



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE N-ASETİL
SİSTEİNİN BÖBREK FONKSİYONLARI ÜZERİNE
OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN ^{99m}Tc- MAG3 İLE
BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. HANİFE RAHMANLAR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DÜZCE-2010



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE N-ASETİL
SİSTEİNİN BÖBREK FONKSİYONLARI ÜZERİNE
OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN ^{99m}Tc- MAG3 İLE
BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. HANİFE RAHMANLAR
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI
Yrd. Doç. Dr. ERTUĞRUL KAYA
Doç. Dr. MUSTAFA YILDIRIM

DÜZCE-2010

ÖNSÖZ

Tez konumun seçilmesi ve çalışmalarımın yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen ve nükleer tıp anabilim dalının kapılarını bana açan tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa YILDIRIM'a, tezimi hazırlama ve yazma sürecinde bilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç Dr. Ertuğrul KAYA'ya, nükleer tıp anabilim dalında görevli arkadaşlarım Uzman Dr. Melih Engin ERKAN'a, araştırma görevlisi Dr. Muhammed AŞIK'a, biyokimyasal analizlerde destek olan araştırma görevlisi Dr. Hayriye YILDIRIM'a ve biyokimya anabilim dalı başkanı Doç. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI'na, patoloji preparatlarını değerlendiren patoloji anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ümran YILDIRIM'a en içten teşekkürlerimi sunar, eğitim sürecimin her döneminde bana güç, destek ve moral veren aileme ayrıca teşekkür ederim.

Hanife RAHMANLAR

TÜRKÇE ÖZET

SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİNDE N-ASETİLSİSTEİNİN BÖBREK FONKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN KORUYUCU ETKİSİNİN ^{99m}Tc-MAG3 İLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Bu çalışma sisplatin nefrotoksitesisi oluşturulmuş sıçanlarda N-asetilsistein profilaksi ve tedavisinin ve bu tedaviye C vitamini eklenmesinin böbrek fonksiyonları üzerine olan koruyucu etkisi ^{99m}Tc-MAG3 birlikteliğinde araştırıldı.

Yöntem: Erişkin Wistar sıçanlar 4 gruba ayrıldı (n=8). Tüm hayvanların ^{99m}Tc-MAG3 ile böbrek bazal sintigrafik görüntüleri alındı. Kontrol grubuna serum fizyolojik verildi. Nefrotoksitesite grubuna, üçüncü ve dördüncü gruplara deneyin dördüncü günü tek doz intraperitoneal 12 mg/kg Sisplatin enjeksiyonu yapıldı. Üçüncü ve dördüncü gruplara yedi gün boyunca her gün intraperitoneal 500 mg/kg N-asetilsistein verildi. Dördüncü gruba yedi gün boyunca her gün ek olarak intraperitoneal 250 mg/kg C vitamini de uygulandı. Deneyin sonunda tüm hayvanların anestezisi altında ^{99m}Tc-MAG3 ile böbrek sintigrafileri çekildi, biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler için intrakardiyak kan örnekleri alınıp böbrek dokuları çıkartıldı.

Bulgular: Sisplatinin böbreğin konsantrasyon ve ekskresyon fonksiyonlarını bozduğu, perfüzyonu etkilemediği, N-asetilsisteinin bunu düzelttiği, N-asetilsistein + C vitamininin bu konuda daha etkili olduğu, konsantrasyon fonksiyonlarını tama yakın düzelttiği gözlenmiştir. Oksidatif hasar göstergesi serum ve doku MDA düzeylerine ve serum BUN, üre, kreatinin düzeylerine baktığımızda sisplatin grubunda arttığı, N-asetilsistein ve N-asetilsistein + C vitamini gruplarında azaldığı ancak kontrol düzeylerine indirilemediği görülmüştür. Total antioksidan kapasite düzeyleri sisplatin grubunda azalırken, N-asetilsistein ve N-asetilsistein + C vitamini

gruplarında düzelme gözlenmiştir. Histopatolojik incelemelerde tübüler nekrozun N-asetilsistein ve N-asetilsistein + C vitamini gruplarında sisplatin grubundan daha az olduğu gözlenmiştir.

Sonuç: Sisplatin nefrotoksisitesinde N-asetilsisteinin oksidatif hasarı azalttığı fakat böbrek fonksiyonlarını korumada yeterli olmadığı, bu tedaviye C vitamininin eklenmesi ile oksidatif hasarın daha da azaldığı ve böbrek fonksiyonlarının oldukça düzeldiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: N-asetilsistein, C vitamini, sisplatin, nefrotoksisite, ^{99m}Tc-MAG3

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

DETECTION OF PROTECTIVE EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEINE ON RENAL FUNCTIONS BY USING ^{99m}Tc-MAG3 IN CISPLATIN-INDUCED NEPHROTOXICITY

Background and Aim: This study investigated the protective and curative effects of N-acetylcysteine treatment alone and together with ascorbic acid on renal functions by using ^{99m}Tc-MAG3 in cisplatin-induced nephrotoxicity.

Methods: Adult Wistar rats were divided into four groups (n=8). All the rats' baseline scintigraphic images were taken by ^{99m}Tc-MAG3 under anesthesia. Control group received normal saline. Nephrotoxicity group, third and fourth groups received a single intraperitoneal injection of 12 mg/kg cisplatin on the fourth day of experiment. The third and fourth groups were given intraperitoneal N-acetylcysteine (500 mg/kg per day for 7 days). In addition the fourth group was administered intraperitoneal ascorbic acid (250 mg/kg per day for 7 days). At the end of the experiment all animals' renal scintigraphic images were taken by ^{99m}Tc-MAG3 under anesthesia. Intracardiac blood samples were taken, kidneys were removed for biochemical and histopathological evaluation.

Results: It was observed that cisplatin impaired concentration and excretion functions of kidney and not affected perfusion, N-acetylcysteine improved this, N-acetylcysteine + ascorbic acid was more effective, it almost completely ameliorated concentration functions. Serum BUN, urea, creatinine levels, serum and tissue MDA levels which indicates oxidative injury increased in cisplatin group, decreased in N-acetylcysteine and N-acetylcysteine + ascorbic acid groups. Total antioxidant capacity levels decreased in cisplatin group, increased in N-acetylcysteine and N-

acetylcysteine + ascorbic acid groups. Tubular necrosis was less severe in N-acetylcysteine and N-acetylcysteine + ascorbic acid groups than cisplatin group in histopathologic analysis.

Conclusion: N-acetylcysteine decreased oxidative damage in cisplatin-induced nephrotoxicity, but it was not sufficient to maintain kidney functions. It was observed that adding ascorbic acid to the treatment supported antioxidative effects, kidney protective effects that it can be a suitable alternative.

Key words: N-acetylcysteine, ascorbic acid, cisplatin, nephrotoxicity, ^{99m}Tc-MAG3

SİMGE VE KISALTMALAR

a. : Arteria

ABTS: 2, 2'-azino-bis [3-etilbenz-tiazolin-6-sulfonik] asit

AFR: Askorbil serbest radikali

AIF: Apoptoz indükleyici faktör

BUN: Kan üre azotu

DHA: Dehidroaskorbik asit

DNA: Deoksiribonükleik asit

ER: Endoplazmik retikulum

ERK: Ekstraselüler regüle kinaz

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

GPx: Glutasyon peroksidaz

G6PD: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz

H&E: Hemotoksilen Eozin

HIF: Hipoksi indüklenebilir faktör

¹³¹I OIH: Ortoiyodohippürat

IL-1 β : İnterlökin 1-beta

IP: İntraperitoneal

JNK/ SAPK: Jun N-terminal kinaz/ Stres aktive protein kinaz

mRNA: haberci ribonükleik asit

MAPK: Mitojen aktive protein kinaz

MDA: Malondialdehid

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NAS: N-asetilsistein

NF- κ B: Nükleer faktör kapa B

NOS: Nitrik oksit sentaz

NSSA: non-enzimatik süperoksit süpürücü aktivite

8-OHdG: 8-hidroksi-deoksiguanozin

ROI: Böbrek İlgili alanı

RNA: Ribonükleik asit

SOD: Süperoksit dismutaz

TAK: Total antioksidan kapasite

TBA: Tiyobarbitürik asit

TBARS: Tiyobarbitürik asit reaktif madde

^{99m}Tc - MAG3: Teknesyum- Merkaptasetiltriglisin

^{99m}Tc- DTPA: Teknesyum- Dietilentriaminpentaasetik asit

T_{max}: Maksimum aktiviteye ulaşma zamanı

T_{1/2}: Aktivite yarılanma zamanı

TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa

TNFR: Tümör nekroz faktör reseptörü

TSSA: Toplam süperoksit süpürücü aktivite

TUNEL: Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP-biotin çentik uç etiketleme

İÇİNDEKİLER TABLOSU

ÖNSÖZ	i
TÜRKÇE ÖZET.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	iv
SİMGE VE KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Renal Anatomi	3
2.1.1. Böbreklerin genel yapısı	3
2.1.2. Böbreklerin mikro yapısı	5
2.2. Renal Fizyoloji.....	6
2.2.1. Böbreğin işlevsel birimi olan nefron	6
2.2.2. Nefron yapısında bölgesel farklar: Kortikal ve jukstamedüller nefronlar	7
2.2.3. Glomerüler filtrasyon, tübüler geri emilim ve sekresyon sonucu idrar oluşumu.....	8
2.2.4. Nefronun değişik kısımları boyunca geri emilim ve sekresyon	10
2.2.5. Böbreğin kanlanması	11
2.3. Renal Histoloji	11
2.4. Sisplatin.....	12
2.4.1. Tarihçe	12

2.4.2. Kimyasal özellikleri.....	13
2.4.3. Etki mekanizması.....	14
2.4.4. Farmakokinetiği.....	14
2.4.5. Kullanım alanı ve uygulanması	15
2.4.6. Yan etkileri	15
2.4.7. Sisplatin nefrotoksitesitesi.....	16
2.4.8. Sisplatin nefrotoksitesisinde hücre içi olaylar	16
2.5. N-asetilsistein (NAS).....	23
2.5.1. Farmakokinetik.....	24
2.5.2. Etki mekanizması ve klinik endikasyonları.....	24
2.5.3. Yan etkileri	25
2.5.4. NAS'ın böbreklerdeki etkisi	26
2.6. C Vitamini	28
2.6.1. Farmakokinetik	28
2.6.2. C Vitamininin güvenliği	29
2.6.3. C Vitamininin antioksidan özellikleri.....	29
2.7. Renal Sintigrafi	31
2.7.1. Dinamik böbrek sintigrafisi	32
2.7.2. ^{99m} Tc- MAG3 (Merkaptoasetiltriglisin).....	32
2.7.3. Dinamik böbrek sintigrafisinin uygulama tekniği	33
2.7.3. Verilerin işlenmesi, analiz ve yorumlama	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36

3.1. Kullanılan Gereçler	36
3.1.1. Denekler	36
3.1.2. Kullanılan araçlar	36
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	36
3.2. Kullanılan Yöntemler	37
3.2.1. Grupların hazırlanması	37
3.2.2. Örneklerin alınması	38
3.2.3. Biyokimyasal analiz	39
3.2.4. Histopatolojik inceleme	43
3.2.5. Renal sintigrafi çekimi	44
3.3. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Sintigrafik Bulgular	47
4.1.1. ^{99m} Tc- MAG3'ün rezidü değerleri	47
4.1.2. ^{99m} Tc- MAG3'ün T _{max} değerleri	49
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	52
4.2.1. Üre, kreatinin, BUN düzeyleri	52
4.2.2. MDA düzeyleri	53
4.2.3. TAK düzeyleri	54
4.3. Patolojik Bulgular	56
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR	60

7. KAYNAKLAR	68
8. EKLER.....	81

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kemoterapiyle ilişkili toksisite ve yan etkiler solid tümörleri olan hastaların tedavisinde, özellikle tedavi olmuş ve uzun süre hayatta kalmayı başarmış hastalarda önemli bir kaygıdır (1).

Sisplatin de geniş bir aralıktaki solid tümörlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Testiküler ve overyan kanserli hastaların kombine kemoterapi küründe başlıca dayanak, osteosarkomda neoadjuvan tedavi ajanıdır. Metastatik gastrointestinal, ürogenital, akciğer, baş ve boyun kanserlerinin palyatif tedavisinde sıklıkla kullanılır. Sisplatinin uzun dönem, kısmen geri dönüşümsüz yan etkileri içinde en önemlileri; nefrotoksisite, yüksek tonda işitme kaybı, periferik nöropatidir (2,3) fakat kullanımını kısıtlayan en belirgin faktör nefrotoksisitedir çünkü böbrekler sisplatinin en çok biriktiren organlardır (4).

Tıpta klinik kullanıma 1970'li yıllarda girmiş olan sintigrafik görüntüleme teknikleri noninvazif ve güvenilir özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Dinamik böbrek sintigrafisi ile böbreğin perfüzyon, ekstraksiyon ve ekskresyonunu değerlendirebiliriz. Dinamik böbrek sintigrafisi ajanı olarak Teknesyum- Merkaptosetiltriglisin (^{99m}Tc - MAG3)'i seçmemizin nedeni diğer organlara daha az radyasyon vermesi ve üriner drenajı da göstermesidir. Renal fonksiyonların hesaplanmasında yararlıdır çünkü çoğunluğu filtre edilen ajanların tersine çoğunlukla tübüler ekstraksiyon yoluyla ekskrete edilir (5).

Sisplatin nefrotoksisitesi üzerinde yoğun olarak çalışmalar sürdürülmekle beraber nefrotoksisite patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Sisplatin nefrotoksisitesine ait mekanizmalar apoptoz, nekroz, oksidatif stres, inflamasyon, fibrojeniz, mitokondriyal hasarı içerir ve oldukça karmaşıktır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sisplatin nefrotoksisite patogenezinde oksidatif stresin önemli bir role sahip olduğu anlaşılmış ve nefrotoksisiteyi önlemeye yönelik antioksidan maddelerle yapılan çalışmalarda artış gözlenmiştir (3,6).

N-asetil sistein (NAS) ve C vitamini antioksidan özellikleri bilinen ilaçlardır ve bu özelliklerinden dolayı sisplatinin böbreklerdeki oksidatif hasarına karşı koruyucu özellikleri ele alınarak biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerle incelenmiştir. Fakat yapılan çalışmalarda verilen sisplatin dozu genellikle klinikle paralel olmayan, minimum hasarı yapan alt dozlardan

seçilmiştir (7,8). Bu maddelerin böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini sintigrafik olarak araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada sisplatin nefrotoksisitesi oluşturulmuş sıçanlarda NAS ve C vitamini birlikte kullanımının nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bunun için böbrek fonksiyonlarını in vivo en doğru ve en erken tayin edebilen ve böbreğe zararı olmayan

^{99m}Tc-MAG3 sintigrafisi yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca çıkarılan böbrek dokusu ışık mikroskop ile incelenmiş, oksidatif stres düzeyleri biyokimyasal olarak saptanmıştır.

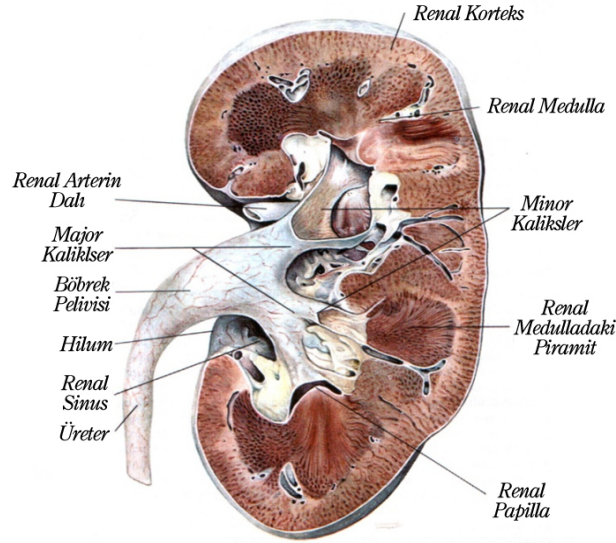
Sisplatinle meydana gelen böbrek hasarının önlenmesi morbidite ve komplikasyonları azaltacak, hastanede kalma maliyetini düşürecek, bu kanser ilacının daha yüksek dozlarda daha etkin kullanılabilmesine izin verebilecektir (9).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Renal Anatomi

2.1.1. Böbreklerin genel yapısı

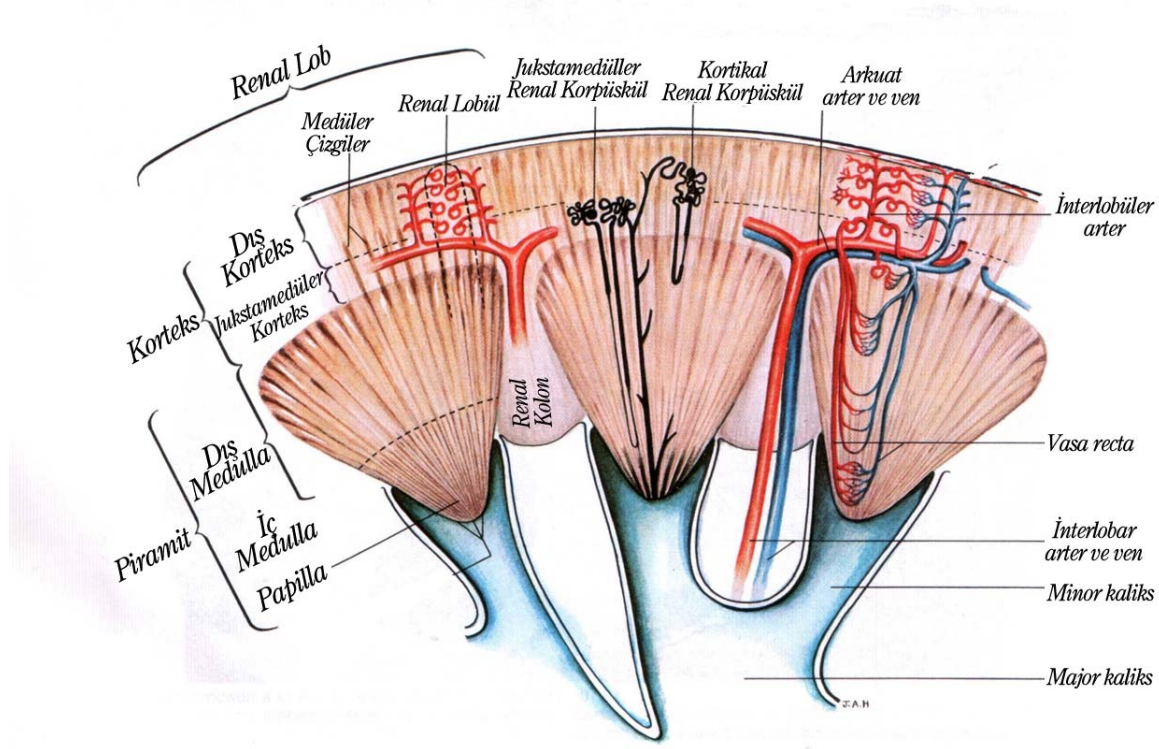
Böbrekler karın arka duvarının en üst kısmında, omurganın her iki yanında retroperitoneal olarak yer alırlar. Böbreğin koronal kesitine bakıldığında iki kısım gözlenmektedir. Böbreğin açık renkli dış kısmı korteks renalis olarak adlandırılır. Böbreğin daha koyu renkli ve çizgili iç kısmı medulla renalis olarak adlandırılır. Korteks renalis idrarı süzen yapıları içerir, medulla renalis ise toplayıcı kanallardan oluşur. Böbreğin ortasında sinus renalis denilen bir boşluk vardır. Sinüs renaliste; renal pelvis, major ve minör kaliksler, damarlar ve sinirler bulunur (10) (Şekil 1).



Şekil 1. İnsan böbreği kesitinde; major ve minor kaliksler, medulladaki piramitler, pelvis, üst üreter gösterilmiş (10).

Korteks renalis: Böbrek piramitlerini (pyramis renalis) çepeçevre saran böbrek dokusudur. İki kısımdan oluşur. Birinci kısım böbrek piramitlerinin taban dış kısmında yerleşiktir. İkinci kısım ise böbrek piramitleri arasında bulunur. Sinüs renalise kadar uzanan bu ikinci bölüm, kesitlerde böbrek piramitleri arasında bir sütun şeklinde görülürler. Bu nedenle bunlara columna renalis (Bertin sütunları) denilir (11).

Korteks histolojik olarak iç ve dış korteks olmak üzere ikiye ayrılır. İç korteksi medulladan ayıran arkuat arter ve venler piramitlerin tabanına yakın bir ark oluşturur. Arkuat arter ve venleri de içeren medullaya yakın olan bu korteks bazen jukstamedüller korteks olarak adlandırılır (10) (Şekil 2).



Şekil 2. Böbrek korteks ve medullasındaki ana yapılar, kortikal ve jukstaglomerüler nefronların pozisyonu (ortada) ve ana kan damarları (sağda) gösterilmiştir (10).

Korteks renaliste malpighi cisimcikleri ve idrar kanalcıklarının bir kısmı yer alır. Malpighi cisimcikleri küçük kırmızı nokta şeklinde yapılardır, kandan idrarı süzen damar yatağını (glomerulus) içerirler (11).

Medulla renalis: Medulla renalis pyramides renales (malpighi veya böbrek piramitleri) denilen 8-10 adet (bazen 18-20) koni şeklinde yapılar oluşturur. Bu piramitlerin basis pyramidis denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne, papilla renalis denilen tepe kısımları ise sinus renalis bakar. Pyramis renalisler birbirine değmeyecek şekilde sinus renalis etrafında dizilmişlerdir. Bunların etrafında columna renalis denilen kortikal uzantılar bulunur. Bir pyramis renalis ve onun etrafını saran korteks parçasına bir böbrek lobu (lobus renalis) denir. Buna göre bir böbrekte piramit sayısı kadar böbrek lobu bulunur (11,12).

Sinus renalis: Böbreğin içinde yer alan, böbreğin şekline uyan bir boşluktur. Bu boşluğun içinde 2-3 minör kaliks birleşerek major kaliksleri, bunlar da birleşip renal pelvisi oluşturur ve renal pelviste üreterle birleşir. Ayrıca bu yapıların arasında kalan boşlukları da yağ dokusu doldurur (11).

Böbreğin damarları: Arteria (a.) renalisler her iki tarafta aorta abdominalisten çıkar, böbreğin hacmine göre daha kalın damarlar olup böbreklerden kısa zamanda fazla miktarda kanın geçmesini sağlar. Arteria renalisler a. segmentalis denilen beş dala ayrılır, bunlar da a. lobaris dallarına ayrılır. Arteria lobarisler genelde her böbrek piramidine bir tane gidecek şekildedir. Her bir a. lobaris sırasıyla a. interlobaris, a. arcuata, a. interlobularis dallarını verirler. Arteria arcuata piramitlerin taban kısımlarında bir ark oluşturur ve bu arterler birbirleriyle anastomoz yapmazlar. Arteria arcuatalardan çıkan ve medullayı besleyen arteriola rectae (vasa recta) adı verilen dallar da bulunur. Arteria interlobularislerden yan taraflara uzanan ince dallara arteriola glomerularis afferens adı verilir, glomerüler kapsüle girerek bir kılcal damar yumağı yapar ve daha sonra birleşerek arteriola glomerularis efferens oluşturur. Arteriola glomerularis efferens ise arterin girmiş olduğu kutuptan çıkar ve interlobular venlere açılır. İnterlobular venlerden sonra sırasıyla arcuat venlere, interlobar venlere ve vena renalislere dökülür. Vena renalis, a. renalisin önünde hilum renaleden çıkar ve vena cava inferiora açılır (12).

2.1.2. Böbreklerin mikro yapısı

Böbrek idrarı süzen komplike tübüllerden meydana gelir, az bir miktar bağ dokuyla bağlıdır ve içinde kan damarları, lenfatikler ve sinirler seyredir. Her tübül iki kısımdan meydana gelir; idrarı sekrete eden bir nefron ve bir de toplayıcı tübüldür (10).

Nefron plazmadan filtrasyon işlevini gerçekleştiren bir renal korpüskül ve glomerüler filtrattan seçici emilim işlevini gerçekleştiren bir renal tübül içerir. Toplayıcı tübüller birkaç renal tübülden sıvıyı papiller kanala taşır, renal papillanın apeksinde bir minor kalikse açılır. Papiller yüzeyler çok sayıda minik kanallar içerir (10).

Renal korpüskül: Renal (malpighi) korpüskülleri 0,2 mm çapında küçük şekilli yapılardır, renal korteks ve sütunlarda görülebilir. Herbirinin santral glomerül damarları ve bir membranöz glomerüler kapsülü vardır (10).

Glomerül: Lobule sarılmış kapiller kan damarlarıdır, az miltarda bağ dokusuyla birleşmiştir. Glomerüler kapillerler afferent ve efferent arteriyol arasında yer alır (10).

Glomerüler kapsül (bowman): Kadeh şeklindedir ve proksimal tübülün uzantısıdır. Plazmanın ultrafiltrat şekli bowman aralığında oluşur, kapiller kan filtrasyon bariyerinden bowman aralığına filtre olur. Bowman aralığı visseral epitelyal hücreler (kapiller podositler) ile paryetal epitelyal hücreler (skuamoz epitelyal hücreler) arasında yerleşmiştir. Glomerüler filtrasyon bariyeri endotelyal hücreler, glomerüler bazal membran, visseral epitelyal hücreler olmak üzere üç yapıdan oluşur (10).

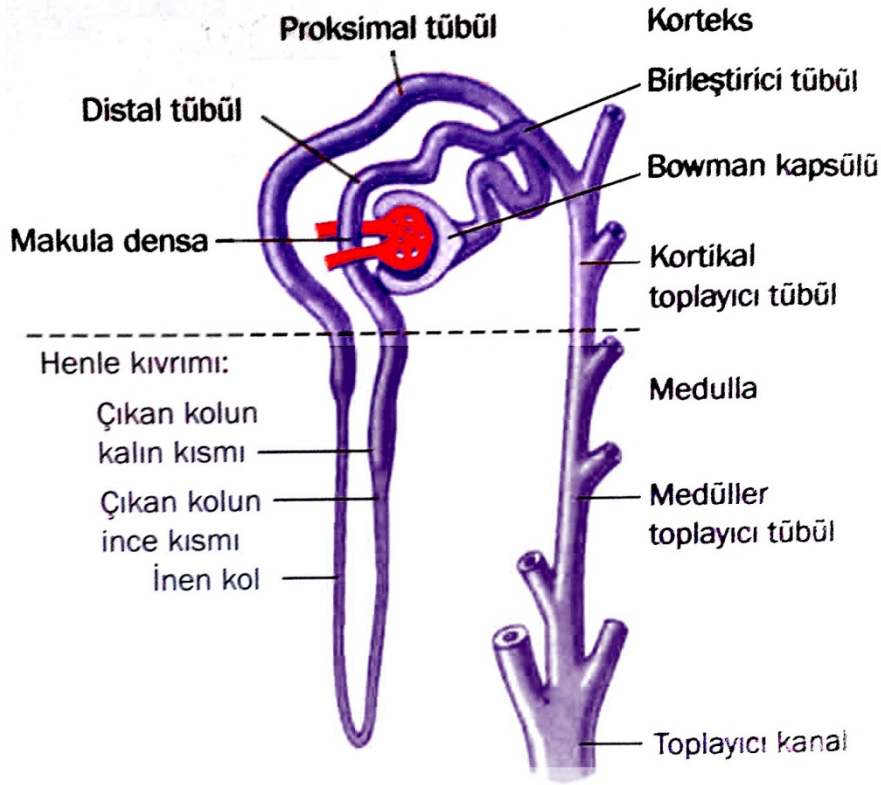
2.2. Renal Fizyoloji

2.2.1. Böbreğin işlevsel birimi olan nefron

Böbrekler nefronlarını yenileyemezler. Bu nedenle hastalıklarla, böbrek hasarıyla veya normal yaşlanma sürecinde böbreklerdeki nefron sayısı giderek azalır.

Her nefron kandan büyük miktarlarda sıvının filtre olduğu glomerül olarak isimlendirilen bir glomerül kapillerler yumağı ve süzülen sıvının idrara dönüştüğü uzun bir tübül içerir.

Glomerül, diğer kapiller ağlardan daha yüksek hidrostatik basınca sahip kapiller bir ağdan oluşmuştur. Tüm glomerül bowman kapsülü ile sarılmıştır. Glomerül kapillerlerinden filtre olan sıvı bowman kapsülüne, sonra da proksimal tübül içine akar (13) (Şekil 3).



Şekil 3. Nefronun temel bölümleri (13).

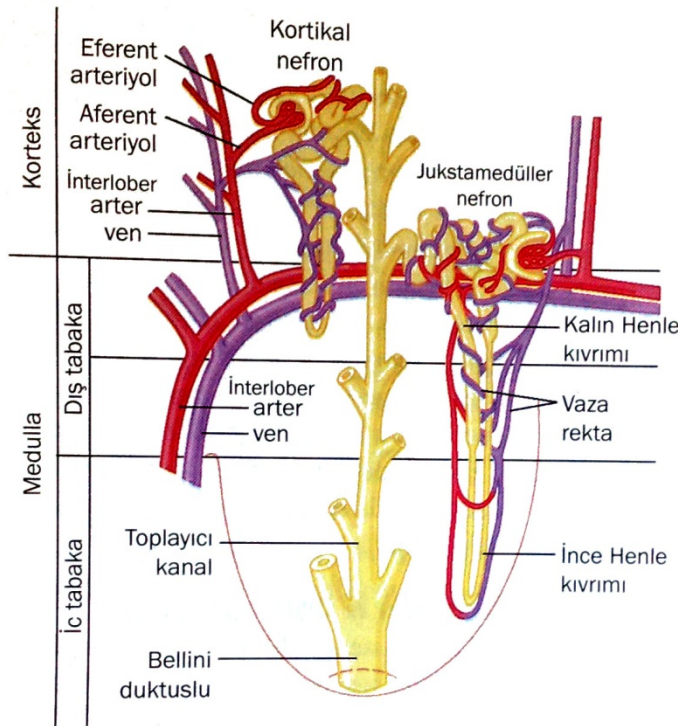
Sıvı, proksimal tübülden böbrek medullasındaki henle kıvrımına akar. Her kıvrımın bir inen bir de çıkan kolu bulunur. İnen ve çıkan kolun alt uçları incedir, henle kıvrımının ince kısmı olarak adlandırılır. Çıkan kalın kolu; distal tübül, birleştirici tübül ve kortikal toplayıcı tübül izler. Kortikal toplayıcı tübülün 8-10 tanesi birleşerek medüller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanalı oluşturur. Toplayıcı kanallar birleşerek giderek genişleyen kanalları oluştururlar ve sonunda renal papillanın tepesi vasıtasıyla böbrek pelvisine boşalırlar. Her böbrekte 250 kadar geniş toplayıcı kanal vardır ve bunların her birine 4000 nefrondan idrar toplanır.

2.2.2. Nefron yapısında bölgesel farklılıklar: Kortikal ve jukstamedüller nefronlar

Nefronun böbrek içinde bulunduğu derinliğe bağlı olarak bazı farklılıkları vardır. Glomerülleri korteksin dış bölümünde yerleşen nefronlar kortikal nefronlar olarak adlandırılır.

Kortikal nefronların kısa henle kıvrımları vardır, bütün tübüler sistemi yoğun bir peritübüler kapiller ağ ile çevrelenmiştir (Şekil 4).

Nefronların %20-30 kadarının glomerülleri korteksin medullaya yakın bölgesinde yerleşmiştir ve jukstamedüller nefronlar olarak adlandırılır. Bu nefronların uzun henle kıvrımları vardır, bazıları böbrek papillasının tepesine kadar uzanır. Jukstamedüller nefronların vasküler damarları kortikal nefronlarınkinden farklı yapıdadır. Jukstamedüller nefronların dış medullaya kadar uzanan, uzun efferent arteriyolleri vardır. Medullanın derinliklerine doğru henle kıvrımı ile yan yana seyreden vaza rekta denilen özel bir peritübüler kapiller ağa sahiptir ve vaza rekta kortikal venlere dökülür. Medulladaki bu özelleşmiş kapiller ağ idrarın yoğunlaştırılmasında önemli bir rol üstlenir (13).



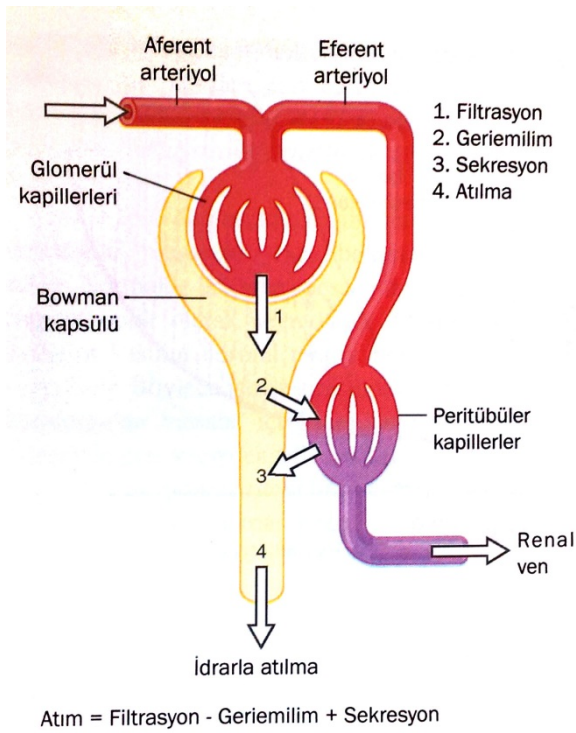
Şekil 4. Kortikal ve jukstamedüller nefronlar arasındaki farklılıklar (13).

2.2.3. Glomerüler filtrasyon, tübüler geri emilim ve sekresyon sonucu idrar oluşumu

Şekil 5'te görüldüğü gibi plazmadaki maddelerin idrarla atılma hızları; glomerüler filtrasyon, maddelerin böbrek tübüllerinden kana geri emilimi, kandan maddelerin böbrek tübüllerine sekresyonu işlemlerinin özel bir karışımıdır. Şu şekilde izah edilir: İdrarla atılma hızı

= Filtrasyon hızı –Geri emilim hızı + Sekresyon hızı. Bir maddenin idrarla atılma hızı bu üç temel böbrek fonksiyonunun hızlarına bağlıdır.

İdrar oluşumu, proteinsiz fazla miktarda sıvının glomerüler kapillerden bowman kapsülü içine süzülmesi ile başlar. Proteinler hariç plazmadaki çoğu madde serbestçe bowman kapsülü içine filtre olduğu için, glomerüler filtrattaki maddelerin konsantrasyonları plazmanınki ile aynıdır. Filtre olan sıvı bowman kapsülünden çıkıp, tübüller boyunca ilerlerken içindeki gerekli çözünmüş maddelerin ve suyun emilerek kana geri geçmesi veya atık maddelerin peritübüler kapillerden tübül içine sekresyonu nedeni ile değişikliğe uğrar.



Şekil 5. Bir maddenin idrarla atılma hızını belirleyen faktörler (13).

Tübüler geri emilim ise çok seçicidir. Glikoz ve aminoasitler gibi yapıtaşları bazı maddelerin tamamına yakını tübüllerden geri emilir, idrarla atılma hızları sıfırdır. Tübüler geri emilimde pasif ve aktif mekanizmalar yer alır. Plazmadaki sodyum, klorür ve bikarbonat gibi birçok iyon da, oldukça yüksek geri emilime uğrasa da geri emilim ve idrarla atılma hızları vücudun ihtiyacına göre değişir. Buna karşılık üre ve kreatinin gibi yıkım ürünleri tübüllerden çok az emilir ve fazla oranda atılırlar (13).

2.2.4. Nefronun değişik kısımları boyunca geri emilim ve sekresyon

Proksimal tübülde geri emilim ve sekresyon: Filtre olan su ve sodyumun yaklaşık %65'i ve filtre olan klorür, bikarbonat ve potasyumun daha az bir kısmı, glikoz ve amino asitlerin tamamı proksimal tübülden geri emilir. Safra tuzları, okzalit, rat gibi organik asitler, bazlar ve hidrojen iyonları proksimal tübülden lümene salgılanır. Tübüler sistemin hiçbir yerinden geri emilmeyişleri ve lümene salgılanmaları idrarla çabuk atılmalarını sağlar.

Henle kıvrımından geri emilim ve sekresyon: İnce henlenin inen kısmı suya çok fazla, üre ve sodyum dahil maddelerin çoğuna orta derecede geçirgendir. Filtre olan suyun %20'si henle kıvrımından geri emilir. ıkan ince ve kalın henle kollarının idrarın yoğunlaştırılmasında önem taşıyan özellikleri, suya hiç geçirgen olmayışlarıdır. Henlenin çıkan kalın kolunda sodyum, klorür ve potasyumun %25'i aktif olarak geri emilir. Diğer iyonların önemli bir miktarda çıkan kalın henle kolundan emilir.

Distal tübülde geri emilim ve sekresyon: Geriemilim zellikleri yönünden henle kıvrımının çıkan kalın kısmı ile arasında geri emilim özellikleri yönünden oldukça fazla benzerlikler vardır; sodyum, potasyum ve klorür gibi iyonları geri emerken su ve üreye karşı hiç geçirgen değildir. Tübüler sıvı burada seyreltildiği için seyreltici bölge adını alır (13).

Distal tübülün son kısmı ve kortikal toplayıcı tübülde geri emilim ve sekresyon: Distal tübülün ikinci yarısı ve onu izleyen toplayıcı tübül, benzer fonksiyonel özelliklere sahiptir. Anatomik olarak esas hücreler ve interkale hücrelerden oluşurlar. Esas hücreler lümenden sodyum ve suyu geri emer, lümene potasyum salgırlar. İnterkale hücreler potasyum iyonunu geri emer, hidrojen iyonlarını salgırlar.

Medüller toplayıcı kanalda geri emilim ve sekresyon: Medüller toplayıcı kanallar filtre edilen su ve sodyumun %10'dan azını geri emerler. Suya karşı geçirgenlikleri antidiüretik hormon ile kontrol edilir. reye geçirgendir ve idrarı yoğunlaştırma yeteneğine katkı sağlar. Hidrojen iyonlarını salgılama yeteneğine sahiptirler. Asit-baz düzenlemesinde anahtar rol oynarlar (13).

2.2.5. Böbreğin kanlanması

Ortalama 70 kg'lık bir insanda iki böbreğin toplam ağırlığının, vücut ağırlığının sadece %0,4'ünü oluşturduğu dikkate alınırsa diğer organlara göre böbreklerin oldukça fazla kan aldıkları kolaylıkla farkedilebilir. Böbreğin kan akımı kalp debisinin %22'si kadardır ve yaklaşık dakikada 1200 ml'dir. Kan akımının bu kadar fazla olmasının sebebi, vücut sıvı hacimlerini ve madde yoğunluklarını tam olarak ayarlama gereken yüksek glomerül filtrasyon hızı için gerekli plazmayı sağlamaktır.

Böbrek kan dolaşımı, glomerül kapillerleri ve tübül kapillerler denilen iki farklı kapiller yatağı olan özel bir dolaşımdır. Birbirlerinden her iki kapiller yatakta da hidrostatik basıncın ayarlanmasında etkisi olan eferent arteriyol ile ayrılırlar. Glomerül kapillerindeki yüksek hidrostatik basınç sıvının çabuk filtrasyonuna neden olur. Peritübül kapillerde çok daha düşük olan hidrostatik basınç sıvının hızlı geri emilimini gerçekleştirir. Böbrekler aferent ve eferent arteriyollerin direncini düzenleyerek, hem glomerül kapillerlerde hem peritübül kapillerde hidrostatik basıncı ayarlar. Bunun sonucunda vücudun ihtiyacına göre glomerül filtrasyon hızını ve/veya tübül geri emilimi değiştirirler (13).

2.3. Renal Histoloji

Her böbrekte 1 ile 4 milyon arasında nefron vardır. Her nefron bir böbrek cisimciği, proksimal tübül, henle kıvrımının ince ve kalın uzantıları, distal tübül, toplayıcı tübül ve kanallardan oluşmaktadır. Her renal cisimcikte kapiller bir yumak olan glomerül bulunmaktadır ve glomerüller iki tabakalı epitelyal bir kapsül olan Bowman kapsülü ile sarılıdır. Bowman kapsülünün dış tabakası tek katlı yassı epitelden oluşur. İç tabakası ayaklı hücrelere sahiptir ve bunlara podosit denilir. Herbir podosit, ayakçık (pedisel) denilen glomerülün kapillerini saran çok sayıda ikincil uzantı oluşturur. Bu ikincil uzantılar birleşerek filtrasyon yarıklarını oluştururlar. Kapillerlere tutunan podositler dışında mezengiyal hücreler de vardır. Bu hücreler kasılıp gevşeyerek, glomerül akımını azaltıp arttırabilirler.

Bowman kapsülünün dış tabakasındaki yassı epitel, proksimal tübülün kübik epiteli ile devam eder. Proksimal tübüllerin hücreleri çok sayıda mitokondri içerdiklerinden sitoplazmaları asidofilik görünür. Hücrenin tepesinde fırçamsı kenarı oluşturan mikrovilluslar bulunur. Mikrovillusların tabanlarında kanalcıklar ve veziküller bulunur, bu kanalcıklar proksimal tübülün büyük molekülleri emmelerinde rol oynarlar. Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasını sağlayan Na^+/K^+ ATP az pompası da bulunur.

Proksimal tübül henle kıvrımı ile devam eder, henlenin kalın ve ince inen kolu ve çıkan kolu vardır. Henle kıvrımı su tutulumunda önemlidir, yassı epitel hücrelerinden oluşur. Jukstamedüller nefronlardaki henle kıvrımının ince inen kolları çok uzundur, medullaya kadar uzanır ve kortikal nefronlarda olmayan çıkan ince kol içerirler, medulla interstisyumunda hipertonic ortam sağlarlar. Bu nedenle böbreklerde hipertonic idrar üretilmesinde jukstamedüller nefronların özel bir önemi vardır. Çıkan kalın kol suya geçirgen değildir, sodyum klorür aktif olarak tübülden dışarı atılır, hipertonic ortamın oluşmasına imkan tanır.

Henle kıvrımının çıkan kalın kolu distal tübüllerini oluşturur. Bu tübül tek katlı kübik epitel ile örtülüdür. Distal tübüller proksimal tübüllerden fırçamsı kenarlarının ve apikal kanallarının olmaması ve hücrelerinin küçük olması ile ayrılır. Distal tübül hücreleri daha düz ve daha küçük olduğu için distal tübülde proksimal tübülden daha çok çekirdekçik görülür. Distal tübüldeki hücreler daha incelikli bazal membran içe kıvrımlarına ve çevresinde mitokondrilere sahiptir, aldosteron varlığında sodyum emilimi ve potasyum atılımını gerçekleştirir.

Distal tübüllerden geçen idrar toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar piramidin ucuna yaklaştıkça genişler. Büyük tübüller prizmatik hücrelerle döşelidir, sitoplazmaları az sayıda organel içerir. Toplayıcı kanalların epiteli antidiüretik hormona tepki verir. Su alımı sınırlı ise antidiüretik hormon salınımıyla su emilim için kanallar oluşturmak amacıyla zardaki tanecikler bir araya toplanırlar (14).

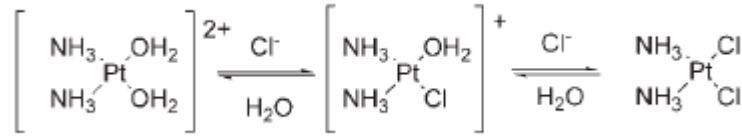
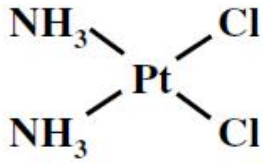
2.4. Sisplatin

2.4.1. Tarihçe

Sisplatin ilk defa 1847'de tanımlandı ve Peyron kloridi olarak biliniyordu. 1960'larda Rosenberg bakteri bölünmesini inhibe ettiğini keşfettikten sonra sisplatin potansiyel kemoterapi

ajamı olarak kabul gördü. Sisplatin 1971 yılında faz 1 klinik çalışmalarına girdi ve 1978 yılında over ve testiküler kanserlerin tedavisi için onaylandı. Sisplatin genellikle akciğer, baş boyun, over, mesane, testiküler kanserler gibi epitelyal malignansilerin tedavisinde kullanılır (15).

2.4.2. Kimyasal özellikleri



Şekil 6. Sisplatin.

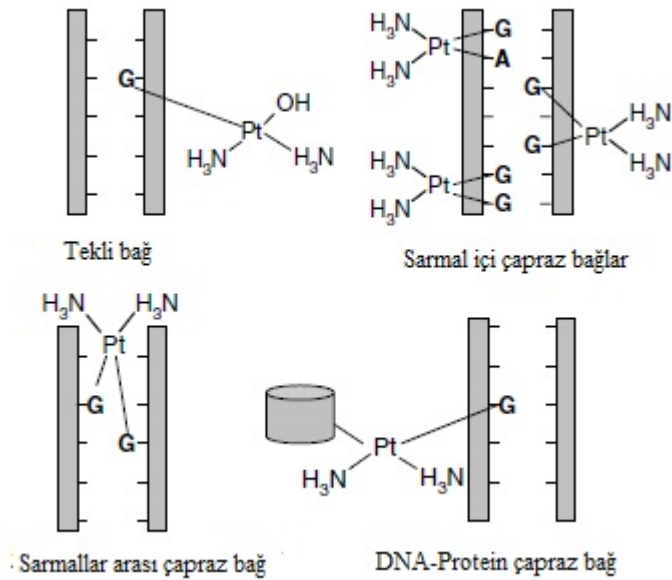
Şekil 7. Sisplatinin hidrolizi (15).

Klinik kullanımdaki sisplatin nötral, dört koordine ligandı ile kare düzlemsel platin⁺² bileşikleridir, metal merkezde cis konfigürasyona sahiptir. İki amin grubu ve klorid anyonları içerir (15) (Şekil 6).

Antineoplastik etkileri hücre döngüsüne spesifik değildir ve cis konfigürasyonuna bağlıdır; vücuttaki hidroliziyle reaktif aköz türlerinin şekillenmesi ile ilişkilidir. Sisplatinin hidrolizinde klorid ligandlar su molekülleriyle yer değiştirir (Şekil 7). Biyolojik sıvılarda hidroliz hızı, solüsyonlardaki klorid iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Klorid iyonu konsantrasyonları mesela kanda olduğu gibi yüksekken, hidroliz gerçekleşmez ve sisplatin bütün halde kalır. Sisplatinin hidrolizi proteinlere, DNA'ya veya RNA'ya bağlanması için gereklidir. Ligand değişim hızı kritik öneme sahiptir çünkü hızlı hidroliz daha reaktif platin türlerine yol açar ki kandaki biyomoleküllere daha fazla bağlanmayla ve daha ciddi sistemik toksisiteyle sonuçlanır. Yavaş hidroliz daha düşük toksisite, daha düşük plazma yarı ömrü, bütün ilacın böbrekler yoluyla daha etkili ekskresyonunu sağlar (15).

2.4.3. Etki mekanizması

Sisplatinin kansere karşı etki mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte yaygın görüş DNA'ya bağlandığı ve zincir içi ve zincirler arası çapraz bağların oluşumuna yol açtığı ve çeşitli sinyal yollarını etkin hale getirdiğidir. Sisplatin çoğunlukla sarmal içi bağlar oluşturur, bunlar bazlar arasında kovalent bağlar şeklindedir. Bunun yanı sıra bazlarla tekli bağ, sarmal arası çarpaz bağ ve DNA-protein çarpaz bağlarını da oluşturabilir (Şekil 8). Çarpaz bağlanma; defektli DNA kalıplarının oluşumu ve DNA sentezinin ve replikasyonun çöküşüyle sonuçlanır. Kanserde olduğu gibi hızlı bölünen hücrelerde de çarpaz bağlanma ileri DNA hasarını indükleyebilir. Orta hasarlı DNA tamir edilebilir fakat ileri DNA hasarı geri dönüşümsüz hasardır ve hücre ölümüyle sonuçlanır (16).



Şekil 8. Sisplatinin DNA ile yaptığı bağlar (16).

2.4.4. Farmakokinetiği

Mide-barsak kanalından absorbe edilmediğinden sadece intravenöz yolla uygulanır. Plazma proteinlerine %90 oranında ve kısmen geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Dokulara da bağlanır. Verilişinden sonra 4 ay süre ile böbrek dokusunda platin bulunabilir (17). Sisplatinin

yarıömürü 43 dakikadır, yaklaşık ¼'ü ilk 24 saat içerisinde elimine edilir (renal klerensi %90'dır) (18).

2.4.5. Kullanım alanı ve uygulanması

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

Sisplatin monoterapide genellikle her 3-4 haftada bir 50-120 mg/m² olarak verilir. Alternatif olarak, her 3-4 haftada bir 5 gün boyunca 15-20 mg/m² verilir. Daha düşük dozlar genellikle kombine kemoterapi rejimlerinde kullanılır, 20 mg/m² veya daha fazlası her 3-4 haftada bir verilir.

Sisplatin intavenöz infüzyon, intra-arteriyel, intraperitoneal veya mesaneye aşılama yoluyla da verilebilir (17,19).

2.4.6. Yan etkileri

Tek doz sisplatin verilen hastaların yaklaşık üçte birinde böbrekler, kemik iliği ve kulak üzerinde ciddi toksik etkiler bildirilmiştir; etkiler genellikle doz bağımlı ve kümülatiftir.

Renal tübül hasarı tek doz sisplatinden sonraki ikinci haftada belli olur ve daha fazla sisplatin verilmeden önce renal fonksiyonlar normale dönmelidir. Yeterli hidrasyon ve mannitol gibi osmotik diüretiklerin kullanımı idrar hacmini artırır ve böylece platinin üriner konsantrasyonunu azaltır, nefrotoksisite insidansını azaltabilir. Elektrolit bozuklukları, özellikle hipomagnezemi ve hipokalsemi ve hiperürisemi gözlenir.

Sisplatinin yüksek dozlarında kemik iliği depresyonu şiddetli olabilir. Anemi sıklıkla gözlenir ve renal hasarı takiben eritropoetin üretimindeki azalmayla ilişkili olabilir. Trombosit ve lökosit sayısında düşüşler meydana gelebilir.

Ototoksisite çocuklarda daha şiddetli gözlenebilir. Tinnitus ve yüksek frekans aralığında işitme kaybı şeklinde kendini belli eder. Diğer nörolojik etkileri periferik nöropatiler, tat kaybı ve epilepsi nöbetleri olarak bildirilmiştir.

Anafilaktoid reaksiyonlar meydana gelebilir. Platin deriveleri potansiyel olarak mutajen ve teratojendir ve sekonder lösemilerin gelişimiyle ilişkili olabileceklerine dair bazı kanıtlar vardır (19).

2.4.7. Sisplatin nefrotoksisitesi

Sisplatinin birçok yan etkisine rağmen, yüksek dozda sisplatin kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir, nefrotoksisite dozla ilişkilidir (20,21,22). Akut böbrek yetmezliği nedeniyle hastaneye yatırılan hastaların beşte birini sisplatin nefrotoksisitesi oluşturmaktadır (23). Nefrotoksisitenin önlenmesinde rutin olarak hidrasyon ve diüretikler kullanılır (24). Günümüzde profilaktik önlemlere rağmen sisplatin kürü alan onkoloji hastalarının hala üçte birinde geri dönüşümsüz böbrek hasarı oluşmaktadır (24,25).

2.4.8. Sisplatin nefrotoksisitesinde hücre içi olaylar

Sisplatin nefrotoksisitesi klinik olarak düşük glomerüler filtrasyon hızı, böbreklerin konsantrasyon yeteneklerinin bozulması, yüksek serum kan üre azotu (BUN) ve kreatinin seviyeleri, düşük magnezyum ve potasyum seviyeleriyle seyreder (4,9,26).

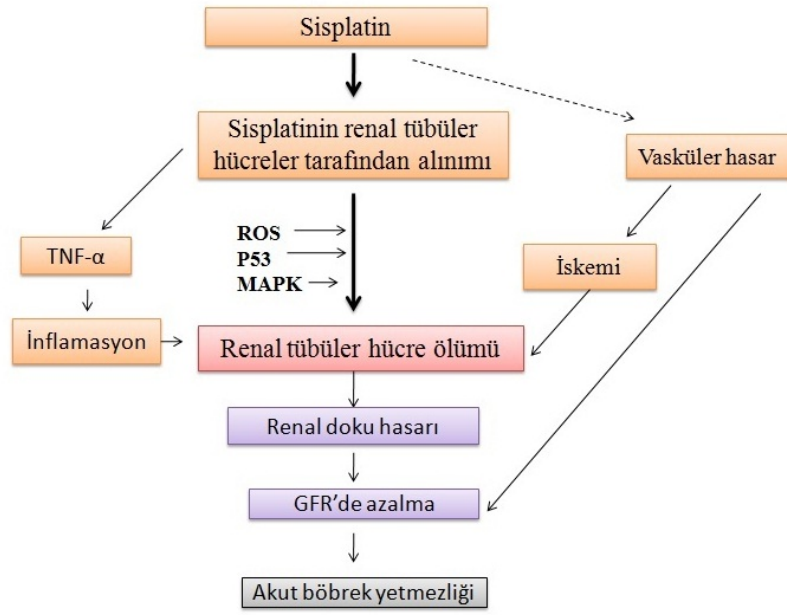
Sisplatin nefrotoksisitesinin patofizyolojik temeli kırk yıldan fazla süredir çalışılmaktadır. Tübül hücrelerin sisplatin maruziyeti karmaşık sinyal yollarını aktive eder, tübül hücre hasarına ve ölümüne yol açar (Şekil 9). Bu sırada güçlü bir inflamatuvar cevap oluşur ve renal

doku hasarını daha da alevlendirir. Sisplatinin renal damarlardaki tahribatı kan akımını azaltır ve böbreklerde iskemik hasar meydana gelir. Bu hasar glomerüler filtrasyon hızında azalma oluşturur. Sisplatin nefrotoksitesisi boyunca bu olayların bir araya gelmesi böbrek fonksiyon kaybına neden olur ve akut böbrek yetmezliğini tetikleyebilir (16).

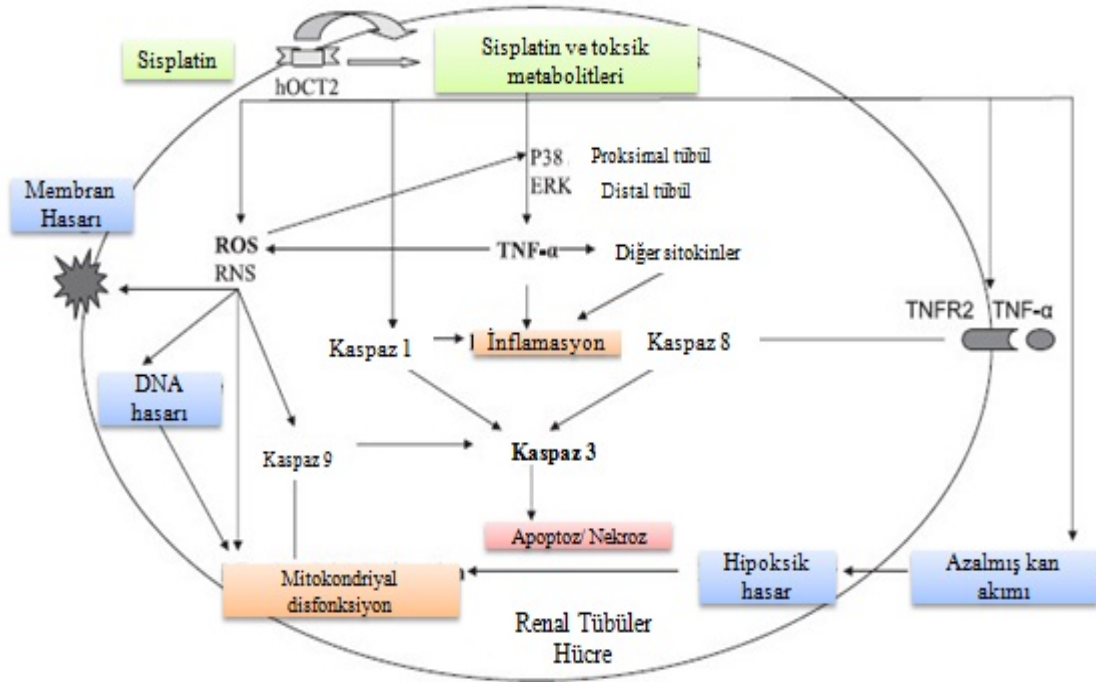
Sisplatin böbreklerde diğer organlardan daha fazla birikir çünkü asıl atılım yeri böbreklerdir. Proksimal tübül hücrelerindeki sisplatin konsantrasyonu, serum konsantrasyonunun beş katıdır. Sisplatinin böbrek dokusunda bu orantısız birikimi nefrotoksisite oluşumuna katkıda bulunur. Sisplatinin hücre içi konsantrasyonları ise en yüksek sitoplazma, mitokondri ve nükleusta bulunmuştur. Sisplatin nefrotoksitesisine ait mekanizmalar oksidatif stres, apoptoz ve nekroz, inflamasyon, fibrojeniz, mitokondriyal hasarı içerir ve mekanizmaların birbiriyle bağıntıları ve karmaşıklığı dikkat çekicidir (6) (Şekil 10).

Oksidatif stres ve antioksidan sistemler: Oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin yapımı ve uzaklaştırılması arasındaki belirgin bozulmuş denge durumu ile ilgilidir, antioksidan mekanizmaların tükenmesinden veya oksidan ürünlerin aşırı üretiminden kaynaklanabilir. Reaktif oksijen türleri serbest radikalleri ve radikallere dönüşebilen ama serbest radikal olmayan maddeleri kapsayan okside edici ajanlar için kullanılan genel bir terimdir. Süperoksit anyonu moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle genellikle respiratuar zincirde meydana gelir fakat ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gibi enzimlerce süperoksit endojen olarak üretilir. Hidrojen peroksit peroksizomlarda ve mikrozomlarda yer alan bazı enzimlerce süperoksit anyonuna bir elektron eklenmesiyle üretilir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir, membranları geçebilir, fenton reaksiyonu olarak bilinen metal iyonlarıyla katalizlenen (Cu^+ , Fe^{+2}) bir reaksiyon ile hidroksil radikalini oluşturur.

Hidrojen peroksit ayrıca myeloperoksidazla katalizlenen bir reaksiyonla hipokloröz aside dönüşür. Reaktif oksijen türleri oksidan çeşitlerine bağlı olarak fazlalığında zararlıdır, hücre fonksiyonları bölebilir, çeşitli hücre yapılarına zarar verebilirler. En sık kullanılan oksidatif stres belirteçleri şunlardır: (a) lipid peroksidasyon; sıklıkla malondialdehid (MDA), 4-hidroksinonenealin, tiyobarbütirik asit reaktif maddelerinin saptanmasıyla hesaplanır. (b) 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG) oksidatif stresle değişen denatüre DNA eklentisi.



Şekil 9. Sisplatin nefrotoksisitesindeki olaylara genel bakış (16).



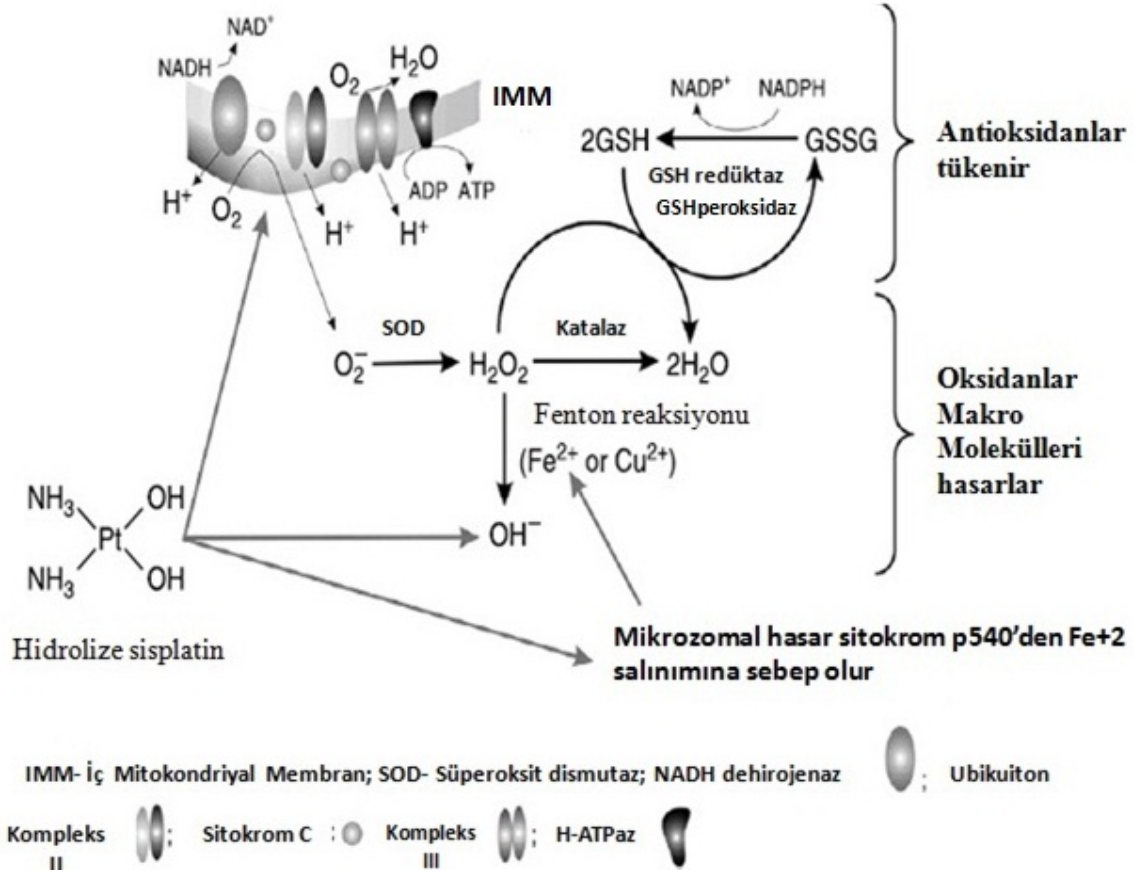
Şekil 10. Sisplatin'e bağlı akut tübüler hasarda başlıca hüresel yollar (6).

(c) glutasyon tüketimi ve (d) karbonil içeren proteinlerdir. 3-Nitrotirozinin de nitrosatif stres belirteci olduğu düşünülür.

Hücrel antioksidan sistem enzimatik sistem ve enzimatik dışı sistem olarak iki ana gruba ayrılabilir. Enzimatik sistemde; süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), katalaz, glutasyon redüktaz, glutasyon-S-transferaz yer alır. Enzimatik dışı savunma sistemi C vitamini, E vitamini, selenyum, glutasyon, lipoik asit ve ubikinon gibi düşük molekül ağırlıklı antioksidan bileşikleri içerir (79).

Sisplatin nefrotoksisitesinde oksidatif stres: Oksidatif stres sisplatin uygulanmasıyla indüklenen akut böbrek hasarında aktif olarak rol alır. Sisplatin, özellikle potent bir serbest radikal olan hidroksil radikalının üretimini artırır. Hidroksil, glutasyon gibi hücre içi antioksidan depoları tüketir, diğer serbest radikaller gibi doğrudan lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenleri üzerinde etki gösterir ve yapılarını bozar (27,28). Sisplatin ek olarak proksimal tübüler hücrelerde ve birçok hücrede dolaylı yoldan mitokondrileri hasarlayarak hidroksil radikali oluşumunu artırır (29,30). Sisplatinin mitokondri membranlarına olan hasarı oksidatif fosforilasyonu bozar, süperoksit salınımını artırır. Süperoksit; SOD ile hidrojen peroksite çevrilir, hidrojen peroksit daha sonra demir gerektiren fenton reaksiyonuyla hidroksil radikallerine çevrilir. Ayrıca sisplatin sitokrom p450'den serbest demirin katalitik olarak salınımını indükleyerek hidroksil radikali oluşumunu kolaylaştırır (31,32) (Şekil 11).

Sisplatinin intraselüler kalsiyum seviyelerini artırıp NADPH oksidazı uyarır ve reaktif oksijen türleri üretimine katkıda bulunur (33). Serbest radikaller peroksidasyon ile hücre membranının lipid yapılarına hasar verirler, proteinleri denatüre ederek enzimatik inaktivasyona yol açarlar, aynı zamanda mitokondride fonksiyon bozukluğuna sebep olurlar (34). Sisplatin nefrotoksisitesinde reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve reaktif nitrojen türleri; peroksinitrit, nitrik oksit böbreklerde artış göstermiştir (35-40). Sisplatinin antioksidan enzimleri inhibe ettiği, SOD, GPx, glutasyon redüktaz ve katalazın renal etkinliklerinin belirgin derecede azaldığı gözlenmiştir (41-44). Antioksidan sistemlerin hasar görmesi sonucunda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nında arttığı gösterilmiştir (43,45,46).



Şekil 11. Sisplatinle indüklenen oksidatif stres mekanizmaları. Oksidatif stres sisplatin hidrolizinin doğrudan sonucu veya mitokondriyi hasarlayarak indirek sonucu olabilir (32).

Sisplatin nefrotoksisitesinde inflamasyon: Sisplatine bağlı böbrek hasarında inflamasyonun önemli bir rolü vardır. Antiinflamatuvar sitokin interlökin-10'un sisplatinin oluşturduğu renal hasarı azalttığına Deng ve arkadaşları tarafından gösterilmesiyle renal hasar ile inflamasyon arasındaki ilişki araştırılmaya başlanmış (47), çalışmalarda sisplatinin proinflamatuvar sitokin ve kemokin seviyelerinde artışa yol açtığı, özellikle interlökin 1-beta, 16 ve 18'in önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (48-50). Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α)'nın renal hasarda merkezi bir rol oynadığı; Tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-1) ile apoptozu indüklediği ve TNFR-2 ile bir çok kemokin ve sitokinin aktivasyonunu koordine ettiği bildirilmiştir (51). Sisplatin TNF- α 'nın renal ekspresyonunu arttırmış, NF- κ B etkinliğini arttırmış, transkribe edici büyüme faktörü beta, monosit kemoatraktan protein-1, interselüler adezyon molekülü, hemoksijenaz-1 gibi inflamatuvar sitokinler ve tümör nekrotizan faktör reseptörleri sisplatin nefrotoksisitesinde artmış olarak bulunmuştur (52).

Çalışmalar TNF- α bulunmayan farelerin sisplatin nefrotoksisitesinden büyük oranda korunduğunu göstermiştir (53). TNF- α inhibitörlerinin sisplatine bağlı renal işlev bozukluğunu %50 oranında iyileştirdiğini ve yapısal hasarı azalttığı gözlenmiştir (48). Tüm bu TNF- α gibi spesifik inflamatuvar faktörleri hedefleyen farmakogenetik yaklaşımlı çalışmalarla inflamatuvar cevabın sisplatin nefrotoksisitesindeki rolü belirlenmiştir.

Sisplatin nefrotoksisitesinde mitokondriyal hasar: Sisplatine maruziyetin özellikle mitokondride respiratuvar zincir sisteminde yer alan kompleks 1-4'ü etkilediği ve ATP sentezini böldüğü ve hücre içi ATP miktarını ve glutasyonu %70 azalttığı, glutasyon redüktazı %20 azalttığı gösterilmiştir. Dışarıdan Kompleks 1'i ve glutasyon redüktazı inhibe eden maddeler verildiğinde de aynı tablonun oluşması bu mekanizmanın da hasar sebepleri arasında olabileceğini göstermiştir (54). Sisplatinin etkisiyle mitokondriyal bax gen translokasyonu ve sitokrom C'nin mitokondriden sitozole salınmasının mitokondriyal disfonksiyona yol açan diğer bir faktör olduğu düşünülmektedir (55).

Hipoksi sonrasında gelişen mitokondriyal hasarın sisplatin nefrotoksisitesinde rol aldığı düşünülmektedir. Sisplatine bağlı nefrotoksisitede patolojik değişikliklerin çoğunlukla iskemiye oldukça duyarlı proksimal tübülün S3 segmentinde meydana geldiği gözlenmiştir (56). Sisplatin nefrotoksisitesinde dış medulla özel bir boya yöntemiyle incelendiğinde hipoksik hücrelerin büyük bir kısmını proksimal tübül hücrelerinin oluşturduğu saptanmıştır. Diğer yandan sisplatin hasarında in vivo olarak proksimal tübül S3 segmentinde hipoksi indüklenebilir faktörün (HIF 1) aktive olduğu gösterilmiştir. HIF 1 anjiyogenez, eritropoez ve glikolitik adaptasyon gibi hipoksiye karşı gelişen hücresel yanıtta rol alan bir transkripsiyon faktörüdür. Baskın HIF-1 α alt birimi olmayan hayvanlarda da mitokondriyal membran potansiyelinin kaybolması sonucu gelişen apoptoz ile sisplatin nefrotoksisitesine duyarlılığın arttığı gösterilmiştir. Bu durumda sisplatine bağlı renal hasarda hipoksinin net etkisi henüz kesinlik kazanmamıştır (6,57).

Sisplatin nefrotoksisitesinde fibrozis: Sisplatinin insanlarda interstisyel fibrozis ile kronik interstisyel nefrite neden olduğu bilinmektedir (58). İnterstisyel fibrozis gelişiminin geri dönüşümsüz renal disfonksiyona sebep olduğu kabul edilmektedir (59). Bu yüzden sebepler arasına fibrozis te eklenmiştir. Sisplatinin neden olduğu fibroziste etkilenmiş tübüller etrafında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu gözlenir. Yapılan bir çalışmada haftada bir yedi hafta boyunca 2 mg/kg sisplatin enjeksiyonu alan sıçanlarda bir hafta gibi kısa

sürede kortikomedüller bileşkede fibrotik lezyonların oluştuğu ve beş haftada maksimuma ulaştığı gözlenmiştir. Sisplatin uygulaması kesildikten sonra yaklaşık 19 hafta içerisinde fibrotik dokuların azaldığı ve renal tübüllerin rejenere olduğu gözlenmiştir (60).

Sisplatin nefrotoksisitesinde apoptoz ve nekroz: Sisplatin nefrotoksisitesinde nekroz ve apoptoz, tübüler hücre ölümünü ifade eden ve yaygın olarak saptanan histopatolojik hasar bulgusudur. Bu iki hücre ölümü arasındaki muhtemel yeni bağlantılar son yapılan çalışmalarla aydınlatılmıştır. Hücre kültürü çalışmaları, uygulanan sisplatin dozunun nekroz ya da apoptoza gidişi belirlediğini göstermiştir. Yüksek doz sisplatin konsantrasyonunun proksimal tübül hücrelerinde nekroza yol açarken daha düşük konsantrasyonların apoptoza yol açtığı bildirilmiştir (61). Sisplatin uygulamasını takiben renal tübüllerde hem nekroz hem de apoptozun arttığı yapılan in vivo hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (53,62,63).

Apoptoz; çeşitli renal hastalıklarda ve ilaçla indüklenen nefrotoksisitede merkezi bir rol oynar. Apoptoz hücre içi ve hücre dışı yolak olmak üzere iki ana yolakla başlatılabilir. Hücre içi yolakta sinyaller aracılığıyla mitokondri, lizozomlar ve endoplazmik retikulum gibi subselüler organeller rol alırken, ekstraselüler yolağa ölüm reseptörü yolağı da denir; ligandın (TNF, Fas Ligand gibi) bağlanmasıyla ölüm reseptörleri (TNFR, Fas gibi) aktive olur. Her iki yolakta spesifik proteazların (kaspaz-3 ve kaspaz-7 gibi) aktivasyonu ve hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, DNA parçalanması, sitoplazmik baloncuklar gibi apoptozun karakteristik morfolojik bulgularıyla sonuçlanır (64). Nefrotoksik ilaçların daha çok intrinsik yoldan etki gösterdiği gözlenmektedir (65).

Sisplatin daha çok intrinsik yoldan mitokondriyal yolak üzerinden etkilidir. Bax aracılığıyla mitokondriyal membrandan sitokrom C ve apoptozu indükleyen faktörün birlikte salınımını sağlar ve başlatıcı kaspazlar olan kaspaz 2, 8, 9 aktive olur, öldürücü kaspaz-3 salınımıyla da apoptoz meydana gelir (66,67).

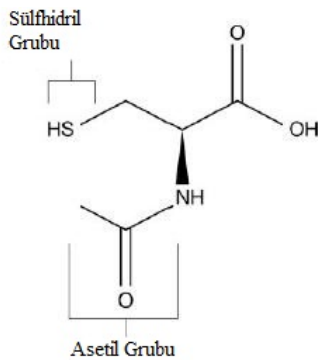
Apoptozu düzenleyen yolakta; Bcl-2 ailesi proteinleri (68), integrinler gibi adezyon faktörleri, p53 gibi transkripsiyon faktörleri ve birçok faktör yer almaktadır (69). Yapılan çalışmalar p53'ün sisplatinle indüklenen tübüler hücre apoptozunda daha fazla rolü olduğunu kuvvetlendirmektedir (70-72). P53 tümör supresör bir genidir, neoplazilerde mutasyona uğrar ve genom muhafızı olarak bilinir. P53 apoptoz proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonlarını artırır. p53 ayrıca Bcl2 ailesinden olan baxı da aktive eder (73).

P53 etkinliğinin inhibe edilmesi kaspaz aktivasyonunu suprese etmiş ve sisplatinle indüklenen nefrotoksisiteyi önlemiştir (72). Kaspaz-2'nin ve p53'ün inhibisyonu kültüre tübüler hücreleri sisplatinle indüklenen apoptozisten korumuştur (71).

Nekroz ve apoptoz farklı morfolojik özelliklerine rağmen önemli bazı ortak sinyal yollarını paylaşabilirler, bid ve bax gibi proapoptotik proteinlerle mitokondri hasarı sonucu hücre ölümüne yol açabilirler. Sisplatin nefrotoksisitesinde kullanılan renoprotektif ajanların sıklıkla hem nekroz hem de apoptozu engellediği gösterilmiştir (74-77). Bax gibi apoptotik genlerin doğuştan eksikliğinde tübül hücrelerinde apoptoz ile beraber nekroz varlığı da kaybolmuştur (78).

2.5. N-asetilsistein (NAS)

NAS, sistein amino asidinin asetillenmiş türevidir. Kimyasal formülü $C_5H_9NO_3S$ 'tir ve moleküler ağırlığı 163,2 g/mol'dür (Şekil 12). Asetilsistein sekresyonların viskozitesini azaltan bir mukolitikdir. İlaç oral, intravenöz veya respiratuar yoldan uygulanabilir. İlacın oksidasyonu ile disülfid bağları şekillenmekte ve fazlaca reaktif sülfhidril grubu hızlıca doku ve plazma proteinleri ile reaksiyona girerek bağlanmaktadır. İlaç plazmada serbest dolaşabilir veya diğer proteinlere çeşitli formlarda bağlanabilir (80).



Şekil 12. N-asetil sisteinin kimyasal yapısı (80).

2.5.1. Farmakokinetik

Oral olarak uygulanan NAS, gastrointestinal kanaldan hızlıca absorbe edilir ve zirve plazma konsantrasyonlarına 1-2 saat içerisinde ulaşır. Oral biyoyararlanımı redükte ya da değişmemiş şekilde olup olmasına bağlı olarak %4 ile %10 arasında hesaplanmıştır (81). Gerçek yarı ömrü 6 ile 40 dakika arasındadır (82). İntravenöz enjeksiyondan sonra, Harada ve arkadaşları NAS'ın yüksek derecede plazma ve doku proteinlerine bağlandığını, farklı disülfid bileşikleri oluşturduğunu bulmuşlardır (83). Bazı çalışmalarda farmakokinetik değerlerin doz bağımlı olduğuna dikkat çekilmiş, biyoyararlanımın zirve konsantrasyonu ve zirve konsantrasyona ulaşmak için geçen sürenin artan dozlarla birlikte artış gösterdiğini bildirmiştir (84). Plazmada NAS değişmemiş şekilde veya indirgenmiş şekilde veya N,N-diasetilsistein ve sistein gibi farklı okside metabolitler olarak, serbest veya labil disülfid bağlarıyla plazma proteinlerine bağlı olarak bulunabilir (83). Düşük biyoyararlanımı güçlü ilk geçiş metabolizmasına bağlıdır (84,85).

Çalışmalar NAS'ın dağılım hacminin 0,33 ila 0,47 L/kg arasında olduğunu göstermiştir. Uygulamadan 2 saat sonra, doku dağılımı şu azalan sıralama ile; böbrek, karaciğer, adrenal bez, akciğer, dalak, kan, beyin, ve idrar (81).

NAS'ın ana metabolitinin sistein ve sistin olduğu gösterilmiştir. Küçük miktarlarda taurin, değişmemiş NAS ve inorganik sülfat primer üriner atılım ürünleridir (85).

2.5.2. Etki mekanizması ve klinik endikasyonları

NAS'ın etkinliği ekstraselüler sistini sistine indirgemesine veya intraselüler sülfhidril grubu kaynağı olarak işlev görmesine dayanır. Sülfhidril grubu kaynağı olarak glutatyon sentezini stimüle eder, glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırır.

Respiratuar hastalıklar: Asetilsistein mukoproteinlerdeki disülfid bağlarını kırarak sekresyonların viskozitesini azaltır. Mukolitik etkisinden dolayı kronik akciğer hastalıklarının tedavisinde nebulizasyon yolu ile veya oral yoldan kullanılır.

Asetaminofen ve diğer zehirlenmeler: NAS'ın en çok kabul gören şekli asetaminofen zehirlenmelerinde antidot olarak kullanımıdır. Asetaminofen metabolitleri hepatositlerdeki glutasyonu tüketir, hepatoselüler hasar ve ciddi olgularda ölüme yol açar. NAS intravenöz veya oral olarak ilk 24 saat içerisinde uygulanırsa karaciğer toksisitesini önler. Altın, gümüş, bakır, merkür, kurşun ve arsenik gibi ağır metal zehirlenmelerine karşı, karbon tetraklorür, akrilonitriller, halotan, parakuat, asetaldehit, kumarin ve interferon zehirlenmelerine karşı etkili bulunmuştur.

Kalp hastalıkları: Birkaç klinik çalışma NAS'ın kalp hastalıklarının tedavisinde etkili bir ajan olduğunu kanıtlamıştır. Çalışmalar NAS'ın homosistein ve lipoprotein seviyelerini disülfid bağlarını kırarak düşürdüğünü, iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı glutasyon redoks sistemini tazeleyerek ve nitroglicerinin etkinliğini potansiyalize ederek koruduğunu göstermiştir.

HIV enfeksiyonu ve AIDS: Hücre içi savunma mekanizmalarına sistein içeren bir peptid olan glutasyon da dahil olur ve HIV ile enfekte hastalarda düşük glutasyon konsantrasyonları daha kısa yaşam süresi ile ilişkilidir. Asetilsistein glutasyon depolarını tazelediğinden dolayı, AIDS tedavisinde rolü olabilir. In vitro çalışmalar asetilsisteinin HIV ekspresyonunu inhibe edebileceğine işaret etmektedir. NAS'ın NF- κ B ekspresyonunu bloke ettiği, T hücre koloni formasyonunu arttırdığı ayrıca çift kör, plasebo kontrollü çalışmada NAS'ın plazma sistein seviyelerini ve CD4+ lenfosit hücre sayısını arttırdığı gösterilmiştir.

Yanıklar: İnhalasyon yanıklarında çocuklara aerosol heparin ve asetilsistein ile verilen tedavinin mortalite ve reentübasyon oranlarını azalttığı gözlenmiştir.

Aspergillozis: Standart tedavi olmasa da aspergillozis tedavisinde fungus topunu içeren kaviteye lokal olarak uygulanır. Asetilsisteinin aspergillus ve fusarium türlerine karşı inhibitör özelliklerinin olduğuna dair kanıtlar vardır (19,86).

2.5.3. Yan etkileri

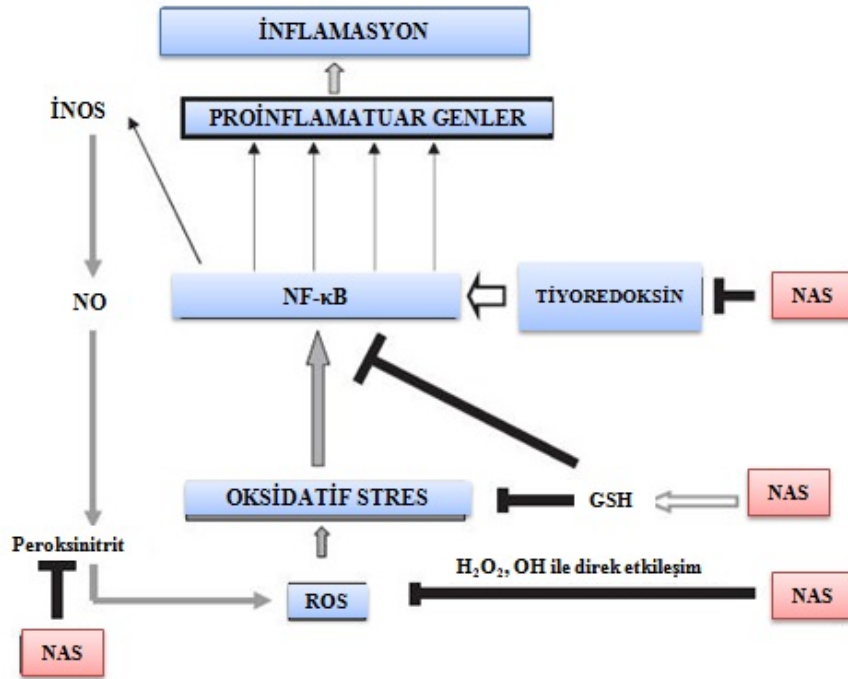
Asetilsistein alan hastalarda hipersensitivite reaksiyonları rapor edilmiştir, bunlar bronkospazm, anjiödem, kızarıklıklar ve kaşıntı, hipotansiyon bazen hipertansiyonu kapsar. Asetilsistein ile bildirilen diğer yan etkiler; kızarıklık, bulantı ve kusma, ateş, senkop, terleme, artralji, bulanık görme, asidoz, konvülsiyonlar, kalp ve solunum durmasıdır.

Asetilsistein astımı olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır, bronkospazm ve solunum durması rapor edilmiştir. Peptik ülser hikayesi olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Çünkü ilaçla

indüklenen bulantı ve kusma gastrointestinal kanama riskini arttırabilir ve mukolitikler gastrik mukozal bariyeri bozabilir (19).

2.5.4. NAS'ın böbreklerdeki etkisi

Antioksidan etkisi: NAS'ın antioksidan özellikleri yaygın bir şekilde çalışılmıştır (87). NAS serbest radikalleri in vitro nötralize etmede çok etkindir. NAS hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek, hızlıca inaktive eder. Reaksiyonda; önce NAS tiyol radikal ara ürünleri oluşur, NAS disülfid oluşumu ile de reaksiyon sonlanır (88). Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit gibi diğer reaktif oksijen türlerine karşı da etkilidir (89). SOD aktivitesini arttırmakta, hidroksil radikallerini azaltmakta ve otokatalitik lipid peroksidasyonunu engellemektedir (90,91).



Şekil 13. NAS olası etki mekanizmaları. NAS oksidatif stresi direk reaktif oksijen türlerini temizleyerek veya hücrel redoks durumunu değiştirerek etki eder. NF-κB aktivasyonunu etkileyebilir ve inflamatuvar cevabı değiştirebilir (107).

NAS'ın takviyesinin vücudun ana antioksidanı olan glutatyon seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (92). Glutatyon bir dizi toksik maddeyi detoksifiye etmede kritik öneme sahiptir. Bunlar; ksenobiyotikler (biyolojik sisteme yabancı kimyasallar), peroksit bileşikleri ve diğer serbest radikal üreten moleküllerdir. Bu sırada hücreler üzerinde yoğun koruyucu bir etki sergiler (93). Glutatyonun üç aminoasit (glutamat, glisin ve sistein) bileşeninden olan sistein hücre içinde en düşük konsantrasyona sahip olan amino asittir (93). Çünkü glutatyonun yenilenmesindeki primer mekanizma de novo sentezidir ve sistein mevcudiyeti glutatyon sentez hızını oksidatif stres süresi boyunca sınırlar (92).

NAS barsaklarda ve karaciğerde deasetile olduğunda metabolitlerinden biri de sisteindir. Dolaşan sistein renal hücrelere de girer ve glutatyon üretiminde öncü molekül olarak görev alabilir. Birçok çalışma NAS'ın glutatyon tükenimini önlediğini göstermiştir (92,93). Böbrekle ilişkisi böbreğin iskemi-reperfüzyon hasarında glutatyon seviyelerinin azaldığının kanıtlanmasıyla kurulmuştur (94,95). Ratlara NAS uygulanmasının böbrek glutatyon seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (96).

NAS'ın kontrast madde nefropatisinin önlenmesinde etkili olduğu yapılan klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır (97-99). Kontrast maddeye maruz kalan böbrekte oksidatif strese patlama meydana gelir ve doku hasarıyla sonuçlanır. NAS'ın kontrast madde nefropatisindeki koruyucu etki mekanizmalarından en çok kabul göreni vücudun antioksidan kapasitesine olan desteğidir (100).

Antiinflamatuvar özellikleri: NAS hücrel redoks durumunu düzenlediğinden dolayı birçok yolu etkiler, NF-kB etkinliğinde azalmaya yol açar (101). NAS tiyoredoksin ve glutaredoksin ekspresyonunu ve salınımını azaltarak, inflamatuvar cevapta artışa yol açan NF-kB'nin DNA'ya bağlanmasını azaltır (102).

İndüklenebilir NOS, nitrik oksit sentezini sağlar. Nitrik oksit düşük dozlarda lökosit adezyonunu engelleyip, antiinflamatuvar etki gösterirken (103), yüksek dozlarda süperoksit anyonu ile reaksiyona girip peroksinitriti oluşturmakta oksidatif hasara sebep olmaktadır (104). NAS doğrudan peroksinitriti indirgeyerek (105) veya indirgenmiş glutatyon/indirgenmemiş glutatyon dengesini değiştirip indüklenebilir NOS'u inhibe ederek antiinflamatuvar etkinlik sergiler (106,107).

Renal Vazodilatasyon: Safirstein ve arkadaşları tarafından ileri sürülen NAS'ın renal damarları genişletici etkisi (108), yapısal hasar olmadan güçlü renal vazokonstriksiyonla seyreden hepatorenal sendromlu hastalarda NAS'ın etkinliği hakkındaki makalede gösterilmiştir

(109). Bu etkinlik, inferior vena cava oklüzyonunu takiben bozulan renal mikro dolaşımın NAS tarafından düzeltildiğini gösteren diğer bir makale ile de desteklenmektedir (110). Başka bir makalede intavenöz NAS'ın (60 mg/kg); radyokontrast, AnjiotensinII, indometazin ve N(g)-nitro-L-arjinin metil ester ile indüklenen renal vazokonstriksiyonu azalttığı, önceden konstrikte edilmiş dokuda vazodilatatör etkilerine prostoglandinler ve nitrik oksitten başka mekanizmaların aracılık ettiği gösterilmiştir (111).

2.6. C Vitamini

C vitamini askorbik asit olarak ta isimlendirilir ve yapısı glukozu andırır. İnsanlarda L-gulonolakton oksidaz enziminin bulunmaması glukozdan askorbik asit sentezini önler (112).

Askorbik asidin rol aldığı süreçler şunlardır: Kollajen sentezinde prolin hidroksilasyonu, tirozin degradasyonu, tirozinden epinefrin sentezi, safrada asit oluşumunu adrenal kortekste steroid sentezi, demirin absorpsiyonu, genel suda eriyen antioksidan olarak etki gösterir ve sindirim boyunca nitrozaminlerin oluşumunu engeller (112).

2.6.1. Farmakokinetik

Askorbik asit hızlıca gastrointestinal sistemden emilir ve tüm dokulara yaygın bir şekilde dağılır. Askorbik asidin plazma konsantrasyonları 90 ila 150 mg günlük dozlarla platoya ulaşana kadar enjekte edilen doz arttıkça artar. Günlük 200 mg üstü alımlarda daha fazlası depolanabilmesine rağmen, sağlıklı kişilerde askorbik asidin vücut depoları yaklaşık 1,5 g'dır. Lökositlerde ve trombositlerdeki konsantrasyon eritrosit ve plazmadan daha yüksektir. Askorbik asit yetersizliği değerlendirilirken lökosit konsantrasyonları plazma konsantrasyonlarından daha iyi bir kriterdir.

Askorbik asit geri dönüşümlü olarak dehidroaskorbik aside okside olur, bir kısmı inaktif olan askorbat-2-sülfata ve okzalik aside metabolize olur ve idrarla ekskrete edilir. Vücudun ihtiyacından fazla askorbik asit hızlıca değişmeden idrarla atılır, genellikle 100 mg'ı aşan

alımlarda meydana gelir. Askorbik asid plasentayı geçer ve süte dağılır. Hemodiyalizle uzaklaştırılabilir (19).

İntravenöz C vitamininin klinik farmakokinetiği: Oral olarak uygulanan dozlar 200 mg'ı aşarsa, absorpsiyon azalır, üriner ekskresyon artar ve askorbatın biyoyararlanımı azalır. Tersine intravenöz enjeksiyon intestinal absorpsiyon sistemine uğramadığından plazma konsantrasyonları yüksek seviyelere ulaşabilir (113).

Sağlıklı gönüllerde plazma C vitamini konsantrasyonlarını karşılaştıran bir çalışmada, C vitamini doruk konsantrasyonlarının intravenöz uygulamadan sonra oral dozlardan daha yüksek olduğunu açığa çıkarmıştır ve bu fark doz arttıkça artmıştır. C vitamini 1,25g dozda uygulandığında, intravenöz uygulamadan elde edilen ortalama zirve değerler oral uygulamadan elde edilenden 6,6 kat daha yüksek bulunmuştur. İntravenöz uygulamadan elde edilen C vitamini zirve idrar konsantrasyonları maksimum oral dozdan 140 kat daha yüksektir ve intravenöz uygulanan askorbat birkaç saat içinde temizlenir (114).

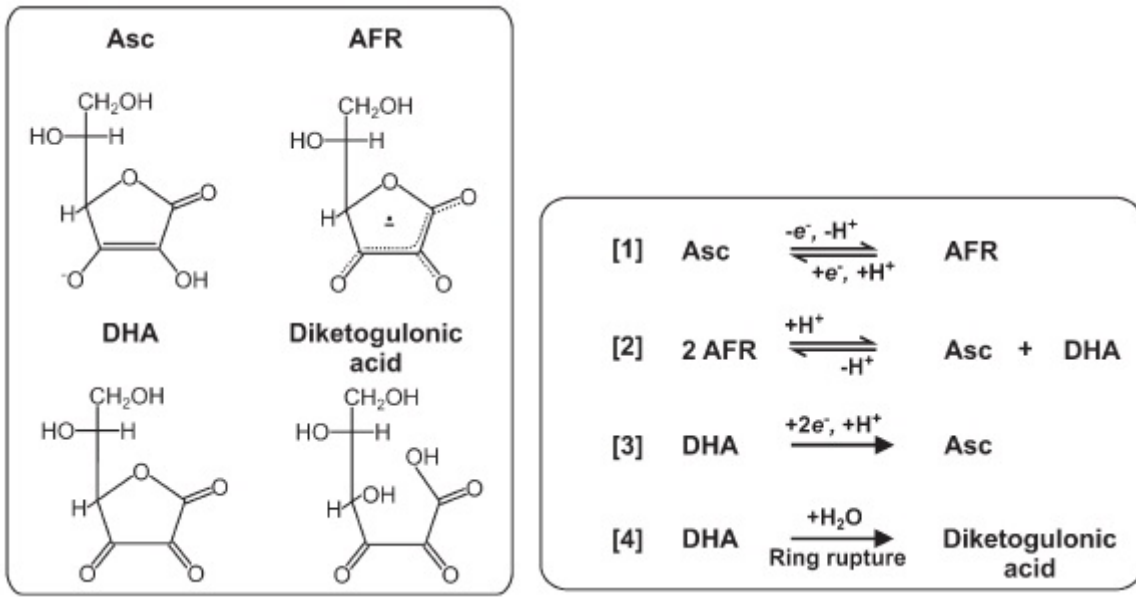
2.6.2. C Vitamininin güvenliği

Tüm vitaminler içinde C vitamini en düşük toksisiteye sahiptir. Yüksek dozlarda tüketildiğinde diyare ve intestinal distansiyon veya gaz en sık şikayetlerdir. Yüksek dozlarda C vitamininin şu etkileri olduğu da gösterilmiştir: Kalsiyum, demir ve manganez'in üriner ekskresyonunda artış, demir absorpsiyonunda artış, üriner okzalat veya üriner ürik asit seviyelerinde artış, çok küçük bir grupta rutin labaratuvar parametrelerinde (serum B12, aminotransferazlar, bilirubin, glukoz ve gaytada gizli kan pozitifliği) değişiklik gözlenmiştir (115).

2.6.3. C Vitamininin antioksidan özellikleri

Askorbat 2. ve 3. karbon atomlarındaki hidroksil gruplarının bir hidrojen atomunu (hem bir elektron hem bir proton) oksijen ve nitrojen türevi serbest radikaller, süperoksit ve peroksitler

gibi çeşitli oksidanlara vererek paylaşma yeteneğinden dolayı antioksidan özellik kazanır (116). C vitamini; serbest oksijen radikallerini temizlerken veya dioksijenaz enzimlerindeki ferrik demiri indirgerken bir elektronunu verir. Askorbata bir elektronunun okside olduğu bu formuna askorbil serbest radikali (AFR) denilir, monodehidroaskorbat veya semidehidroaskorbat olarak da bililir, şaşırtıcı olarak stabildir, oksidasyonu enzimatik olarak geri dönüşümlüdür (117). AFR askorbata enzimatik olarak indirgenmezse, iki AFR dismutasyona uğrayarak bir askorbat ve bir dehidroaskorbik asite (DHA) dönüşebilir. AFR dismutasyonu ile oluşan her askorbat molekülü hücrel redoks reaksiyonlarına indirgeyici iki eşdeğerlik katar. Hücre içinde DHA glutatyon ve NADPH bağımlı enzimatik ve non-enzimatik reaksiyonlarla hızlıca askorbata geri indirgenir. Nükleuslu hücrelerde mitokondriyal elektron transport sistemi hücre içinde DHA'nın indirgenmesinde önemli bir alandır. DHA'nın indirgenmesi iki elektron indirgenme basamağıyla meydana gelir ve AFR ara basamağına uğramaz (118).



Şekil 14. C vitamini(askorbik asit) ve askorbik asit radikallerinin moleküler yapısı ve oluşumu (118).

Askorbik asit, oksidan bir maddeyi indirgediğinde, dehidroaskorbik aside okside olur ki bu madde de bir vitamin kaynağı olarak rol oynar. Askorbik asit indirgeyici bir ajandır, +0.08V hidrojen potansiyeli ile moleküler oksijeni, nitratı, sitokrom a ve c'yi indirgeme kapasitesine sahiptir (112).

L-askorbat fizyolojik indirgeyici ve enzim kofaktörü görevleriyle çok sayıda enzimatik reaksiyonda rol almasının yanında, suda çözünen bir zincir kırıcı radikal temizleyici olarak ta hücrel antioksidan sisteme önemli katkılar sağlar. Alfa-tokoferoksil radikalini indirgeyerek plazma membranındaki alfa-tokoferolün (Vitamin E) geri dönüşümünü gerçekleştirir. Bu geridönüşüm askorbata membranları lipid peroksidasyona karşı koruma etkinliği de katar. İnsanlarda askorbat hücre içinde (çekirdekli hücrelerde) milimolar konsantrasyonlarda, hücre dışı sıvılarda ve eritrositlerde mikromolar konsantrasyonlarda bulunur (112).

C vitamini ve renal hasar: Askorbik asidin oksidatif stresi azaltarak, postiskemik stres, sisplatin, aminoglikozitler, siklosporin A, potasyum bromat gibi çok çeşitli ajanların neden olduğu renal hasarı azalttığı gösterilmiştir (119-123).

2.7. Renal Sintigrafi

Renal radyonüklid çalışmalarının erken dönemlerinde 1950'li yıllarda; böbrekler görüntülenmiyordu, eksternal gama problemleriyle zaman-aktivite klirens histogramları oluşturuluyordu. Zamanla prob çalışmaları gama kamera görüntülemeye yön verdi. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), bilgisayarlı tomografi (BT) ve ultrason alanındaki gelişmeler sonucunda birçok tanısal uygulamalarda nükleer tetkiklerin yerine ağırlıklı olarak bu yöntemler kullanılmaya başlandı. Nükleer tıp teknikleri böbrek fonksiyonlarının görüntülenmesinde kullanılmaktadır. Kan akımı ve canlılığın değerlendirilmesi, obstruktif ve nonobstruktif hidronefrozların ayırımı, üriner sızıntıların değerlendirilmesi ve akut piyelonefrit tanısı gibi durumlarda kullanılmaktadır. Sintigrafi; incelenmek istenen dokunun fizyolojisini, biyokimyasını veya patolojisini radyofarmasötikler aracılığıyla dokulara zarar vermeden açığa çıkarır (5).

Renal sintigrafi teknikleri statik böbrek sintigrafisi ve dinamik böbrek sintigrafisi olmak üzere ikiye ayrılır. Statik böbrek sintigrafisinde belirli bir süreye ve sayım miktarına ulaşıncaya kadar çekim yapılır ve sayımlar kaydedilir. Böbrek parankimine afinite gösteren radyofarmasötikler kullanılır, böbrek parankiminin detaylı incelemesine imkan sağlar. Daha çok pediyatrik yaş grubunda tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları veya vezikoüreteral reflüsü olan çocuklarda kortikal skarların yakalanmasında ve takibinde kullanılır (124). Statik böbrek

sintigrafisi kortikal sınırları iyi tanımlar, fonksiyonel doku dağılımını gösterir. Statik renal görüntüleme için kullanılan radyofarmasötikler; ^{99m}Tc -Dimerkaptosüksinik asit (DMSA) ve ^{99m}Tc -glukoheptonattır (125).

2.7.1. Dinamik böbrek sintigrafisi

Böbreklerin lokalizasyonu ve fonksiyonları görsel ve kantitatif olarak dinamik böbrek sintigrafisi ile değerlendirilir. İntravenöz yoldan verilen radyoaktif maddenin böbrek parankimi tarafından tutulup mesaneden atılma süreci, belirli zaman dilimlerinde elde edilen ardışık görüntülerle izlenir, bu sayede anlık değişimlerin görüntülenmesine izin verir. Bu görüntüler kullanılarak, radyofarmasötiğin zaman-aktivite eğrisi (renogram) oluşturulur. Renogram eğrisi üzerinde, toplam renal ve her bir böbrek için renal fonksiyonlar ayrı ayrı hesaplanır. Böbreklerden hızla atılan böylece böbrek fonksiyonlarını, idrar akışını ve böbrek damarlanmasını değerlendirmeye olanak tanıyan radyofarmasötikler kullanılır. Dinamik renal görüntüleme için kullanılan radyofarmasötikler; Teknesyum-Dietilentriaminpentaasetik asit (^{99m}Tc - DTPA), Ortoiyodohippürat (I-131 OIH), ^{99m}Tc - MAG3'tür.

Renal sintigrafinin endikasyonları şunlardır: Perfüzyon anomalileri, akut ve kronik böbrek yetmezliği, renal transplante hastalarda rejeksiyon ve anastomoz gelişiminin tayini, intravenöz piyelografi ile görüntülenemeyen böbreklerin fonksiyonunun saptanması, renal travmanın veya cerrahi komplikasyonların değerlendirilmesi, renovasküler hipertansiyon, renal arter stenozu, renal fonksiyonların ölçümü, piyelonefrit, bertin sütunu veya kitlesinin tayini, üreteral obstrüksiyon ve darlıkların tayini, vezikoüreteral reflünün tayini, mesane rezidüel volümün ölçülmesidir (5).

2.7.2. ^{99m}Tc - MAG3 (Merkaptoasetiltriglisin)

^{99m}Tc - MAG3 son yıllarda en sık kullanılan renal radyofarmasötiktir. Yaklaşık tamamı proksimal tübülden sekresyon yolu ile temizlenir, çok az oranda karaciğer yolu ile atılır.

Ekstraksiyon etkinliği (%50) diğer ajanlardan daha yüksektir. Böbrek fonksiyonları bozuk kişilerde daha iyi görüntü elde edilebilir. Gelişmiş sayım istatistikleri sayesinde kan akımının I-131 OIH'tan daha iyi görüntülenmesini sağlar. Ek olarak düşük radyasyon dozimetrisi ile çok daha iyi yüksek sayımlı zaman-aktivite eğrileri sağlar. ^{99m}Tc- MAG3 görüntüleri, fonksiyonları hesaplariken önemli anatomik detayları da gösterir.

Proteinlere bağlanması ^{99m}Tc- MAG3'n %97 düzeyindeyken, bu değer I-131 OIH için %70'tir. ^{99m}Tc- MAG3, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlandığı ve filtre edilmediği için tamamı tübüler sekresyon yolu ile temizlenir. Bu bağlanma ^{99m}Tc- MAG3' intravasküler aralıktaki korur, böbrek hedef-zemin aktivite oranlarını arttırır fakat renal ekstraksiyonu yavaşlatır. Klerensi 400 ml/dk ile I-131 OIH'in %60'ı kadardır. Doruk aktivitesine ulaşma zamanı 3-5 dakikadır. (5,125).

2.7.3. Dinamik böbrek sintigrafisinin uygulama tekniği

Hazırlık ve hidrasyon: ekim boyunca hareket etmemek önemlidir, gerekli durumlarda sedasyon uygulanmalıdır. Dehidratasyon durumunda zaman-aktivite eğrisinde ekskresyon fazı uzar, obstruksiyonu taklit eder. Dehidratasyonu önlemek için oral hidrasyon çoğu vakada yeterlidir. Dehidratasyon durumunda, küçük çocuklarda intravenöz hidrasyon tercih edilmelidir.

Radyofarmasötik seçimi ve doz: ^{99m}Tc- DTPA, ileri dercede bilateral renal yetmezliği olanlarda ve küçük çocuklarda, böbrek/ zemin aktivite oranının düşük olması değerlendirmeyi güçleştirir ve şüpheli yorumlara neden olabilir. I-131 OIH, ^{99m}Tc-MAG3 ile yüksek ekstraksiyon oranlarından dolayı kaliteli görüntüler elde edilir.

^{99m}Tc- MAG3; proteinlere yüksek oranda bağlandığı için büyük oranda intravasküler alanda kalması, yüksek ekstraksiyon oranı, hızlı ekskresyonu ve düşük radyasyon dozu nedeniyle küçük çocuklarda en yaygın kullanılan radyofarmasötik ajandır. ^{99m}Tc- MAG3'n minimum dozu 37MBq (1 mCi), yetişkin dozu 185-375 MBq (5-10 mCi)'dir.

İyi bir dinamik çalışma için radyofarmasötik, intravenöz yoldan bolus tarzında enjekte edilmeli ve ardından damar yolu serum fizyolojik ile yıkanmalıdır.

Kayıt: Hasta, sırtı dedektöre bakacak şekilde yatar. Geniş görüş alanlı gama kamera ve düşük enerjili genel amaçlı kolimatör kullanılır. Enerji düzeyi ^{99m}Tc - MAG3 için 140 keV; enerji pencere aralığı %20 seçilir. İlk 1-2 dakika her biri 1 saniyelik, ardından 20-30 dakika her biri 60 saniyelik dinamik görüntüler alınır (125, 127,128).

2.7.3. Verilerin işlenmesi, analiz ve yorumlama

Böbrek ilgi alanı (ROI) çizimi: Böbrek ilgi alanı toplatılmış görüntülerden çizilmelidir. Böbrek fonksiyonları bozulmuş hastalarda ileri dönem görüntülerin toplatılması yararlı olabilir. İlgi alanı çiziminde tüm böbreğin ilgi alanı içerisinde olmasına dikkat edilmelidir (126).

Zemin aktivite ilgi alanı çizimi: Çizimde en ideal seçilecek bölge perirenal ilgi alanıdır, bu sayede hem infrarenal (renal fossa) hem de suprarenal (vasküler zemin) yapılar dahil edilmiş olur (126).

Zaman aktivite eğrisi: Radyofarmasötik maddenin bolus tarzda enjeksiyonla verilmesinden sonra seri görüntüler alınır. Dinamik renal çalışma yapıldıktan sonra, her iki böbrek çevresinde ilgi alanları ve zemin ilgi alanları ayrı ayrı çizilerek renogram eğrileri oluşturulur. Renogram eğrisi; perfüzyon, konsantrasyon ve ekskresyon fazı olarak üç kısımdan meydana gelir (125).

Perfüzyon indeksi: Böbreklerin kanlanma durumunu kantitatif olarak yansıtır. Böbrekler ve abdominal aortaya ilgi alanları çizilir. İlgi alanları içerisindeki aktivite seviyeleri kaydedilerek bunlardan birer zaman-aktivite eğrisi (renogram) oluşturulur. Renal eğriler abdominal aorta eğrisine oranlanarak perfüzyon indeksi hesaplanır.

Böbreklerin toplam fonksiyona katkı yüzdesi (split fonksiyon): Böbreklere veya böbreklerin herhangi bir segmentine ilgi alanı çizilerek toplam renal fonksiyona katkısı hesaplanabilir.

Maksimum aktiviteye ulaşma zamanı (T_{\max}): Normal böbreklerde radyofarmasötik enjeksiyonundan sonra ilk 5 dakika içinde maksimum aktiviteye ulaşılmalıdır.

Aktivite yarılanma zamanı ($T_{1/2}$): Pelvikalisyel sistemdeki aktivitenin yarılanması için geçen süredir. $T_{1/2}$ değerleri kullanılan radyofarmasötige, hesaplama yöntemine, hastanın hidrasyon düzeyine, renal pelvisin kapasitesi ve esnekliğine, mesanenin durumuna bağlı olarak değişebilir. $T_{1/2}$ değerinin artması ve pelvikalisyel sistemde stazın devam etmesi obstruksiyon lehinde değerlendirilir (125, 127,128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

3.1.1. Denekler

Bu çalışmada erişkin dişi Wistar sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar şartlarında barındırıldı, pellet yemi ve çeşme suyu ile beslenildi. Deneyler sıcaklık kontrollü ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) bir laboratuvar da gerçekleştirildi. Suya ve yiyeceğe ulaşım serbest bırakıldı. Planlanan bu çalışma için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Alt Kurulu'ndan 18.02.2010 tarih ve 2010-08 sayılı etik kurul onayı alındı.

3.1.2. Kullanılan araçlar

Santrifüj (Eppendorf Centrifuge, 5415R)

Homojenizatör (Heidolph Instruments GmbH & Co.K6 Schwabach, Germany DIAX 900)

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1201V, Japan)

Spektrofotometre (Architect C8000, Abbott Diagnostic Japan)

Terazi (AND, HR-120, Japan)

Vortex (Nüve, NM110)

pH metre (Orion Research Inc. USA, 710A)

Tek başlı SPECT Gamma kamera (E-Cam, Siemens, Germany)

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Sisplatin (CİSPLATİN DBL®, Hospira Australia Pty Ltd, Victoria, Avustralya)

N-asetilsistein (ASİST®, Hüsnu Arsan İlaçları AŞ, İstanbul, Türkiye)

C vitamini (REDOXON®, Bayer Türk Kimya San Ltd Şti, İstanbul, Türkiye)

Ketaminhidroklorür (Ketalar- Parke Davis / Eczacıbaşı)

KH₂PO₄ (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Na₂HPO₄ (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

KCl (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA)

EDTA (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Fosforik asit (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA)

n-butanol (Sigma Aldrich Laborchemikalien GmBH)

Triklorasetik asit (RdH Laborchemikalien GmBH&Ko)

1. 1. 3. 3. tetraetoksipropan (Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Germany)

^{99m}Tc- MAG3 (Techne scan MAG3®, Mallinckrodt, Nepha tıbbi cihazlar San Ltd Şti, Türkiye)

3.2. Kullanılan Yöntemler

3.2.1. Grupların hazırlanması

Deney hayvanları rastgele olarak her grupta 8 denek bulunan 4 gruba ayrıldı. Tüm denekler tartıldı, gruplara ilaç uygulamaları başlatılmadan önce anestezi altında tüm deneklerin renal sintigrafi ile bazal böbrek fonksiyonları değerlendirildi. Çalışmada kullanılan gruplar şunlardır:

Grup 1 (Kontrol grubu): Bu gruptaki deneklere bir hafta boyunca serum fizyolojik verildi, deneylerin bitiminde renal sintigrafileri çekildi. Ketamin anestezisi altında intrakardiyak kan örnekleri ve sakrifiye edildikten sonra böbrek doku örnekleri alındı.

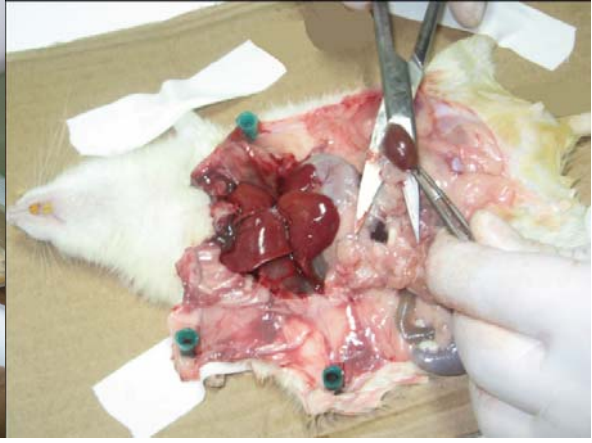
Grup 2 (Nefrotoksisite grubu): Bu gruptaki deneklere deneyin beşinci gününde intraperitoneal (IP) sisplatin 12 mg/kg dozda nefrotoksisiteyi indüklemek için verildi (129,130). Deneyin diğer günlerinde IP serum fizyolojik verildi. Sisplatin uygulanmasından 72 saat sonra ketamin anestezisi altında ikinci renal görüntüleri çekildi, intrakardiyak kan ve sakrifiye edildikten sonra da böbrek doku örnekleri alındı.

Grup 3 (Sisplatin + NAS grubu): Bu gruptaki deneklere bir hafta boyunca IP N-asetilsistein 500 mg/kg dozda verildi (7). Deneyin beşinci gününde IP sisplatin 12 mg/kg dozda nefrotoksisiteyi indüklemek için verildi. Sisplatin uygulanmasından 72 saat sonra ketamin anestezisi altında ikinci renal görüntüleri çekildi, intrakardiyak kan ve sakrifiye edildikten sonra da böbrek doku örnekleri alındı.

Grup 4 (Sisplatin + NAS + C vitamini grubu): Bu gruptaki deneklere bir hafta boyunca IP 500 mg/kg NAS ve IP C vitamini 250 mg/kg dozda verildi (120). Deneyin beşinci gününde IP sisplatin 12 mg/kg dozda nefrotoksisiteyi indüklemek için verildi. Sisplatin uygulanmasından 72 saat sonra ketamin anestezisi altında ikinci renal görüntüleri çekildi, intrakardiyak kan alındı ve sakrifiye edildikten sonra da böbrek doku örnekleri alındı.

3.2.2. Örneklerin alınması

Deney sonunda ketamin 50 mg/kg dozunda IP yolla sıçanlara uygulandı. Anestezik madde uygulanması işlemi ve renal görüntüleme işleminin ardından biyokimyasal değerlendirmeler için intrakardiyak kan örnekleri kuru tüpe alındı. Sıçanlar dekapite edildi ve her iki böbrekleri alındı. Böbrekler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurutulup tartıldı. Sol böbrekler histopatolojik inceleme için %10'luk formalin tampon çözeltisinde sabitlenerek, sağ böbrekler de biyokimyasal değerlendirmeler için -80 °C'deki derin dondurucuda saklandı.



Şekil 15. İntrakardiyak kan örneği alınması.

Şekil 16. Böbreklerin çıkarılması.

3.2.3. Biyokimyasal analiz

Deneklerden elde edilen serum örneklerinde üre, kreatinin, sodyum, potasyum, klor seviyeleri ve MDA, Total Antioksidan Kapasite (TAK) konsantrasyonları ölçüldü. Böbrek doku örneklerinden hazırlanan homojenatlarda ise MDA ve TAK düzeyleri çalışıldı.

- 1. Serum üre, kreatinin seviyelerinin ölçümü:** Serumda üre, kreatinin, sodyum, potasyum, klor, magnezyum düzeyleri ticari kitler kullanılarak Architect C8000 (Abbott Diagnostic, Japan) klinik biyokimya cihazında spektrofotometrik olarak ölçüldü.
- 2. Böbrek dokusu ve serum MDA düzeyi ölçümü:** Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyi, deneklerin serum ve doku örneklerinde 1.1.3.3-tetraethoksiopropanın standart olarak kullanıldığı tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçüldü. Yöntemin ana prensibi, MDA'nın TBA ile reaksiyona girerek 520 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturması esasına dayanır.

Serumda MDA düzeyi Yoshioka ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem ile manuel olarak çalışıldı (131).

Reaktifler:

- 1. 1. 3. 3. tetraetoksiopropan

- Triklorasetikasit: %20

- TBA: %0,06

- n-butanol

Deneyin yapılışı:

- 0,5 mL serum 2,5 mL triklorasetikasit ve 1 mL TBA solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra 30 dk kaynar su banyosunda bekletildi.

- Tüpler hızla soğutulduktan sonra 4 mL n-butanol eklendi ve organik faz 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek ayrıştırıldı.

- Süpernatanın absorbans değeri spektrofotometrede distile su körüne karşı 532 nm dalga boyunda belirlendi.

Doku MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama tarafından geliştirilen metod ile ölçüldü (132).

Reaktifler:

- 1. 1. 3. 3. tetraetoksipropan

- KCl: % 1,15

- TBA: % 0,06

- Fosforik asit: % 1

- n-butanol

Deneyin yapılışı

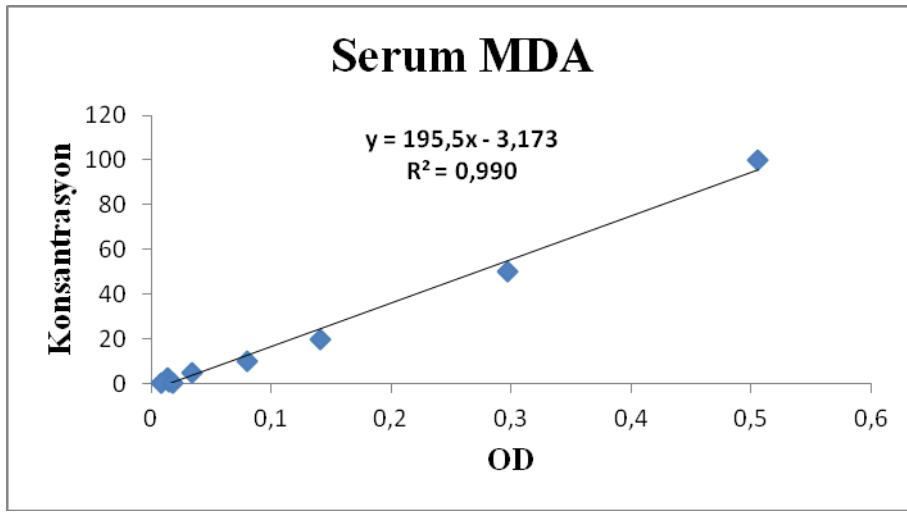
- Elde edilen böbrek doku örneklerinin bir bölümü tartılıp 1:9 (a/h) oranında %1,15 KCl içeren 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,4) içinde homojenize edildi.

- 0,5 mL homojenat 3 mL fosforik asit ve 1 mL TBA solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra 45 dk kaynayan su banyosunda bekletildi.

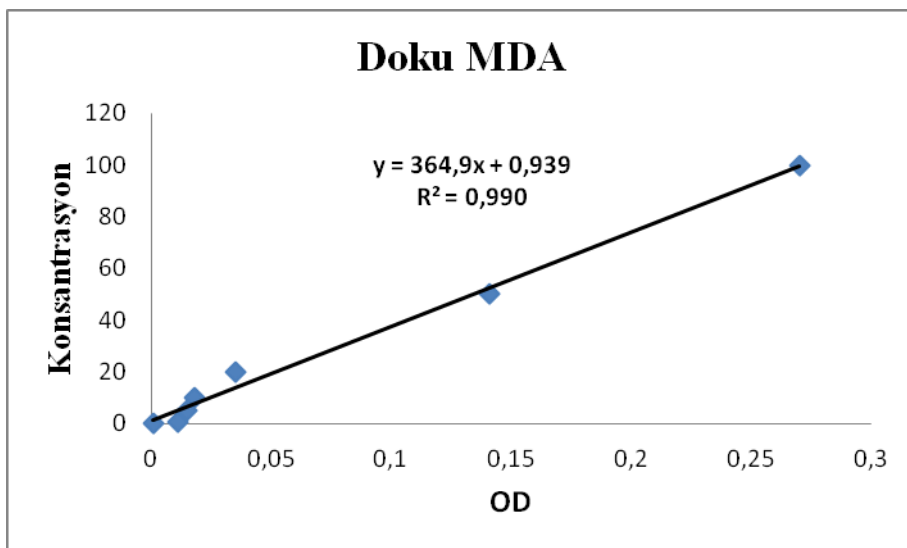
- Tüpler hızla soğutulduktan sonra 4 mL n-butanol eklendi ve organik faz 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek ayrıştırıldı.

- Süpernatanın absorbansı distile su körüne karşı, spektrofotometrede 520 nm dalga boyunda belirlendi.

Standart olarak 1. 1. 3. 3. tetraetoksipropan kullanılarak, 0,5, 1, 10, 20, 50, 100 nmol/mL konsantrasyonlarında hazırlanan standart serilerin absorbanslarından serum (Şekil 17) ve doku (Şekil 18) örnekleri için standart eğriler çizilerek MDA düzeyi hesaplandı. Sonuçlar dokuda nmol/mg protein, serumda ise nmol/mL olarak gösterildi.



Şekil 17. Serum MDA standart eğrisi.



Şekil 18. Doku MDA standart eğrisi.

3. Böbrek dokusu ve serumda total antioksidan kapasite ölçümü: TAK, Rel Assay kitleri kullanılarak (Rel Assay Diagnostics, Mega Tıp San ve Tic Ltd Şti, Türkiye). Erel ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem ile ölçüldü (133).

Yöntemin prensibi, örnekte bulunan antioksidanların mavi-yeşil renkli 2, 2'-azino-bis [3- etilbenz-tiazolin-6-sulfonik] asit (ABTS) radikalini renksiz ABTS formuna çevirmesi esasına dayanmaktadır. Spektrofotometrede 660 nm dalga boyundaki absorbans değişimi total antioksidan düzeyi ile ilgilidir. Standart olarak, trolox equivalent ismi ile bilinen, E vitamini analogu olan stabil antioksidan standart solüsyonu kullanıldı ve sonuçlar serumda mmolTroloxEquiv/L, dokuda mmolTroloxEquiv./mg protein olarak gösterildi.

Reaktifler:

- Reaktif 1: 0,4 mol/L asetat tampon solüsyonu, pH 5,8
- Reaktif 2: 30 mmol/L asetat tampon solüsyonu, pH 3,6 (10 mmol/L ABTS içerir)
- Standart 1: 0,0 mmolTrolox Equiv./L TAK
- Standart 2: 1,5 mmolTrolox Equiv./L TAK

Deneyin yapılışı:

- Böbrek doku örneklerinden 50mM soğuk potasyum fosfat tamponu içinde (1:9, a/h) hazırlanan homojenatın santrifüj edilmesi ile elde edilen süpernatantlar kullanıldı.
- 50µL örnek 800µL reaktif 1 ile karıştırıldı.
- 660 nm dalga boyunda spektrofotometrede ilk absorbanslar okundu.
- 125 µL reaktif 2 eklendi.
- 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar okundu.

Hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı:

$$\text{TAS} = (\Delta\text{Abs standart 1} - \Delta\text{Abs örnek}) / (\Delta\text{Abs standart 1} - \Delta\text{Abs standart 2}) \times \text{standart 2 değeri}$$

Δ Abs standart 1= İkinci Abs standart 1 – birinci Abs standart 1

Δ Abs standart 2= İkinci Abs standart 2 – birinci Abs standart 2

Δ Abs örnek= İkinci Abs örnek – birinci Abs örnek



Şekil 19. Böbrek dokusu homojenizasyonu.

Şekil 20. Homojenatlara reaktiflerin eklenmesi.

3.2.4. Histopatolojik inceleme

1 hafta boyunca, %10'luk formalin çözeltisi ile tespit edilen böbrek örneklerinin tümü, rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan mikrotomla her böbrek örneği için seri kesitler hazırlandı. Daha sonra kesitler, ışık mikroskopunda incelenebilmesi için hemotoksilen eozin (H&E) boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopu (Olimpus BX-40 model) ile deney grupları hakkında bilgisi olmayan bir patolog tarafından değerlendirildi.

Tüm çalışma gruplarına ait böbrek doku kesitlerinin ışık mikroskopunda histopatolojik incelemesinde tübüler nekroz, tübüler dilatasyon, tübüler vakuolizasyon, inflamasyon varlığı ve yaygınlığı değişken olarak alındı. Skorumla 3 puan üzerinden yapıldı: 0; İzlenmedi; dokunun %5'inden daha az izlendi, 1; hafif derecede izlendi; dokunun %5-25'inde izlendi. 2; orta derecede izlendi. dokunun %50-75'inde izlendi. 3; şiddetli derecede izlendi; dokunun

%75- 100'ünde izlendi şeklinde değerlendirildi. Skorlar her hayvandan toplanan preparatlar için semi-kantitatif olarak şu şekilde belirtildi: İzlenmedi; -, hafif derece izlendi; +, orta derecede izlendi; ++, şiddetli derecede izlendi;+++.

3.2.5. Renal sintigrafi çekimi

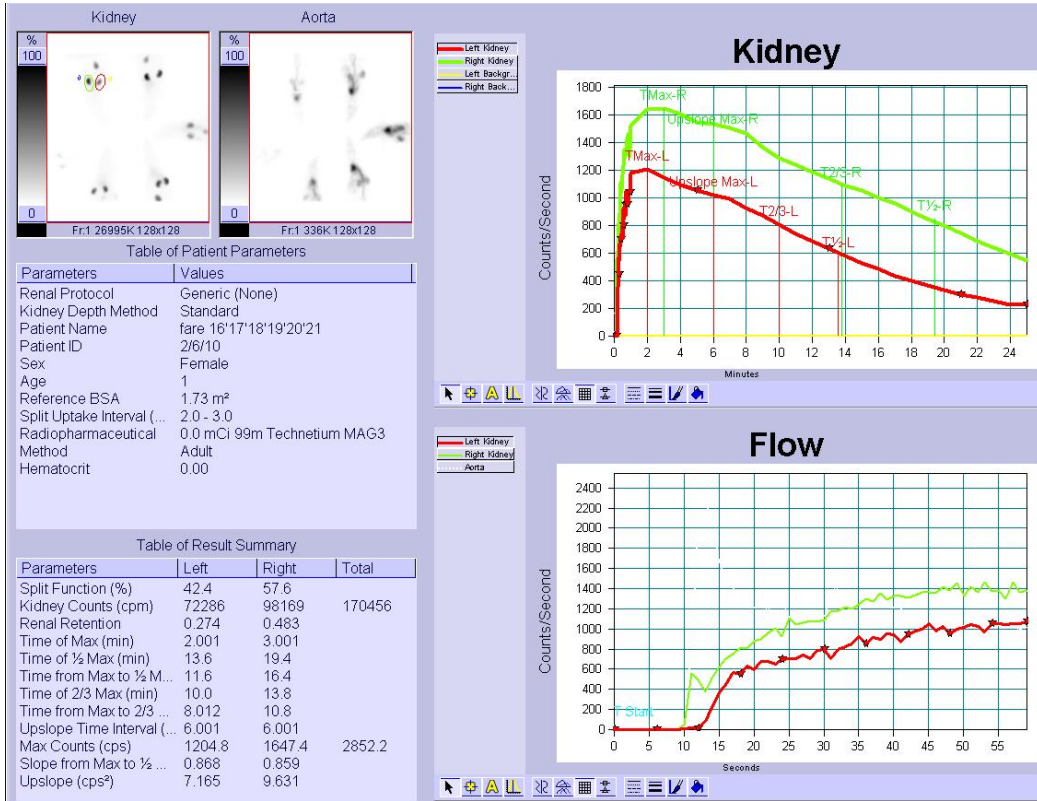
Sıçanların tüm vücudu Siemens E.CAM gamma kamera (düşük enerjili genel amaçlı kollimatör) kullanılarak görüntüledi. Sıçanlar supin pozisyonda yatırılmış ve kamera posterior pozisyonda iken, 44,4 MBq (1,5 mCi) ^{99m}Tc- MAG3 (Mallinckrodt'tan temin edilen) intravenöz bolus enjeksiyon tarzında verildi. Dinamik görüntüler ilk 2 dakika boyunca 1'er sn, sonrasında da 25 dakikaya tamamlayacak şekilde 1'er dakika olarak alındı. Görüntüler 64X64 matrikste elde edildi. Kalp ve her iki böbrek için ROI çizildi (Şekil 21). Radyoaktivite-zaman eğrileri ROI'den faydalanılarak çıkarıldı (Şekil 23). Bazal ve toksik Tmax değerleri arasındaki fark hesaplandı. Her dakika için böbrek radyoaktivite tutulumu, maksimum tutulum referans noktası kabul edilerek hesaplandı. Ortalama yüzde aktivite-zaman eğrileri standart hatalarla Microsoft windows excel programı kullanılarak çizildi. Bütün gruplar bazalleriyle ortalama yüzde aktivite-zaman eğrisi kullanılarak karşılaştırıldı. Otuzuncu dakikada böbreklerde kalan rezidü radyofarmasötik yüzdesi hesaplandı. Enjeksiyonun bolus olarak iyi verilip verilmediğini değerlendirmek için kalbin radyoaktivite-zaman eğrisi kullanıldı. Görsel olarak ta böbreklerin perfüzyonu, konsantrasyon ve ekskresyon fonksiyonları değerlendirildi.



Şekil 21. Böbrek ilgi alanlarının (ROI) çizilmesi.



Şekil 22. Renal sintigrafi çekimi.



Şekil 23. Böbreklerin bazal ölçüm değerlerini gösteren bir radyoaktivite-zaman eğrisi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS v11.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) bilgisayar programı ile analiz edildi. Gruplar arasında sayısal verilerin dağılımı Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılan sayısal veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak; normal dağılmayanlar ortanca (minimum - maksimum) olarak; kategorik veriler ise sıklık şeklinde ifade edildi. Normal dağılan verilerin ortalamalarının gruplar arasında fark gösterip göstermediği One Way ANOVA testi ile değerlendirildi. Anlamlı farkı oluşturan gurubu bulmak için yapılan çoklu karşılaştırma analizinde scheffe testi kullanıldı. Normal dağılmayan verilerin ortanca değerleri gruplar arasında karşılaştırılırken ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Hangi grup veya grupların anlamlı farkı oluşturduğunu bulmak için ise Bonferroni düzeltilmeli Man Whitney U testi kullanıldı. Öncesi sonrası şeklinde tasarlanan ölçüm sonuçları, farkların dağılımı normal olmadığı için, wilcoxon testi ile değerlendirildi. Kategorik veriler gruplar arasında Ki kare testi ile karşılaştırıldı. P değeri $<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Sintigrafik Bulgular

4.1.1. ^{99m}Tc- MAG3'ün rezidü değerleri

Sisplatin toksisitesi öncesi ve sonrası ^{99m}Tc- MAG3'ün böbreklerde kalan rezidü yüzde miktarları tablo 1'de ve şekil 24 ve 25'te gösterildiği gibi elde edilmiştir. Sisplatin uygulanan sıçanların sağ böbrekler için uygulama öncesi ortalama bazal rezidü değeri %21,7; minimum değeri %15,6; maksimum değeri %45,31 olarak izlendi. Sisplatin uygulama sonrası ortalama rezidü değeri %97,9; minimum değeri %81,64; maksimum değeri %100 olarak bulundu. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,028). Sisplatin uygulanan sıçanların sol böbrekler için uygulama öncesi ortalama bazal rezidü değeri %20,29; minimum değeri %15,73; maksimum değeri %41,31 olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası ortalama rezidü değeri %95,26; minimum değeri %87,78; maksimum değeri %99,66 olarak izlendi. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,028).

Sisplatin + NAS grubunda sıçanların sağ böbrekler için ortalama bazal rezidü değeri %21,3; minimum değeri %6,7; maksimum değeri %36,1 olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası ortalama rezidü değeri %90,42; minimum değeri %15,62; maksimum değeri %99,34 olarak bulundu. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,046). Sisplatin + NAS grubunda sıçanların sol böbrekler için ortalama bazal rezidü değeri %19,71; minimum değeri %10,28; maksimum değeri %31,22 olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası sol böbrekler için ortalama rezidü değeri %85,22; minimum değeri %13; maksimum değeri %99,80 olarak gözlemlendi. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,046).

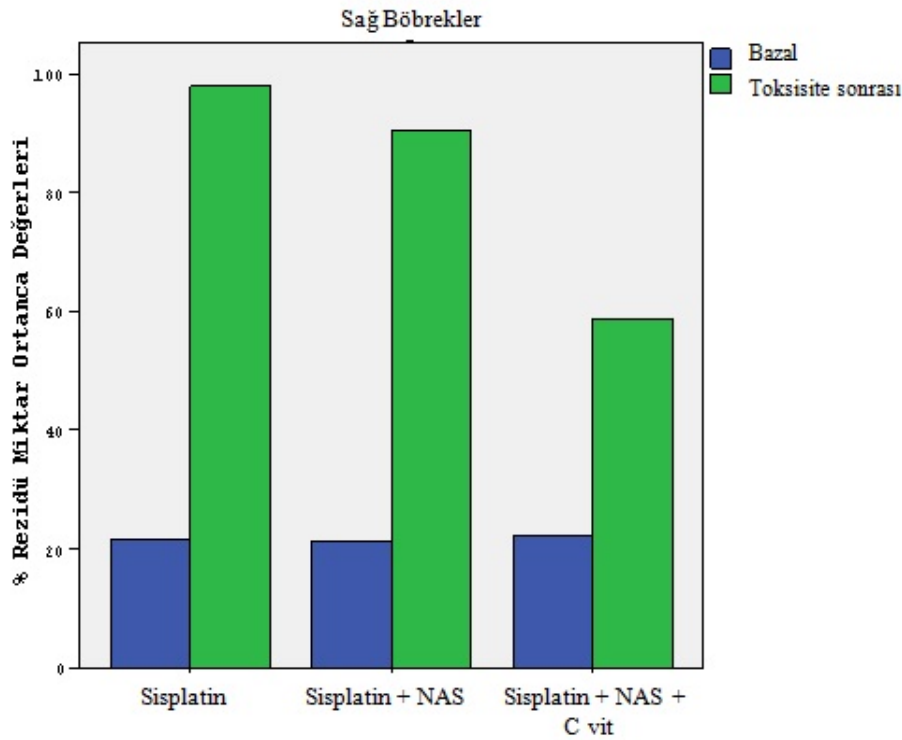
Sisplatin + NAS + C vitamini grubunda sıçanların sağ böbrek ortalama bazal rezidü değeri %22,2; minimum değeri %11,8; maksimum değeri %41,3 olarak tespit edildi. Sisplatin uygulama sonrası ortalama rezidü değeri %58,79; minimum değeri %38; maksimum değeri %99,33 olarak bulundu. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,028). Sisplatin+ NAS+ C vitamini grubunda sıçanların sol böbrekler için ortalama bazal rezidü değeri %24,26; minimum değeri %17,87; maksimum değeri %43,74 olarak tespit edildi. Sisplatin uygulama sonrası ortalama rezidü değeri %62,35; minimum değeri %46,04; maksimum

değeri %98,38 olarak izendi. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,028).

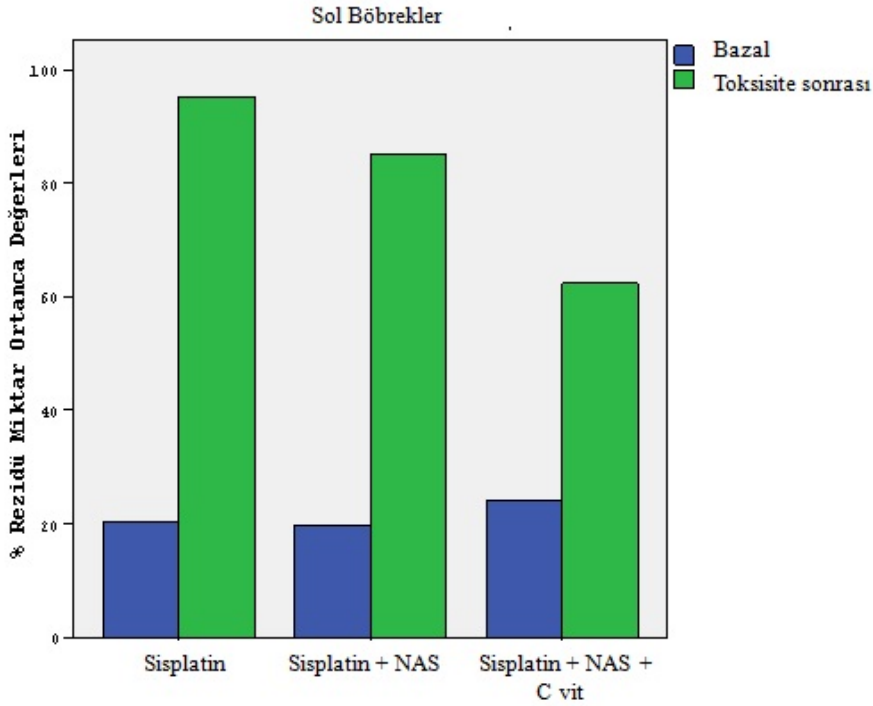
Tablo 1. Toksikite öncesi bazal rezidü değerleri ile toksisite sonrası rezidü değerlerinin karşılaştırması.

	Bazal (%)	Toksik (%)	p*
Sisplatin sağ böbrek	21,7 (15,6-45,31)	97,9 (81,64-100)	0,028
Sisplatin sol böbrek	20,29 (15,73-41,31)	95,26 (87,78-99,66)	0,028
Sisplatin+ NAS sağ böbrek	21,3 (6,7-36,1)	90,42 (15,62-99,34)	0,046
Sisplatin+ NAS sol böbrek	19,71 (10,28-31,22)	85,22 (13-99,80)	0,046
Sisplatin+ NAS + C vit sağ böbrek	22,2 (11,8-41,3)	58,79 (38-99,33)	0,028
Sisplatin+ NAS + C vit sol böbrek	24,26 (17,87-43,74)	62,35(46,04-98,38)	0,028

*p değeri non parametrik Wilcoxon testi ile hesaplanmıştır.



Şekil 24. Sağ böbreklerin %Rezidü miktar ortanca değerleri.



Şekil 25. Sol böbreklerin %Rezidü miktar ortanca değerleri.

4.1.2. ^{99m}Tc - MAG3'ün T_{max} değerleri

Sisplatin toksisitesi öncesi ve sonrası ^{99m}Tc - MAG3'ün böbreklerde maksimuma ulaşma zamanı T_{max} tablo 2'de ve Şekil 26 ve 27'de gösterilmiştir. Sisplatin toksisitesi öncesi sağ böbrekler için T_{max} ortanca değeri 3 dk; minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 4 dk olarak görüldü. Sisplatin toksisitesi sonrası T_{max} ortanca değeri 23 dk, minimum değeri 14dk, maksimum değeri 30 dk olarak bulundu. Bazal ve toksik değeri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,027$). Sisplatin toksisitesi öncesi sol böbrekler için T_{max} ortanca değeri 3 dk, minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 4 dk olarak görüldü. Sisplatin toksisitesi sonrası T_{max} ortanca değeri 28 dk, minimum değeri 20 dk, maksimum değeri 30 dk olarak izlendi. Bazal ve toksik değeri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,027$).

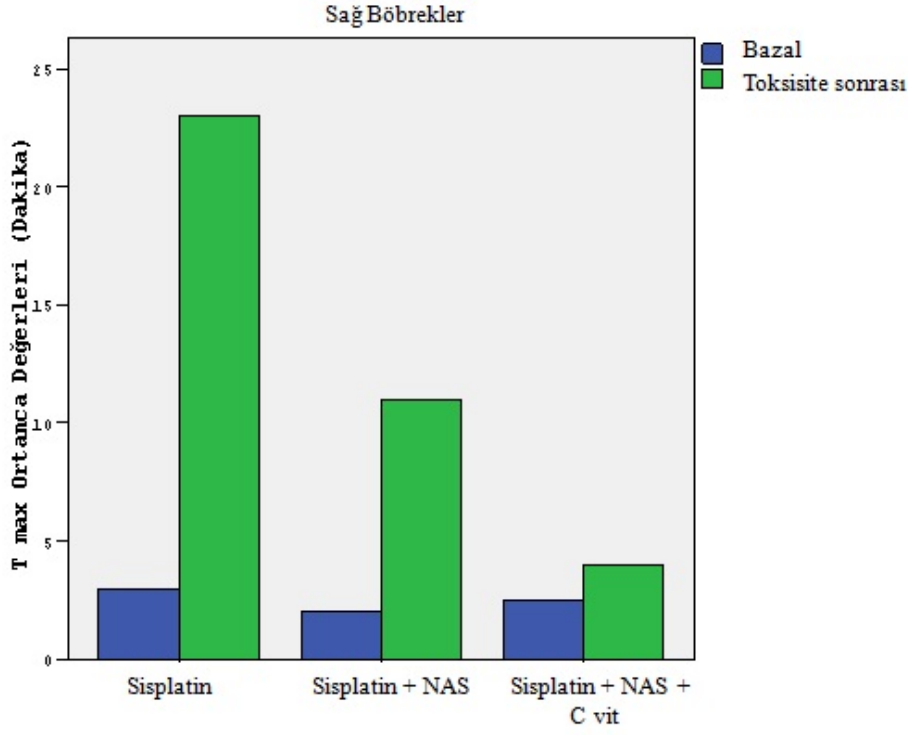
Sisplatin + NAS grubunda sıçanların sağ böbrekler için ortanca bazal T_{max} değeri 2 dk; minimum değeri 1 dk; maksimum değeri 4 dk olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası ortanca T_{max} değeri 11 dk, minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 29 dk olarak görüldü. Bazal ve toksite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,042$). Sisplatin + NAS grubunda

sıçanların sol böbrekler için ortanca T_{max} değeri 2 dk, minimum değeri 1 dk, maksimum değeri 4 dk idi. Sisplatin uygulama sonrası sol böbrekler için ortanca rezidü değeri 17,5 dk; minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 30 dk olarak izlendi. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,042$).

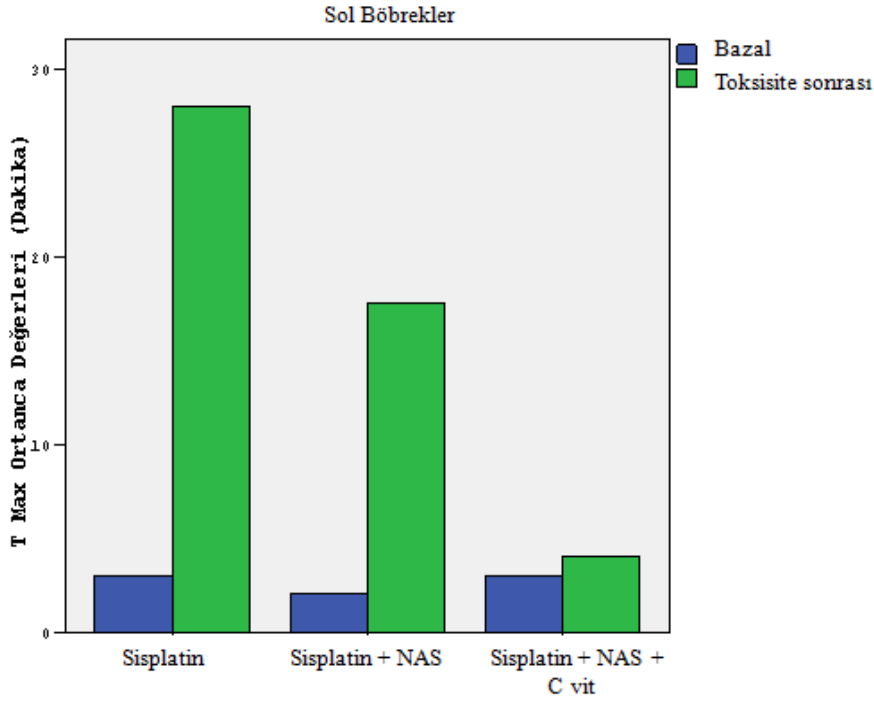
Sisplatin + NAS + C vitamini grubunda sıçanların sağ böbrek ortanca bazal T_{max} değeri 2,5 dk; minimum değeri 0,133 dk; maksimum değeri 4 dk olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası ortanca T_{max} değeri 4 dk, minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 29 dk olarak bulundu. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0,068$). Sisplatin + NAS + C vitamini grubunda sıçanların sol böbrekler için ortanca bazal T_{max} değeri 3 dk, minimum değeri 2 dk, maksimum değeri 4 dk olarak bulundu. Sisplatin uygulama sonrası ortanca T_{max} değeri 4 dk, minimum değeri 3 dk, maksimum değeri 29 dk olarak tespit edildi. Bazal ve toksisite değeri arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0,084$).

Tablo 2. Toksikite öncesi ve sonrası T_{max} değerlerinin karşılaştırılması.

	Bazal (dk)	Toksik (dk)	p değeri
Sisplatin sağ böbrek	3 (2-4)	23 (14-30)	0,027
Sisplatin sol böbrek	3 (2-4)	28 (20-30)	0,028
Sisplatin+ NAS sağ böbrek	2 (0,97-4)	11 (2-29)	0,042
Sisplatin+ NAS sol böbrek	2 (1-4)	17,5 (2-30)	0,042
Sisplatin+ NAS + C vit sağ böbrek	2,5 (0,133-4)	4 (2-29)	0,068
Sisplatin+ NAS + C vit sol böbrek	3 (2-4)	4 (3-29)	0,084



Şekil 26. Toksikite öncesi ve sonrası sağ böbreklerin T_{max} değerlerinin dağılımı.



Şekil 27. Toksikite öncesi ve sonrası sol böbreklerin T_{max} değerlerinin gruplara göre dağılımı.

4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1. Üre, kreatinin, BUN düzeyleri

Tablo 3'te görüldüğü gibi, kanda ölçülen üre düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol ve sisplatin grubu arasında ($p < 0,001$), kontrol ve Sisplatin + NAS grubu arasında ($p < 0,001$) fark vardı. Kontrol ve Sisplatin + NAS + C vitamini arasında fark bulunmadı ($p = 0,939$).

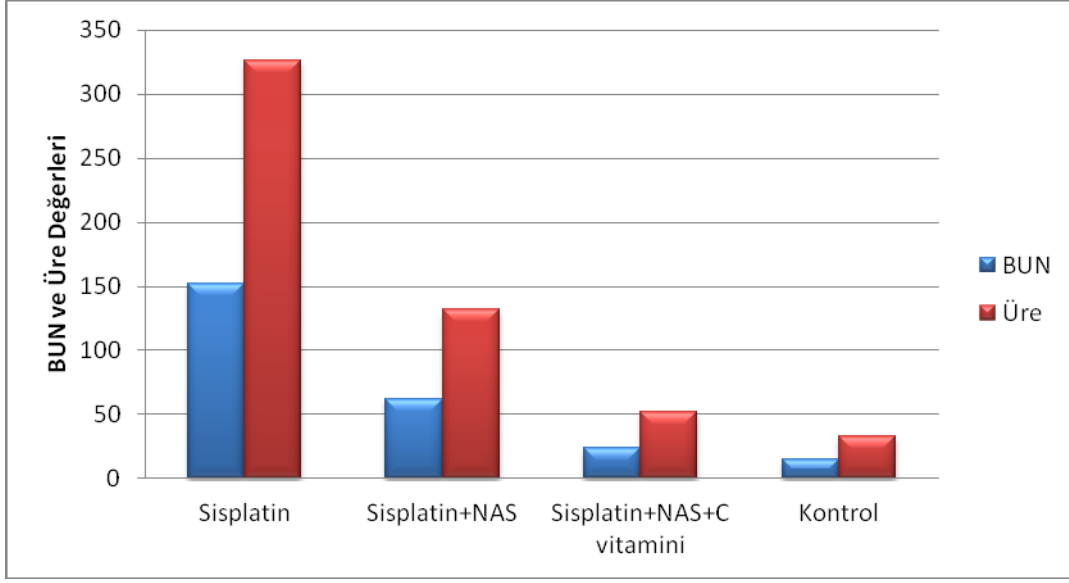
Kan kreatinin değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve sisplatin grubu arasında ($p < 0,001$), kontrol ve Sisplatin + NAS grubu arasında ($p < 0,001$) fark görüldü. Kontrol ve Sisplatin + NAS + C vitamini grubu arasında fark görülmedi ($p = 0,942$).

Kan BUN değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve sisplatin grubu arasında ($p < 0,001$) fark görüldü. Kontrol ve Sisplatin + NAS grubu arasında ($p = 0,064$), kontrol ve Sisplatin + NAS + C vitamini grupları arasında fark görülmedi ($p = 0,973$).

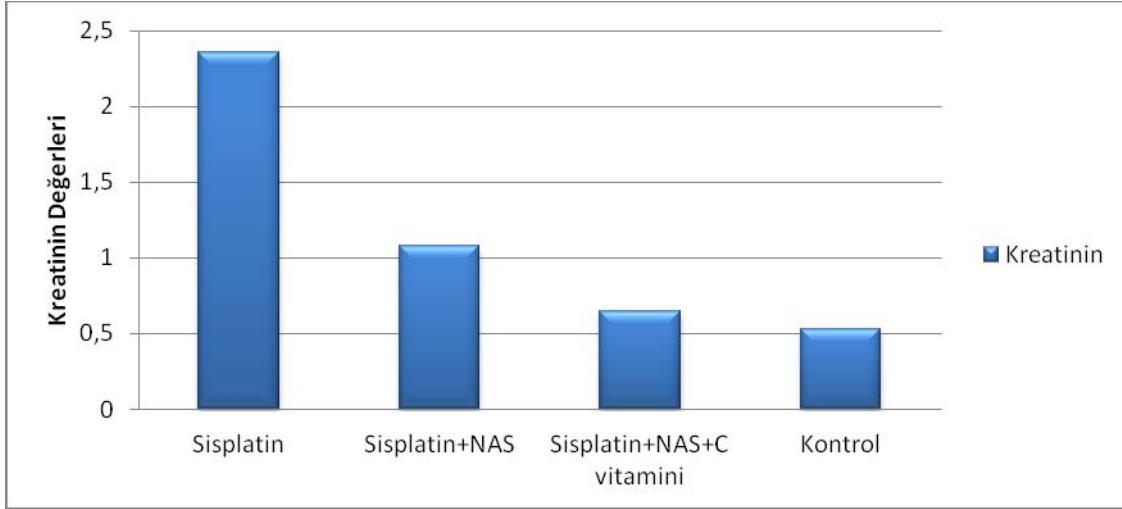
Tablo 3. Kanda ölçülen üre, kreatinin, BUN düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Parametreler	Sisplatin	Sisplatin + NAS	Sisplatin + NAS + C vitamini	Kontrol	p
Üre (n=8)	325,75 ± 46 ^a	131,88 ± 81 ^b	51,5 ± 9,7 ^c	32,75 ± 2,6	<0,001
Kreatinin (n=8)	2,36 ± 0,55 ^d	1,08 ± 0,56 ^e	0,65 ± 0,1 ^f	0,53 ± 0,04	<0,001
BUN (n=8)	152,13 ± 21 ^g	61,63 ± 38 ^h	24 ± 4,5 ⁱ	15,38 ± 1,3	<0,001

a, $p < 0,001$ (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); b, $p < 0,001$ (kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); c, $p = 0,893$ (kontrol ile karşılaştırıldığında fark yok); d, $p < 0,001$ (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); e, $p < 0,001$ (kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); f, $p = 0,942$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark yok); g, $p < 0,001$ (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); h, $p = 0,064$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark yok); i, $p = 0,973$ (kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark yok).



Şekil 28. Serumda ölçülen BUN ve üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



Şekil 29. Serumda ölçülen kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.

4.2.2. MDA düzeyleri

Tablo 4'te görüldüğü gibi, serum ve böbrek dokusunda ölçülen MDA düzeyleri, sisplatin grubunda kontrol grubuna göre belirgin bir artış göstermiş ($p < 0,001$), NAS tedavisi ile bu artışta bir miktar azalma gözlenmiş ($p < 0,001$), Sisplatin + NAS + C vitamini tedavi grubunda bu

azalma daha belirgin hale gelmiştir ($p < 0,001$). Sisplatin + NAS ve Sisplatin + NAS + C vit grupları arasında istatistiksel olarak fark bulundu ($p < 0,001$).

Tablo 4 . Böbrek dokusu ve serumda ölçülen MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması.

	Kontrol (n=8)	Sisplatin (n=8)	Sisplatin+NAS (n=8)	Sisplatin+ NAS + C vitamini (n=8)	p değeri
Serum MDA (nmol/ mL)	5,62±0,66	52,35 ^a ±6,07	25,27 ^{a,b} ±1,28	14,42 ^{a,b,c} ±1,94	< 0,001
Doku MDA (nmol/ mg protein)	1,85±0,36	19,73 ^d ±1,29	11,52 ^{d,e} ±0,89	5,87 ^{d,e,f} ±0,43	< 0,001

a, $p < 0,001$ (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); b, $p < 0,001$ (Sisplatin ile karşılaştırıldığında anlamlı); c, $p < 0,001$ (Sisplatin+NAS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı); d, $p < 0,001$ (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); e, $p < 0,001$ (Sisplatin ile karşılaştırıldığında anlamlı); f, $p < 0,001$ (Sisplatin+NAS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı).

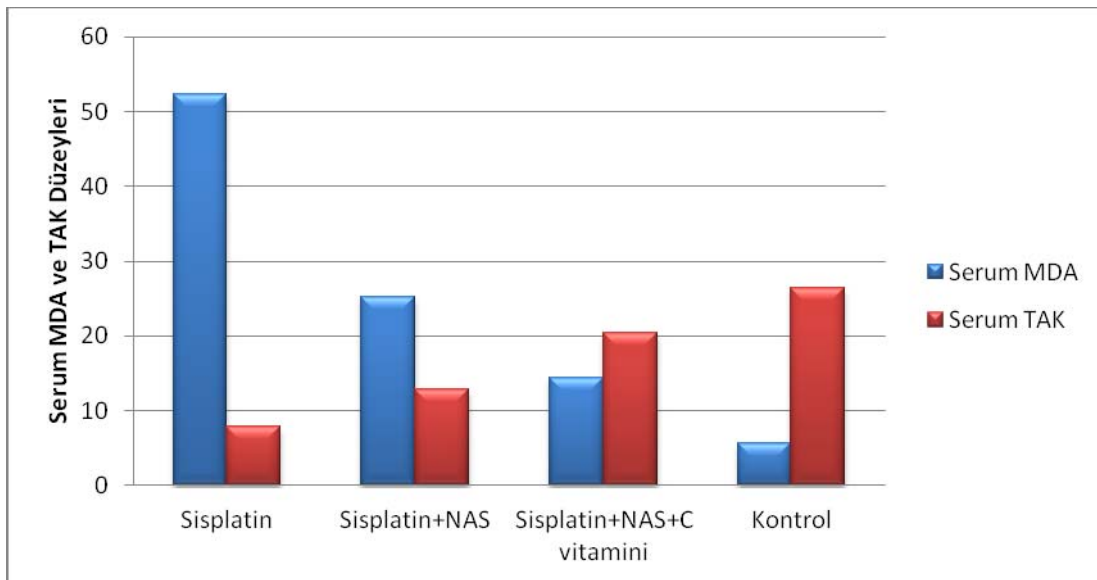
4.2.3. TAK düzeyleri

Tablo 5 ve Şekil 31’de görüldüğü gibi sıçanların böbrek dokusu ve serumunda ölçülen TAK düzeyleri sisplatin grubunda kontrol grubuna göre belirgin azalmıştır ($p < 0,001$). Sisplatin + NAS grubunda sisplatin grubuna göre artış izlenmiş ($p = 0,032$), Sisplatin+ NAS + C vitamini verilen grupta bu artış daha belirgin olduğu saptanmıştır ($p = 0,002$). TAK düzeyleri kontrol düzeylerine döndürülemedi.

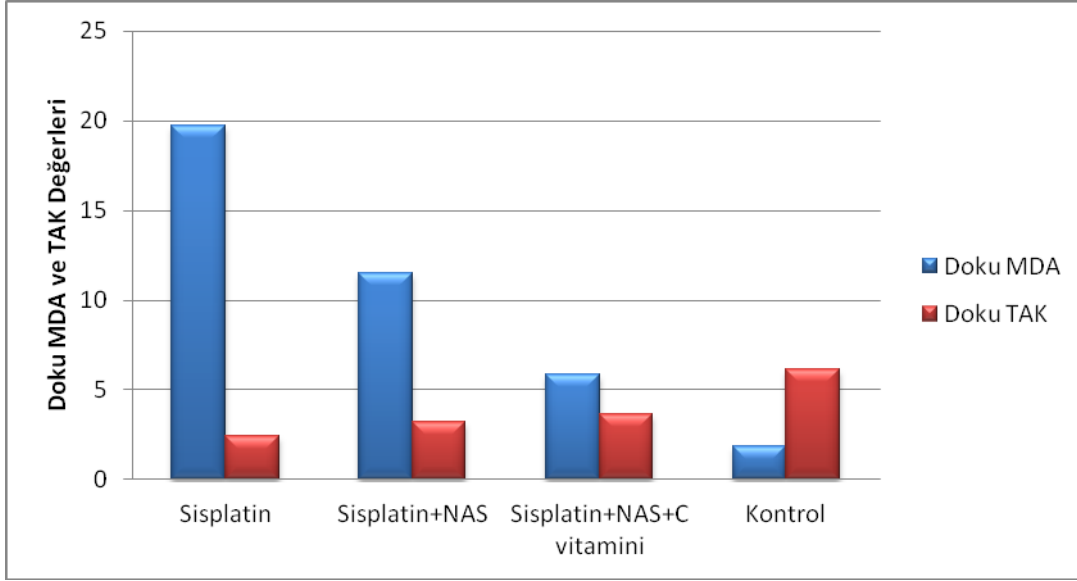
Tablo 5. Böbrek dokusu ve serumda ölçülen TAK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması.

	Kontrol (n=8)	Sisplatin (n=8)	Sisplatin+NAS (n=8)	Sisplatin+ NAS+ C vitamini(n=8)	p değeri
Serum TAK (mmolTroloxEquiv./L)	26,33±1,77	7,96 ^a ±1,66	12,88 ^{a,b} ±0,53	20,38 ^{a,b,c} ±1,59	< 0,001
Doku TAK (mmolTroloxEquiv./mg protein)	6,14±0,87	2,39 ^d ±0,85	3,18 ^{d,e} ±0,94	3,63 ^{d,f,g} ±0,63	< 0,001

a, p<0,001 (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); b, p<0,001 (Sisplatin ile karşılaştırıldığında anlamlı); c, p<0,001 (Sisplatin+NAS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı); d, p<0,001 (Kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı); e, p=0,032 (Sisplatin ile karşılaştırıldığında anlamlı); f, p=0,002 (Sisplatin ile karşılaştırıldığında anlamlı); g, p> 0,05(Sisplatin+NAS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yok).



Şekil 30. Serum MDA ve TAK Değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.



Şekil 31. Doku MDA ve TAK Değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

4.3. Patolojik Bulgular

Tüm çalışma gruplarına ait böbrek doku kesitlerinin ışık mikroskopunda histopatolojik incelemesinde tübüler nekroz, tübüler dilatasyon, tübüler vakuolizasyon, inflamasyon varlığı ve yaygınlığı değişken olarak alındı. Skorlar her hayvandan toplanan preparatlar için semi-kantitatif olarak şu şekilde belirtildi: İzlenmedi= -, hafif derecede izlendi= +, orta derecede izlendi= ++, yoğun derecede izlendi= +++. Skorum 3 puan üzerinden yapıldı: 0; izlenmedi; dokunun %5'inden daha az izlendi. 1; hafif derecede izlendi; dokunun %5-25'inde izlendi. 2; orta derecede izlendi; dokunun %50-75'inde izlendi. 3; şiddetli izlendi; dokunun %75-100'ünde izlendi şeklinde değerlendirildi (Tablo 6). İstatistiksel analiz sonuçları Man Whitney U testi ile değerlendirilerek; ortanca değer, minimum değer, maksimum değer olarak belirtildi (Tablo 7).

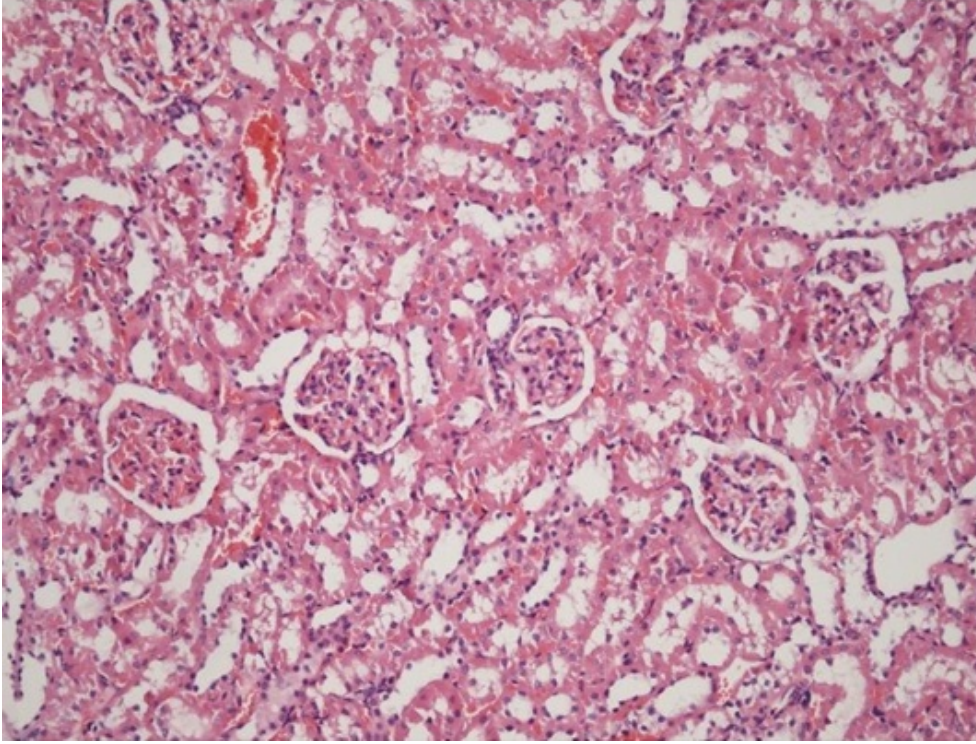
Tübüler nekroz değerlendirildiğinde; kontrol grubuna ait örneklerde tübül hücrelerinde hücre sınırları, çekirdek belirgin, tübül hücrelerinin normal histolojik yapıda olduğu izlendi, nekroz bulgularına rastlanılmadı (Şekil 32). Sisplatin grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında nekrozun ($p=0,001$) ve buna bağlı gelişen deskuamasyonun arttığı gözlemlendi (Şekil 33). Bonferoni düzeltilmeli Man Whitney U testi sonucu Sisplatin + NAS grubu, sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında tübüler nekroz açısından şiddetinin daha az ($p= 0,001$) olduğu

gözlendi (Şekil 34). Tübüler nekroz açısından Sisplatin + NAS + C vitamini grubu Sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında şiddetinin daha az olduğu ($p=0,005$) gözlenmiştir (Şekil 35). Sisplatin + NAS ve Sisplatin + NAS + C grubu arasında istatistiksel fark izlenmemiştir ($p=0,022$).

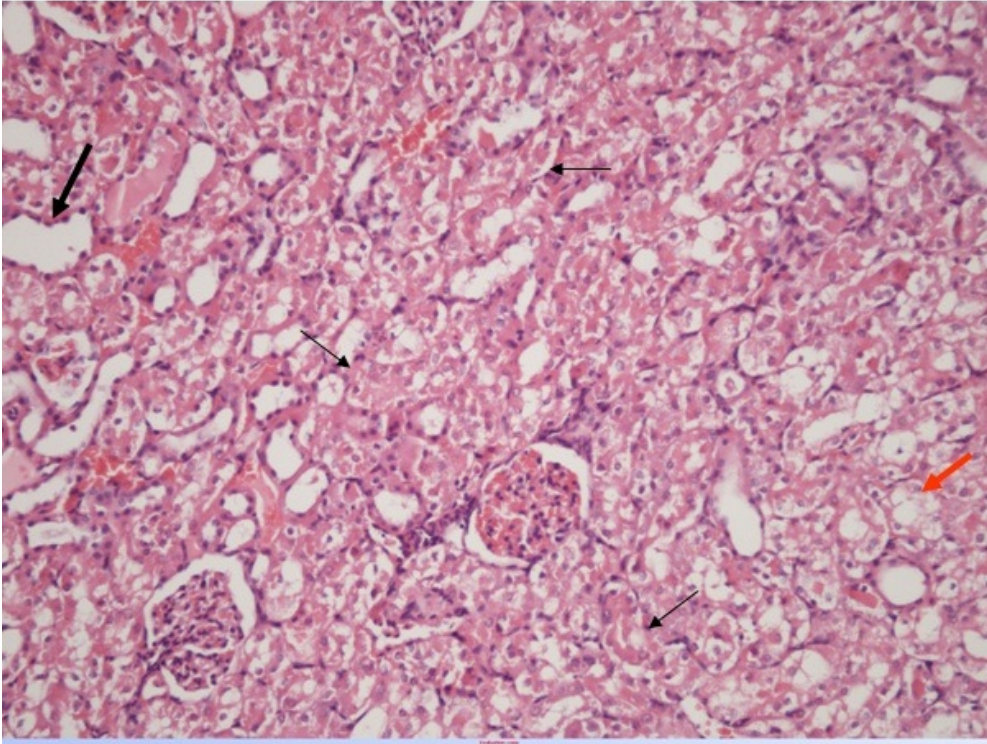
Tübüler vakuolizasyon, dilatasyon ve inflamasyon açısından Kruskal Wallis yöntemiyle analiz edildiğinde kontrol grubundan tüm gruplar farklıydı fakat gruplar arasında istatistiksel fark izlenmedi.

Tablo 6. Böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinden elde edilen verilerin ortanca değerleri, minimum ve maksimum değerleri

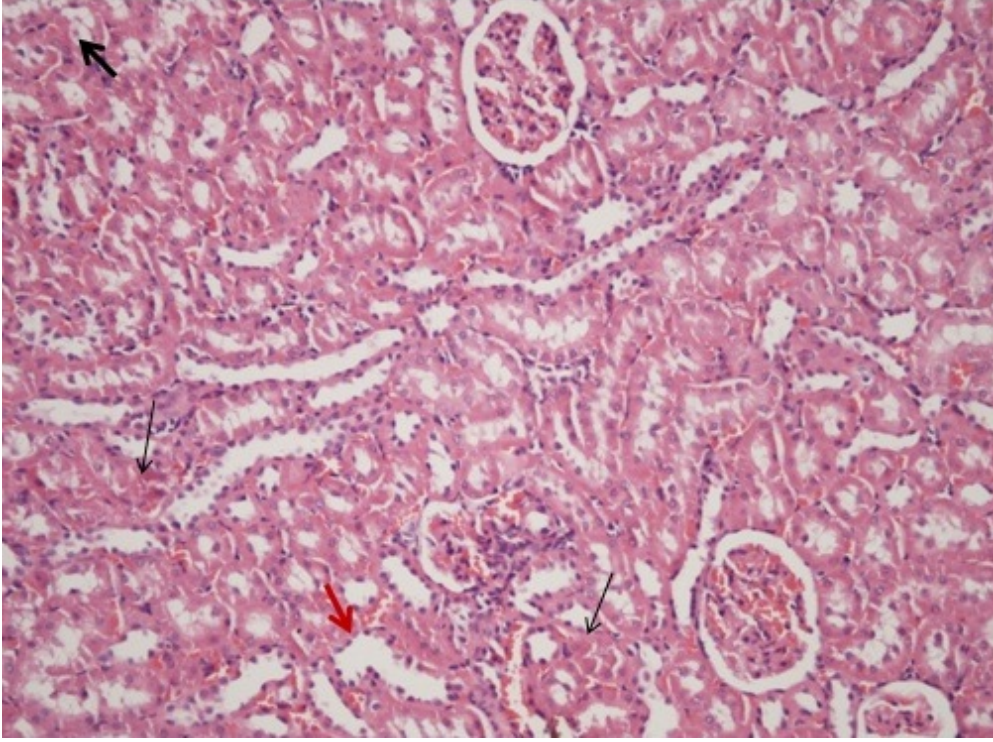
Parametreler		GRUPLAR			
		Sisplatin	Sisplatin+ NAS	Sisplatin+ NAS + C vit.	P değeri
Tübüler Nekroz	Derece	3(2-3)	2(1-2)	0,5(0-2)	=0,001
Tübüler vakuolizasyon		2(1-3)	2(1-3)	1(0-3)	=0,110
Tübüler Dilatasyon		2(1-3)	1(0-2)	1(0-2)	=0,306
İnflamasyon		0(0-1)	0(0-1)	0(0-1)	=0,008



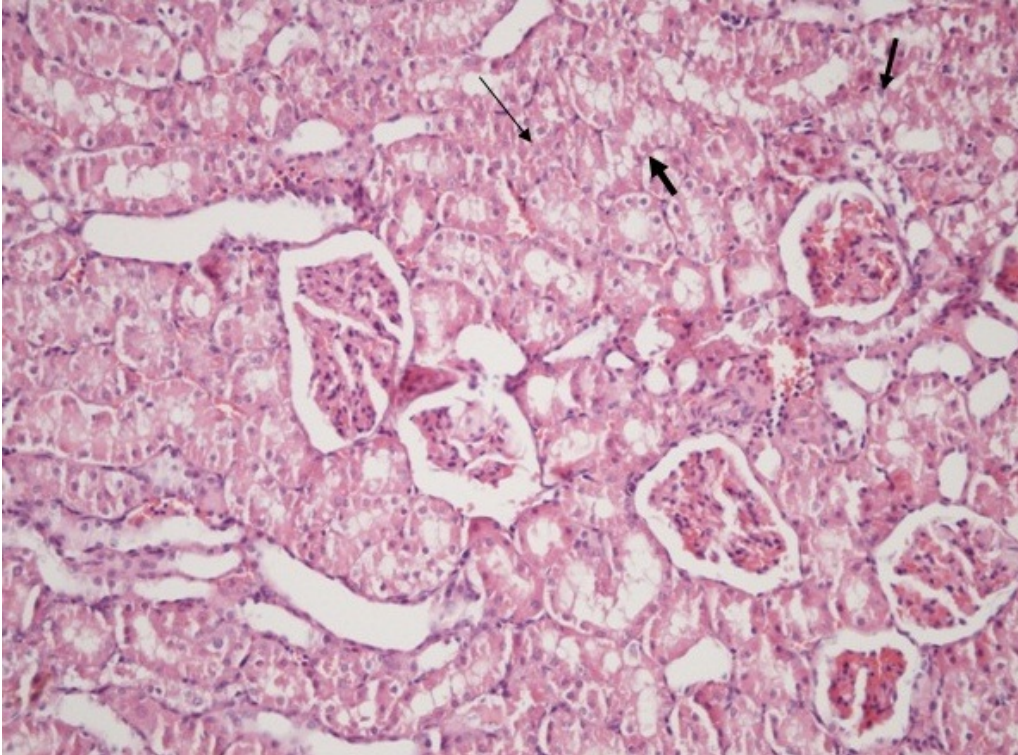
Şekil 32. Normal glomerüller ve tübüler yapılar gözlenmektedir (H&Ex200).



Şekil 33. Sisplatin verilen gruba ait kesitlerde yaygın şiddetli derecede tübüler nekroz (siyah, ince ok), tübüler vakuolizasyon (kırmızı ok) ve tübül epitelinde düzleşme ve tübüler dilatasyon izlendi (H&Ex200).



Şekil 34. Sisplatin + NAS grubu farelerin böbrek kortekslerinde ise az sayıda tubulde hafif derecede tubuler nekroz (ince ok) ve tubuler vakuolizasyon (kalın ok) ve dilatasyon (kırmızı ok)(H&Ex200).



Şekil 35. Sisplatin + NAS +Vit C verilen gruba ait böbrek kesitlerinde azalmış tubuler nekroz (ince ok), belirgin derecede ve yaygın tubuler vakuolizasyon görünümü (H&Ex200).

5. TARTIŞMA

Sisplatinin nefrotoksisite yaptığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda sisplatinin IP olarak farklı dozlarda (5-20mg/kg) uygulanmış olduğu görülmektedir (7,129,134,135,130,136–138). Bu farklı doz uygulamalarında sisplatinin nefrotoksitesine ait plazma üre ve kreatinin düzeyinde artma, üriner N-asetil-beta-D-glukozaminidaz aktivitesinde artma, plazma, böbrek, eritrosit ve karaciğerde MDA seviyelerinde artış, renal SOD, GPx katalaz, glutasyon düzeylerinde azalma tespit edilmiştir (7,129,134,135).

Yapılan çalışmalarda sisplatinin histopatolojik olarak değişik düzeylerde sebep olduğu değişikliklerde yazarlar tarafından kaydedilmiştir. Bu değişiklikler; diffüz akut tübüler nekroz (7), renal tübüllerde vakuolizasyon, nekroz, epitelyal deskuamasyon, protein artıkları (135), renal sınır epitelyal hücrelerinde ödem, interstisyel dokuda ödem (130), karyomegali, tübüler lümende hiyalin atıklar, tübüler epitelyum hücrelerinde deskuamasyon ve parankimal dejenerasyon (136), elektron mikroskopta glomerüler bazal membranda irregüler kalınlaşmalar, ayaksı çıkıntılarda füzyon gözlemlenmiştir.

TUNEL-pozitif hücre sayısında artış, kaspaz-3, 8, 9'un aktivitesinde özellikle proksimal tübüllerde artış (137), apoptozu gösteren TUNEL-pozitif hücre sayısında, kaspaz 3, 7 aktivitesinde ve DNA fragmantasyonunda artış, inflamasyonu gösteren TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyonunda artış saptanmış. Fagosit NADPH oksidaz mRNA'ları artmış, MDA seviyeleri artmış ve indüklenebilir NOS ekspresyonu artmış, nitrotirozin oluşumunda artış (138) olmak üzere çok farklı ve yoğun düzeyde değişiklikler içermektedir.

Bizde bu çalışmamızda 12mg/kg sisplatin dozunu literatürlerdeki doz aralığı ile uygunluk gösterdiğinden tercih ettik.

Sisplatinin nefrotoksik mekanizmalarında; serbest oksijen türlerinin hasarı, nekroz, apoptoz, inflamasyon, hipoksi ve mitokondriyal hasardan bahsedilmektedir. Bizim çalışmamızda oksidatif stresin belirteçlerinden biri olan ve lipid peroksidasyonundaki artışı gösteren MDA artışı reaktif oksijen türlerinin hasarını göstermektedir, TAK düzeylerindeki azalma da bunu desteklemektedir.

Çalışmamızda görülen tübüler nekroz, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon diğer çalışmalarla uyumlu olarak hücresel hasarı ve nekrozu göstermektedir. Çalışmamızdaki serum üre, kreatinin ve BUN'un artması biyokimyasal olarak böbrek hasarını kanıtlamaktadır.

Bizim deney hayvan gruplarında sisplatine bağlı oluşturduğumuz nefrotoksite sonucu oluşan değişiklikler diğer çalışmalarla elde edilen bulgular ile uyumluluk göstermektedir.

Diğer çalışmalarda inflamasyonun da hasarda rol oynadığı gösterilmiştir, bizim çalışmamızda histopatolojik incelemede hematoksilen-eozin ile boyamada mononükleer hücre infiltrasyonu bazı preparatlar dışında gözlenmemiştir ancak inflamasyonu tespit etmek amacıyla özel yöntemler kullanılmamıştır.

Literatür taramasında renal kan akımı üzerinde sisplatinin etkisini gösteren çok fazla sayıda yayın olmadığını gözlemledik. Bizde bu çalışmamızla sisplatinin renal fonksiyonlar üzerine olan etkisini ^{99m}Tc- MAG3 sintigrafi ile değerlendirdik. Sintigrafik bulgularımız böbreğin ekskresyon ve konsantrasyon fonksiyonlarının da bozulduğunu göstermiştir.

Sisplatin nefrotoksitesini önlemek veya düzeltmek amacıyla değişik maddeler ile yapılmış çalışmalar vardır. Bunlardan biri olan NAS'ın iyileştirici etkisi üzerine yapılmış çok sayıda çalışma bulunmamaktadır. Yapılan az sayıdaki in vitro hücre kültürü çalışmasında sisplatinin p38 MAPK'ı aktive ederek TNF- α içeriğini arttırdığı, NAS'ın ise TNF- α içeriğindeki bu artışı geri çevirerek reaktif oksijen türleriyle oluşan oksidatif hasarı engellediği bulunmuştur (139).

Başka bir çalışmada NAS'ın apoptozisi hem ölüm reseptörü yolağını hem de mitokondriyal yolağı bloke ederek engellediği, bu koruyucu etkinin p53 ekspresyonu bağımlı ve bağımsız yolaklar aracılığıyla olduğu bildirilmiştir (140).

Mishima ve arkadaşlarının çalışmasında sisplatin uygulamasından 15 dk önce 500 mg/kg dozunda NAS enjeksiyonunun, sisplatinin oluşturduğu BUN ve kreatinin seviyelerindeki artışı dramatik olarak azalttığı, histopatolojik olarak PAS ile boyalı preparatlarda sisplatin sonrası gözlenen; tübüler nekroz, vakuolizasyon ve epitelyel hücrelerin deskuamasyonu, tübüler lümende protein atıkları gibi değişiklikleri azalttığı, renal tübüllerde çok az histolojik hasar gözlendiği belirtilmiştir. NAS uygulaması ile sisplatin sonrası böbrek TNF- α artışının tamamen kaybolduğu belirtilmiştir (139).

Abdelrahman ve arkadaşları ise daha uzun süreli (9 gün) ve IP uygulama yöntemi ile verdikleri NAS uygulamasının renal kan akımındaki azalma ve vasküler rezistanstaki artışı düzelttiğini bulmuşlar. Bunla birlikte plazma üre, kreatinin ve kreatinin klerensi, üriner N-asetil-beta-D-glukozaminidaz düzeylerinde anlamlı olarak düzeldiği gözlenmiş. Histolojik olarak da birkaç odak alanda (toplam incelenen alanın yaklaşık %10'unda) şişme, vakuoler hücreler ve nadiren apoptotik hücreler gözlenmiş. Toplam incelenen alanın %90'ında apoptoz ve nekrozun yokluğu ile tam bir iyileşme gözlenmiştir (7).

Dickey ve arkadaşları ise tek doz (400 mg/kg) farklı uygulama yolları (oral, IP, intavenöz) ile verdikleri NAS'ın, intavenöz verilen grupta sisplatin grubuna göre BUN ve kreatinin değerlerindeki azalma anlamlı bulunurken, IP ve oral yol kullanılan gruplardaki azalma anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmada ayrıca düşük tek doz (50 mg/kg) intravenöz NAS uygulamasının da çoğunlukla etkili olmadığı görülmüştür (141).

Başka bir çalışmada ise NAS sisplatinden (tek doz intavenöz 5 mg/kg) iki gün önce 250 mg/kg IP uygulanmaya başlanmış, sisplatin uygulamasından 5 gün sonra deney sonuçları değerlendirilmiş; serum kreatinin seviyeleri sisplatin grubunda artış gösterirken, NAS grubunda anlamlı derecede azalma göstermiştir. Sisplatin enjeksiyonunun renal glutatyonun tükenmesini indüklemesi oksidatif stresin böbreklerde arttığını göstermiştir. NAS sadece bu azalmayı önlememiş, aynı zamanda glutatyon seviyelerini geriye çevirmiştir. Glutatyon kontrolden daha yüksek seviyelerde izlenmiştir. Histolojik olarak sisplatin sonrası tübüler epitelyal hücrelerde ayrışma ve lümende atıklar gözlenirken, NAS'ın tübüler hasarı azalttığı gözlenmiştir. Sisplatinin apoptoz göstergesi TUNEL-pozitif hücre sayısını artırırken, NAS'ın bunu azalttığı gözlenmiştir. Böbrek dış medullasının dış çizgisinde gözlenen ve yine oksidatif stresin bir göstergesi olan 8-OHdG-pozitif hücre sayısında sisplatin grubunda artış görülürken, NAS uygulanan grupta önemli derecede bir azalma gözlenmiştir (142).

Dickey ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise NAS'ın sisplatin uygulamasından önce verilmesinin (15 dk öncesi), sisplatin uygulanmasından sonra (4 saat sonrası) verilmesinden daha etkili olduğu ayrıca bulunmuştur. NAS gruplarında tübüler nekroza rastlanılmamış, tübül lümen epitelleri normal görülmüş ve lümende atık izlenmemiştir (143).

Deney hayvanlarında sisplatin nefrotoksisitesinde NAS'ın sisplatin öncesinde ve sonrasında tekrarlayan dozlarda uygulanmasının nefrotoksisiteyi ciddi bir şekilde iyileştirdiği

görülmektedir. Bu iyileşmede temel mekanizmalar; reaktif oksijen türevlerinin, hücrel nekrozun, apoptozisin ve inflamasyonun azaltılması ile renal kan akımının artırılması olarak tanımlanmıştır. Bizim çalışmamızda da NAS uygulanması ile MDA ve TAK düzeylerinde iyileşme görülmüştür, ancak bu iyileşme kontrol grubu seviyesine gelmemiştir. Biyokimyasal parametrelerdeki düzeltilmelerde NAS'ın iyileştirici etkisini ortaya koymuştur. Histopatolojik olarak nekrozda azalma görülmüş, ancak diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme görülmemiştir.

Sintigrafik olarak da böbreğin konsantre etme yeteneğindeki düzelme NAS'ın hücrel hasarı düzelttiği ancak kontrol seviyesine gelecek kadar bir düzelme sağlamadığını izlenmiştir. Sintigrafik bulgular sisplatin uygulanan guruba göre toksisite sonrası Tmax değerlerinin NAS gurubunda daha kısa olduğu dolayısıyla NAS'ın hücrel hasarı kısmen düzelttiği izlenmiştir. Ancak bazaldeki Tmax seviyesi yakalanamamıştır (Şekil 26, 27). Toksikite sonrası 30. dk kalan rezidü miktarın bazale göre oldukça yüksek olması ve sadece sisplatin uygulanan guruba göre anlamlı bir fark izlenmemesi proksimal tübülde ekskresyon fonksiyonlarının korunmasında NAS'ın çok etkili olmadığını göstermektedir. Bu durum sisplatin dozunun artırılması ile oluşan nefrotoksitesinin şiddetinin de artması ile ilişkilidir (136).

Sisplatin nefrotoksitesinde NAS'ın kullanıldığı diğer çalışmalarla bulgularımız karşılaştırıldığında çalışmamızda daha yüksek dozda sisplatin kullanılmıştır. Bulgularımızdaki NAS'ın iyileştirici etkisinin düşük olması sisplatinin yüksek dozda kullanılmasına bağlı olabilir. Bu durum NAS dozu da artırılarak yeni deneylerin yapılmasını gerektirebilir. Çalışmalar NAS'ın sisplatin toksitesi üzerine farklı doz ve uygulamalarda iyileştirmede pozitif etkisi olduğu görülmüştür. Bu nedenle en iyi klinik etkinliğin sisplatinden hem önce hem de sonra tekrarlayan kullanım ile elde edilebileceği beklenebilir.

NAS ile birlikte C vitamininin sisplatin nefrotoksitesinde kullanımına ilişkin yayın bulunmamaktadır. Sisplatin nefrotoksitesinde C vitamininin kullanımına ilişkin olarak oldukça sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır.

Antunes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada C vitamini sisplatin (5 mg/kg IP tek doz) uygulamasından 10 dk önce tek doz 50, 100, 200 mg/kg IP dozlarında uygulanmış, her üç C vitamini grubunda da sisplatinle azalan renal glutatyon seviyeleri artmış, azalan kreatinin

klerensi düzelmiş ve artan serum kreatinin seviyeleri önemli derecede azalmıştır. C vitamininin koruyucu etkisi doz bağımlı bir artış göstermiştir (144).

Durak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada vitamin C + vitamin E (200/100 mg/kg üç gün) profilaktik olarak verilmiş ve 24 saat sonraki MDA artışının ve antioksidan parametrelerin düzeldiği görülmüştür (TSSA, NSSA, SOD, GPx, katalaz). Çalışmanın diğer sonucunda ise 7 gün sonra sakrifiye edilen grupta farklı olarak böbrek enzimatik aktivitelerindeki düşüş daha fazla görülmüştür (145).

Kadıköylü ve arkadaşlarının çalışmasında C vitamininin (100 mg/kg IP tek doz) sisplatin (10mg/kg IP tek doz) uygulanmasından 30 dk önce enjeksiyonu ile MDA, hidrojen peroksit, SOD, seviyelerini önemli derecede düzelttiği, glutatyon redüktaz ve katalaz seviyelerini etkilemediği görülmüştür (146).

Fatima ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sisplatin verilmeksizin C vitamini (150-350 mg/kg vücut ağırlığına IP tek doz) verildiğinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Sisplatinden (6mg/kg IP tek doz) 6 saat önce C vitamini (150-350 mg/kg) verilmesiyle BUN ve kreatinin düzeylerinde düzelmeye görülmüş ancak en etkili dozun 250 mg/kg düzeylerinde olduğu görülmüştür. C vitamini uygulanması ile sisplatin ile azalan fırçamsı kenar membran enzimlerinin aktivitelerinin düzeldiği gözlemlenmiştir. C vitamininin sisplatinin azalttığı fosfat taşınımında fosfat uptake'ini iyileştirdiği gösterilmiştir. C vitamininin profilaktik uygulanması ile sisplatin grubunda gözlenen MDA düzeylerindeki artışın, sülfhidril içeriğindeki azalmanın, katalaz ve Cu-Zn SOD aktivitelerindeki azalmanın anlamlı bir şekilde düzelmiş olduğu bildirilmiştir (120).

Ajith ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada C vitamini 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında sisplatin (tek doz IP 10mg/kg) uygulanmasından 1 saat önce, 24 ve 48 saat sonra oral gavaj yolla verilmiş, C vitamini tedavisiyle sisplatinle oluşan serum üre, kreatinin düzeylerindeki artışta doz bağımlı bir azalma gözlenilmiştir, kontrol grubuyla aralarında fark bulunmuştur. Sisplatin grubunda SOD, GPx, katalaz aktiviteleri ve glutatyon konsantrasyonları azalırken, renal MDA konsantrasyonları artmıştır. C vitamini 250 mg/kg uygulandığında SOD, GPx, katalaz aktiviteleri sisplatin grubundan farksızken, C vitamini 500mg grubunda aktivitelerdeki artış anlamlı bulunmuştur. C vitamini iki grupta da renal glutatyonu arttırırken, MDA düzeylerini azaltmıştır (134).

2008 yılında yapılan bir çalışmada C vitamini (8mg/kg, intramuskuler) ilk sisplatinden (üç kez intravenöz 5mg/kg dozunda 21 gün aralıkla) sonra üç ay boyunca uygulanmıştır. Sisplatin grubunda en sık gözlenen masif tübüler dilatasyon ve buna bağlı dilate tübüllerin epitelyal sınırında düzleşme C vitamini tedavisi grubunda azalmıştır. C vitamini sisplatinle indüklenen patolojik değişiklikleri düzeltmiş, glomerül ve özellikle tübüllerdeki dejeneratif değişiklikleri azaltmıştır. Epitel hücre dejenerasyonu ve tübüler dilatasyon azalmasına rağmen mononükleer hücre infiltrasyonunda değişiklik gözlenmemiştir. Sisplatin grubunda glomerüllerde küçülme, renal tübül çapında artma gözlenirken, C vitamini tedavisi glomerüllerin çapını arttırmış, tübüllerin çapını azaltmıştır (8).

Ajith ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı çalışmada bir gruba tek doz C vitamini (500 mg/kg per oral) sisplatin (tek doz IP 12 mg/kg) uygulanmasından 1 saat önce verilmiştir. Diğer gruplara multidoz C vitamini (500 mg/kg per oral) sisplatin (tek doz IP 12 mg/kg) uygulanmasından 1 saat önce, 24 ve 48 saat sonra olmak üzere 3 kez oral gavaj yoluyla verilmiştir. Sisplatin grubunda serum üre, kreatinin seviyeleri artarken, tek ve multidoz C vitamini grubunda kreatinin seviyelerinde azalma gözlenmiş, ürede anlamlı azalma yalnızca multidozlarda gözlenmiştir. Sisplatin grubunda glutatyonda azalma, MDA'da artış gözlenirken; multidoz C vitamini grubunda glutasyon seviyelerindeki artış ve MDA'daki azalış anlamlı bulunmuştur. Tek doz C vitamini uygulaması yetersiz kalmıştır (129).

Atasayar ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada C vitamini (2500mg/kg per oral 5 gün) + Vitamin E (1000mg/kg per oral) uygulanmış, sisplatin (tek doz 7,5 mg/kg IP olarak) uygulanmasından 72 saat sonra elde edilen sonuçlara göre Sisplatin grubunda serum kreatinin ve BUN seviyelerinde artış gözlenirken vitamin C-E kombinasyonu grubunda BUN'daki azalma anlamlı, kreatinindeki azalma anlamsız bulunmuştur. Sisplatin grubunda MDA'da artış, glutatyonda azalma gözlenmiştir. Karaciğer glutasyon seviyelerindeki azalma sisplatin + vitamin C-E grubunda önlenirken, eritrosit ve böbrek glutasyon seviyeleri sisplatin grubuyla aynı bulunmuştur. Plazma, eritrosit, böbrek ve karaciğerde sisplatin grubunda gözlenen MDA artışı tüm gruplarda anlamlı olarak azalmıştır (135).

Yapılan diğer çalışmalarda NAS ile kombine C vitamini kullanıldığı görülmemiştir ancak diğer antioksidanlarla birlikte kullanılmış ve antioksidan aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. C vitamininin IP 250 mg/kg dozunda etkili olduğu görülmüş, doza bağımlı bir etki artışı izlenmemiştir. Bazı çalışmalarda ise daha yüksek dozlarda da etkinliğin arttığı görülmüştür. Bu

konuda daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır. Per oral uygulamada daha yüksek dozlarda etki görülmüştür. Bunun nedeni karaciğerdeki ilk geçiş etkisi veya biyoyararlanımının çok iyi olmaması olabilir.

C vitamininin iyileştirici etkisinde temel mekanizma olarak antioksidan etkisinden bahsedilmiştir. Bizim çalışmamızda da NAS ile beraber C vitamininin kullanımı ile antioksidan aktivitenin artarak iyileşmenin NAS grubuna oranla daha da iyi olduğu görülmüştür. Sisplatin nefrotoksisitesinde NAS'a C vitamini ilave edilmesiyle antioksidan aktivitenin artması sonucu nefrotoksisitenin daha fazla azaltıldığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise C vitamini multidozda bir hafta boyunca her gün IP 250 mg/kg dozunda sisplatin uygulamasından 3 gün önce başlanılarak NAS (500 mg/kg IP) ile kombine olarak uygulanmıştır. Serum üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana gelmiş, sisplatin ile artan MDA'da azalma, azalan TAK'da artış gözlenmiştir. Böbrek konsantrasyon ve ekskresyon fonksiyonlarında artış gözlenmiştir.

Sintigrafik bulgularımıza göre rezidü kalan miktarın yani ekskresyon fonksiyonlarının bazal seviyeye, histopatolojik ve diğer laboratuvar parametrelerine göre anlamlı derecede korunamaması olasılıkla sisplatinin proksimal tübüllerde bulunan bazal membrandaki OAT 1 fonksiyonlarını bozmasıyla ilişkilidir (147). ^{99m}Tc- MAG3 ün proksimal tübüllerden atılmasında OAT 1'in sorumlu olduğu son zamanlarda yapılan hayvan deneyi çalışmalarında gösterilmiştir (148-150). Sintigrafinin OAT1 fonksiyonlarını değerlendirebiliyor olması diğer histopatolojik ve laboratuvar yöntemlerine karşı bir üstünlüğüdür. Bu açıdan sisplatin nefrotoksisitesi düşünülen durumlarda ^{99m}Tc- MAG3 sintigrafisinin faydalı olduğunu düşünüyoruz.

Sintigrafik olarak NAS+C vit uygulamasının renal kortikal hasarı önlediği ve konsantrasyon fonksiyonlarını koruduğu izlenmektedir. Toksikite sonrası rezidü miktarın ise bazale göre yüksek olduğu ancak diğer gruplara göre daha az olduğu izlenmiştir. Bu da NAS+C vit uygulamasının tek başına uygulanmasına göre konsantrasyon (hücresel bütünlük) ve ekskresyon fonksiyonlarını daha iyi koruduğunu göstermektedir. Histopatolojik olarak tübüler nekrozun azaldığı saptanmıştır. Biyokimyasal ve sintigrafik olarak NAS + C vitamini grubunun NAS grubundan daha etkili olduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda sispaltin nefrotoksisitesi sonrasında böbrek hasarını azaltabilmek amacıyla sispaltin uygulanmasından önce ve sonra verilen NAS ve NAS + C vitamini tedavisinin böbrek fonksiyonları üzerindeki koruyucu rolü araştırıldı. Sispaltin dozunun artırılmasıyla nefrotoksisitenin de arttığı görüldü. Verilen NAS'ın, oksidatif hasarın hücresele düzeyde bir göstergesi ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan artmış MDA düzeylerini düşürdüğü, antioksidan kapasiteyi desteklediği gözlemlendi ve lipid peroksidasyonunu azalttığı görüldü. Fakat böbrek fonksiyonlarını korumada aynı derecede etkili olamadığı görüldü. BUN, üre, kreatinin düzeylerini düşürmesine rağmen ekskresyon ve konsantrasyon fonksiyonlarını düzeltmede yeterli olamadığı izlendi. Bu tedaviye C vitamini eklenmesiyle MDA düzeyleri daha da düştü, TAK normale daha yakın hale geldi. Böbreğin konsantrasyon fonksiyonları normale döndü. Çalışmamızın sonuçları sispaltin nefrotoksisitesinde NAS + C vitamininin lipid peroksidasyonu ve tübüler nekroz gibi biyokimyasal ve patolojik değişiklikleri azaltarak nefrotoksisiteye karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir. Sintigrafik olarak da NAS'a C vitamininin eklenmesinin nefrotoksisiteyi NAS'a göre azalttığı izlenmiştir. Ancak rezidü kalan miktarın yani ekskresyon fonksiyonlarının bazal seviyeye, histopatolojik ve diğer laboratuvar parametrelerine göre anlamlı derecede korunamaması olasılıkla sispaltinin proksimal tübüllerde bulunan bazal membrandaki OAT 1 fonksiyonlarını bozmasıyla ilişkilidir. Sintigrafinin OAT1 fonksiyonlarını değerlendirebiliyor olması diğer histopatolojik ve laboratuvar yöntemlerine karşı bir üstünlüğüdür. Bu açıdan sispaltin nefrotoksisitesi düşünülen durumlarda ^{99m}Tc- MAG3 sintigrafisinin faydalı olduğunu düşünüyoruz. Sispaltin nefrotoksisitesinin NAS ile bir miktar düzeldiği, NAS'a ilaveten C vitamini kullanılmasıyla daha da iyileşme görüldüğü tespit edildi. Çalışmamızın sonuçları sispaltin nefrotoksisitesinde, NAS + C vitamini uygulanmasının lipid peroksidasyonu ve tübüler nekroz gibi biyokimyasal ve patolojik değişiklikleri azaltarak nefrotoksisiteye karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak NAS + C vitamininin insanlarda sispaltin nefrotoksisitesinde hasarın azaltılmasına yardımcı bir seçenek olabileceğini sonuçlarımız düşündürmektedir.

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. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer treat rev*.2007;33(1): 9-23
3. Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: A review of some recent research. *Fd Chem Toxicol*. 2008, 44: 1173-1183.
4. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003, 23: 460-464.
5. Ziessman HA, O'Malley JP, JH Thrall. *Nuclear medicine: the requisites*. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2006.
6. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci*. 2007; 334(2): 115-124.
7. Abdelrahman AM, Al Salam S, AlMahruqi AS, Al husseni IS, Mansour MA, Ali BH. N-acetylcysteine improves renal hemodynamics in rats with cisplatin-induced nephrotoxicity. *J Appl Toxicol*. 2010 Jan;30(1):15-21.
8. Tarladacalisir YT, Kanter M, Uygun M. Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study. *Ren Fail*. 2008;30(1):1-8.
9. Sheikh-Hamad D, Timmins K, Jalali Z. Cisplatin-induced renal toxicity: possible reversal by N-acetylcysteine. *J Am Soc* 1997, 8: 1640-1645.
10. Dyson M, Urinary system. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. *Gray's anatomy*.38th edition. New York: Churchill Livingstone; 1995.
11. 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.
12. K. Arıncı, A. Elhan. *Anatomi*. 2. Baskı. İstanbul: Güneş Kitabevi Ltd.Şti, 1997: 397-398

13. Guyton & Hall. *Tıbbi Fizyoloji*. H. Çavuşoğlu, B. Çağlayan Yeğen, editors. 11. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007: 307-333.
14. Y Aytekin, S Solakoğlu. *Temel Histoloji*. Nobel Tıp Kitabevi; 2006: 387-403.
15. Haxton KJ, Burt HM. Polymeric drug delivery of platinum-based anticancer agents. *J Pharm Sci*. 2009; 98(7):2299-316
16. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int*. 2008;73(9):994-1007.
17. Kayaalp SO. *Tıbbi farmakoloji*. Cilt-1. 9. Baskı. Ankara: Hacettepe-taş.2000.
18. Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol*. 1999;17(1):409-22.
19. Sweetman SC. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 36th. Ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
20. Sastry J, Kellie SJ. Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine. *Pediatr Hematol Oncol*. 2005;22(5):441-5.
21. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol*. 2003;23(5):460-4
22. Boulikas T, Vougiouka M. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. (Review). *Oncol Rep*. 2003;10(6):1663-82.
23. Berns JS, Ford PA. Renal toxicities of antineoplastic drugs and bone marrow transplantation. *Semin Nephrol*. 1997;17(1):54-66.
24. 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.
25. Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, Razzaque MS. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol*. 2005;148:107-21.
26. Gomez Campdera FJ, Gonzalez P, Carrillo A, Estelles MC, Rengel M. Cisplatin nephrotoxicity: symptomatic hypomagnesemia and renal failure. *Int J Pediatr Nephrol*. 1986 Jul-Sep;7(3):151-2.
27. Townsend DM, Deng M, Zhang L, Lopus MG, and Hanigan MH. Metabolism of Cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol*. 2003; 14:1–10.
28. 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.

29. Chang B, Nishikawa M, Sato E, Utsumi K, Inoue M. L-Carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch Biochem Biophys.* 2002; 405: 55–64.
30. Brady HR, Kone BC, Stromski ME, Zeidel ML, Giebisch G, Gullans SR. Mitochondrial injury: An early event in cisplatin toxicity to renal proximal tubules. *Am J Physiol.* 1990; 258:F1181–F1187
31. 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.
32. Rankin GO. Cisplatin- nephrotoxicity, in *Toxicology of the kidney*. 3rd Edition. Tarloff J, Lash L, eds. CRC Press.2005.
33. Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, Kohda Y, Gemba M. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to Cisplatin-related renal cell injury. *J Pharmacol Sci.* 2006;100:65–72.
34. Yilmaz HR, Iraz M, Sogut S, Ozyurt H, Yildirim Z, Akyol O, Gergerlioglu S. The effects of erdosteine on the activities of some metabolic enzymes during cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2004;50: 287–90.
35. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates Cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2683–90.
36. 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.
37. Shino Y, Itoh Y, Kubota T, Yano T, Sendo T, Oishi R. Role of poly(ADP-ribose)-polymerase in cisplatin-induced injury in LLC-PK1 cells. *Free Radic Biol Med.* 2003;35: 966–77.
38. Chirino YI, Hernández-Pando R, Pedraza-Chaverrí J. Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacol.* 2004;4: 20.
39. 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.
40. 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):139-42.

41. Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci.* 2005;76(18):2125-35.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. Kim SH, Hong KO, Hwang JK, Park KK. Xanthorrhizol has a potential to attenuate the high dose cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol.* 2005 Jan;43(1):117-22.
46. Sayed-Ahmed MM, Eissa MA, Kenawy SA, Mostafa N, Calvani M, Osman AM. Progression of cisplatin-induced nephrotoxicity in a carnitine-depleted rat model. *Chemotherapy.* 2004;50(4):162-70
47. Deng J, Kohda Y, Chiao H, Wang Y, Hu X, Hewitt SM et al. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int* 2001; 60(6): 2118–2128.
48. Ramesh G, Reeves WB. TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest* 2002;110:835–42.
49. Ramesh G, Kimball SR, Jefferson LS, Reeves WB. Endotoxin and cisplatin synergistically stimulate TNF-alpha production by renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292(2): F812–F819.
50. Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, Ljubanovic D, Hoke TS, Somerset H, Oh DJ, Lu L, Klein CL, Dinarello CA, Edelstein CL. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 322(1): 8–15.
51. Dong Z, Atherton SS. Tumor necrosis factor-alpha in cisplatin nephrotoxicity: a homebred foe? *Kidney Int* 2007; 72: 5–7.
52. Ramesh G, Reeves WB. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor-alpha. *Kidney Int* 2004;65: 490–9.

53. Ramesh G, Reeves WB. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285:F610–8.
54. Kruidering M, Van de Water B, de Heer E, Mulder GJ, Nagelkerke JF. Cisplatin-induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I–IV of the respiratory chain. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997 Feb;280(2):638-49.
55. Park MS, De Leon M, Devarajan P. Cisplatin induces apoptosis in LLC-PK1 cells via activation of mitochondrial pathways. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(4):858-65.
56. 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.
57. Tanaka T, Kojima I, Ohse T, Inagi R, Miyata T, Ingelfinger JR, Fujita T, Nangaku M. Hypoxia-inducible factor modulates tubular cell survival in cisplatin nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:F1123–33.
58. Guinee DG Jr, van Zee B, Houghton DC. Clinically silent progressive renal tubulointerstitial disease during cisplatin chemotherapy. *Cancer.* 1993;71: 4050–4054.
59. Nangaku M. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney final common pathways to end-stage renal failure. *Intern Med.* 2004;43: 9–17.
60. Yamate J, Sato K, Ide M, Nakanishi M, Kuwamura M, Sakuma S, Nakatsuji S. 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: 322–33.
61. Lieberthal W, Triaca V, Levine J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: Apoptosis vs necrosis. *Am J Physiol.*1996;270:F700–F708.
62. 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.
63. Liu H, Baliga R. Cytochrome P450 2E1 null mice provide novel protection against cisplatin-induced nephrotoxicity and apoptosis. *Kidney Int.* 2003; 63: 1687–1696.
64. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest.* 2005; 115:2665–26
65. Cummings J, Ward TH, Ranson M, Dive C. Apoptosis pathway-targeted drugs—from the bench to the clinic. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1705: 53–66

66. Wei Q, Dong G, Franklin J, Dong Z. The pathological role of Bax in cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int.* 2007;72: 53–62
67. Kaushal GP, Kaushal V, Hong X, Shah SV. Role and regulation of activation of caspases in cisplatin-induced injury to renal tubular epithelial cells. *Kidney Int.* 2001;60: 1726–1736
68. Letai A. Pharmacological manipulation of Bcl-2 family members to control cell death. *J Clin Invest.* 2005; 115:2648–2655
69. Bijian K, Takano T, Papillon J, Khadir A, Cybulsky AV. Extracellular matrix regulates glomerular epithelial cell survival and proliferation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004; 286:F255–F266
70. Pabla N, Huang S, Mi QS, Daniel R, Dong Z. ATR-Chk2 signaling in p53 activation and DNA damage response during cisplatin-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2008; 283: 6572–6583.
71. Seth R, Yang C, Kaushal V, Shah SV, Kaushal GP. p53-dependent caspase-2 activation in mitochondrial release of apoptosis-inducing factor and its role in renal tubular epithelial cell injury. *J Biol Chem.* 2005;280: 31230–31239.
72. Yang C, Kaushal V, Haun RS, Seth R, Shah SV, Kaushal GP. Transcriptional activation of caspase-6 and -7 genes by cisplatin-induced p53 and its functional significance in cisplatin nephrotoxicity. *Cell Death Differ.* 2008;15: 530–544.
73. Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:275–283.
74. Faubel S, Ljubanovic D, Reznikov L, Somerset H, Dinarello CA, Edelstein CL. Caspase-1-deficient mice are protected against cisplatin-induced apoptosis and acute tubular necrosis. *Kidney Int.* 2004; 66: 2202–2213.
75. Ramesh G, Reeves WB. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289: F166–F174.
76. Li S, Basnakian A, Bhatt R, Megyesi J, Gokden N, Shah SV, Portilla D. PPAR-alpha ligand ameliorates acute renal failure by reducing cisplatin-induced increased expression of renal endonuclease G. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004; 287: F990–F998.
77. Wei Q, Dong G, Franklin J, Dong Z. The pathological role of Bax in cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int.* 2007; 72: 53–62.
78. Lieberthal W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol.* 1996; 271:F477–F488.

79. Niki E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2010.[Epub ahead of print]
80. Fishbane S. N-Acetylcysteine in the Prevention of Contrast-Induced Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3(1): 281–7.
81. Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet*. 1991; 20: 123–34.
82. Borgström L, Kågedal B. Dose dependent pharmacokinetics of N-acetylcysteine after oral dosing to man. *Biopharm Drug Dispos*. 1990; 11: 131–6.
83. Harada D, Naito S, Kawauchi Y, Ishikawa K, Koshitani O, Hiraoka I, Otagiri M. Determination of reduced, protein-unbound, and total concentration of N-acetyl-L-cysteine and L-cysteine in rat plasma by postcolumn ligand substitution high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*. 2001; 290: 251-259.
84. De Caro L, Ghizzi A, Costa R, Longo A, Ventresca GP, Lodola E. Pharmacokinetics and bioavailability of oral acetylcysteine in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung* 1989; 39: 383–6.
85. Olsson B, Johansson M, Gabrielsson J, Bolme P. Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; 34: 77–82.
86. Thorne Research Monographs. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*. 2000; 5(5): 467-471.
87. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. 2003;17: 1195-1214.
88. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: Its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med*. 1989; 6: 593-597.
89. Harrison PM, Keays R, Bray GP, Alexander GJ, Williams R. Improved outcome of paracetamol-induced fulminant hepatic failure by late administration of acetylcysteine. *Lancet*. 1990; 335: 1572-1573.
90. Dekhuijzen PN. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2004; 23(4): 629-636.
91. Dickinson DA, Moellering DR, Iles KE, Patel RP, Levonen AL, Wigley A, Darley-Usmar VM, Forman HJ. Cytoprotection against oxidative stress and the regulation of glutathione synthesis. *Biol Chem*. 2003; 384(4): 527-537

92. Skrzydlewska E, Farbiszewski R. Protective effect of N-acetylcysteine on reduced glutathione-related enzymes and lipid peroxidation in methanol intoxication. *Drug Alcohol Depend.* 1999; 57: 61-67.
93. Nakano H, Boudjema K, Alexandre E, Imbs P, Chenard MP, Wolf P, Cinqualbre J, Jaeck D. Protective effects of N-acetylcysteine on hypothermic ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Hepatology.* 1995; 27: 363-370.
94. Sehirlı AO, Sener G, Satiroglu H, Ayanoglu-Dulger G. Protective effect of N-acetylcysteine on renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Nephrol.* 1993;16: 75-80.
95. Paller MS. Renal work, glutathione and susceptibility to free radical-mediated postischemic injury. *Kidney Int.* 1988;33: 843-849.
96. Scaduto RC, Martin VH. Elevation of renal glutathione enhances ischemic injury. *Renal Physiol Biochem.* 1991;14: 259-270.
97. Tepel M, van der Giet M, Schwartzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zisek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N Engl J Med.* 2000;343: 180-184.
98. Shyu KG, Cheng JJ, Kuan P. Acetylcysteine protects against acute renal damage in patients with abnormal renal function undergoing a coronary procedure. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40: 1383-1388.
99. Diaz-Sandoval LJ, Kosowsky BD, Losordo DW. Acetylcysteine to prevent angiography-related renal tissue injury (the APART trial). *Am J Cardiol.* 2002;89: 356-358.
100. Bakris GL, Lass N, Gaber AO, Jones JD, Burnett JC Jr. Radiocontrast medium-induced declines in renal function: A role for oxygen free radicals. *Am J Physiol.* 1990;258: F115-F120.
101. Hutter D, Greene JJ. Influence of the cellular redox state on NF-kappaB- regulated gene expression. *J Cell Physiol.* 2000;183: 45-52.
102. Peltoniemi M, Kaarteenaho-Wiik R, Saily M, Sormunen R, Paaakkö P, Holmgren A, Soini Y, Kinnula VL. Expression of glutaredoxin is highly cell specific in human lung and is decreased by transforming growth factor-beta in vitro and in interstitial lung diseases in vivo. *Hum Pathol.* 2004;35: 1000-7.
103. Wong D, Prameya R, Dorovini-Zis K, Vincent SR. Nitric oxide regulates interactions of PMN with human brain microvessel endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;323:142-8.

104. Vos TA, van Goor H, Tuyt L, Jager-Krikken A, Leuvenink R, Kuipers F, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in endotoxemic rat hepatocytes is dependent on the cellular glutathione status. *Hepatology*. 1999;29: 421–6.
105. Kondo H, Takahashi M, Niki E. Peroxynitrite-induced hemolysis of human erythrocytes and its inhibition by antioxidants. *FEBS Lett*. 1997;413:236–8.
106. Chen G, Wang SH, Warner TD. Regulation of iNOS mRNA levels in endothelial cells by glutathione, a double-edged sword. *Free Radic Res*. 2000;32: 223–34.
107. Sadowska AM, Manuel-Y-Keoney B, De Backer WA. Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: Discordant in vivo and in vitro dose effects: A review. *Pulm Pharmacol Ther*. 2007; 20(1): 9-22.
108. Safirstein, R, Andrade, L, Vieira, JM. Acetylcysteine and nephrotoxic effects of radiographic contrast agents—A new use for an old drug. *N Engl J Med*. 2000; 343: 210–212
109. Holt S, Goodier D, Marley R, Patch D, Burroughs A, Fernando B, Harry D, Moore K. Improvement in renal function in hepatorenal syndrome with N-acetylcysteine. *Lancet*. 1999; 353: 294-295.
110. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, López B, Arregui B, Salom MG. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol*. 2001; 281: R730-R737
111. Heyman SN, Goldfarb M, Shina A, Karmaeli F, Rosen S. N- acetylcysteine ameliorates renal microcirculation: Studies in rats. *Kidney International*. 2003;63, 634-641.
112. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper’s Biochemistry*. 22th Ed. California: Appleton&Lange, 1991. S:558-561.
113. Graumlich JF, Ludden TM, Conry-Cantilena C, Cantilena LR Jr, Wang Y, Levine M. Pharmacokinetic model of ascorbic acid in healthy male volunteers during depletion and repletion. *Pharm Res*. 1997;14: 1133-1139.
114. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewitt SM, Katz a, Wesley RA, Lewine M. Vitamin C pharmacokinetics: implication for oral and intravenous use. *Ann Intern Med*. 2004;140: 533-537.
115. Murray MT, Bongiorno PB. Vitamin toxicities and therapeutic monitoring. Pizzorno JE and Murray MT (eds.). St. Louis, Churchill Livingstone Elsevier, 2006. pp. 1389-1393.

116. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1993; 300: 535-543.
117. Buettner GR, Jurkiewicz BA. Ascorbate free radical as a marker of oxidative stress: an EPR study. *Free Radical Biology and Medicine*. 1993; 14: 49-55.
118. Lane DJR, Lawen A. Ascorbate and plasma membrane electron transport-Enzymes vs efflux. *Free Radical Biology & Medicine*. 2009; 47: 485-495.
119. Lloberas N, Torras J, Herrero-Fresneda I, Cruzado JM, Riera M, Hurtado I, Grinyó JM. Postischemic renal oxidative stress induces inflammatory response through PAF and oxidized phospholipids. Prevention by antioxidant treatment. *FASEB J*. 2002 Jun;16(8):908-10
120. Fatima S, Arivarasu NA, Mahmood R. Vitamin C attenuates cisplatin-induced alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport. *Hum Exp Toxicol*. 2007 May;26(5):419-26.
121. Kadkhodae M, Khastar H, Arab HA, Ghaznavi R, Zahmatkesh M, Mahdavi-Mazdeh M. Antioxidant vitamins preserve superoxide dismutase activities in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc*. 2007 May;39(4):864-5.
122. Lee SH, Yoon YC, Jang YY, Song JH, Han ES, Lee CS. Effect of iron and ascorbate on cyclosporine-induced oxidative damage of kidney mitochondria and microsomes. *Pharmacol Res*. 2001 Feb;43(2):161-71.
123. Sai K, Umemura T, Takagi A, Hasegawa R, Kurokawa Y. The protective role of glutathione, cysteine and vitamin C against oxidative DNA damage induced in rat kidney by potassium bromate. *Jpn J Cancer Res*. 1992 Jan;83(1):45-51.
124. Rossleigh MA. Renal cortical scintigraphy and diuresis renography in infants and children. *J Nucl Med*. 2001; 42:91- 95
125. Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 5th edition. New York; Springer-Verlag, 2004: 277-287.
126. Turkish journal of nuclear guideline: Çocuklarda standart ve diüretik renal sintigrafî protokolü. 2001: 1-8
127. Turkish journal of nuclear med, guideline: Diüretikli dinamik böbrek sintigrafisi klavuzu, , 2001:1-5

128. Harbert JC, Andrich MP, Peller PJ. The genitourinary system. In: Harbert JC, Eckelman WC, Neumann RD, ed. Nuclear medicine. Thieme medical publishers, New York. 1996:713-739.
129. 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
130. 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.
131. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979;135:372-376.
132. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;86: 271–278.
133. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37: 112–119.
134. 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.
135. Atasayar S, Gürer-Orhan H, Orhan H, Gürel B, Girgin G, Özgüneş 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.
136. 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.
137. Tufekci O, Gunes D, Ozoğul C, Kolatan E, Altun Z, Yılmaz O, Aktaş S, Erbayrak Z, Kirkim G, Mutafoğlu K, Soylu A, Serbetçioğlu B, Güneri EA, Olgun N. Evaluation of the Effect of Acetyl L -Carnitine on Experimental Cisplatin Nephrotoxicity. *Chemotherapy* 2009;55(6):451–459.
138. 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.

139. Mishima K, Baba A, Matsuo M, Itoh Y, Oishi R. Protective effect of cyclic AMP against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Free Radic Biol Med*. 2006 May 1;40(9):1564-77.
140. Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. The chemoprotective agent N-Acetylcysteine blocks cisplatin-induced apoptosis through caspase signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 312(2): 423-31.
141. Dickey DT, Muldoon LL, Doolittle ND, Peterson DR, Kraemer DF, Neuwelt EA. Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin-induced toxicity in rat models. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 Jul;62(2):235-41.
142. Luo J, Tsuji T, Yasuda H, Sun Y, Fujigaki Y, Hishida A. The molecular mechanisms of the attenuation of cisplatin-induced acute renal failure by N-acetylcysteine in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Jul;23(7):2198-205.
143. Dickey DT, Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. Protection against cisplatin-induced toxicities by N-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular, and in vivo levels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Sep;314(3):1052-8.
144. Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res*. 2000 Apr;41(4):405-11.
145. Durak I, Ozbek H, Karaayvaz M, Oztürk HS. Cisplatin induces acute renal failure by impairing antioxidant system in guinea pigs: effects of antioxidant supplementation on the cisplatin nephrotoxicity. *Drug Chem Toxicol*. 2002 Feb;25(1):1-8.
146. 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 Jan;23(1):29-34.
147. Morisaki T, Matsuzaki T, Yokoo K, Kusumoto M, Iwata K, Hamada A, Saito H. Regulation of renal organic ion transporters in cisplatin-induced acute kidney injury and uremia in rats. *Pharm Res*. 2008 Nov;25(11):2526-33. Epub 2008 Jul 9.
148. Shikano N, Kanai Y, Kawai K, Ishikawa N, Endou H. Transport of ^{99m}Tc-MAG3 via rat renal organic anion transporter 1. *J Nucl Med*. 2004 Jan;45(1):80-5.
149. Matsuzaki T, Watanabe H, Yoshitome K, Morisaki T, Hamada A, Nonoguchi H, Kohda Y, Tomita K, Inui K, Saito H. Downregulation of organic anion transporters in rat kidney under ischemia/reperfusion-induced acute [corrected] renal failure. *Kidney Int*. 2007 Mar;71(6):539-47. Epub 2007 Jan 24.

150. Schneider R, Sauvant C, Betz B, Otremba M, Fischer D, Holzinger H, Wanner C, Galle J, Gekle M. Downregulation of organic anion transporters OAT1 and OAT3 correlates with impaired secretion of paraaminohippurate after ischemic acute renal failure in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 292: F1599–F1605, 2007.

8. EKLER

Etik Kurul Onayı

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL
DENEY HAYVANLARI ALT KURULU

Tarih: 18.02.2010
No: 08

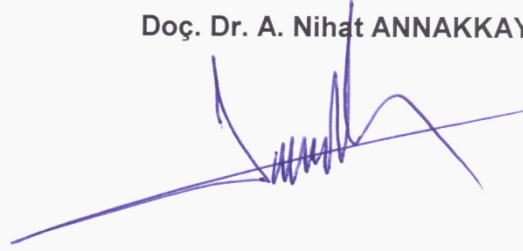
Sayın Dr. Ertugrul KAYA

Aşağıda belirtilen araştırmamız Etik Kurulumuz tarafından ilgili yönetmelik ve yönergeler uyarınca evrensel etik kurallar çerçevesinde değerlendirilmiş ve oybirliği ile “uygun” bulunarak Etik Komite onayı verilmiştir.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Başkan

Doç. Dr. A. Nihat ANNAKKAYA



Protokol No: 2010-08

Araştırmanın Adı: “Sisplatin nefrotoksitesinde N-asetil sisteinin (NAC) böbrek fonksiyonları üzerine olan koruyucu etkisinin ^{99m}Tc-MAG3 böbrek sintigrafisi ile birlikte değerlendirilmesi”



**DÜZCE UNIVERSITY
MEDICAL SCHOOL
LOCAL ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL STUDIES**

February 18, 2010

To whom it may concern,

The following study cited below has been approved by the Local Ethical Committee of Düzce Medical School.

**Ali Nihat ANNAKKAYA
Chief of the Committee**

A handwritten signature in blue ink, corresponding to the name Ali Nihat ANNAKKAYA, Chief of the Committee.

Reference: 08

Title: Detection of Protective Effects of N-Acetyl Cysteine on Renal Functions Using 99mTc-MAG3 in cispilatin induced nephrotoxicity

Researcher: Dr.Ertugrul KAYA