arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla cisplatin grubunda glomerül alanı oldukça azalmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda Grup 2’de glomerül alanı değeri diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulundu. Diğer ikili grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark elde edilmedi (Tablo 6).

Tablo 6. Grupların ortalama glomerül çapı ve alanı

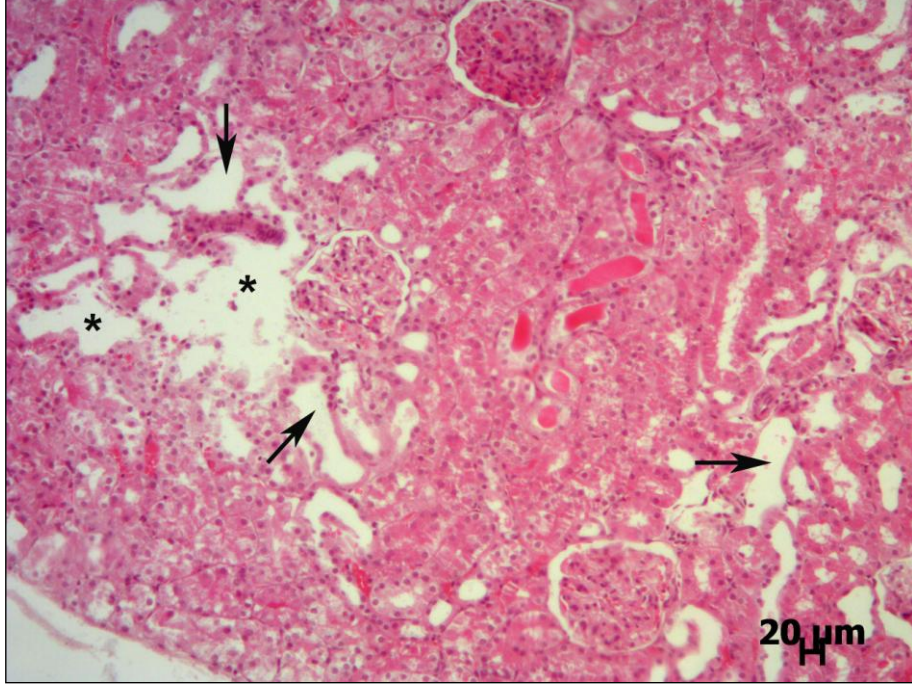
Grup	Ortalama Glomerül Çapı	Ortalama Glomerül Alanı
	<i>Ortanca (minimum-maksimum)</i>	
Grup 1 (n=8)	108,0 (99,3-127,5)	8934,74 (8207,13-12667,54)
Grup 2 (n=8)	99,5 (93,0-110,1)	7328,94 (6732,40-9273,63)
Grup 3 (n=8)	109,4 (96,0-129,1)	9158,36 (7275,36-12841,12)
Grup 4 (n=8)	108,5 (97,2-114,5)	9070,44 (7671,70-10452,13)
	p= 0,077	p= 0,042



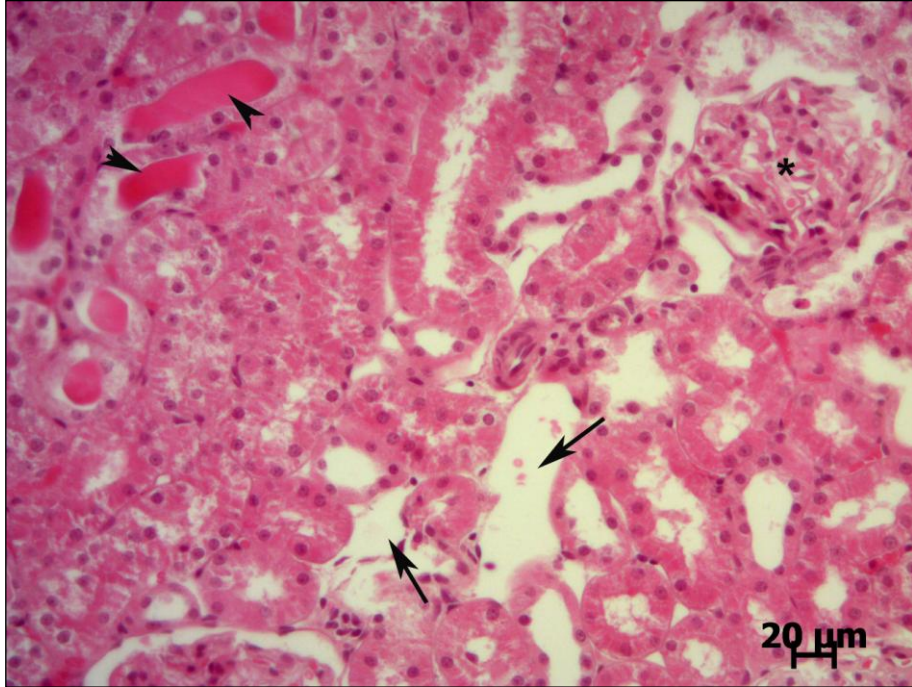
Şekil 6. Kontrol grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm. Glomerüller (G), proksimal (P) ve distal tübüller (D)'in normal görünümde olduğu izlenmekte. H-E.



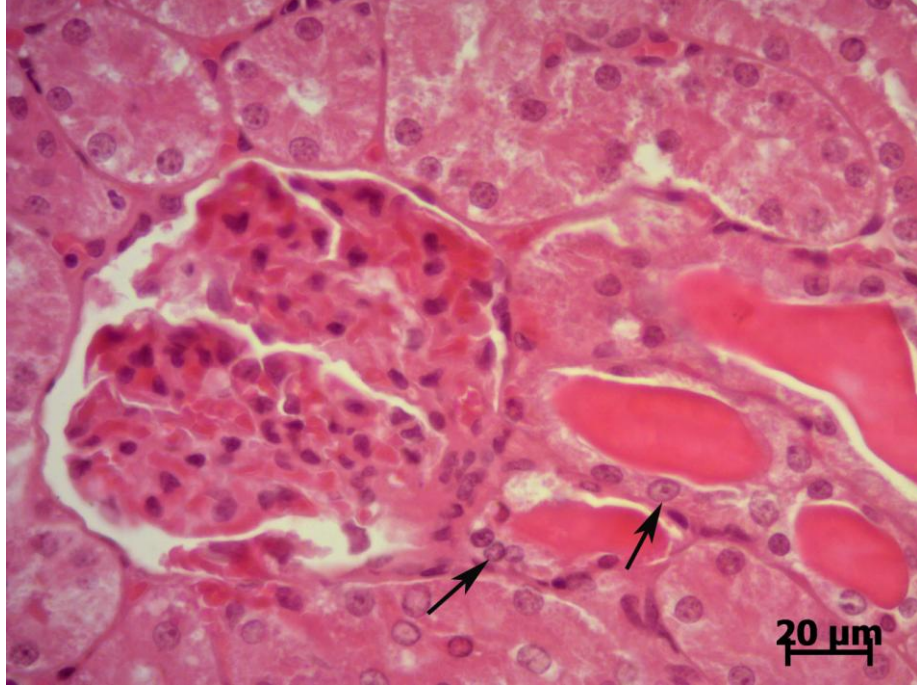
Şekil 7. Kontrol grubuna ait sıçan böbreğinde makula densa ve bowman boşluğu. Glomerülün damar kutbunda Makula densa (*) izlenmekte. Kontrol grubuna ait böbrek korteksinden geçen kesitte bowman boşluğu (ok), distal tübül (D) ve proksimal tübül (P) olağan bir görünümde. H-E.



Şekil 8. Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinde korteks. Tübüler dejenerasyon alanları (*) ve tübüler dilatasyonlar (ok) izlenmekte. H-E.



Şekil 9. Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapıların durumu. Glomerüller dejenerasyon (*), tübüler nekroz (ok), tübüler lümende kistik yapılar (ok başı) görülmekte. H-E.



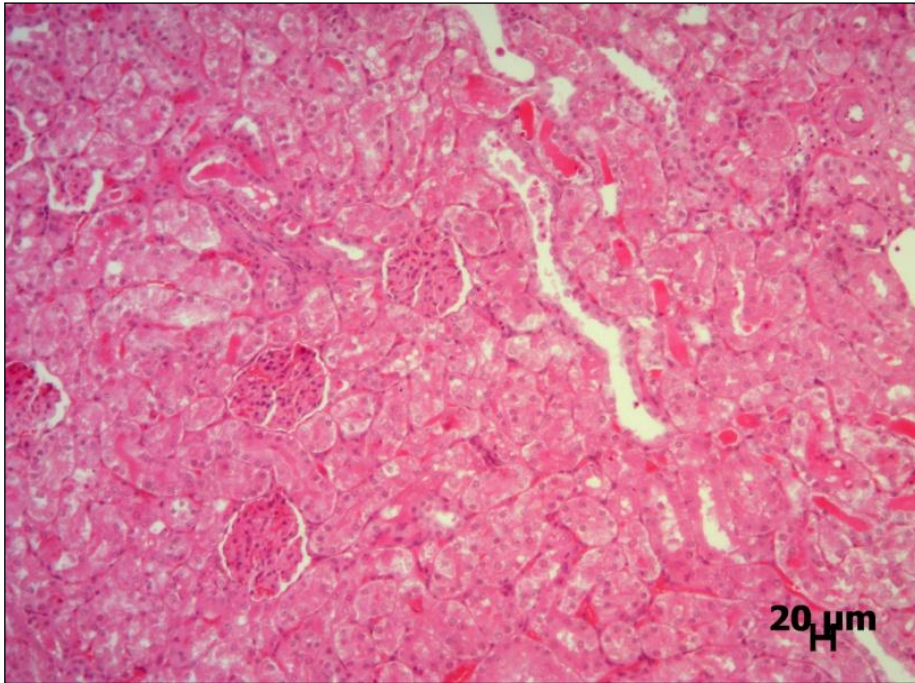
Şekil 10. Sisplatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm. Piknotik çekirdekli tübül hücreleri (ok) ve tübüllerdeki kistik yapılar belirgin olarak izlenmekte. H-E.



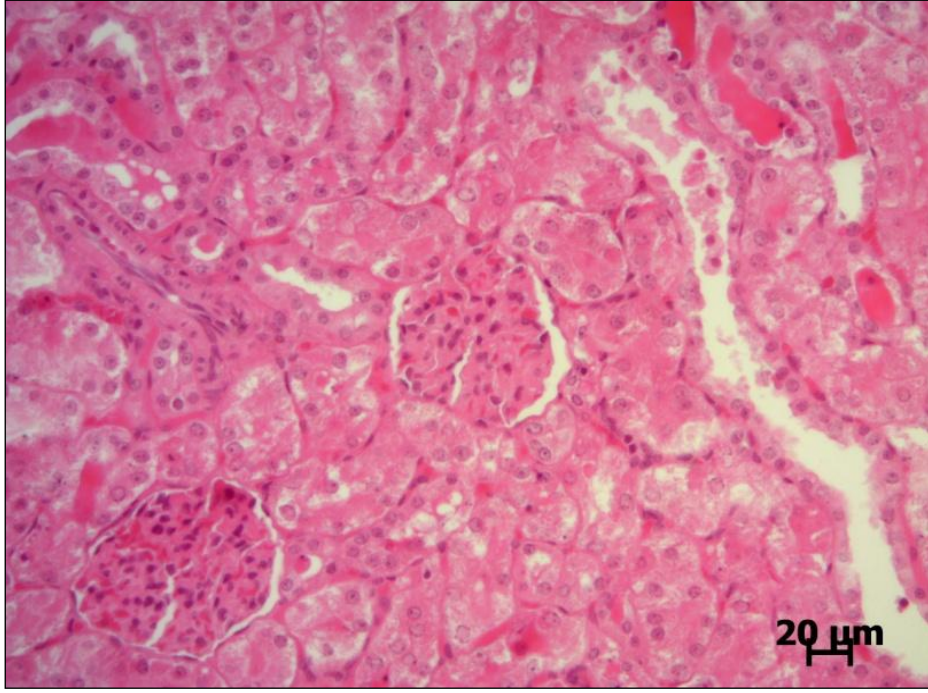
Şekil 11. Agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapıların durumu. Glomerüller (G), distal tübül (D) ve proksimal tübüller (P) normale yakın bir yapıda izlenmekte. H-E.



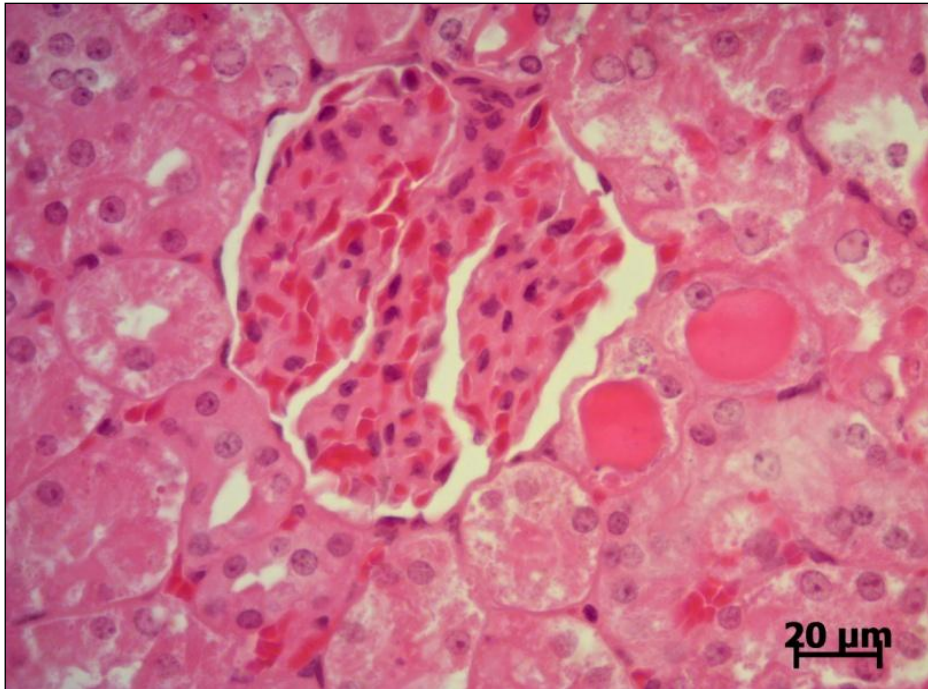
Şekil 12. Agmatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm. Glomerülün paryetal yaprağı (ok) ve bowman boşluğu (*) görülmekte. Distal Tübül (D) ve Proksimal Tübül (P) normal histolojik yapıda izlenmekte.



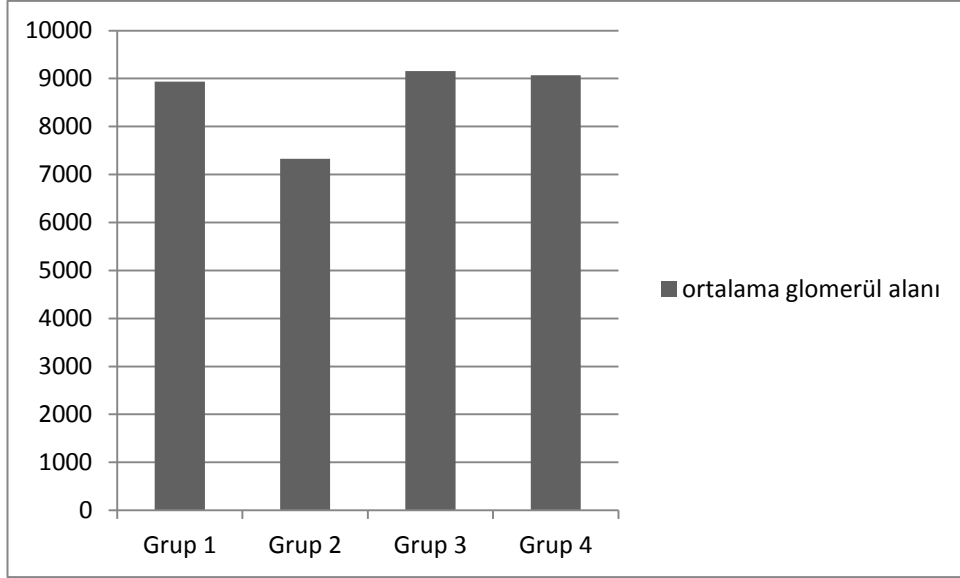
Şekil 13. Sisplatin+agmatin grubuna ait sıçan böbreğinden histolojik bir görünüm. Tübüler dejenerasyonların ve tübüler dilatasyonların azalmasına karşın, interstisyel alanda vasküler konjesyonlar ve tübüllerdeki kistik yapıların varlığı izlenmekte. H-E.



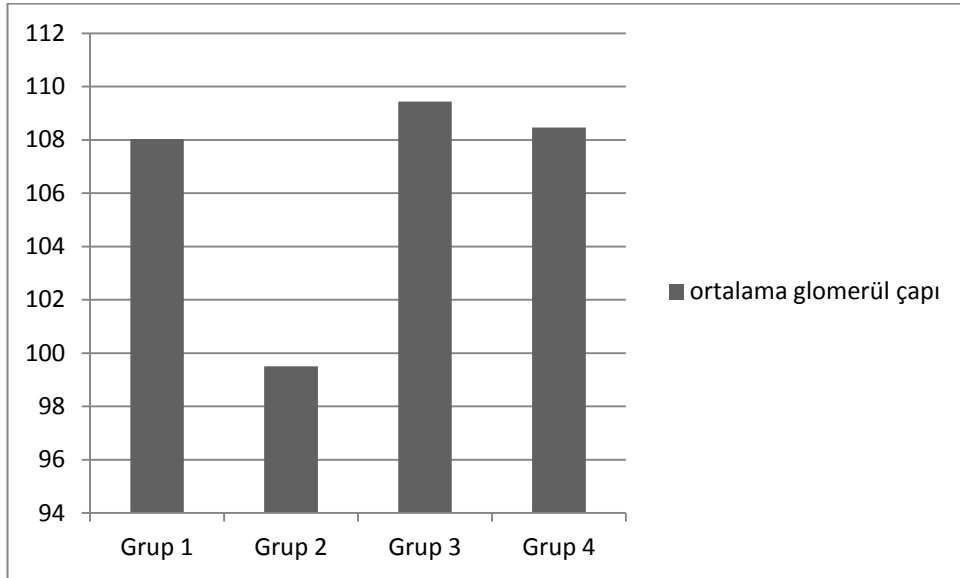
Şekil 14. Sisplatin+agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde korteks. Tübüllerdeki kistik yapılar görülmekte. Glomerüller normale yakın bir görünüm sergilemekte. H-E.



Şekil 15. Sisplatin+ agmatin grubuna ait sıçan böbreğinde glomerül ve tübüler yapılar. Piknotik çekirdekli tübül hücrelerinin azaldığı görülmekte. Vasküler konjesyonlar ve tübüler kistik yapılar belirgin. H-E.



Grafik 6. Sıçan gruplarının ortalama glomerül alanı (ortanca değerler).



Grafik 7. Sıçan gruplarının ortalama glomerül çapı (ortanca değerler).

5. TARTIŞMA

Sisplatin solid tümörlerin tedavisinde kullanılan en önemli antineoplastik ilaçlardan biridir. En önemli doz sınırlayıcı yan etkisi nefrotoksisitedir. Sisplatin hücre içi birçok sinyal ileti yolağını aktive ederek apoptoz, nekroz ve inflamasyona neden olur. Oksidatif hasar, hipoksi ve mitokondriyal hasar sisplatin nefrotoksisitesinin patogeneğinde yer alan önemli olaylardandır. Bütün bu mekanizmaların yanı sıra sisplatin böbrekte vasküler hasara yol açarak iskemiye, renal doku hasarına ve GFR'de azalma sureti ile akut böbrek yetmezliğine neden olabilir (7, 64).

Sisplatin nefrotoksisitesi üzerinde yoğun çalışmalar yapılmakla beraber patogeneze tam olarak aydınlatılamamıştır. Nefrotoksisitesinin önlenmesinde yeni çözümler bulunması kanser tedavisinde etkinliği kanıtlanmış, yaygın kullanım alanı bulunan sisplatinin daha etkin dozlarda ve güvenle kullanımına katkıda bulunacaktır. Nefrotoksisitenin önlenmesi ile ilgili; ilacın etki mekanizması ve patogeneze göz önünde bulundurularak birçok yaklaşım denenmiştir. Patogeneze oksidatif hasar önemli bir rol oynadığından bunu önlemeye yönelik çok sayıda antioksidan ajan çalışılmıştır (3,7,65).

Agmatin L-arjinin'in dekarboksilasyonu sonucu oluşan NOS inhibitör aktivitesi olan, endojen guanidoamin yapısında nörotransmitter-nöromodülatör bir moleküldür. Renal vazodilatasyon ve plazma akımında artış sağlayarak nefron ve böbrek filtrasyon hızını artırdığı, farklı organlarda iskemi-reperfüzyon hasarında ve sisplatin gibi nefrotoksik bir kemoterapötik ajan olan ifosfamidin neden olduğu böbrek hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (12-15, 104-105, 118). Agmatinin böbrekler üzerinde bahsedilen müspet etkileri nedeniyle sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etki gösterebileceği düşünülmüş ve bu çalışmada agmatinin sisplatin nefrotoksisitesi üzerindeki etkisinin sintigrafik, biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle gösterilmesi amaçlanmıştır.

Sisplatin nefrotoksisitesi ile ilgili daha önce yapılan hayvan çalışmalarında biyokimyasal nefrotoksisite indeksleri atılmış bulunmuş, serum BUN ve kreatinin oranlarında yükseklik saptanmıştır (60-61). Çalışmamızda sisplatin uygulanan grupta serum kreatinin, BUN ve sistatin c'nin artması biyokimyasal olarak böbrek hasarını kanıtlamaktadır. Serum fizyolojik ve agmatin uygulanan kontrol gruplarında ise

serum kreatinin ve BUN değerlerinin normal sınırlarda olduğu gözlenmiştir. Agmatin tek başına uygulandığında böbrek fonksiyonlarını değiştirmemesi literatürdeki bulgular ile uyumluydu (14). Sisplatin uygulanan grupta sisplatin nefrotoksisitesine ait bulgular saptanmış olup, kontrol grubu ile kıyaslandığında ortalama serum kreatinin değeri yaklaşık 3 kat, ortalama serum BUN değeri ise yaklaşık 6 kat yüksek bulunmuştur. Sisplatin+ agmatin uygulanan grupta ise ortalama serum kreatinin ve ortalama serum BUN değerleri kontrol grubuna yakın düzeydeydi. İki grup kendi arasında karşılaştırıldığında ise ortalama serum BUN ve kreatinin değerinin sisplatin uygulanan grupta sisplatin+agmatin uygulanan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sisplatin uygulanan grupta ortalama serum sistatin c düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat yüksek bulunmuştur. Tek başına agmatin ve sisplatin+ agmatin uygulanan gruplarda ise ortalama serum sistatin c düzeyleri kontrol grubuna göre biraz artmış olsa da bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç olarak serum BUN, kreatinin ve sistatin c düzeyleri sisplatin uygulanan grupta belirgin olarak artmasına rağmen agmatin+ sisplatin uygulanan grupta kontrol grubuna yakın düzeyde bulunmuştur. Buna göre biyokimyasal parametreler agmatinin sisplatin nefrotoksisitesine karşı böbrek fonksiyonlarını anlamlı derecede koruduğunu göstermektedir.

Tübüler hücre ölümü ile karakterize renal doku hasarı sisplatin nefrotoksisitesinin histopatolojik özelliklerinden biridir. Bu çalışmada sisplatin nefrotoksisitesinde gerçekleşen histopatolojik değişiklikler ve agmatinin bunlar üzerindeki etkisi de araştırılmıştır.

Serum fizyolojik ve agmatin uygulanan kontrol gruplarında böbrek morfolojisi tamamen normaldi. Sisplatin uygulanan grupta saptanan histopatolojik değişiklikler ise literatürle uyumlu olarak proksimal tübülde daha belirgindi (3, 5, 7, 60-61). Işık mikroskopisi ile yapılan incelemede sisplatin uygulanan grupta proksimal tübüllerde lümenleri genişlemiş, oval, uzun ve spiral şekilli tübüller görüldü. Tübüler dejenerasyon alanları ve bazı tübüllerde izlenen kistik oluşumlar ise bu grupta görülen diğer bulguları. Sisplatin+ agmatin uygulanan grupta ise proksimal tübül hasarı daha az olup, bazı proksimal tübüllerde mikrovillüs kaybı mevcuttu. Sisplatin nefrotoksisitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda glomerüller

morfoloji çoğunlukla sağlam tanımlanmakla beraber glomerüler hasarın olduğu çalışmalar da bildirilmiştir (61-63). Bu çalışmada sisplatin, yaygın proksimal tübül hasarının yanı sıra glomerüler hasara da yol açmıştır. Kontrol grubuna kıyasla cisplatin grubunda glomerül alanının oldukça azaldığı görülmüştür. Ancak sisplatin+ agmatin uygulanan grupta glomerüllerin büyük oranda korunduğu gözlenmiştir. Tüm bu bulgular histopatolojik düzeyde de agmatinin sisplatine bağlı böbrek hasarını azaltıcı etkisi olduğunu göstermektedir. Literatürde sisplatin nefrotoksisitesinde agmatinin etkisini araştıran ışık mikroskopi ile yapılmış bir çalışmaya rastlanmadığından bu sonuç önemlidir.

Sintigrafik görüntüler üzerinden hesaplanan ortalama böbrek Tc-99m DMSA uptake'ı tek başına agmatin uygulanan grupta serum fizyolojik uygulanan kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermemiştir. Tek başına sisplatin uygulanan grupta ise bu değer diğer gruplara göre anlamlı derecede düşüktü. Buna göre sisplatinin neden olduğu nefrotoksisite sintigrafik görüntüler üzerinden semikantitatif değerlendirme ile biyokimyasal ve histopatolojik bulgularla uyumlu olarak başarıyla gösterilmiştir. Bu durum literatürdeki bulgular ile de uyumlu bulunmuştur. (133)

Sisplatin + agmatin uygulanan grupta ortalama böbrek Tc-99m DMSA uptake'ının sadece sisplatin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Bu grupta hesaplanan değer kontrol grubu ve sadece agmatin uygulanan gruba göre daha düşük düzeyde bulunmuş ancak farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre agmatinin sisplatin nefrotoksisitesinde sintigrafik olarak görülen değişiklikleri büyük oranda azalttığı saptanmıştır. Literatürde sisplatin nefrotoksisitesinde agmatinin etkisini araştıran başkaca bir çalışmaya rastlanmadığından bu sonuç önemlidir. Ancak bu konuda daha fazla denek ile yapılacak çalışmalarla sonuçlarımızın desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Sintigrafik değerlendirmede her iki böbrek için ayrı ayrı değerlendirme yapılabilmektedir. Bu değerlendirmenin sonucunda sol ve sağ böbrekte etkilenmenin beklendiği gibi birbirine yakın düzeyde olduğu görülmüştür. Ortalama böbrek-böbrek dışı sayım oranı tüm deney gruplarında sol böbrekte sağa göre minimal yüksek bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan bu farkın muhtemelen sağ böbrek çevresindeki dokularda tutulumun Tc-99m DMSA'nın biyodağılım

özellikleri ile ilişkili olarak görece daha yüksek düzeyde olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda gamma counter ile in vitro ölçüm sonucuna göre sisplatin verilen grupta ortalama Tc-99m DMSA uptake'inin (böbrek-böbrek dışı uptake oranı) kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Bu bulgu sisplatin grubunda elde edilen histopatolojik bulgular ve biyokimyasal göstergelerle uyum göstermektedir. Ayrıca literatürde sisplatin ile yapılan çalışma sonuçları ile de uyumlu olduğu görülmüştür (133). Tek başına agmatin uygulanan grupta ortalama Tc-99m DMSA uptake'i serum fizyolojik uygulanan kontrol grubuna yakın düzeyde bulunmuştur. Sisplatin+ agmatin uygulanan grupta ise ortalama Tc-99m DMSA uptake'i sisplatin uygulanan gruba göre belirgin olarak daha yüksek düzeyde olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durumun çalışmamızda denek sayısının az olması ve sisplatin+agmatin uygulanan grupta böbreklerin kontrol grubuna göre kısmen de olsa etkilenmesiyle ilgili olabilir.

Sisplatin ile beraber agmatin uygulanan grupta histopatolojik ve sintigrafik olarak tamamen normal bulgular görülmesi de sisplatin grubu ile kıyaslandığında büyük oranda düzelme izlenmiştir. Biyokimyasal indekslerden serum sistatin c düzeylerinde de histopatolojik ve sintigrafik bulgular ile paralel sonuçlar elde edilmiştir. Ancak ortalama serum kreatinin ve BUN değerleri sisplatin+ agmatin uygulanan grupta kontrol grubundaki gibi tamamen normal düzeyde bulunmuştur.

Tek başına agmatin uygulanan ve sisplatin+ agmatin uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre ortalama serum sistatin c düzeyinin ortalama serum BUN ve kreatinin değerlerinin aksine nispeten artmış olmasını sistatin c'nin böbrek fonksiyonlarındaki değişikliği göstermede daha hassas olmasından kaynaklanabileceğini düşündük. Zira literatürde serum kreatinin ve serum sistatin c nin karşılaştırıldığı çalışmalarda sistatin c'nin böbrek fonksiyonlarındaki azalmaya daha erken dönemlerde yükselerek yanıt verdiği ve serum kreatinin'e üstün olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (40-43). Ayrıca serum sistatin c değerlerinin histopatolojik bulgular ile uyumlu olması bu durumu destekler niteliktedir. Yine histopatolojik bulgular referans alındığında sintigrafinin serum BUN ve kreatinin değerlerine göre daha doğru sonuç verdiğini söylemek mümkündür.

Literatürde sisplatin nefrotoksisitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda sisplatinin IP olarak farklı dozlarda (5-20mg/kg) uygulanmış olduğu görülmektedir (52, 134-140). Çalışmamızda sisplatin 7,5 mg/kg dozda verilmiştir. Bu değer şimdiye dek yapılan bir çok çalışma ile kıyaslandığında düşük doz sayılabilecek düzeydedir. Bu durum ulaştığımız sonuçları daha da anlamlı kılmaktadır. Ayrıca çalışmamızın bir diğer amacı olan nefrotoksisitenin erken dönemde tespiti için sintigrafik, biyokimyasal ve histolojik değerlendirme sisplatin verildikten 3 gün sonra yapılmıştır. Zira sisplatin uygulamasından sonra böbrek fonksiyonlarında bozulmanın göstergesi olarak GFR'de azalma en erken 3. günde başlar (7). Buna göre çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Tc-99m DMSA uptake'inin düşük doz sisplatin uygulamasından sonra erken dönemde nefrotoksisiteyi saptamada başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan deneklerin bazal böbrek fonksiyonları kontrol grubu ile birlikte düşünüldüğünde normal kabul edilebilir. Ancak klinik uygulamalarda her iki böbrek fonksiyonları eşit olmayabilir. Bu durumda sintigrafik görüntüleme ile hastanın bazal böbrek fonksiyonlarının ayrı ayrı değerlendirilebilmesi sisplatin tedavisi uygulanması düşünülen hastalarda tedavi kararını ve takibini biyokimyasal parametrelere göre daha doğru olarak yönlendirebilir.

Sonuç olarak bu araştırmada sisplatin uygulaması ile beraber agmatin uygulamasının sisplatin nefrotoksisitesi üzerinde koruyucu etkisi olduğu histopatolojik, sintigrafik ve biyokimyasal yöntemlerle ortaya konmuştur. Bu sonucun klinikte tümör tedavisinde sıkça kullanılan sisplatin tedavisine agmatinin eklenip eklenmemesine karar vermede fayda sağlayacağını düşünmekteyiz. Literatürde sisplatin nefrotoksisitesinde agmatinin etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmadığından sisplatin+agmatin uygulanan gruplarda elde edilen biyokimyasal, sintigrafik ve histolojik değerlendirme sonuçları bu alanda ilk veriler olup ayrıca önemlidir. Bunların dışında Tc-99m DMSA sintigrafisi üzerinde böbrek-böbrek dışı ortalama sayım oranını hesaplamak suretiyle yapılan bu in vivo- in vitro radyofarmasötik modeli ile sisplatin gibi nefrotoksik ajanlara karşı potansiyel renoprotektif ajanların değerlendirilebileceği gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

Histopatolojik bulgulara göre sisplatin nefrotoksisitesini önlemede agmatinin faydalı olduğu görülmektedir. Sisplatin+ agmatin uygulana grupta ise glomerüler hasar ve proksimal tübül hasarı sisplatin uygulanan gruba göre daha azdır.

Sisplatin+agmatin uygulanan grupta, serum BUN, kreatinin ve sistatin c değerlerinde sisplatin uygulanan gruba göre anlamlı derecede daha düşük izlenmesi agmatinin sisplatin nefrotoksisitesinde böbrek fonksiyonları üzerindeki koruyucu etkisini göstermektedir.

Sisplatin grubunda kontrol grubuna ve sisplatin+agmatin uygulanan gruba göre Tc-99m DMSA uptake'i nispeten anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Buna göre parankimal fonksiyonun bir göstergesi olan Tc-99m uptake'i ile agmatinin sisplatin nefrotoksisitesi üzerindeki koruyucu etkisi sintigrafik olarak da gösterilmiştir.

Bu sonuçlar agmatinin insanlarda sisplatin nefrotoksisitesinde hasarın azaltılmasına yardımcı bir seçenek olabileceğini düşündürmektedir. Ancak sisplatin nefrotoksisitesini önlemeye yönelik araştırılan maddelerin antitümör etkinliği olumsuz yönde etkileyebilmesi önemli bir sorundur. Ayrıca bilindiği kadarıyla literatürde agmatinin sisplatin nefrotoksisitesi üzerine etkilerini araştıran başka bir çalışma bildirilmemiştir. Bu nedenle bu sonucun başka çalışmalarla desteklenmesi ve ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Ulaştığımız bu sonucun bu alanda yapılacak yeni çalışmalara yön verebileceğini düşünüyoruz.

Tc-99m DMSA sintigrafisi görüntüleri üzerinde semikantitatif olarak böbrek-böbrek dışı ortalama sayım oranını hesaplamak suretiyle uygulanan bu sintigrafik yöntem düşük doz sisplatin uygulaması sonrası erken dönemde nefrotoksisiteyi saptamada başarılı bulunmuştur. Sintigrafinin ek olarak her iki böbrekle ilgili ayrı ayrı yerleşim, morfoloji, split fonksiyonlar ve diğer patolojiler hakkında da bilgiler vermesi diğer avantajlarıdır.

Ayrıca bu basit radyofarmasötik hayvan modelinin sisplatin gibi nefrotoksik ajanlara karşı potansiyel renoprotektif ajanların etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılabileceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Raber-Durlacher JE, Weijl NI, Abu Saris M, de Koning B, Zwinderman AH, Osanto S. Oral mucositis in patients treated with chemotherapy for solid tumors: a retrospective analysis of 150 cases. *Support Care Cancer*. 2000;8(5):366-71.
2. Kelland L. The resurgence of platinum based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584
3. 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
4. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer treat rev.*2007;33(1): 9-23
5. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003; 23: 460-464
6. Şener G, Satrioğlu H, Kabasakal L, et al. The protective effect of melatonin on cisplatin nephrotoxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 2000; 14: 553-560
7. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci*. 2007; 334(2): 115-124.
8. Mansour, M. A., Mostafa, A. M., Nagi, M. N., Khattab, M. M., & Al-Shabanah, O. A. (2002). Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comparative biochemistry and physiology. Part C, Toxicology & pharmacology*, 132(2), 123-128.
9. Srivastava RC, Farookh A, Ahmad N, Misra M, Hasan SK, Husain MM. Evidence for the involvement of nitric oxide in cisplatin-induced toxicity in rats. *Biometals*. 1996;9(2):13942.
10. Watanabe, Ken-ichi; Hess, Alexander; Bloch, Wilhelm; Michel, Olaf. Nitric oxide synthase inhibitor suppresses the ototoxic side effect of cisplatin in guinea pigs. *Anticancer Drugs*, 11 (2000), pp. 401–406

11. Chirino YI, Trujillo J, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, Cruz C, Bobadilla NA, Pedraza-Chaverri J. Selective iNOS inhibition reduces renal damage induced by cisplatin. *Toxicol Lett.* (2008;176:48–57)
12. Sugiura, T., Tsutsui, H., Takaoka, M., Kobuchi, S., Hayashi, K., Fujii, T., & Matsumura, Y. (2008). Protective effect of agmatine on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 51(3), 223.
13. Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH. Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatric Research*, 2002; 52(4):606-611.
14. Nissim, I., Horyn, O., Daikhin, Y., Nissim, I., Luhovyy, B., Phillips, P. C., & Yudkoff, M. (2006). Ifosfamide-induced nephrotoxicity: mechanism and prevention. *Cancer research*, 66(15), 7824-7831.
15. Lortie MJ, Novotny WF, Peterson OW, Vallon V, Malvey K, Mendonca M, Satriano J, Insel P, Thomson SC, Blantz RC: Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. Production, degradation, and functional effects in the kidney of the rat. *J Clin Invest* 97: 413–420, 1996
16. Ishizuka, S., Cunard, R., Poucell-Hatton, S., Wead, L., Lortie, M., Thomson, S. C., & Blantz, R. C. (2000). Agmatine Inhibits Cell Proliferation and Improves Renal Function in Anti-Thy-1 Glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11(12), 2256-2264.
17. Benöhr P, Grenz A, Hartmann JT, Müller GA, Blaschke S. Cystatin C – A Marker for Assessment of the Glomerular Filtration Rate in Patients with Cisplatin Chemotherapy. *Kidney Blood Press Res* 2006;29:32–35
18. Sheikh-Hamad D, Timmins K, Jalali Z. Cisplatin-induced renal toxicity: possible reversal by N-acetylcysteine. *J Am Soc* 1997, 8: 1640-1645.
19. David J. Tietz basic principles in clinical chemistry. Aslan D, Eds. Klinik kimyada temel ilkeler. Türkiye: Palme Yayıncılık, 2005:308-722.
20. İşlekel H. Böbrek fonksiyonları ve bozuklukları. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Türkiye: Palme Yayıncılık, 2002:37-42.

21. Dyson M, Urinary system. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, and Ferguson MWJ. Gray's anatomy.38th edition. New York: Churchill Livingstone; 1995.
22. B Sancak, D Akşit, M Cumhuri, S İlgi, E Kural, D Taner. Fonksiyonel Anatomi. B Sancak, M Cumhuri Eds. 2. Baskı. Ankara: ODTÜ yayıncılık; 2002.
23. K. Arıncı, A. Elhan. Anatomi. 2. Baskı. İstanbul: Güneş Kitabevi Ltd.Şti, 1997: 397-398
24. Guyton & Hall. Tıbbi Fizyoloji. H. Çavuşoğlu, B. Çağlayan Yeğen, editors. 11. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007: 307-333.
25. Y Aytekin, S Solakoğlu. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevi; 2006: 387-403.
26. Yücel O, ed. Küçük Deney Hayvanlarından Rat. 1. Baskı. Journal of Clinical and Analytical Medicine, 2012:33-35.
27. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G. Nefroloji El Kitabı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1996:1-23.
28. Ozbek E., Turkoz Y., Sahna E., Ozugurlu F., Mizrak B., Ozbek M. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin. BJU Int. 2000; 85: 742–746.
29. Hancock RE, Raffle VJ, Nicas TI. Involvement of the outer membrane in gentamicin and streptomycin uptake and killing in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 1981;19:777–785.
30. Ricos C, Jimenes CV, Hernandez A. Biological variation in urine samples use for analyte measurements. Clin Chem 1994; 40:472-477.
31. Raab WP. Diagnostic value of urinary enzyme determinations. Clin Chem 1972; 18(1):5-25.
32. Taşman S, Bilaloğlu E. İdrar enzimlerinin klinikde değerlendirilmesi. Doktor 1994; 2/3:185-192.
33. Handerson AR, Moss DW. Enzimler. Ed. Diler Aslan, Klinik Biyokimya Temel İlkeler, Ankara: Palme yayıncılık, 2005:352-389.

34. Süleymanlar G. Akut böbrek yetmezliği. İliçin G, Eds. İç Hastalıkları, Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:1286-1287.
35. Arık N, Başkol M, Çağlar K. Nefroloji. İstanbul: Deniz Matbaacılık, 2001: 11-15.
36. Önen K. Böbrek hastalıkları tanısı. Çağlar Ş, Eds. Klinik Nefroloji, Medikal, 1986: 57-99.
37. Albernethy, Liberthal W. Acute renal failure in the critically ill patient. Crit Care Clin 2002; 18:203-222.
38. Humes HD. Acute renal failure prevailing challenges and prospects for the future. Kidney Int 1995; 48(Suppl 50):26-32.
39. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 1976; 16:31-41.
40. Benohr P, Grenz A, Hartmann JT, et al. Cystatin C—a marker for assessment of the glomerular filtration rate in patients with cisplatin chemotherapy. Kidney Blood Press Res 2006; 29:32-5.
41. Stabuc B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, et al. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: use in cancer patients before and during chemotherapy. Clin Chem 2000; 46:193-7.
42. Newman, David J., et al. "Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine." Kidney international 47.1 (1995): 312-318.
43. Coll, Elisabeth, et al. "Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment." American journal of kidney diseases 36.1 (2000): 29-34.
44. Sabuncuoğlu, Suna; Özgüneş, Hilal. Cisplatin Toksikitesi: Oksidatif Stresin Önemi ve Antioksidanların Etkisi. İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi, 2011, 74.1.
45. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. Nat Rev Drug Discov 2005; 4: 307-320
46. Kayaalp SO. Tıbbi farmakoloji. Cilt-1. 9. Baskı. Ankara: Hacettepe-taş.2000.

47. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Carbonero RG, Calabresi P. Antineoplastic Agents. In: Hardman JG, Limbird LE (Eds.). *The Pharmacological basis of therapeutics* (10 th ed). Mc Graw Hill Co, New York 2001; 1432-34.
48. Rossi CR et al. Pharmacokinetics of intraperitoneal cisplatin and doxorubicin. *Surg Oncol Clin N Am.* 2003 Jul; 12(3):781-94.
49. Sweetman SC. *Martindale: The Complete Drug Reference.* 36th. Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
50. https://www.cancercare.on.ca/CCO_DrugFormulary/Pages/DfPdfContent.aspx?itemId=93923
51. Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol.* 1999;17(1):409-22.
52. Tufekci O., Gunes D., Özoğul C., Kolatan E., Altun Z., Yılmaz O, Aktaş S, Erbayraktar Z, Kirkim G, Mutafoğlu K, Soylu A, Serbetçioğlu B, Güneri EA, Olgun N. (2009). Evaluation of the Effect of Acetyl L-Carnitine on Experimental Cisplatin Nephrotoxicity. *Chemotherapy*, 55(6), 451-459.
53. Saleh, Samira, and Ebtehal El-Demerdash. "Protective Effects of L-Arginine against Cisplatin-Induced Renal Oxidative Stress and Toxicity: Role of Nitric Oxide." *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 97.2 (2005): 91-97.
54. Santoso JT, Lucci JA 3rd, Coleman RL, Schafer I, Hannigan EV. Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2003; 52(1):13-8.
55. Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, Razzaque MS. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol.* 2005; 148:107-21.
56. De Jongh FE, Van Veen RN, Veltman SJ, et al. Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. *Br J Cancer* 2003;88: 1199-206.
57. Litterst CL, Torres IJ, Guarino AM. Plasma levels and organ distribution of platinum in the rat, dog and dog fish following intravenous administration of cis-DDP(II). *J Clin Hemat Oncol* 1977; 7: 169

58. Kuhlmann, M. K., G. Burkhardt & H. Kohler: Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997, 12, 2478–2480.
59. Daugaard G, Abildgaard U. Cisplatin nephrotoxicity. A review. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25: 1-9
60. Chang B, Nishikawa M, Sato E, et al. L-Carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch Biochem Biophys* 2002; 405: 55-64
61. Aleisa AM, Al-Majed AA, Al-Yahya AA, et al. Reversal of cisplatin-induced carnitine deficiency and energy starvation by propionyl-L-carnitine in rat kidney tissues. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:1252-1259
62. Fenoglio C, Boicelli CA, Ottone M, et al. Protective effect of procaine hydrochloride on cisplatin-induced alterations in rat kidney. *Anticancer Drugs* 2002; 13: 1043-1054
63. Kohn S, Fradis M, Ben-David J, Zidan J, et al. Nephrotoxicity of combined treatment with cisplatin and gentamicin in the guinea pig: glomerular injury findings. *Ultrastruct Pathol* 2002; 26: 371-382
64. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int.* 2008; 73(9):994-1007.
65. Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, et al. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to cisplatin-related renal cell injury. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 65-72
66. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2683-2690
67. 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.
68. Shino Y, Itoh Y, Kubota T, et al. Role of poly (ADP-ribose-)polymerase in cisplatin- induced injury in LLC-PK1 cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 966-977

69. 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.
70. Rankin GO. Cisplatin- nephrotoxicity, in *Toxicology of the kidney*. 3rd Edition. Tarloff J, Lash L, eds. CRC Press.2005.
71. Townsend DM, Deng M, Zhang L, Lapus MG, and Hanigan MH. Metabolism of Cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14:1–10.
72. 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.
73. Hanigan MH, Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Ther* 2003; 1:47-61.
74. Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci.* 2005; 76(18):2125-35.
75. Mishima K, Baba A, Matsuo M, Itoh Y, Oishi R. Protective effect of cyclic AMP against cisplatin-induced nephrotoxicity *Free Radic Biol Med.* 2006;40(9):1564-77.
76. 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.
77. 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.
78. McGinness JE, Proctor PH, Demopoulos HB, Hokanson JA, Kirkpatrick DS. Amelioration of cisplatin nephrotoxicity by orgotein (superoxide dismutase). *Physiol Chem Phys* 1978; 10:267–277. [PubMed: 733940]
79. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1872–1875. [PubMed: 1575781]

80. Matsushima H, Yonemura K, Ohishi K, Hishida A. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med* 1998; 131:518–526. [PubMed: 9626987]
81. Son K, Kim YM. In vivo cisplatin-exposed macrophages increase immunostimulant induced nitric oxide synthesis for tumor cell killing. *Cancer Res.* 1995; 55(23):5524-7.
82. Saad, S. Y., Najjar, T. A., Daba, M. H., & Al-Rikabi, A. C. (2002). Inhibition of nitric oxide synthase aggravates cisplatin-induced nephrotoxicity: effect of 2-amino-4-methylpyridine. *Chemotherapy*, 48(6), 309-315.
83. Tanaka T, Kojima I, Ohse T, et al. Hypoxia-inducible factor modulates tubular cell survival in cisplatin nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289:F1123–33.
84. Winston JA, Safirstein R. Reduced renal blood flow in early cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Am J Physiol* 1985; 249:F490–6.
85. Ramesh G, Reeves WB. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F610–8.
86. Liu H, Baliga R. Cytochrome P450 2E1 null mice provide novel protection against cisplatin-induced nephrotoxicity and apoptosis. *Kidney Int.* 2003; 63: 1687–1696.
87. Megyesi J, Safirstein RL, Price PM. Induction of p21WAF1/CIP1/SDI1 in kidney tubule cells affects the course of cisplatin-induced acute renal failure. *J Clin Invest.* 1998; 101: 777–782.
88. Lieberthal W, Triaca V, Levine J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs. necrosis. *Am J Physiol (Renal Physiol)* 1996; 39:F700–F708.
89. 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
90. Guinee DG Jr, van Zee B, Houghton DC. Clinically silent progressive renal tubulointerstitial disease during cisplatin chemotherapy. *Cancer* 1993; 71: 4050-4054.
91. Cornelison TL, Reed E. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin, and ormaplatin. *GynecolOncol* 1993;50:147–58.

92. Dumas M, de Gislain C, d'Athis P, et al. Influence of hydration on ultrafilterable platinum kinetics and kidney function in patients treated with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Chemother Pharmacol*. 1990;26:278–82.
93. Daley-Yates PT, McBrien DC. A study of the protective effect of chloride salts on cisplatin nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 1985;34:2363–9.
94. Hanigan MH, Deng M, Zhang L, et al. Stress response inhibits the nephrotoxicity of cisplatin. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288:F125–32
95. Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, et al. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2. *Am J Pathol* 2005; 167: 1477-1484
96. Kroning R, Lichtenstein AK, Nagami GT. Sulfur-containing aminoacids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 45: 43-49
97. Viale M, Vannozzi MO, Pastrone I, et al. Reduction of cisplatin nephrotoxicity by procainamide: does the formation of a cisplatin-procainamide complex play a role? *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 293: 829-836
98. Lynch ED, Gu R, Pierce C, et al. Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen. *Hear Res* 2005; 201: 81-89
99. Yilmaz HR, Iraz M, Sogut S, et al. The effects of erdosteine on the activities of some metabolic enzymes during cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2004; 50: 287-290
100. Nisar S, Feinfeld DA. N-acetylcysteine as salvage therapy in cisplatin nephrotoxicity. *Ren Fail* 2002; 24: 529-533
101. Capizzi RL. Amifostine reduces the incidence of cumulative nephrotoxicity from cisplatin: laboratory and clinical aspects. *Semin Oncol* 1999; 26(2 Suppl 7): 72-81
102. Deng J, Kohda Y, Chiao H, et al. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int* 2001; 60: 2118-2128
103. Nagothu KK, Bhatt R, Kaushal GP, et al. Fibrate prevents cisplatin-induced proximal tubule cell death. *Kidney Int* 2005; 68: 2680-2693

104. Gümrü, S., Şahin, C., & Arıcıoğlu, F. Yeni Bir Nörotransmitter/Nöromodülatör Olarak Agmatine Genel Bir Bakış. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt: 3, Ek Sayı: 1, 2013: 23-28
105. Tabor CW, Tabor H, Polyamines. *Annu Rev Biochem.* 1984; 53:749–790.
106. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, et al. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science.* 1994; 263:966–969.
107. Raasch W, Regunathan S, Li G, and Reis DJ: Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life Sci* 56: 2319–2330, 1995
108. Morrissey J, McCracken R, Ishidoya S, Klahr S: Partial cloning and characterization of an arginine decarboxylase in the kidney. *Kidney Int* 47: 1458–1461, 1995
109. Lortie MJ, Satriano J, Gabbai FB, Thareau S, Khang S, Deng A, Pizzo DP, Thomson SC, Blantz RC, Munger KA. Production of arginine by the kidney is impaired in a model of sepsis: early events following LPS. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R1434–R1440, 2004.
110. Schwartz D, Peterson OW, Mendonca M, Satriano J, Lortie M, Blantz RC. Agmatine affects glomerular filtration via a nitric oxide synthase-dependent mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol* 272: F597–F601, 1997.
111. Piletz JE, Chikkala DN, Ernsberger P. Comparison of the properties of agmatine and endogenous clonidine-displacing substance at imidazoline and alpha-2 adrenergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;272: 581–587.
112. Albina JE, Mills CD, Henry WL Jr, Caldwell MD: Temporal expression of different pathways of L-arginine metabolism in healing wounds. *J Immunol* 144: 3877–3880, 1990
113. Satriano J, Matsufuji S, Murakami Y, Lortie MJ, Schwartz D, Kelly CJ, Hayashi S, and Blantz RC: Agmatine suppresses proliferation by frameshift induction of antizyme and attenuation of cellular polyamine levels. *J Biol Chem* 273: 15313–15316, 1998
114. Regunathan S, Youngson C, Raasch W, Wang H, Reis DJ. α -imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: a novel system inhibiting vascular smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp.*, 1996; 30:295-300.

115. Morrissey JJ, Klahr S: Effects of agmatine, an active metabolite of arginine metabolism, on the kidney [Editorial]. *Nephrol Dial Transplant* 11: 1217–1219, 1996
116. Yu CG, Marcillo AE, Fairbanks CA, Wilcox GL, and Yeziarski RP: Agmatine improves locomotor function and reduces tissue damage following spinal cord injury. *Neuroreport*, 2000; 11(14):3203- 3207.
117. Reis DJ, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci.* 2000;21:187–193.
118. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein L, Reis DJ. Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J* 1996; 316: 247–249.
119. Piepsz A. Cortical scintigraphy and urinary tract infection in children. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 560–562.
120. Rushton HG. The evaluation of acute pyelonephritis and renal scarring with technetium 99m-Dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy: evolving concepts and future directions. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 108–120.
121. Schiepers, Christiaan, and Martin Allen-Auerbach. *Diagnostic nuclear medicine.* Springer, 2006:83-100
122. Suur RM, Gutsch HU. Tubular reabsorption of Technetium-99m-DMSA. *J Nucl Med* 1995; 36: 1654–1658.
123. Treves ST, ed. *Pediatric Nuclear Medicine/PET.* 3rd ed. New York, NY: Springer; 2007:238-261.
124. Sharp, Peter F. *Practical nuclear medicine.* Eds. Howard G. Gemmell and Francis W. Smith. Springer, 2005:205-229
125. Shackett, Pete. *Nuclear medicine technology: procedures and quick reference.* Lippincott Williams & Wilkins, 2008:244-247
126. Lonergan GJ, Pennington DJ, Morrison JC, et al. Childhood pyelonephritis: comparison of gadolinium enhanced MR imaging and renal cortical scintigraphy for diagnosis. *Radiology.* 1998;207(2):377-84.4

127. Habibian, M. Reza, et al. Nuclear medicine imaging: a teaching file. Lippincott, William & Wilkins, 2009:259-263
128. Pusuvan P, Reyes L, Gordon I. Normal appearance of technetium-99m dimercaptosuccinic acid in children on planar imaging. *Eur J Nucl Med* 1999; 26: 483–488.
129. Rossleigh MA. Renal cortical scintigraphy and diuresis renography in infants and children. *J Nucl Med* 2001; 42: 91–95.
130. Biersack H.-J., Freeman LM. Clinical nuclear medicine. Springer, 2007:172-210
Mandell GA, Egli DF, Gilday DL, Heyman S, Leonard JC, Miller JH, et al. Procedure guideline for renal cortical scintigraphy in children. *J Nucl Med* 1997; 38: 1644–1646.
131. Cabuk, M., Gurel, A., Sen, F., & Demircan, N. (2008). Renoprotective effect of erdosteine in rats against gentamicin nephrotoxicity: a comparison of ^{99m}Tc-DMSA uptake with biochemical studies. *Molecular and cellular biochemistry*. 308(1), 35-42.
132. Tarladacalisir, Yeter Topcu, Mehmet Kanter, and Muberra Uygun. "Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study." *Renal failure* 30.1 (2008): 1-8.
133. Yürekli, Y., Ünak, P., Ertay, T., Müftüleri, F. Z. B., Medine, E. İ., & Acar, Ç. Radiopharmaceutical Model Using ^{99m}Tc-Dmsa To Evaluate Amifostine Protection Against Cisplatin Nephrotoxicity in Rats. *Turk J Nucl Med* 2010;19(3)
134. Abdelrahman AM, Al Salam S, AlMahruqi AS, Al husseni IS, Mansour MA, Ali BH. Nacetylcysteine improves renal hemodynamics in rats with cisplatin-induced nephrotoxicity. *J Appl Toxicol*. 2010 Jan;30(1):15-21.
135. Ajith TA, Abhishek G, Roshny D, Sudheesh NP. Co-supplementation of single and multi doses of vitamins C and E ameliorates cisplatin-induced acute renal failure in mice. *Exp Toxicol Pathol*. 2009 Nov; 61(6):565-71.
136. Ajith TA, Usha S, Nivitha V. Ascorbic acid and alpha-tocopherol protect anticancer drug cisplatin induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. *Clin Chim Acta*. 2007 Jan; 375(1-2):82-6.

137. Atasayar S, Güreer-Orhan H, Orhan H, Gürel B, Girgin G, Oztüneş H. Preventive effect of aminoguanidine compared to vitamin E and C on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2009 Jan;61(1):23-32.
138. Maliakel DM, Kagiya TV, Nair CK. Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by glucosides of ascorbic acid and alpha- tocopherol. *Exp Toxicol Pathol.* 2008 Sep;60(6):521-7.
139. Jariyawat S, Kigpituck P, Suksen K, Chuncharunee A, Chaovanalikit A, Piyachaturawat P. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity in mice by *Cyrcuma cumosa roxhb.* Ethanol extract. *J Nat Med* 2009; 63(4):430-436.
140. Pan H, Mukhopadhyay P, Rajesh M, Patel V, Mukhopadhyay B, Gao B, Hashko G, Pacher P. Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and cell death. *JPET* 2009, 328(3):708–714.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



20

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 30/05/2012
TOPLANTI NO : 2012/05

- 2- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yavuz Sami SALİHOĞLU'nun 2012-20-25/04 Protokol no'lu "Sisplatin Nefrotoksisitesine Karşı Agmatine'in Koruyucu Etkisinin Tc 99m DMSA Uptake'i ve Serum Sistatin C ile Değerlendirilmesi" konulu başvurusunun Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı