



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİSPLATİN TOKSİSİTESİ İLE FERROPTOSİS'E
KARŞI BROMELAIN'İN BÖBREKTEKİ KORUYUCU
ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

RABİA FİLİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2025

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANA BİLİM DALI

SİSPLATİN TOKSİSİTESİ İLE FERROPTOSİS'E KARŞI
BROMELAIN'İN BÖBREKTEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN
MORFOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

RABİA FİLİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Sibel ATEŞOĞLU KARABAŞ

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Zekiye KARACA BOZDAĞ

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Turan KOÇ

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

RABİA FİLİK



Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2024/4-1 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, yalnızca akademik bir sürecin ürünü değil; aynı zamanda emeğin, sabrın ve desteğin birleşiminden doğan bir yolculuğun hikayesidir. Öncelikle, bu yolculuk boyunca bilgi birikimi ve rehberliğiyle bana yol gösteren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Sibel ATEŞOĞLU KARABAŞ'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum. Akademik vizyonu, sabrı ve yönlendirmeleri, bu çalışmanın şekillenmesinde çok kıymetli bir rol oynadı.

Anatomi Ana Bilim Dalındaki değerli hocalarım Prof. Dr. Atila YOLDAŞ, Prof. Dr. Mehmet DEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Turan KOÇ'a, bilgi dolu dersleriyle ve akademik bakış açılarıyla üzerimde bıraktıkları katkı için minnettarım. Aynı şekilde, tez sürecimde her zaman destek olan Arş. Gör. Eda Esra ESEN'e teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmam sırasında deney sürecinin planlanması ve yürütülmesinde büyük katkı sağlayan hocam Öğr. Gör. Dr. Elif Merve Betül YANILMAZ'a, histoloji analizlerimde destek veren hocam Doç. Dr. Ebru ANNAÇ'a ve biyokimya analizlerimi titizlikle gerçekleştiren hocam Öğr. Gör. İbrahim Seyfettin ÇELİK'e teşekkür ederim. Emekleri, bu çalışmanın bilimsel yönünü güçlendirmiştir.

Bu süreçte yalnızca akademik anlamda değil, manevi olarak da yanımda olan arkadaşlarım Furkan KARASU, Rıdvan Osman AVCU, Yusuf ÇAVDAR ve Davut ONAT. Zorlandığım anlarda bir cümleyle içimi ferahlatan, bir kahveyle motivasyon veren ve birlikte düşünmekten keyif aldığım sizlere minnettarım. Ve elbette ismini burada tek tek anmadığım tüm yüksek lisans arkadaşlarım. Aynı yolda yürümek, aynı yorgunluğu paylaşmak çok değerliydi.

Son olarak, bu süreçte her zaman yanımda olan canım aileme teşekkür etmek istiyorum. Sevgili annem Bediha FİLİK ve babam Kurtuluş FİLİK, sabrınız, desteğiniz ve bana olan inancınızla bu yolu kolaylaştırdınız. Kardeşlerim Büşra FİLİK ve M. Bekir FİLİK, varlığınız bana her zaman güç verdi. Hepinize kalpten teşekkür ederim.

Bu tez, bireysel bir çabanın ötesinde, bir dayanışma ve destek hikayesidir. Katkı sunan herkese gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine, katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Temmuz-2025

RABİA FİLİK

SİSPLATİN TOKSİSİTESİ İLE FERROPTOSİS'E KARŞI BROMELAIN'İN BÖBREKTEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Rabia FİLİK

ÖZET

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla ortaya çıkan ve ciddi sağlık sorunlarına yol açan ölümcül bir hastalıktır. Tedavisinde yaygın kullanılan kemoterapötik ajanlardan biri olan Sisplatin (Cis), antineoplastik etkilerine rağmen böbreklerde birikerek nefrotoksisiteye neden olabilmektedir. Bu toksisite; oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz ve demir bağımlı hücre ölümü olan ferroptozla ilişkilidir. Ferroptozun baskılanması, sisplatine bağlı böbrek hasarının önlenmesinde yeni bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada, doğal bir antioksidan olan Bromelain'in (Bro), Cis kaynaklı nefrotoksisite ve ferroptozu karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. Histopatolojik ve histomorfometrik incelemeler için Hematoksilin-Eozin, Masson Trichrome ve PAS boyaları kullanılmış; biyokimyasal analizlerde ise MDA, SOD, GPX, GPX4 ve ELASTIN düzeyleri değerlendirilmiştir. Morfometrik ölçümlerde gruplar arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), histomorfometrik ölçümlerde glomeruler alan ve Bowman aralığı ölçümü açısından Cis ve Cis+Bro gruplarında anlamlı düşüş saptanmıştır ($p<0,05$, $p=0,004$). Feret's çapı ise Cis grubunda diğer gruplara göre düşük bulunmuştur ($p=0,03$). Biyokimyasal analizlerde, Cis ve Cis+Bro gruplarında MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p=0,009$, $p=0,018$), SOD düzeylerinin ise Cis grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). GPX4 düzeyleri ise Cis+Bro grubunda diğer gruplara kıyasla belirgin şekilde azalmıştır ($p=0,024$, $p=0,023$). Kanser tedavisinde antineoplastik etki gösteren Cis'in neden olduğu oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın Bro kullanımı ile azaltılabildiği tespit edilmiştir. Bro'nun, Cis kaynaklı nefrotoksisite ve ferroptozise karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : böbrek, bromelain, ferroptosis, morfometri, sisplatin

Sayfa Adedi : 83

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Sibel ATEŞOĞLU KARABAŞ

MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF BROMELAIN ON THE KIDNEY AGAINST CISPLATIN TOXICITY AND FERROPTOSIS

(Master Thesis)

Rabia FİLİK

ABSTRACT

Cancer is a fatal disease that arises from the uncontrolled proliferation of cells and leads to serious health problems. One of the commonly used chemotherapeutic agents in its treatment is Cisplatin (Cis), which, despite its effective antineoplastic properties, can accumulate in the kidneys and cause nephrotoxicity. This toxicity is associated with oxidative stress, inflammation, apoptosis, and a form of iron-dependent cell death known as ferroptosis. Suppressing ferroptosis is considered a novel approach for preventing Cis-induced kidney damage. In this study, the protective effects of Bromelain (Bro), a natural antioxidant, against Cis-induced nephrotoxicity and ferroptosis were investigated. For histopathological and histomorphometric analyses, Hematoxylin-Eosin, Masson Trichrome, and PAS staining were used, while MDA, SOD, GPX, GPX4, and ELASTIN levels were evaluated in biochemical analyses. No significant differences were observed among the groups in morphometric measurements ($p>0,05$). However, histomorphometric measurements revealed a significant reduction in glomerular area and Bowman's space in the Cis and Cis+Bro groups ($p<0,05$, $p=0,004$). Feret's diameter was found to be lower in the Cis group compared to the other groups ($p=0,03$). Biochemical analyses showed significantly increased MDA levels in the Cis ($p=0,009$) and Cis+Bro ($p=0,018$) groups, and significantly decreased SOD levels in the Cis group ($p<0,001$). GPX4 levels were also significantly reduced in the Cis+Bro group compared to the other groups ($p=0,024$, $p=0,023$). It was concluded that the oxidative stress and inflammatory response caused by Cis, which exhibits antineoplastic effects in cancer treatment, can be alleviated with Bro. Bromelain may be considered a protective agent against Cis-induced nephrotoxicity and ferroptosis.

Key Words : Bro, Cis, ferroptosis, kidney, morphometry

Page Number : 83

Supervisor : Dr. Öğr. Üyesi Sibel ATEŞOĞLU KARABAŞ

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR | I |
| ÖZET..... | II |
| ABSTRACT | III |
| İÇİNDEKİLER..... | IV |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | VI |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Böbreğin Embriyolojisi..... | 3 |
| 2.2. Böbreğin Anatomisi | 4 |
| 2.2.1. Böbreğin komşulukları | 5 |
| 2.2.2. Böbreğin yapısı | 7 |
| 2.2.3. Böbreğin kanal sistemi..... | 8 |
| 2.3. Nefrotoksisite..... | 9 |
| 2.4. Kanser | 10 |
| 2.5. Sisplatin | 11 |
| 2.5.1. Sisplatinin etki mekanizması..... | 12 |
| 2.6. Oksidatif Stres..... | 15 |
| 2.7. Serbest Radikaller | 15 |
| 2.8. Ferroptoz..... | 16 |
| 2.9. Antioksidanlar..... | 19 |
| 2.9.1. Bromelain..... | 19 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER..... | 22 |
| 3.1. Gereç..... | 22 |
| 3.2. Yöntem..... | 22 |
| 3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması ve gruplandırılması | 22 |
| 3.2.2. Çalışmanın yapıldığı fiziki ortam ve koşullar | 23 |
| 3.2.3. Anestezi ve cerrahi protokolü | 23 |
| 3.2.4. Böbrek morfometrik ölçümleri | 24 |
| 3.2.5. Histopatolojik analizler | 26 |
| 3.2.6. Histopatolojik değerlendirme | 29 |
| 3.2.7. Histomorfometrik ölçümler | 29 |

| | |
|--|----|
| 3.2.8. İstatistiksel analiz..... | 31 |
| 3.2.9. Biyokimyasal analizler | 31 |
| 3.2.10. İstatistiksel analizler | 37 |
| 4. BULGULAR | 38 |
| 4.1. Morfometrik Bulgular..... | 38 |
| 4.2. Histopatolojik Bulgular..... | 38 |
| 4.2.1. Histopatolojik skorlama | 40 |
| 4.2.2. Histomorfometrik bulgular | 42 |
| 4.3. Biyokimyasal Bulgular | 43 |
| 5. TARTIŞMA | 48 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 54 |
| 7. KAYNAKLAR..... | 55 |
| 8. ŞEKİLLER DİZİNİ..... | 69 |
| 9. TABLOLAR DİZİNİ | 70 |
| 10. ETİK KURUL BELGESİ..... | 71 |
| 11. ÖZGEÇMİŞ | 72 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------------------------------|--|
| A. | : Arteria |
| AKI | : Akut Böbrek Hasarı |
| ALA | : Alfa Lipoik Asit |
| Bro | : Bromelain |
| BUN | : Kan Üre Azotu |
| Cis | : Siplatin |
| CMC | : Karboksimetil Selüloz |
| COX | : Siklooksijenaz |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| FDA | : Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi |
| Fe+2 | : Ferröz Demir |
| Fe+3 | : Ferrik Demir |
| Fer-1 | : Ferrostatin-1 |
| FPN1 | : Ferroportin 1 |
| Gl. | : Glandula |
| GFR | : Glomerüler Filtrasyon Oranı |
| GPX | : Glutasyon Peroksidaz |
| GPX4 | : Glutasyon Peroksidaz-4 |
| G-platin-G | : Cis Diamin |
| H₂O₂ | : Hidrojen Peroksit |
| IARC | : Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı |
| IL | : İnterleukin |
| iNOS | : Nitrik Oksit Sentaz |
| I.p. | : Intraperitoneal |
| İ.v. | : İntravenöz |
| IREB2 | : Iron Responsive Element Binding Protein |
| KH₂PO₄ | : Potasyum Dihidrojen Fosfat |
| L | : Lumbal |
| L-ROS | : Lipit Reaktif Oksijen Türleri |
| LOX | : Lipooksijenaz |
| LPO | : Lipit Peroksidasyonu |

| | |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. | : Musculus |
| MDA | : Malondialdehit |
| Mg | : Miligram |
| ml | : Mililitre |
| μl | : Mikrolitre |
| μm | : Mikrometre |
| N | : Nervus |
| Ng/L | : Nanogram/Litre |
| NOx | : Reaktif Nitrik Oksit |
| OD | : Optik Dansite |
| Ort | : Ortalama |
| PdP | : Phoenix Dactylifera |
| PRP | : Plateletten Zengin Plazma |
| PUFA | : Çoklu Doymamış Yağ Asitleri |
| ROS | : Reaktif Oksijen Türleri |
| SABC | : HRP-Streptavidin Konjugat |
| SF | : Serum Fizyolojik |
| SOD | : Süperoksit Dismutaz |
| SS | : Standart Sapma |
| T | : Torakal |
| TBA | : Tiyobarbitürik Asit |
| TfR | : Transferrin Reseptör |
| V | : Vena |
| VCI | : Vena Cava Inferior |
| VDR | : D Vitamini Reseptörü |
| xCT | : Çapraz Bileşen İzlemesi |
| ZnO NP | : Çinko Oksit Nanopartikülleri |
| 4-HHE | : 4-hidroksihekzanal |
| 4-HNE | : 4-hidroksinonenal |

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, hücrenin büyüme ve gelişimini sağlayan kontrol mekanizmalarının bozulması ile meydana gelen, hücrelerin kontrolsüz büyümesi sonucu doku ve organlarda görülen bir hastalıktır (1). Dünyadaki en büyük halk sağlığı problemlerinden biri olan kanser hastalığının tedavisinde radyoterapi, hedefe yönelik tedaviler, hormon tedavisi, immünoterapi, cerrahi tedavi ve kemoterapi gibi yöntemler uygulanmaktadır (2). Tedavide en çok tercih edilen yöntem olan kemoterapi, kanserin yayılımını önlemek, tümörün büyümesini yavaşlatmak, kanser hücrelerini yok etmek için doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar veya hormonlar kullanılan bir tedavidir (3). Kemoterapi tedavisinde yoğun olarak kullanılan antineoplastik ilaçlar vücutta çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettiği gibi, sağlıklı hücreleri de yok eden hepatotoksisite, nöropati, genel ağrı, bulantı, kusma, saç dökülmesi, artmış enfeksiyon riski, fonksiyon bozukluğu ve nefrotoksisite gibi birçok yan etkisi bulunmaktadır (3,4). Önemli antineoplastik ilaçlardan biri de kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan Sıspatin (Cis)'dir (5). Cis'in 1960'larda sitotoksik özelliklere sahip olduğu keşfedilmiştir, 1970'lerin sonunda ise germ hücreli kanserlerin tedavisinde anahtar görevi görmüştür (6). Bunun yanı sıra Cis kullanımının kemik iliği baskılanması, periferik nöropati, ototoksisite, anafilaksi ve nefrotoksisite gibi önemli yan etkileri bulunmaktadır. Cis'in böbrekte aşırı birikmesi nefrotoksisiteye sebep olmaktadır ve bu durum hastaların yaklaşık üçte birinde görülmektedir. Yapılan çalışmalar nefrotoksisite riskinin yaşlılarda, kadınlarda, hipalbuminesi olan ve renal yetmezliği bulunan hastalarda daha yüksek olduğunu belirtmiştir (7). Cis renal epitel hücrelere taşınarak nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı oluşturur. Bu hasar çoklu hücre ölümüne sebebiyet vererek inflamatuvar yanıt oluşturur (8). Cis nefrotoksisitesinin oluşum mekanizmasında oksidatif stres, hücre ölümü, fibrinojen oluşumu ve inflamasyon gibi birçok faktör etkilidir. Yapılan bir çalışmada Cis nefrotoksisitesinin temel nedeninin artan reaktif oksijen türlerinden kaynaklı oksidatif stres olduğu belirtilmiştir (9). Oksidatif stres; hücrelerde oluşan serbest radikallerin, antioksidan sistemlere karşı baskınlık kurması sonucunda oluşan dengesizliktir. Ayrıca hücrelerde bulunan biyolojik moleküllerin yapı ve fonksiyonlarının da zarar görmesine neden olur. Oksidatif streste antioksidanların dışarıdan alınması ile reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan sistem aktivitesi arasındaki açık kapatılır. Hücresel antioksidan sistemin baskılanması veya oksidatif stres artışı, apoptoz dışındaki hücre ölüm mekanizmalarını da tetiklemesi sebebiyle kanser tedavisinde önemli bir yaklaşım olarak ele alınmaktadır. Bu mekanizmalardan yakın zamanda

tanımlanmış olan ferroptoz, oksidatif strese bağımlı olması nedeniyle ön plana çıkmaktadır (10). Kanser hücrelerinde demir düzeylerinin artış göstermesinden hareketle organizmanın, yüksek orandaki demiri kullanarak bir çeşit adaptif hücre ölümü geliştirdiği ve böylece ferroptozu kansere karşı bir savunma mekanizması olarak kullandığı düşünülmektedir.

Ferroptoz, ilk olarak 2012 yılında Dixon ve arkadaşları (ark.) tarafından “demire bağımlı düzenlenmiş hücre ölümü” olarak tanımlanmıştır (11). Bu hücre ölüm şekli, apoptoz, nekroz ve otofaji gibi klasik mekanizmalardan farklı bir oluşum sürecine sahiptir (12,13). Ferroptozun ayırt edici özellikleri arasında; hücre zarında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içeren fosfolipitlerin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan lipit reaktif oksijen türlerinin (L-ROS) birikimi, hücre içi redoks aktif demir (Fe^{2+}) artışı ve glutatyon peroksidaz 4 (GPX4) enziminin lipit peroksidleri onarma kapasitesinin azalması yer almaktadır (11). Bu faktörlerden özellikle demirin hücre içinde artması, ferroptoz sürecini başlatan temel etken olarak öne çıkmaktadır (14). Kanser hücreleri, yüksek proliferasyon ve DNA sentez hızları nedeniyle normal hücrelere kıyasla daha fazla demire ihtiyaç duyarlar. Demir, DNA metabolizması ve hücre döngüsünde önemli bir rol oynar. Kanserli bireylerin çoğunda plazma ferritin düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda demir, çeşitli elektron taşıma sistemlerinde ve demir içeren enzimlerin işlevini sürdürebilmesinde kilit rol oynar (15,16). Kanser hücrelerinin bu denli demire bağımlı olması, onları ferroptozu karşı daha hassas hale getirmektedir. Bu nedenle, ferroptozun hedeflenmesi, özellikle tedaviye dirençli tümör hücrelerinin ortadan kaldırılması açısından potansiyel bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilmektedir (17).

Bir diğer tedavi yöntemi ise bitkisel ilaç kullanımınıdır. Son yıllarda Cis nefrotoksisitesinin önlenmesinde bitkisel ilaçların kullanımına ilgi artmıştır (18,19). Ananas meyvesinin saplarından elde edilen Bromelain (Bro), bir sistein proteazı olup insanlarda ve deney hayvanlarında antiinflamasyon ve antineoplastik aktivite gibi birçok faydalı etkiye sahip olduğu bilinmektedir (20). Literatüre bakıldığında hem güçlü antineoplastik etkinlik gösteren hem de antioksidan etkisi ile birçok dokuda koruyucu etkisi kanıtlanmış olan Bro'nun nefrotoksisite üzerine etkinliğinin incelenmesinin, kansere yönelik ileri çalışmalara ışık tutması ve oksidatif stres kaynaklı çeşitli böbrek hasarı durumlarında kullanılabilecek potansiyel bir ilaç ön maddesi olarak düşünülmesi açısından önemli olabileceği ön görülmüştür. Bu nedenle çalışmada Cis nefrotoksisitesine karşı Bro uygulamasının etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada sıçanlarda Cis nefrotoksisitesine ve ferroptozis'e karşı güçlü bir antioksidan olan Bro'nun koruyucu etkisine, böbrekteki morfolojik-histopatolojik ve biyokimyasal değerlerine yönelik bir araştırma yapmak amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Embriyolojisi

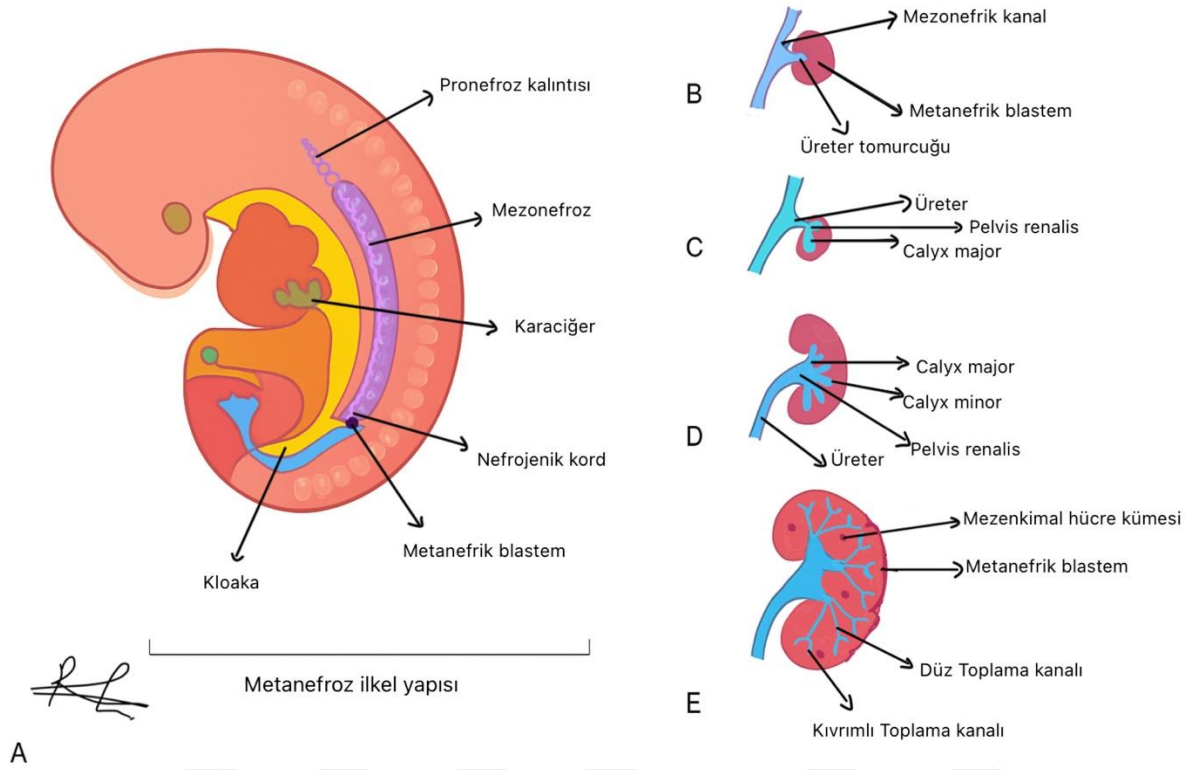
İnsan embriyogenezinde, dördüncü haftanın başlarında ara mezodermin ventral tarafa göçüyle birlikte ürogenital kabartı meydana gelir ve bu yapıdan üriner sistem ile genital sistem gelişimini sürdürür. Böbrekler embriyolojik olarak üç ardışık yapıdan köken alır: pronefroz, mezonefroz ve metanefroz. Bu yapılar cranialden caudale doğru sıralanır.

Pronefroz, insanda işlevsel olmayan geçici bir yapıdır ve dördüncü haftanın sonunda tamamen ortadan kalkar. Onun ardından gelişen mezonefroz, kısa bir süre için geçici böbrek işlevi görür. Üst torakal ve üst lumbal (L3 seviyesine kadar) segmentlerin intermediate mezoderminden türeyen mezonefroz, dördüncü haftanın başında ilk boşaltım tübüllerini oluşturmaya başlar. Bu tübüller zamanla uzayarak S harfi şeklinde bir yapı kazanır. Medial uzantılarında gelişen kapiller ağ glomerül yapısını meydana getirir. Mezonefrik tübüller bu glomerüllerin etrafını sararak genişler ve Bowman kapsülünü oluşturur. Bu iki yapı birlikte corpusculum renale olarak adlandırılır (21). Mezonefrik tübüller, mezonefrik kanalla birleşir; bu kanal da caudal yönde uzayarak kloakaya açılır. Birinci trimesterin sonunda mezonefroz gerileyerek ortadan kalkar. Ancak erkek embriyosunda bazı mezonefrik tübüller genital yapıların gelişimine katkı sağlar; dişilerde ise bu yapılar tamamen kaybolur (22).

Kalıcı böbrek yapısı olan metanefroz, beşinci gebelik haftasında ortaya çıkar. Metanefroz, mezoderm kökenli iki ana yapının etkileşimiyle şekillenir: üreter tomurcuğu (veya metanefrik divertikulum) ve metanefrik blastem. Üreter tomurcuğundan üreter, pelvis renalis, calyx renalis major ve minörler ile toplayıcı kanallar gelişirken; metanefrik blastemden nefronlar oluşur (21). Yeni oluşan toplayıcı tübüllerin uçları, metanefrik dokunun oluşturduğu kapakçıklarla örtülür. Bu kapakçık yapılar, blastem hücrelerinin farklılaşmasını uyararak renal veziküllerin gelişmesine neden olur. Zamanla uzayarak S şekli alan bu yapılar, proksimal uçlarında glomerül gelişimini başlatır, distal kısımlarından ise tübül yapıları oluşur. Böylece glomerül ve tübül birleşerek nefronun temel boşaltım birimini meydana getirir. Glomerülün çevresinde gelişen Bowman kapsülü, tübülün distal ucu ile toplayıcı kanalları birleştirir. Tübüllerin farklı segmentlere ayrılmasıyla tubulus proximalis, Henle kulbu ve tubulus distalis bölümleri gelişir (22).

Nefron oluşumu doğuma kadar sürerken, böbrekler yaklaşık 9. gebelik haftasından itibaren idrar üretmeye başlar. Ancak böbreklerin işlevsel olgunluğa ulaşması ve lobüllü

yapısının kaybolarak erişkin morfolojisine ulaşması doğum sonrası dönemde gerçekleşir (21)(Şekil 1).

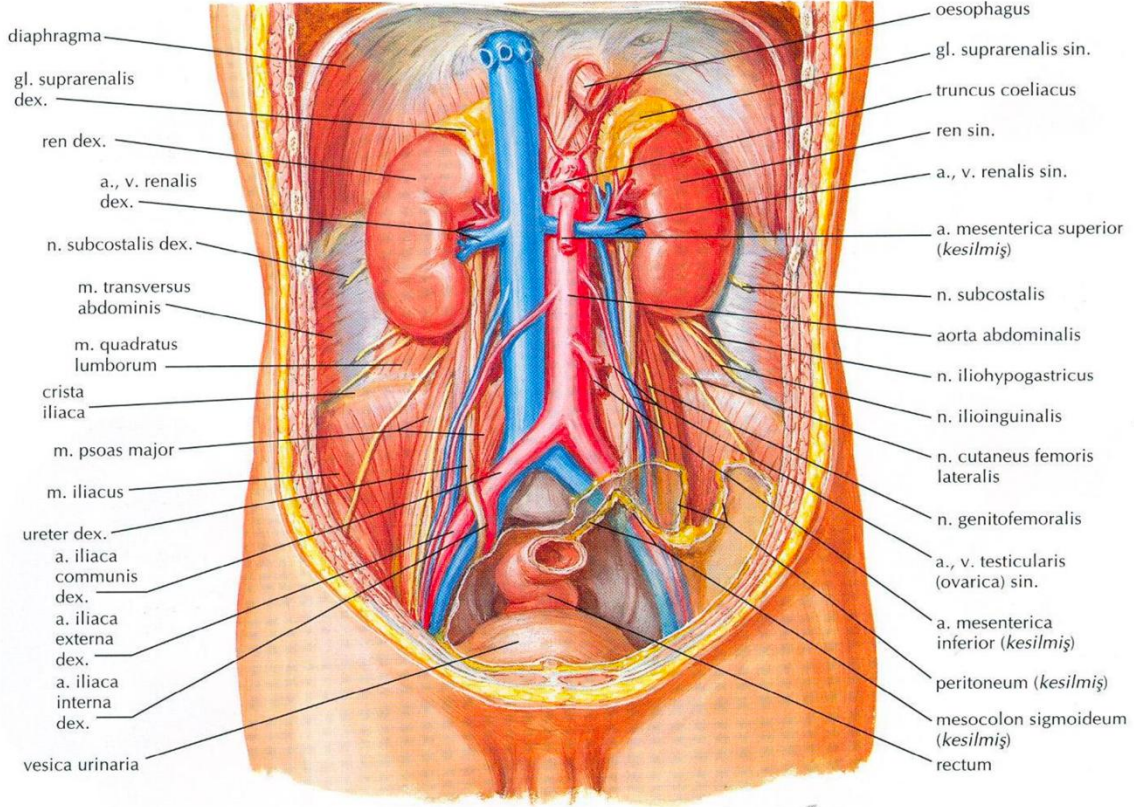


Şekil 1. Kalıcı böbreğin gelişimi. A, Üreter tomurcuğunu, metanefrozun ilkel yapısını gösteren 5 haftalık bir embriyonun yan görünümü. B ila E, Üreter tomurcuğunun gelişimindeki ardışık aşamalar (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

2.2. Böbreğin Anatomisi

Böbrekler, columna vertebralis'in her iki yanında, abdominal boşluğun üst ve arka bölümünde, ekstraperitoneal bağ doku içerisinde yerleşmiş organlardır. Fasulye şeklinde olan bu organlar, yetişkin bireylerde ortalama 130-150 gram ağırlığında olup, yaklaşık olarak 11,5 cm uzunluğa, 6 cm genişliğe ve 2,5 cm kalınlığa sahiptir. Renkleri kırmızı-kahverengimsi tonlardadır. Sol böbrek, anatomik olarak orta hatta sağ böbreğe göre daha yakın, daha uzun ve daha incedir. Sağ böbreğin üst ucu yaklaşık olarak T12 vertebra seviyesinde, alt ucu ise L3 vertebra hizasında bulunurken; sol böbreğin üst ucu T11, alt ucu ise L2 vertebra seviyesindedir. Karaciğerin sağ böbrek üzerindeki baskısı nedeniyle sağ böbrek, sol böbreğe kıyasla biraz daha aşağıda yer alır (23). Böbreklerin alt ucu ile crista iliaca arasında ortalama 2,5 cm'lik bir mesafe bulunmaktadır (24).

Her iki böbreğin iki yüzü, iki kenarı ve iki ucu vardır. Öne ve dışa bakan yüzeyine facies anterior, arkaya ve içe bakan yüzeyine facies posterior; dış taraftaki konveks kenarına margo lateralis, iç tarafta yer alan konkav kenarına ise margo medialis adı verilmektedir. Ayrıca, böbreğin üst ucu extremitas superior, alt ucu ise extremitas inferior olarak adlandırılır (23). Anatomik yerleşim itibarıyla böbreklerin üst uçları, alt uçlarına göre birbirine daha yakın mesafededir (23, 24)(Şekil 2).



Şekil 2. Karın arka duvarında böbreklerin pozisyonu (25).

2.2.1. Böbreğin komşulukları

Columna vertebralis'e paralel şekilde uzanan aorta, sol böbreğe yaklaşık 2,5 cm mesafede konumlanmıştır. Sağ böbreğin üst iç kısmında ise vena cava inferior (VCI) yer almaktadır. Her iki böbrek arasında plexus coeliacus adlı sinir ağı bulunur. Columna vertebralis'in karın boşluğuna doğru oluşturduğu eğim nedeniyle böbreğin medial kenarı, lateral kenarına oranla daha anterior pozisyonda yer alır (24).

Facies anterior: Konveks yapıya sahip olan böbreğin ön yüzeyleri, öne ve hafifçe dışa doğru yönelmiştir. Sağ ve sol böbreklerin ön yüz komşuluk ilişkileri birbirinden farklıdır (23). Sağ

böbreğin ön yüzeyinin üst medial bölümünün küçük bir kısmı glandula suprarenalis dextra tarafından örtülmektedir. Üst kısımdaki geniş alan karaciğerin sağ lobu ile temas halindeyken, alt bölümün dış kısmı flexura coli dextra ile komşudur. Medial yüzeyin üst bölümünde duodenum' un ikinci parçası olan pars descendens yer almakta, alt uç ise ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk kurmaktadır. Ayrıca, medial kenarın iç tarafı vena cava inferior ile komşudur. İnce bağırsak ve karaciğerle olan temas alanlarında periton mevcuttur, diğer komşuluk bölgelerinde ise periton bulunmaz ve bu alanlar fascia renalis' e yapışıktır.

Sol böbreğin ön yüz komşuluk ilişkileri ise farklılık göstermektedir. Üst medial bölüm kısmen glandula suprarenalis sinistra tarafından örtülmüştür. Ön yüzün üst kısmının medial tarafı mide ile, lateral kısmı dalak ile, orta bölümü hilum renale'den lateral yönde pankreas ile komşudur. Alt kısmın laterali flexura coli sinistra, medial kısmı ise intraperitoneal yerleşimli jejunum kıvrımları ile ilişkilidir. İnce bağırsak, mide ve dalak ile olan komşuluk bölgelerinde periton bulunurken, diğer komşuluk bölgeleri peritonsuzdur ve fascia renalis ile ilişkilidir (23).

Facies posterior: Böbreklerin arka yüzey komşulukları büyük ölçüde benzerdir. Alt üçte ikilik bölüm, içten dışa doğru sırasıyla musculus (m.) psoas major, m. quadratus lumborum ve m. transversus abdominis ile komşudur. Üst kısımlar ise diyafram ile ilişkilidir. Ayrıca, vena (v.), arteria (a.) ve nervus (n.) subcostalis ile birlikte n. iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis, diyafram aracılığıyla recessus costodiaphragmaticus'un küçük bir kısmıyla komşudur. Sağ böbreğin karaciğer nedeniyle daha aşağıda yer alması sebebiyle sadece 12. costae ile komşuyken, sol böbrek hem 11. hem de 12. costae ile temas halindedir.

Margo lateralis: Medial kenara oranla daha kalın olan bu kenar, posteriora ve superiora yönelen konveks bir yapıya sahiptir. Sağ böbreğin lateral kenarı peritonla örtülü olup sol böbreğin de lateral kenarının üst bölümü peritonla kaplıdır ve dalakla komşuluk kurar.

Margo medialis: Orta kısmı konkav, uçları konveks olan bu kenarda vertikal doğrultuda yer alan girinti hilum renale olarak adlandırılır. Bu anatomik yapıda, önden arkaya doğru sıralanmış şekilde v. renalis, 2-3 dal halinde a. renalis, üreter ve a. renalis'in bir dalı bulunur.

Extremitas superior: Böbreğin üst ucu, alt ucuna göre hem daha kalın hem de iki böbrek arasında daha kısa mesafededir. Bu uç üzerine gl. suprarenalis yerleşmiştir.

Extremitas inferior: Üst uçlara kıyasla daha ince ve daha küçük olan bu uçlar, birbirinden daha uzak bir konumda yer alırlar (23).

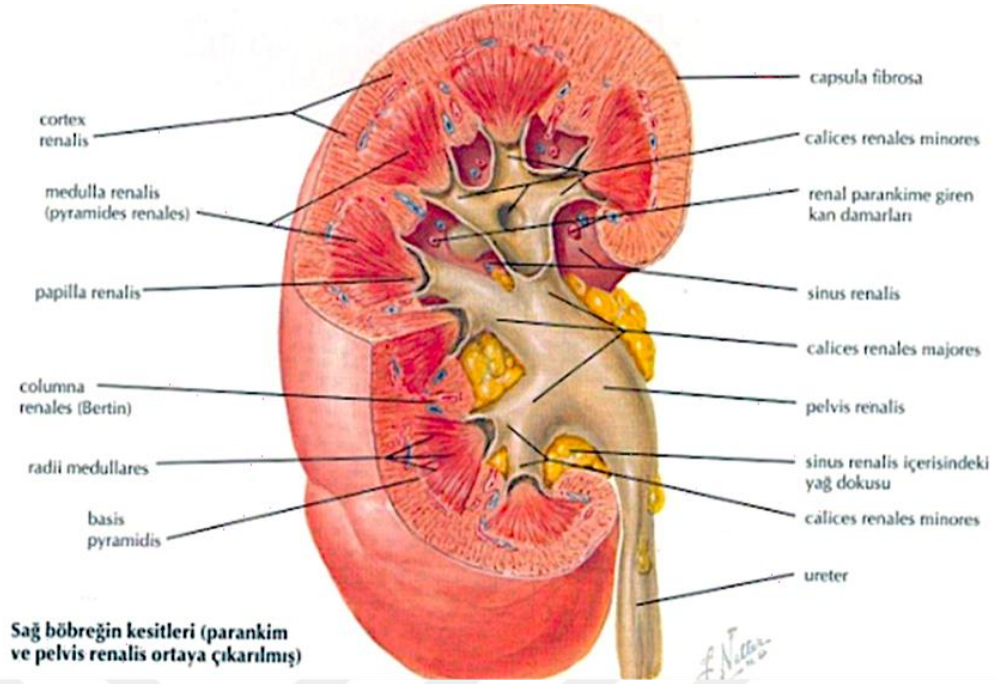
2.2.2. Böbreğin yapısı

Böbrek, yapı ve işlev bakımından iki ana bölüme ayrılır: medulla renalis ve cortex renalis. Böbreğin ortasında yer alan ve hilum renale' ye açılan, böbrek şekline uygun boşluk sinus renalis olarak adlandırılır (23, 26). İdrarın oluşumunda görevli yapılar cortex renalis'te, idrarın iletiminde görev alan toplayıcı kanallar ise medulla renalis içerisinde yer almaktadır.

Medulla renalis: Bu bölüm, idrarı taşıyan toplayıcı kanallardan oluşmakta olup, koyu kırmızı renkte ve konik şekilli yapılardan meydana gelir. Bu yapılara pyramis renalis adı verilir ve her böbrekte genellikle 8-10 adet olmakla birlikte bu sayı bazen 18-20'ye kadar çıkabilir. Her bir pyramis renalis'in geniş taban kısmı böbreğin margo lateralis'e, tepesi ise sinus renalis'e yönelmiştir. Tepede yer alan bu uç bölgelere papilla renalis denir. Her papilla renalis, 1 ila 3 adet calyx minor'a açılır. Böbrekteki pyramis renalis sayısı, böbrek loblarının sayısını da belirler. Bir lob, bir pyramis renalis ve onu çevreleyen cortex renalis dokusundan oluşur.

Cortex renalis: Bu yapı, papilla renalis hariç olmak üzere pyramis renalis'lerin çevresini saran ve idrarın oluşumundan sorumlu olan böbrek dokusudur. Ayrıca, iki pyramis renalis arasında yer alan kortikal uzantılara columna renalis adı verilir.

Sinus renalis: Hilum renale'nin böbrek içerisinde devam eden kısmını oluşturan boşluktur. Bu alanda, pelvis renalis'in üst segmenti, calyx renalis'ler, böbreğe ait damar yapıları ve bu yapılar arasındaki yağ dokusu yer alır. İdrar taşıma sistemi şu şekilde düzenlenmiştir: 1 ila 3 adet papilla renalis, 1 adet calyx minor'a açılır; birkaç calyx minor birleşerek calyx major'u oluşturur; bu yapılar da birleşerek pelvis renalis' i meydana getirirler (Şekil 3).

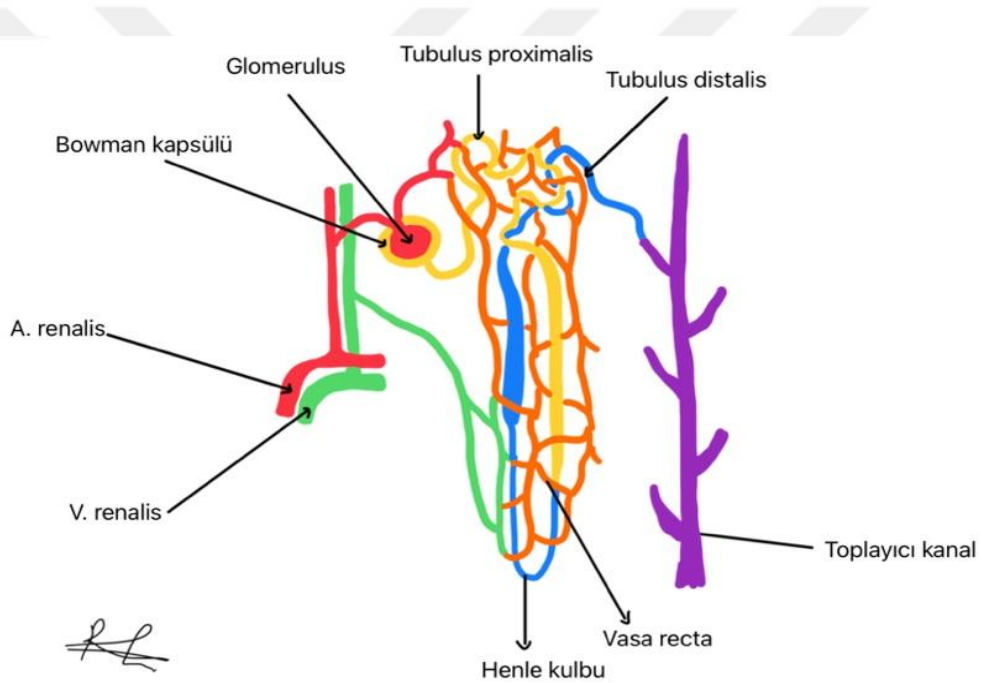


Şekil 3. Böbreğin iç yapısı (25).

2.2.3. Böbreğin kanal sistemi

Glomerulus'ta süzülen idrar, çeşitli kanalcıklardan geçerek papilla renalis'te bulunan foramen papillare adlı açıklıklardan calyx'e dökülür. Bu süzülmenin başladığı yerden calyx'lere kadar olan kanal sistemine tubulus renalis adı verilir. Tubulus renalis iki ana bölümden oluşur. İlk bölüm olan idrar kanalcıkları, kandan süzülerek oluşan idrarın işlenmesini sağlar ve nefrojen dokudan gelişir. Bu yapı Bowman kapsülü ile başlar. Kapsül içerisinde glomerulus adı verilen damar yumağı yer alır. Glomerulus ve onu çevreleyen Bowman kapsülü birlikte corpusculum renale (böbrek cisimciği) olarak adlandırılır. Böbreğin korteksinde bulunan pars convoluta bölgesinde yaklaşık 1.250.000 adet corpusculum renale yer alır. Corpusculum renale'nin damar giriş-çıkış noktası polus vascularis, süzülen idrarın çıktığı uç ise polus tubularis olarak adlandırılır. Her Bowman kapsülünden tek bir idrar kanalcığı başlar ve bu kanallar böbrek dokusu içinde kıvrılarak ilerler, sonunda toplayıcı kanallara bağlanır. Bu kanallar boyunca bazı daralma ve genişlemeler görülse de birbirleriyle birleşmezler. Bu bölümde glomerulus'ta oluşan ilk idrarın büyük bir kısmı tekrar emilerek kana karışır. Her bir corpusculum renale ve ona bağlı idrar kanalcığı bir nefron birimini oluşturur ve her böbrekte ortalama 1.250.000 nefron bulunur (Şekil 4). Tubulus renalis'in ikinci kısmını oluşturan toplayıcı kanallar, üreter tomurcuğundan köken alır. Bu kanallar, böbreğin medulla bölgesinde yani pyramis renalis ve pars radiata içinde bulunur. Görevleri yalnızca idrarın iletimidir; bu bölümde idrarın bileşimi

değişikliğe uğramaz. İdrar kanalcıkları bu yapılara açılır, toplayıcı kanallar ise birleşerek daha büyük çaplı toplayıcı kanalları oluşturur. Bu geniş kanallar, papilla renalis'teki 10 ila 25 adet foramen papillare aracılığıyla calyx minor'lara açılır. Her böbrekte bu açıklıkların sayısı yaklaşık 116 ila 776 arasındadır. Calyx minor'lar, huni şeklinde yapılardır ve papilla pyramidalis'in kenarlarına oturur. Böylece papilla renalis, calyx minor içine doğru uzanır. Bazı calyx minor'lar birden fazla papillayı sarabilir, bu nedenle sayıları papillalardan daha az olabilir. Birkaç calyx minor birleşerek calyx major'ları oluşturur. Bu yapılar da pelvis renalis'e açılır. Calyx major ve minor yapıları sinus renalis içinde yer alır. Pelvis renalis, kısmen bu boşluk içinde, kısmen de dışında yer alır. Önden arkaya basık huni şeklindeki bu yapı, L1 omuru hizasında üreter ile birleşerek idrarın alt üriner sisteme taşınmasını sağlar (23).



Şekil 4. Nefronun yapısı (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

2.3. Nefrotoksisite

Pek çok madde böbrekler üzerinde toksik etkilere neden olabilmektedir. Bu maddeler arasında çeşitli ilaçlar, ağır metaller, organik kimyasallar, hemoglobin, miyogloblin ve hatta yılan zehiri yer almakta; bu tür maddelere bağlı olarak gelişen nefrotoksisite vakaları literatürde bildirilmektedir (27,28). Türkiye'de ve dünya genelinde böbrek hastalıklarına sahip birey sayısı giderek artış göstermektedir. Bu artışta en önemli risk faktörlerinden biri nefrotoksik ilaçların kullanımınıdır (29). Özellikle sitotoksik etkileriyle bilinen kemoterapötik ajanlar, en

sık nefrotoksisiteye yol açan ilaç grupları arasında yer almaktadır (30). Bu ilaçlardan biri olan Cis, nefrotoksisiteye neden olan güçlü bir kemoterapötik ajandır. Cis'in vücuttan atılımının %90'ından fazlası böbrekler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Böbreklerin yüksek perfüzyon oranına sahip olması, tübül lümeninde çeşitli maddeleri yoğunlaştırmaları ve metabolik aktivitelerinin yüksek olması gibi fizyolojik özellikleri, Cis'in renal dokuda birikimine neden olabilmektedir. Bu birikim, böbreklerde toksik hasarın gelişmesine ve sonuç olarak nefrotoksisitenin ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır.

2.4. Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalması ve bu hücrelerin vücudun farklı bölgelerine yayılmasıyla karakterize edilen ciddi bir hastalıktır (31). Bu hastalığın ortaya çıkmasında pek çok etken rol oynamaktadır. En yaygın nedenler arasında serbest oksijen radikalleri, çeşitli virüsler, güneş ışığına uzun süreli maruziyet, tütün kullanımı, bazı ilaçlar, hormonal dengesizlikler, alkol tüketimi, parazitler, mantarlar ve bakteriyel etkenler yer almaktadır (32,33). Kanser, dünya genelinde en önemli halk sağlığı problemlerinden biri olmayı sürdürmektedir (34).

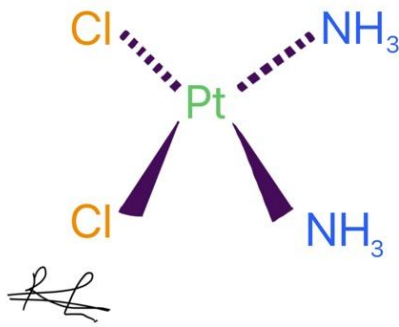
Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan verilere göre, dünya genelinde hem kansere bağlı ölümlerin hem de yeni vaka sayılarının sırasıyla yaklaşık 1,6-1,7 kat artarak 16,4 milyon ve 29,5 milyona ulaşması öngörülmektedir. Bu öngörüler, kanserin küresel düzeydeki yaygınlığına ve halk sağlığı üzerindeki etkisine işaret etmektedir. Bu nedenle, günümüzde kanserle mücadele kapsamında yoğun bilimsel çalışmalar yürütülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2018 yılında yayımladığı "Kanser İlaçlarının Fiyatlandırılması ve Etkileri" başlıklı rapora göre, 2012 yılında dünya genelinde kanser tedavisi ve destekleyici bakım hizmetlerine yönelik harcama miktarı 90,9 milyar ABD doları iken, bu rakam 2017 yılında 133 milyar ABD dolarına yükselmiştir. Söz konusu harcamalar incelendiğinde, yıllık ortalama büyüme oranının %7,9 olduğu belirtilmektedir (35). Bu denli büyük bütçeler ayrılmasına rağmen, kanser insan sağlığını tehdit eden en önemli nedenlerden biri olmaya devam etmektedir.

Kanser tedavisinde çeşitli yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında radyoterapi, hedefe yönelik tedaviler, hormon tedavisi, immünoterapi, cerrahi müdahaleler ve kemoterapi yer almaktadır. Kemoterapide temel amaç, kemoterapötik ajanlar aracılığıyla kanser hücrelerinin yok edilmesidir. Bu tedavi yönteminde kullanılan pek çok kemoterapötik ilaç bulunmaktadır ve bu ilaçlardan biri de alkilleyici etkiye sahip olan Cis'tir (36).

Kemoterapi, genellikle tek başına veya birden fazla alkilleyici ya da farklı gruplardan kemoterapötik ajanlarla birlikte uygulanan etkili bir tedavi yöntemidir (31). Antifolat ilaçların kullanımı, 1940'lı yıllarda nitrojen mustard'ın terapötik amaçla kullanılmaya başlanmasıyla birlikte gündeme gelmiştir. Zamanla kemoterapi alanında pek çok farklı ilaç geliştirilmiş ve bunların diğer tedavi stratejileriyle kombinasyonları ilgi odağı olmuştur (37). Cis'in farklı kemoterapötik ajanlarla kombine kullanımı, radyoterapi ile uygulanması ya da cerrahi tedavilerle entegre edilmesi, bu kombine tedavi yaklaşımlarına örnek olarak verilebilir (38).

2.5. Sisplatin

Cis, platin içeren ilk metal bazlı kemoterapötik maddelerden biridir (31,39). Cis'in kimyasal yapısı Şekil 5' te gösterilmiştir.



Şekil 5. Cis'in kimyasal yapısı (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

Cis, ilk olarak 1844 yılında Michele Peyrone tarafından sentezlenmiş olup, 1893 yılında Alfred Werner tarafından yapısal olarak tanımlanmıştır. Ancak bu bileşiğin bilimsel araştırmalarda kullanımı 1960'lı yıllarda başlamıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda Cis'in *Escherichia coli* bakterisinde hücre bölünmesini durdurduğu gözlemlenmiştir. Bu gözlem, platin elektroliz ürünlerinin antineoplastik özelliklerine yönelik araştırmalara olan ilgiyi artırmıştır. Cis'in bu etkilerinden sorumlu olduğu anlaşılınca, platin ve paladyum gibi soy metallerin kanser tedavisinde kullanımı yaygınlaşmıştır (40).

Günümüzde Cis hem insan hekimliğinde hem de veteriner hekimlikte aktif olarak kullanılan önemli bir antineoplastik ajan konumundadır (42). Kanserinin günümüzde en yaygın sağlık sorunlarından biri olması, Cis'in bu alandaki önemini artırmaktadır (40). Dünya genelinde yaklaşık 2 milyar ABD doları değerinde platin bazlı antineoplastik ilaç satışı yapılmakta ve bu ilaçların yaklaşık yarısı Cis içermektedir (31). Cis, yalnızca ilk FDA onayı

alan platin bileşigi olmakla kalmayıp, aynı zamanda diğer metal ve platin bazlı antikanser ilaçların geliştirilmesinde de öncü rol oynamıştır (40).

Klinik kullanımları açısından Cis, özellikle pediatrik nöroblastom, beyin tümörleri, germ hücreli tümörler, osteosarkom ve hepatoblastom tedavisinde yüksek etkinlik göstermektedir (38). Ayrıca baş-boyun tümörleri, sarkomlar, kemik, kas ve damar kaynaklı kanserler, mesane, akciğer, rahim ağzı kanseri ile malign melanom gibi çeşitli malignitelere etkinliği klinik olarak kanıtlanmıştır (31,40). Ancak Cis'in tek başına kullanımı oldukça nadirdir ve genellikle diğer kemoterapötik ilaçlarla birlikte kombinasyon halinde uygulanmaktadır (38). İlaç direnci ve yan etkilerin önlenmesi amacıyla yapılan bu kombinasyonlar, yeni terapötik yaklaşımlar arasında değerlendirilmektedir (40). Cis'in kombinasyon tedavilerinde kullanımı, özellikle böbrekler yoluyla atılan ilaçlarla birlikte olduğunda dikkat gerektirir. Renal eliminasyonun temel olduğu durumlarda doz ayarlaması dikkatle yapılmalıdır. Cis'in radyoterapiyle birlikte kullanımı, özellikle serviks ve boyun kanserlerinde, tek başına radyoterapiye kıyasla daha olumlu sonuçlar vermiştir. Ayrıca Cis, florourasil ile birlikte uygulandığında baş-boyun, mesane, endometriyum ve serviks kanserlerinde sinerjik etkiler oluşturur (38). İlaç uygulama yolları arasında intravenöz (i.v.), intraarteriyel (i.a.) ve intraperitoneal (i.p.) uygulamalar yer almaktadır (38). Genellikle Cis her 3-4 haftada bir i.v. olarak uygulanmakta, tek doz ya da bölünmüş doz rejimleri tercih edilmektedir. Uygulanan doz sıklıkla 50-120 mg/m² aralığında olup, doz artışı ilacın etkinliğini artırsa da beraberinde toksisite riskini de yükseltmektedir (43).

2.5.1. Sisplatinin etki mekanizması

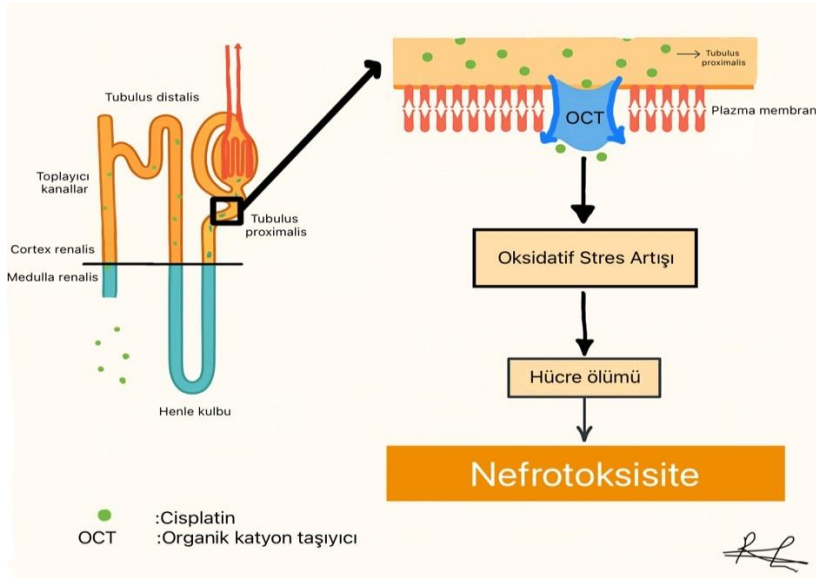
Cis, çeşitli hücrel mekanizmalar üzerinden antineoplastik etkiler gösteren güçlü bir sitotoksik ajandır (31). Sitotoksitesinin temelinde, pürin DNA bazlarına kovalent bağlar oluşturarak DNA'nın normal işlevini bozması ve hücre döngüsünü G2/M fazında durdurarak onarım mekanizmalarını tetiklemesi yer almaktadır (38). Antineoplastik etkinin temel mekanizmasının, Cis moleküllerinin doğrudan DNA'ya bağlanması ve DNA sentezini geçici olarak inhibe etmesi olduğu düşünülmektedir (44,45). DNA replikasyonunun inhibisyonu, Cis'in DNA zincirleri arasında ve aynı zincir üzerinde oluşturduğu eklentiler yoluyla gerçekleşir (38). Cis hücre içine girdikten sonra klorür iyonlarını kaybederek, DNA bazlarıyla çapraz bağlar oluşturur (46). Bu bağlar sayesinde platin çekirdeğinin sabit bağ açıları nedeniyle DNA, ilaca uyum sağlamak adına bükülür (38). Platin iyonuna bağlı amin grupları güçlü şekilde bağlı kalır ve çapraz bağ oluştuğunda bu yapılar yerinden ayrılmaz (46). Cis'in

DNA ile oluşturduğu bu çapraz bağlar, onun antiproliferatif etkisinin temelidir (38). Çoğunlukla guanin ve adenin bazlarının aynı DNA zincirinde yan yana geldiği bölgelerde çapraz bağlar oluşur; nadiren ise iki DNA zinciri arasında bağlanma gerçekleşir (46).

Bu bağlanmalar sonucunda platin-DNA eklentileri ve çeşitli bifonksiyonel DNA lezyonları meydana gelir (45). Zincir içi çapraz bağlarda Cis genellikle DNA üzerindeki deoksiguanozin N7 pozisyonunu hedef alır (38). En yaygın çapraz bağlar arasında guanin-guanin (platin-GG) ve guanin-adenin (platin-AG) eklentileri yer alır. Bu iki lezyon olan N7-d(GPG) ve N7-d(APG), Cis kaynaklı DNA hasarının %80'inden fazlasını oluşturur ve bu lezyonlar hücre ölümü ile DNA çift sarmalının yapısal deformasyonlarıyla ilişkilendirilir (38). Cis ayrıca zincirler arası çapraz bağlar (d(X)-d(X)) da oluşturur; ancak bu bağların biyolojik önemi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (38). Bu eklentiler, DNA'nın kopyalanması ve okunmasında ciddi bozulmalara yol açmakta, hücre proliferasyonunu engelleyerek apoptoz sürecini tetikleyebilmektedir (45,46). Cis hücre içine alındığında hücre içi klorür yoğunluğunun düşük olması nedeniyle klorür iyonları ayrılır ve yerine geçici olarak su molekülleri bağlanır. Bu durum, ilacın reaktif hale gelerek DNA gibi nükleik asitlerle etkileşimini kolaylaştırır. Ancak aktifleşen her 10 Cis molekülünden yalnızca biri çekirdeğe ulaşabilirken, diğerleri plazma proteinlerine bağlanır. Cis'in etkisine karşı kanser hücrelerinde gelişen direnç mekanizmaları da önemli bir klinik sorundur. Hücreler, özellikle bakır taşınım sistemlerini kullanarak Cis'in hücre çekirdeğine ulaşmasını engelleyebilir. DNA ile etkileşim sonrasında ise nükleotid eksizyon onarım mekanizmaları devreye girer. Bunun yanında, apoptozu tetikleyen proteinlerde meydana gelen değişiklikler de tedaviye dirençte rol oynayabilir (46).

Cis tedavisinin en önemli yan etkileri arasında nefrotoksisite, hepatotoksisite ve nörotoksisite yer alır (38,42). En önemli doz sınırlayıcı toksisite ise nefrotoksisitedir. Bu etki, mannitol ile diürez uygulanarak ya da 24 saatlik infüzyonla azaltılabilse de uzun dönem kullanımlarda böbrek fonksiyonlarını tehdit edebilmektedir (47,48). Nefrotoksisitenin temel nedeni, cis izomer formundaki platinin böbrek hücrelerinde birikmesidir. Cis izomeri nefrotoksik etki gösterirken, trans izomer bu etkiye sahip değildir ve antineoplastik aktivite göstermemektedir (38,49). Cis'in nefrotoksik etkisi uygulanan doza ve dozun zamanlamasına göre değişiklik göstermektedir. 50 mg/m² ve üzeri dozlarda, tek seferlik veya tekrarlayan uygulamalarda, hastaların üçte birinde böbrek hasarı raporlanmıştır. 50–75 mg/m² aralığında yapılan tek doz uygulamalar genellikle hafif ve geri dönüşümlü hasarlara neden olurken, yüksek dozlarda ve tekrarlayan tedavilerde hasar daha şiddetli ve kalıcı olabilir. Hatta bazı çalışmalar, 40 mg/m² altında bile nefrotoksisite gelişebileceğini göstermektedir (49). Cis'in

%90'ından fazlası böbrekler yoluyla atılır; bu da böbreklerde ilacın birikmesine neden olur. (31)(Şekil 6). Yapılan çalışmalarda, özellikle böbreğin proksimal ve distal tübülleri ile toplayıcı kanallarda yapısal değişikliklerin meydana geldiği raporlanmıştır (43). Plazma platin düzeylerinin nefrotoksisite ile korelasyon göstermesi, bu değer riski açısından belirteç olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir (42). Cis'in glomerüler filtrasyon hızını aşan bir hızla atılması, renal tübül hücrelerde birikmesine ve bu yolla toksisiteye neden olmasına yol açmaktadır (47). Nefrotoksisitenin olduğu başlıca bölge insanlarda proksimal tübüllerin üçüncü segmenti olarak belirtilse de bazı çalışmalarda distal tübüllerin ve toplayıcı kanalların daha fazla etkilendiği öne sürülmüştür. Yine bu durum, böbrek medullasında tübül kistik dilatasyonlar, kortikal bölgede ise tübül atrofisi şeklinde gözlemlenebilir. Hücresel düzeyde ise hücresel atipi, hiperkromatik çekirdekler, tübül dilatasyon ve nekroz gibi bulgular rapor edilmiştir (49). Proksimal tübül hücrelerinin ölümü, sıklıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) aracılığıyla gerçekleşir. Yüksek dozda Cis nekroza, düşük dozlarda ise apoptoza neden olabilir. Mitokondriyal disfonksiyonun da ROS aracılığıyla bu sürece katkıda bulunduğu düşünülmektedir (42). Kreatinin klirensinde azalma ve serum kreatinin, ürik asit ile kan üre azotu (BUN) düzeylerinde artış, nefrotoksisitenin biyokimyasal göstergeleri olarak kabul edilir. Hidrasyon tedavisi ile bu etkiler kısmen azaltılabilir de tam bir koruma sağlamamaktadır (31).



Şekil 6. Cis'in nefrotoksisite mekanizması (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir.).

2.6. Oksidatif Stres

Canlı organizmalar, yaşamlarını sürdürebilmek için antioksidan savunma sistemleri ile ROS arasındaki dengeyi korumak zorundadır (51). Ancak çeşitli içsel ve çevresel faktörlere bağlı olarak organizmalar ROS üretmektedir. Bu reaktif moleküllerin üretiminin antioksidan savunma kapasitesini aşması durumunda, hücrelerde "oksidatif stres" adı verilen durum ortaya çıkmaktadır (52). Oksidatif stresin; Cis kaynaklı nefrotoksisite başta olmak üzere böbrek hastalıkları, gebelik komplikasyonları, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi pek çok patolojik durumda rol oynadığı bilinmektedir (42,53-55).

Oksidatif stresin varlığını ve şiddetini saptamak amacıyla çeşitli biyokimyasal belirteçlerden yararlanılmaktadır. Bu belirteçler, oksidatif durumun düzeyini ortaya koymakta olup, seviyelerindeki artış oksidatif stresin varlığına işaret etmektedir. Bu kapsamda en sık kullanılan belirteçlerden biri malondialdehit'tir (MDA). MDA, hücresel lipidlerin peroksidasyonu sonucu oluşan bir ürün olup, lipid peroksidasyonunun (LPO) değerlendirilmesinde yaygın olarak analiz edilmektedir (56). Bir diğer önemli belirteç ise indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimidir. Bu enzim, nitrik oksit (NOx) üretimini artırmakta ve özellikle ROS ile etkileşime girerek hücresel hasara neden olabilecek reaktif türlerin oluşumuna katkı sağlamaktadır (57). Oksidatif stres aynı zamanda bağışıklık sisteminin proinflamatuvar yanıtlarını da tetiklemekte; bu durum başta interlökin-1 beta (IL-1 β) olmak üzere çeşitli sitokinlerin salınımında artışa yol açmaktadır (58,59).

2.7. Serbest Radikaller

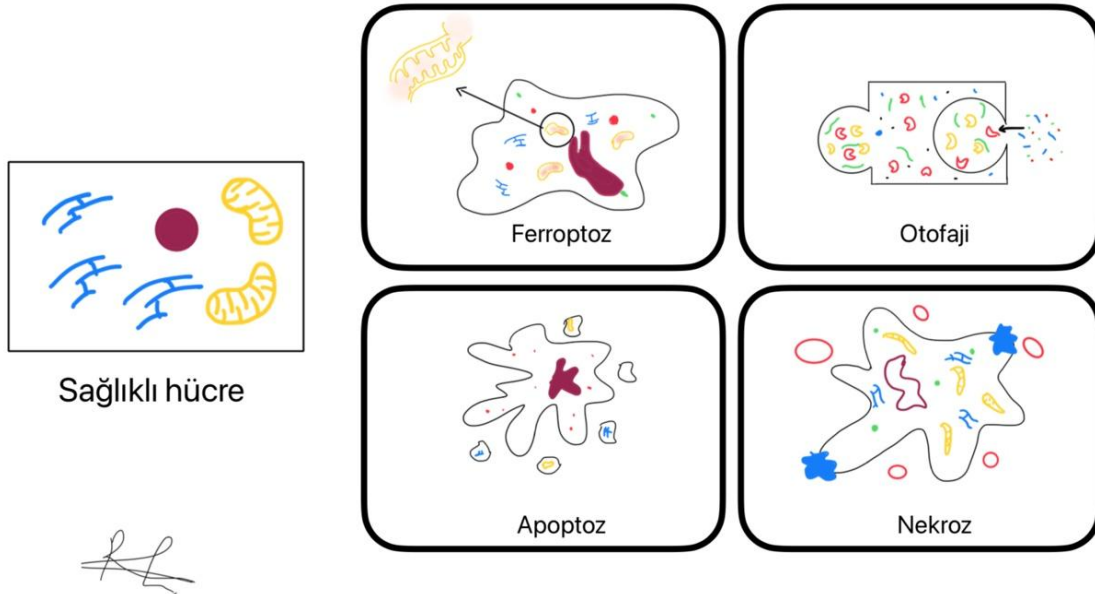
Normal koşulların dışında, bazı atom ve moleküler yapılarında eşleşmemiş elektronlar bulundurulur. Bu özelliğe sahip moleküller genel olarak serbest radikaller olarak tanımlanır (60). Serbest radikallerin yüksek reaktivitesi, yapılarındaki eşleşmemiş elektronlardan kaynaklanmaktadır. Bu tür moleküller, farklı kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşabilmekte ve çeşitli elementlerden türetilmektedir (54,61). Eşleşmemiş elektronlar, serbest radikallerin diğer moleküllerle kolaylıkla etkileşime girme eğilimini artırarak onları oldukça reaktif ve kararsız hâle getirmektedir. Oksijenin hücresel metabolizması sırasında ROS meydana gelmektedir. Bu türler, moleküler oksijene (O₂) kıyasla daha yüksek reaktiviteye sahiptir. En bilinen ROS bileşikleri arasında hidroksil radikali (\bullet OH), süperoksit anyonu (O₂ \bullet^-), singlet oksijen (¹O₂), nitrik oksit (NOx) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) yer almaktadır (60). Bu türler hem hücre içinde normal biyokimyasal süreçlerin bir yan ürünü olarak üretilmekte hem de

dış çevreden gelen uyarılar sonucu ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, ozon (O₃) ve azot dioksit (NO₂) gibi çevresel kirleticilere doğrudan maruziyet, serbest radikal üretimini tetikleyebilmektedir (61). Ayrıca ROS, yalnızca zararlı etkiler oluşturmakla kalmaz; belirli düzeylerde üretildiğinde hücrel homeostazisin sağlanmasında ve bazı hücre içi sinyal yollarının düzenlenmesinde de görev alabilmektedir (54).

2.8. Ferroptoz

Kemoterapötik ajanlar, genellikle apoptoz mekanizmalarını tetikleyerek tümör hücrelerini yok etmeyi hedefler. Ancak kanser hücreleri zamanla apoptoza karşı direnç geliştirebilir ve bu durum tedavinin etkinliğini sınırlayabilir (10). Bu nedenle son yıllarda yapılan araştırmalar, apoptotik olmayan hücre ölüm yollarını inceleyerek ilaç direncini aşmaya yönelik yeni stratejiler geliştirmeye odaklanmıştır. Bu bağlamda dikkat çeken mekanizmalardan biri, yakın geçmişte tanımlanan ferroptozdur.

Ferroptoz; demir bağımlı lipid peroksidasyonu ve artmış oksidatif stres ile karakterize edilen, kontrollü ancak apoptotik olmayan bir hücre ölüm şeklidir. Bu mekanizma, biyokimyasal ve genetik düzeyde apoptoz, otofaji ve klasik nekrozdan farklılık göstermektedir (11). Şekil 7’de hücre ölüm mekanizmaları gösterilmiştir.



Şekil 7. Hücre Ölüm Mekanizmaları (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

Ferroptoz ilk olarak 2012 yılında Dixon ve arkadaşları tarafından, erastin isimli bir bileşiğin fibrosarkoma hücreleri üzerindeki etkilerini araştırdıkları sırada tanımlanmıştır (11). Takip eden araştırmalar, erastin ve diğer bazı antineoplastik bileşiklerin farklı hücre tiplerinde ferroptozu tetikleyebildiğini ortaya koymuştur (63,64).

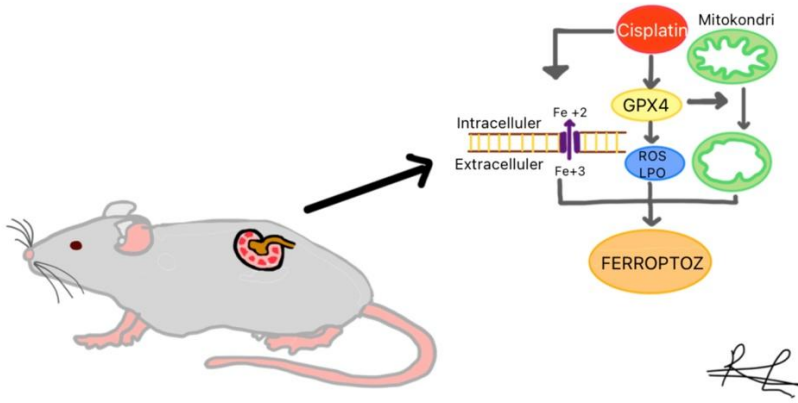
Hücre içinde ROS birikimi, okside edilemeyen lipit, protein ve DNA gibi makromoleküllerde hasara neden olarak hücre ölümünü tetikleyebilir (65,66). Hücredeki antioksidan savunmanın temel bileşeni olan glutatyon, bu reaktif molekülleri etkisiz hale getirerek zararı önler. Dolayısıyla glutatyonun varlığı, hücresel bütünlük açısından kritik öneme sahiptir (67). Glutatyon sentezi için gerekli olan amino asitlerden biri olan sistin, hücre içine xCT transport sistemi aracılığıyla alınmaktadır. Bu sistem, SLC7A11 ve SLC3A2 isimli iki transmembran proteinden oluşmaktadır (68). Araştırmalar, erastinin SLC7A11'i doğrudan inhibe ederek glutatyon üretimini azalttığını ve buna bağlı olarak hücrede ferroptozun gerçekleştiğini göstermiştir (65).

Glutatyon eksikliği ile birlikte artan ROS, hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren lipid moleküllerinin oksidasyonuna neden olur. Oluşan lipid peroksidleri, demir iyonlarının (Fe^{2+}) bulunduğu ortamlarda Fenton reaksiyonu ile daha reaktif türlere dönüşerek hücredeki hasarı artırır ve ferroptotik ölümü tetikler (69,70). Ayrıca, tümör baskılayıcı gen p53, SLC7A11 ekspresyonunu baskılayarak ferroptozu indükleyebilir (71). Kanser hücreleri, sağlıklı hücrelere kıyasla daha fazla demir tüketme eğilimindedir. Bu nedenle, transferrin reseptörü (TfR) düzeylerini artırarak demir alımını hızlandırırken, demir dışı akışını sağlayan ferroportin-1 (FPN1) düzeyini azaltırlar (72). Hücreye transferrin ile giren demir, STEAP3 enzimiyle Fe^{3+} 'ten Fe^{2+} 'ye indirgenir ve DMT1 aracılığıyla labil demir havuzuna yönlendirilir. Fazla demir, ferritinde depolanarak ya da FPN1 aracılığıyla dış ortama atılarak detoksifiye edilir (73,74). Bu bağlamda, artan hücresel demir düzeylerinin, organizmanın adaptif bir hücre ölüm mekanizması olarak ferroptozu kullanmasına zemin hazırladığı düşünülmektedir (75). Ferroptozun düzenlenmesinde görev alan bir diğer protein, hücre içi demir düzeylerine duyarlı olan IREB2'dir. Düşük demir konsantrasyonlarında aktifleşen bu protein, demir metabolizmasına dair mRNA'ların translasyonunu düzenler (76). Dixon ve arkadaşlarının çalışmasında, IREB2 geninin erastin ile tetiklenen ferroptozda önemli bir rol oynadığı ve baskılandığında ferroptozun engellendiği gösterilmiştir. Ferroptotik hücre ölümü bazı özgün morfolojik ve moleküler özellikler ile karakterizedir. Bunlar arasında mitokondri büzüşmesi, dış membran yoğunlaşması, hücre içi lipid peroksid ve demir düzeylerinde artış, GPX4 eksikliği, xCT sistemi inhibisyonu, IREB2 ve ACSF2 gibi genlerdeki transkripsiyonel değişiklikler yer almaktadır (11). Buna karşın, apoptozda

gözlener kromatin yoğunlaşması, kaspaz aktivasyonu veya PARP yıkımı gibi özellikler ferroptozda bulunmaz (77, 78). Ayrıca, ferroptozun mitokondriyal ROS oluşumuna ya da kalsiyum varlığına bağlı olmadığı da belirtilmiştir (11). Ferroptoz, çeşitli inhibitörlerle geri döndürülebilir. Örneğin demir şelatörleri (deferoksamin), antioksidanlar (E vitamini) veya ferrostatin-1 (Fer-1) gibi sentetik bileşikler ile inhibisyon sağlanabilmektedir. Ayrıca, Nrf2 gibi hücreyel transkripsiyon faktörleri de ferroptozu baskılayıcı etki göstermektedir (79, 80). Ferroptotik ölümdede, özellikle PUFA içeren membran lipidlerinin oksidasyonu hem enzimatik hem de non-enzimatik yollarla gerçekleşir. Non-enzimatik oksidasyonda, Fe²⁺ iyonları Fenton reaksiyonu aracılığıyla lipid radikalleri oluşturur ve bu radikaller zincirleme reaksiyonlarla lipid peroksitlerine dönüşür. Bu süreç, hücre membranı geçirgenliğinin geri dönüşümsüz şekilde bozulmasına neden olur (81, 82). Enzimatik oksidasyonda ise lipooksijenazlar (LOX), siklooksijenazlar (COX) ve sitokrom P450 gibi enzimler görev alır. Bu enzimler içinde özellikle ALOX15'in ferroptozda önemli rol oynadığı bildirilmektedir (69). Lipid peroksidasyonunun sonucunda oluşan mutajenik aldehytler arasında en bilinenleri MDA, 4-hidroksihekzenal (4-HHE) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE)'dir. Bu bileşiklerden MDA, özellikle araşidonik asit türevlerinin peroksidasyonu sonucu oluşur ve başta kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok patolojik durumla ilişkilidir (83,84). MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek kırmızı renkli kompleks oluşturur ve bu özelliği nedeniyle ferroptoz araştırmalarında yaygın olarak biyobelirteç olarak kullanılır (85).

Ferroptozun keşfinden sonra yapılan birçok çalışmada, bu hücre ölüm şeklinin çeşitli hastalıklarla ilişkisi araştırılmıştır. Özellikle kanserde, ferroptotik mekanizmaların aktivasyonu ile dirençli hücrelerin ortadan kaldırılması hedeflenmiştir (Şekil 8). Örneğin, bir multi-kinaz inhibitörü olan sorafenib, bazı kanser türlerinde xCT sistemini inhibe ederek ferroptozu açmaktadır (86, 87).

Meme kanseri hücrelerinde siramesin ve lapatinib kombinasyonu, kaspaz inhibitörleri ile engellenemezken ferrostatin-1 ile etkileri inhibe edilmiş, böylece bu bileşiklerin ferroptozu indüklediği gösterilmiştir (88). Ayrıca sulfasalazin gibi ajanlar, kemoterapiye dirençli baş ve boyun kanseri hücrelerinde xCT inhibisyonu yoluyla ferroptozu neden olmakta ve Cis direncini kırabilmektedir (89).



Şekil 8. Ferroptotik yollar (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

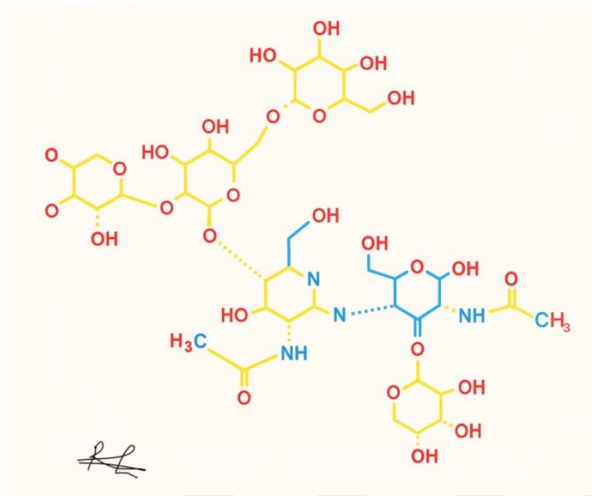
2.9. Antioksidanlar

Oksijen kullanan organizmalar, metabolik aktiviteleri sırasında oluşan ROS'un zararlı etkilerinden korunmak amacıyla çeşitli savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu sistemler genel olarak antioksidan savunma mekanizmaları olarak adlandırılır ve bu mekanizmalarda görev alan bileşiklere antioksidan denir. Antioksidan savunma; serbest radikal üretiminin azaltılması, hüresel antioksidan kapasitenin artırılması ve dış kaynaklı antioksidanların temini olmak üzere üç ana başlık altında değerlendirilmektedir. Bu yöntemler arasında özellikle dışarıdan antioksidan alımı, bilimsel çalışmalarda en çok incelenen stratejilerden biri olmuştur (60). Antioksidan bileşikler arasında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX), katalaz, çeşitli vitaminler ve benzeri birçok enzimatik ve enzimatik olmayan sistem yer almaktadır. Bu bileşiklerin ortak özelliği, serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girerek onları etkisiz hâle getirebilmeleridir. Bu nedenle söz konusu bileşikler, "radikal süpürücü antioksidanlar" olarak da tanımlanmaktadır (60,90). Bu antioksidanlardan SOD, süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikalini hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene dönüştüren, metal iyonları içeren bir enzim grubudur. H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda ise GPX ve katalaz enzimleri önemli rol oynamaktadır (90).

2.9.1. Bromelain

Bro enzimi ilk kez 1981 yılında Marcano tarafından tanımlanmış, ardından Chittenden bu enzimin etki mekanizmasını detaylı biçimde incelemiştir. 1957 yılında Heinecke'nin yaptığı

araştırmalar sonucunda, Ananas comosus bitkisinin kök kısmının meyve kısmına kıyasla daha yüksek oranda Bro içerdiği ortaya konmuştur. Bu bulgu, Bro'nun endüstriyel ölçekte üretimine ve fitoterapötik amaçlarla kullanımına zemin hazırlamıştır. Günümüzde Bro, Ananas comosus'dan elde edilen sıvı ekstraktın santrifüjleme, ultrafiltrasyon ve liyofilizasyon işlemlerinden geirilmeşiyle saflaştırılmaktadır (91). Şekil 9'da kimyasal yapısı gösterilen Bro, yalnızca proteolitik enzimler değil; fosfatazlar, glikosidazlar, peroksidazlar, sellzlar, glikoproteinler, ribonkleazlar ve karbonhidratlar gibi proteaz dışı bileşenleri de içeren karmaşık bir yapıya sahiptir (92).



Şekil 9. Bro'nun kimyasal yapısı (Resimler Rabia FİLİK tarafından çizilmiştir).

Bununla birlikte Bro'nun yapısında bazı proteinaz inhibitörleri de yer almaktadır. Proteinaz fraksiyonları, Bro'nun en aktif bileşenlerini oluşturmakta olup toplam protein içeriğinin yaklaşık %2'sini kapsamaktadır. Bu enzim kompleksinin optimum aktivitesi geniş bir pH aralığında (pH 4.5–8.5) sürmektedir. Bro, hem kök/gövde hem de meyve kısımlarından elde edilmekle birlikte, bu iki kaynaktan elde edilen enzimsel içerikler farklılık göstermektedir (93). Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB), kök/gövde Bro'yu EC 3.4.22.32 numarası ile sınıflandırmış ve sistematik olarak "peptidil peptid hidrolaz" olarak tanımlamıştır. Günümüzde ticari Bro retiminde genellikle kök/gövde kaynaklı form kullanılmaktadır. Elde edilen bulgular, Bro'nun fizyolojik etkilerinin yalnızca tek bir proteolitik bileşene bağlı olmadığını, birçok farklı fraksiyonun birlikte etkili olabileceğini göstermektedir (94). Bro'nun proteaz aktivitesi, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve antiinflamatuvar etkileri ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, tümör hücrelerinde büyüme inhibisyonu, metastazın engellenmesi ve yanık bölgelerinde debridman sağlanması gibi etkiler, non-proteolitik özelliklere bağlanmaktadır. Oral yolla alındığında Bro, ince bağırsakta biyolojik aktivitesini

kaybetmeden emilmekte ve yüksek güvenlik profili sergilemektedir. Klinik gözlemler, Bro'nun kullanımına bağlı olarak belirgin bir yan etki gelişmediğini ortaya koymuştur (95). Ayrıca yapılan çalışmalarda, Bro'nun antiinflamatuvar ve analjezik etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Bu etkiler; araşidonik asit metabolizmasının inhibisyonu, tromboksan üretiminin azaltılması, tromboksan/prostasiklin oranında değişiklikler ve prostaglandin E2 (PGE2) reseptörleri aracılığıyla nosiseptörlerin baskılanması yoluyla gerçekleşmektedir (96). Bro ayrıca kallikrein sistemini etkileyerek inflamasyon bölgesinde bradikinin oluşumunu azaltmakta, bu sayede ödem ve inflamasyon semptomlarını hafifletmektedir. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında Bro'nun; TNF- α reseptör aktivitesinin baskılanması, sitokin profili düzenlemesi, epitel hücre apoptozunun azaltılması ve mukozal iyileşmenin hızlandırılması gibi yollarla inflamatuvar yanıtı hafiflettiği belirlenmiştir. COX-2 enzimi ve PGE2 üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda, Bro'nun bu moleküllerin ekspresyonunu hem murin hücrelerinde hem de insan monositik hücre hatlarında düşürdüğü tespit edilmiştir. Ayrıca IL-1 β , IL-6, IL-4, TNF- α ve NF- κ B1 gibi proinflamatuvar genlerin ekspresyonunu baskılayarak inflamasyonu kontrol altına aldığı bildirilmiştir (97). Bro, aynı zamanda doğal öldürücü hücreleri aktive etmekte, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör üretimini artırmakta ve T-helper hücre aktivasyonunu azaltarak immünomodülatör etki göstermektedir. Bu özellikleri sayesinde romatoid artrit ve miyelofibroz gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Preklinik ve klinik araştırmalarda antiinflamatuvar ve iyileştirici etkileri kanıtlanan Bro, nörodejeneratif hastalıklarda inflamasyonun baskılanması açısından da araştırmacıların ilgisini çekmektedir (98). Etki mekanizması tam olarak netlik kazanmamış olsa da, Bro'nun geniş terapötik etkileri onu birçok klinik alanda değerli bir bileşik hâline getirmiştir. Oral alım sonrasında stabil biyoyararlanımı ve uzun süreli kullanıma rağmen ciddi yan etki oluşturmaması, terapötik güvenliğini desteklemektedir. Bro'nun içerdiği proteolitik enzimler; kemoterapide yan etkilerin hafifletilmesinde, radyoterapi sonrası inflamasyon ve ödemin azaltılmasında, cerrahi sonrası yara iyileşmesinin hızlandırılmasında kullanılmaktadır. Klinik veriler, Bro'nun trombosit agregasyonunu önleyerek anjina pektoris ve geçici iskemik atakların şiddetini azaltabileceğini, hipertansiyon semptomlarını hafiflettiğini göstermektedir (99). Tromboflebitli hastalarda yapılan bir çalışmada, Bro'nun ağrı, ödem, tendinit ve cilt sıcaklığı gibi inflamatuvar belirtileri azaltarak tedavide etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca aort kan akım hızını arttırdığı, miyokard enfarktüsünde nekroz alanını ve apoptoz derecesini azalttığı rapor edilmiştir. Bu antiflojistik özellikleri sayesinde Bro, akut inflamasyon ve spor

yaralanmalarında da tercih edilen bir ajan hâline gelmiştir. Sepsisli çocuklarda antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında tedavi etkinliğini artırdığı gözlemlenmiştir (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

Çalışmada kullanılan Wistar albino ırkı sıçanlar, Adıyaman Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir ve deneysel prosedürler Adıyaman Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2023/025 Protokol numaralı ve 05 karar nolu izni ile 27/12/2023 tarihinde onaylanmıştır.

3.2.1. Deneysel hayvanlarının hazırlanması ve gruplandırılması

Çalışmada Wistar Albino cinsi 8-10 haftalık, 32 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar 300-320 gr ağırlığındadır. Her bir grupta 8 tane sıçan olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (n=8). Çalışmada kullanılan Cis serum fizyolojik (SF) içerisinde, Bro ise %1'lik karboksimetil selüloz (CMC) çözeltisi içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Birinci gruba diğer gruplarla aynı stresi oluşturmak için çeşme suyu ile gavaj yapılmıştır. İkinci gruba intraperitoneal (i.p) yolla Cis enjeksiyonu uygulanmıştır. Yapılan literatür taramasında i.p. yolla tek doz olarak uygulanan Cis'in 10 mg/kg konsantrasyonunun kullanılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu dozdaki Cis uygulamasının sıçanlarda çok fazla ölümlere yol açmadığı, istenilen ölçüde organ ve doku hasarı oluşturabildiği görülmüştür (101). Üçüncü gruba i.p. yolla Cis enjeksiyonu ve Bro gavaj yoluyla verilmiştir. Dördüncü gruba ise sadece Bro gavaj uygulanmıştır. Deneysel sürecinin sonunda sıçanlar anestezi altında böbrekleri eksize edilerek ötenazi gerçekleştirilmiştir. Eksize edilen böbreklerin hassas terazi (Radwag AS 220/C/2) ile ağırlıkları belirlenmiştir. Böbrek hacmini belirlemek için Arşimet Prensibi uygulanmıştır. Bu yöntemde böbrekler, hacim ölçüğü bulunan bir kabın içerisine suyla birlikte yerleştirilmiştir. Böbrekler daldırıldığında kabın taşıdığı ya da yükselttiği su miktarı ölçülmüş ve bu hacim, doğrudan böbrek hacmine eşit kabul edilmiştir. Morfometrik

ölçümler için sağ böbreklerin, cep telefonu (Iphone 11) ile 15 cm uzaklıktan fotoğrafları çekilmiştir. Fotoğraflar, böbreğin facies anterior'undan ve margo medialis'inden alınmıştır. Ayrıca, böbrekler koronal düzlemde ortadan ikiye ayrıldıktan sonra iç yüzey kesitlerinin de görselleri kaydedilmiştir.

Deney Grupları:

Kontrol grubu (n=8): 1-7. günlerde 1 ml/kg çeşme suyu gavajı yapılarak süre sonunda anestezi altında analizler için böbrekler eksise edilerek ötenazi yapılmıştır.

Cis grubu (n=8): Çalışmanın 4. gününde hayvanlara tek doz 10 mg/kg intraperitoneal Cis enjeksiyonu yapıp süre sonunda sıçanlar, anestezi altında analizler için böbrekleri eksise edilerek ötenazi yapılmıştır (101).

Cis+Bro grubu (n=8): 4. gün tek doz 10 mg/kg intraperitoneal Cis enjeksiyonu ve 1-7. günlerde 100 mg/kg dozda Bro gavajı uygulanmıştır. Süre sonunda sıçanlar, anestezi altında analizler için böbrekleri eksise edilerek ötenazi yapılmıştır.

Bro grubu (n=8): 1-7. günlerde 100 mg/kg dozda Bro gavajı uygulanıp süre sonunda, anestezi altında analizler için böbrekler eksise edilerek ötenazi yapılmıştır (102).

3.2.2. Çalışmanın yapıldığı fiziki ortam ve koşullar

Sıçanlar, her bir grup ayrı kafeslerde yer alacak şekilde özel olarak tasarlanmış kafes sistemlerinde barındırılmıştır. Hayvanlar, standart sıçan yemi ile ad libitum beslenmiş ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde, 18–22°C sıcaklık aralığında muhafaza edilmiştir. Deneysel uygulamalardan önce, adaptasyon sağlamak amacıyla sıçanlar 10 gün süreyle karantina koşullarına alınmıştır. Deney süresince, içme suları gün aşırı yenilenmiş ve kafeslerin temizlik işlemleri düzenli olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Anestezi ve cerrahi protokolü

Tüm gruptaki sıçanlara intramusküler olarak ksilazin ve ketamin ile anestezi oluşturulmuştur. Anestezi altındaki hayvanlar supine pozisyonda iken abdominal orta hat kesisi yapılarak her iki böbrek dokusu çevre dokulardan dikkatlice ayrılarak çıkarılmıştır. Sağ böbrek dokuları ağırlık ve hacim ölçümleri yapıp fotoğrafları çekildikten sonra histopatolojik incelemelerin yapılması için, %10'luk formaldehit solüsyonuna alınmıştır. Sol böbrek dokuları ise biyokimyasal analizlerin yapılması için -80 °C' de saklanmıştır.

3.2.4. Böbrek morfometrik ölçümleri

Çekilen fotoğraflar Image J programına aktarılmıştır. Programda, metrik bir referans görsel kullanılarak 1 cm uzunluk birimi sisteme tanımlanmıştır. Ölçüm parametreleri aşağıda belirtilen şekilde değerlendirilmiştir:

Böbreğin yüzey alanı: Böbrek dokusunun çevresi işaretlenerek alan ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Böbreğin uzunluğu: Extremitas superior ile extremitas inferior noktalarından çizilen transvers çizgiler arasında dikey uzunluk ölçülmüştür.

Hilum renale seviyesinden genişlik: Hilum renale'nin orta hattından bir cortex renalis'ten diğerine kadar olan mesafe belirlenmiştir.

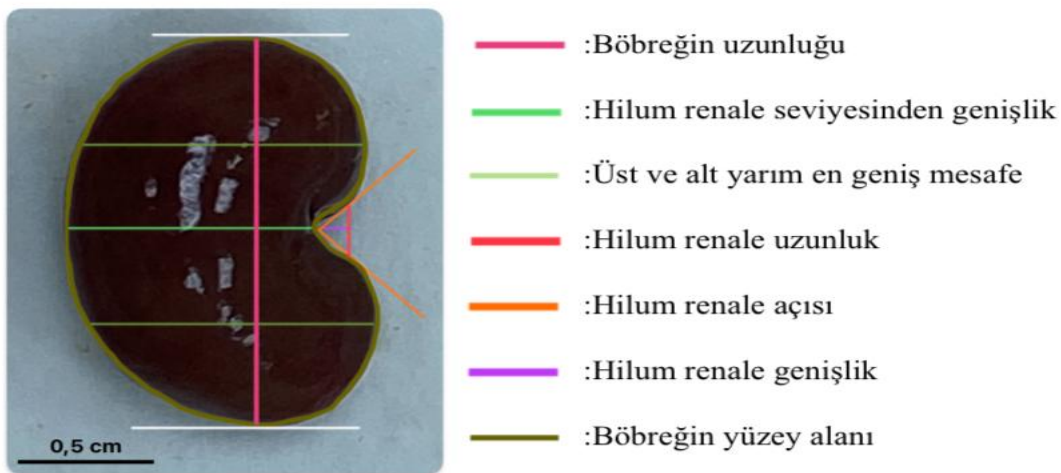
Üst yarım en geniş mesafe: Hilum renale'nin üstünde kalan alan "üst yarım" olarak tanımlanmış ve bu bölgede yatay düzlemdeki en geniş mesafe ölçülmüştür.

Alt yarım en geniş mesafe: Hilum renale'nin altında kalan bölge alt yarım olarak kabul edilmiş ve bu alandaki yatay en geniş mesafe değerlendirilmiştir.

Hilum renale uzunluğu: Hilum renale'nin üst ve alt sınır noktaları belirlenmiş, bu iki nokta arasındaki dikey mesafe ölçülmüştür.

Hilum renale genişliği: Hilum'un üst ve alt noktalarından en uzak laterale doğru belirlenen nokta ile hilumun orta noktası arasında dik çizgi çekilmiş ve bu mesafe ölçülmüştür.

Hilum renale açısı: Hilum renale'de üst, alt ve orta olmak üzere üç referans nokta belirlenmiş, bu noktalar kullanılarak açı ölçümü yapılmıştır (Şekil 10).

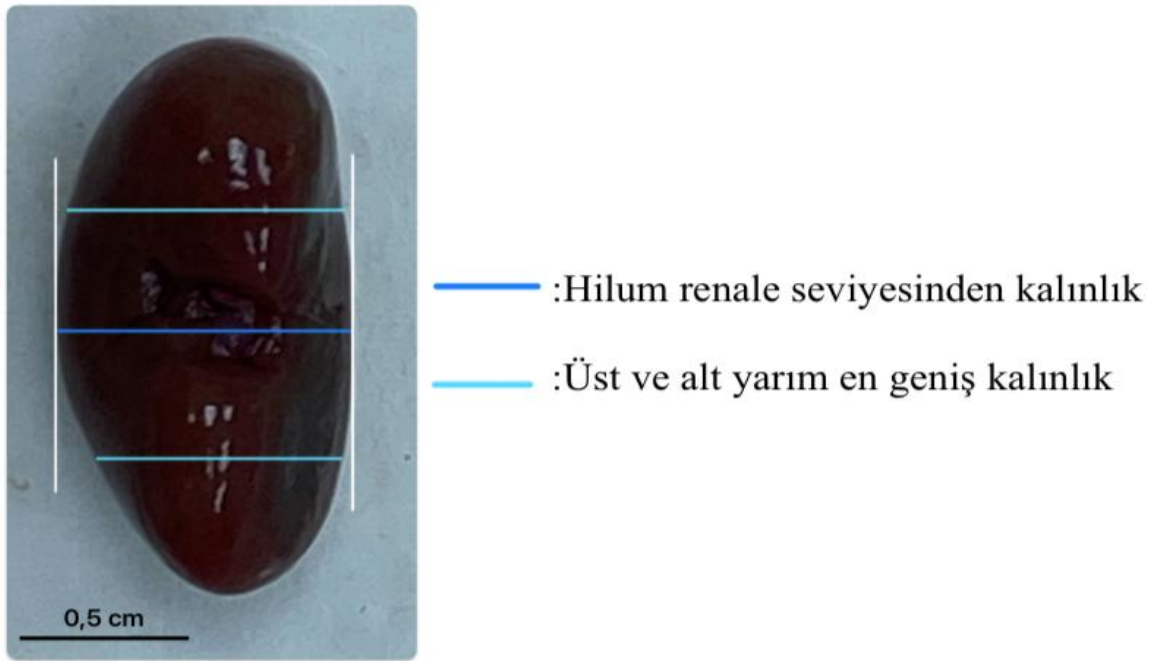


Şekil 10. Image J programında facies anterior'daki ölçüm parametreleri.

Hilum renale seviyesinden kalınlık: Böbrek dokusunun medial görünümünde, hilum renale hizasından yatay (transvers) mesafe ölçülmüştür.

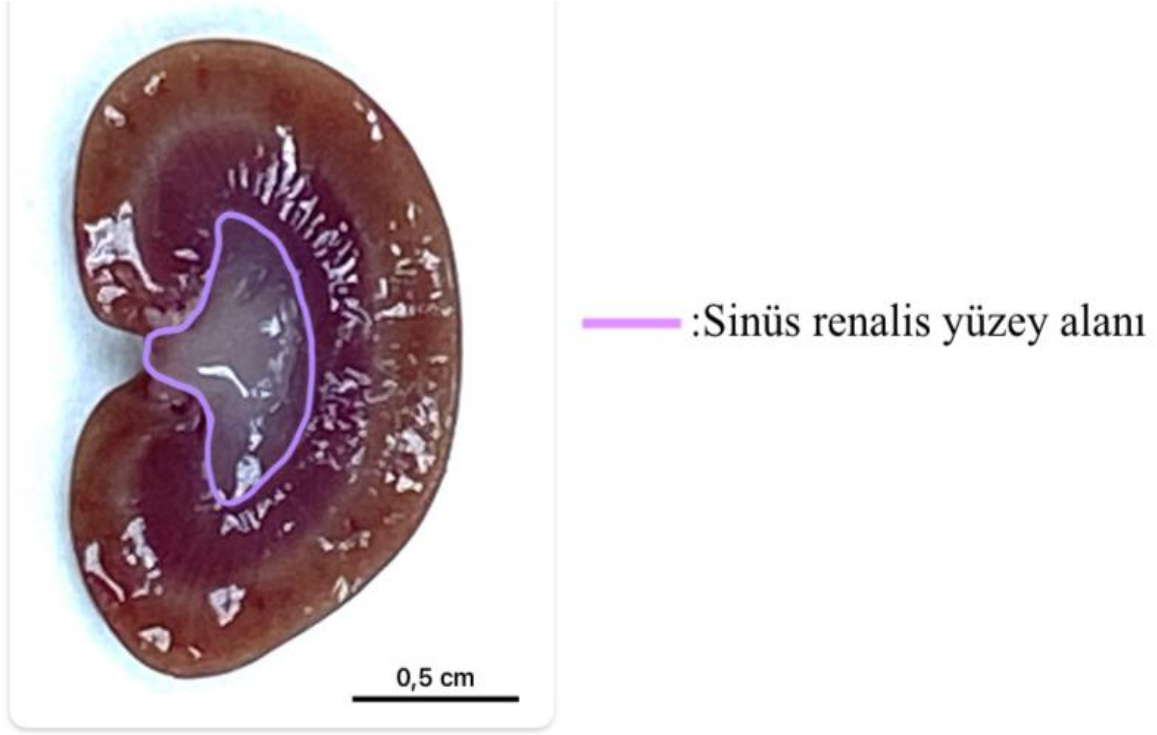
Üst yarım en geniş kalınlık: Hilum renale'nin üst kısmı "üst yarım" olarak kabul edilmiş ve böbrek dokusunun medial görünümünde bu bölgedeki en geniş kalınlık yatay olarak belirlenmiştir.

Alt yarım en geniş kalınlık: Hilum renale'nin alt kısmı "alt yarım" olarak tanımlanmış, medial görünümde bu bölgedeki en geniş kalınlık yatay düzlemde ölçülmüştür (Şekil 11).



Şekil 11. Image J programında margo medialis tarafında görünen ölçüm parametreleri.

Sinus Renalis yüzey alanı: Coronal kesitte sinus renalis'in çevresi işaretlenerek alan ölçümü yapılmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. Image J programında sinüs renalis yüzey alanı ölçümü.

3.2.5. Histopatolojik analizler

DeneySEL uygulamalar tamamlandıktan sonra alınan böbrek dokuları %10'luk formaldehit içerisinde fiksasyon amaçlı 1 hafta bekletilmiştir. Fiksasyon işlemi tamamlanan doku örneklerine, Leica marka TP1020 model otomatik doku takip cihazı kullanılarak rutin histolojik doku takip işlemi uygulanmıştır. Doku takip işlemi tamamlanan örnekler parafine gömülerek kesit alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler alınmıştır. Kesitlerde histopatolojik inceleme amacıyla Hematoksilen–Eozin, Masson trichrome ve PAS (Periodic Acid Schiff Stain Kit- RRSK15-100) boyama yöntemleri uygulanmıştır. Doku takip ve boyama prosedürleri aşağıda verilen şekillerde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Rutin Doku Takibi Prosedürü.

| Kimyasallar | Süre |
|-----------------|-----------|
| Akarsuda yıkama | yarım gün |
| % 70'lik Alkol | 1 saat |
| % 80'lik Alkol | 1 saat |
| % 96'lık Alkol | 1 saat |
| % 96'lık Alkol | 1 saat |
| % 100'lük Alkol | 1 saat |
| % 100'lük Alkol | 1 saat |
| Ksilen | 30 dakika |
| Ksilen | 30 dakika |
| Parafin | 1 saat |
| Parafin | 1 saat |

Tablo 2. Hematoksilen–Eozin boyama aşamaları.

| Kimyasallar | Süre |
|---------------------|-------|
| Ksilen | 15 dk |
| Ksilen | 15 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 70'lik Alkol | 5 dk |
| Akar suda yıkama | - |
| Hematoksilen boyama | 1 dk |
| Akar suda yıkama | - |
| Eozin solüsyonu | 1 dk |
| Akar suda yıkama | - |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 100'lük Alkol | 5 dk |
| Ksilen | 20 dk |
| Entellan ile kapama | - |

Tablo 3. Masson trichrome boyama aşamaları.

| Kimyasallar | Süre |
|----------------------|-------|
| Ksilen | 15 dk |
| Ksilen | 15 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 70'lik Alkol | 5 dk |
| Distile suda yıkama | 5 dk |
| Weigert'shematoxylin | 30 dk |
| Akar suda yıkama | 5 dk |
| Distile suda yıkama | 5 dk |
| Asit Fuksin | 5 dk |
| Distile suda yıkama | 5 dk |
| Aniline blue | 10 dk |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 100'lük Alkol | 5 dk |
| Ksilen | 20 dk |
| Entellan ile kapama | - |

Tablo 4. PAS boyama aşamaları.

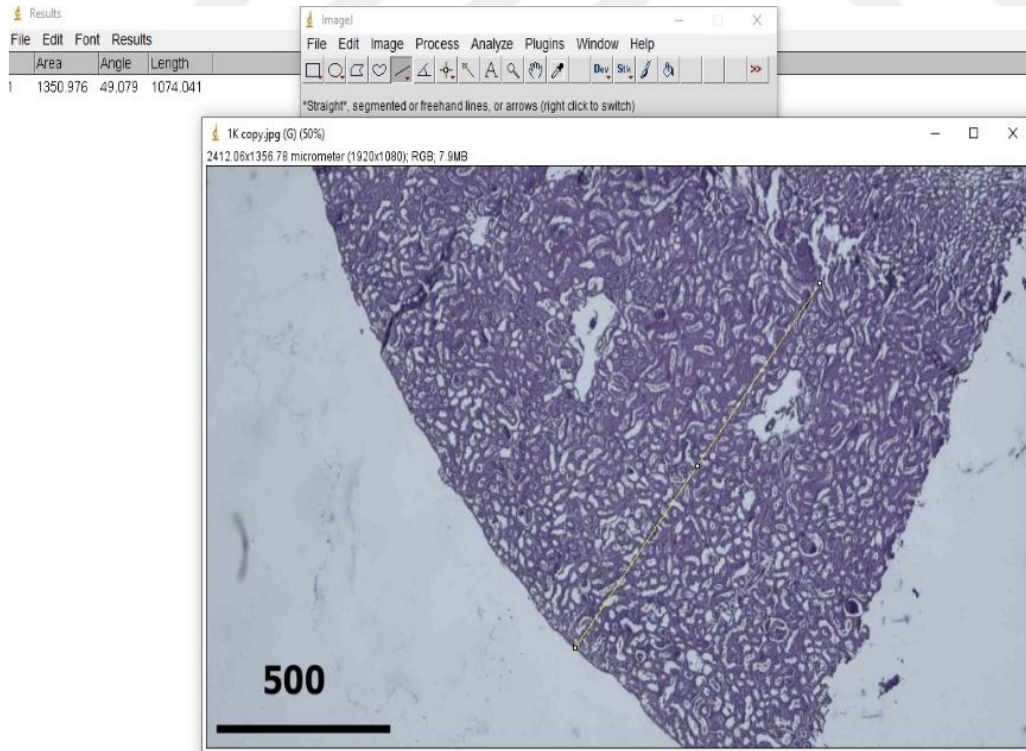
| Kimyasallar | Süre |
|--------------------------|--------|
| Ksilen | 15 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 70'lik Alkol | 5 dk |
| Distile suda yıkama | - |
| Periyodik Asit solüsyonu | 2-3 dk |
| Distile suda yıkama | - |
| Schiff solüsyonu | 20 dk |
| Distile suda yıkama | - |
| Mayer hematoxylin | 5 dk |
| Distile suda yıkama | - |
| % 80'lik Alkol | 5 dk |
| % 96'lık Alkol | 5 dk |
| % 100'lük Alkol | 5 dk |
| Ksilen | 20 dk |
| Entellan ile kapama | - |

3.2.6. Histopatolojik değerlendirme

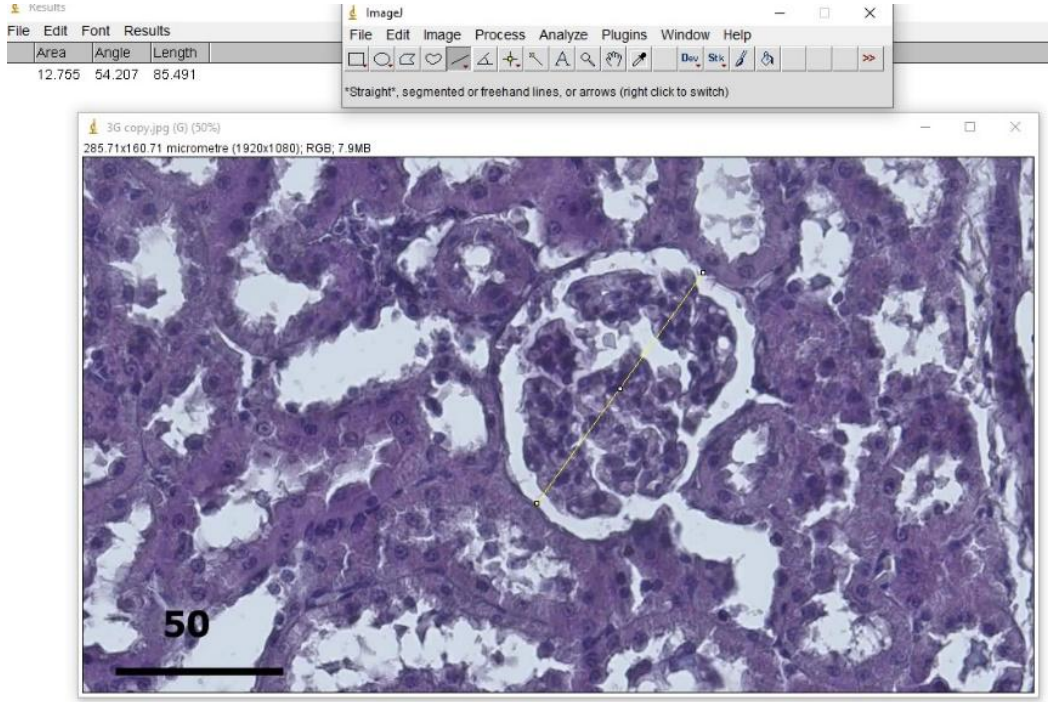
Dokulardan elde edilen kesitler üzerindeki tüm histopatolojik incelemeler, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Carl Zeiss marka Axiocam ERc5 model dijital kamera ataçmanlı mikroskop kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kanal ve tübül defekti, glomerular yapı bozuklukları, kapiller değişiklikler, fibrozis, hemoraji ve inflamasyon bulguları açısından histopatolojik değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirmelerde, Türk ve arkadaşlarının geliştirdiği skorlama yöntemi uyarlanmıştır. Uygulanan puanlama sisteminde; (0) puan: herhangi bir yapısal değişiklik yok, (1) puan: hafif düzeyde değişiklik, (2) puan: orta düzeyde değişiklik, (3) puan: belirgin yapısal değişiklik olarak belirlenmiştir.

3.2.7. Histomorfometrik ölçümler

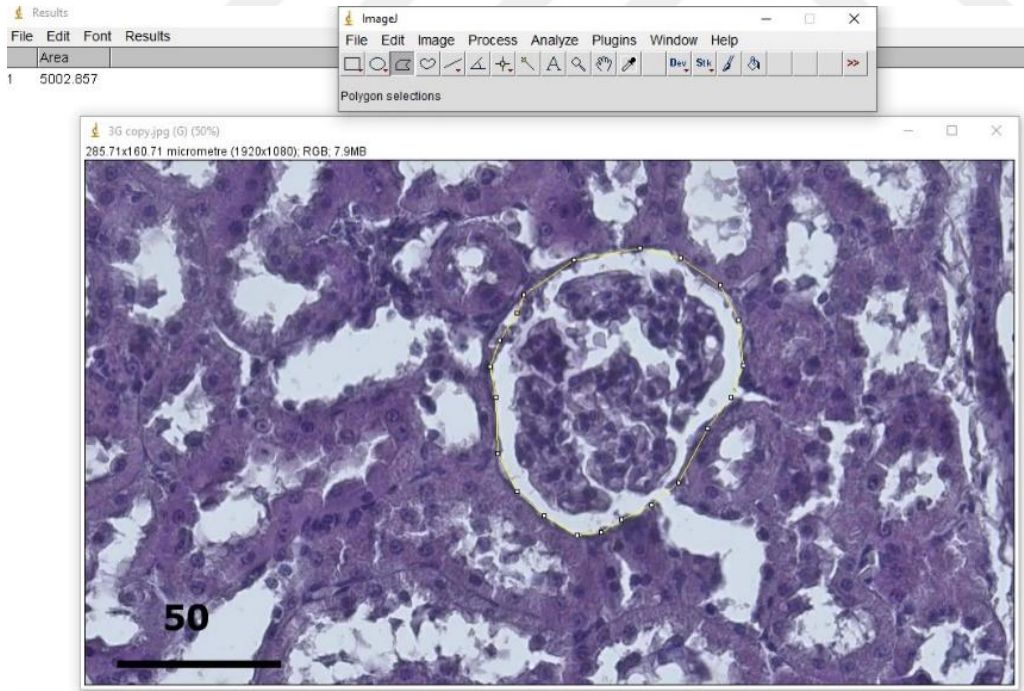
Ölçümler için İmage j software programı kullanılmıştır. Korteks - medulla tabaka kalınlığı ve glomerullarda Feret's çapı ölçümleri için 'doğru (straight)' hesaplama aracı, Glomerul ve Bowman aralığı alan ölçümleri için 'kapalı poligon (polygon)', hesaplama aracı seçilmiştir (Şekil 13-14-15-16). Her bir hayvan kesiti üzerinde 50 ölçüm yapılmıştır (104).



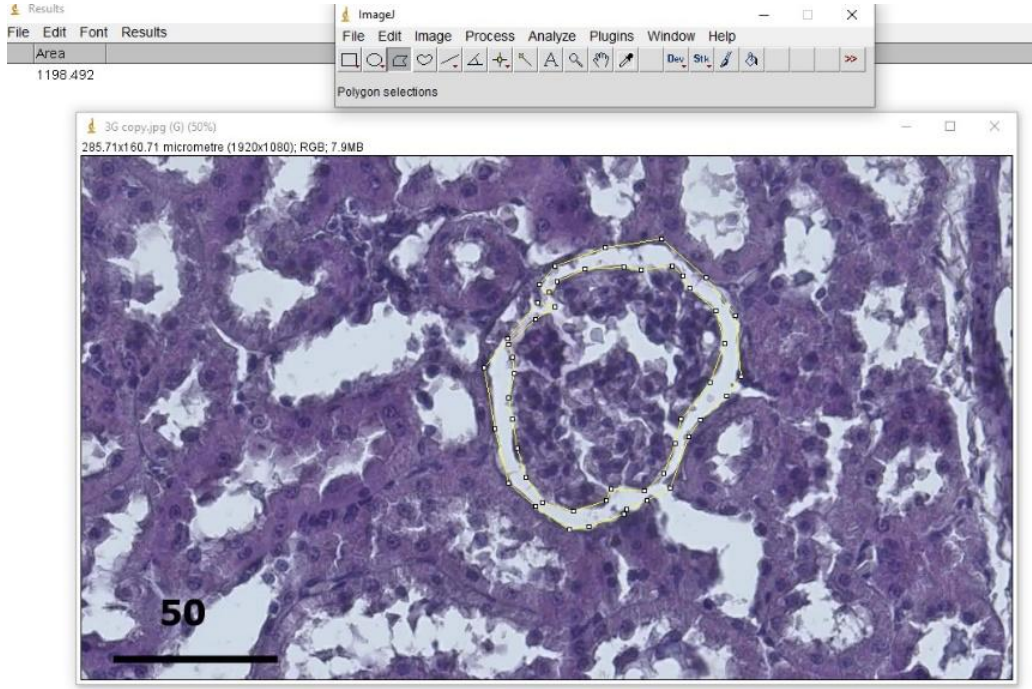
Şekil 13. İmage J programı korteks tabaka kalınlığı ölçümü (μm) X4 lük objektif büyütmesi.



Şekil 14. İmage J programı Feret's çap ölçümü (μm) X40 lık objektif büyütmesi.



Şekil 15. İmage J programı Glomerular alan ölçümü (μm^2) X40 lık objektif büyütmesi.



Şekil 16. İmage J programı Bowman aralığı alan ölçümü (μm^2) X40 lık objektif büyütmesi.

3.2.8. İstatistiksel analiz

Çalışmada yer alan değişkenler; frekans, yüzde, aritmetik ortalama, standart sapma, güven aralıkları ve grafikler gibi tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerle betimlenmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için parametrik analiz yöntemi olan One Way ANOVA testi, normal dağılım göstermeyen veriler için ise nonparametrik analiz yöntemi olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Bonferroni testi ile karşılaştırılmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 22.0 for Windows paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. Biyokimyasal analizler

Sıçanlardan elde edilen ve $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanan böbrek dokuları, oda sıcaklığına gelene kadar buz üzerinde kademeli olarak çözdürülmüştür. Homojenizasyon işlemleri için pH 7.4'e ayarlanmış, 1 mmol/L EDTA ve 50 mM potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) içeren soğuk tampon çözelti kullanılmıştır (105). Yaklaşık 500 mg doku üzerine 5 mL soğuk tampon eklenerek, cam baget yardımıyla iyice parçalanmıştır. Daha sonra buzla doldurulmuş bir plastik kap içine yerleştirilen cam tüpte bulunan doku, 16000 rpm hızla çalışan mekanik homojenizatörde 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım, zaman

kaybedilmeden +4 °C’de 10000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantta MDA, SOD, GPX, GPX4 ve ELASTIN düzeyleri analiz edilmiştir.

3.2.9.1. MDA düzeyinin ölçümü

MDA düzeyleri, Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemle belirlenmiştir. Bu yöntem, aerobik koşullarda pH 3.4’te tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90–95°C’de inkübasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA’nın TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturmasına dayanır. Elde edilen rengin yoğunluğu, ortamda bulunan MDA miktarıyla doğru orantılıdır ve 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu çalışmada MDA düzeyleri nmol cinsinden raporlanmıştır.

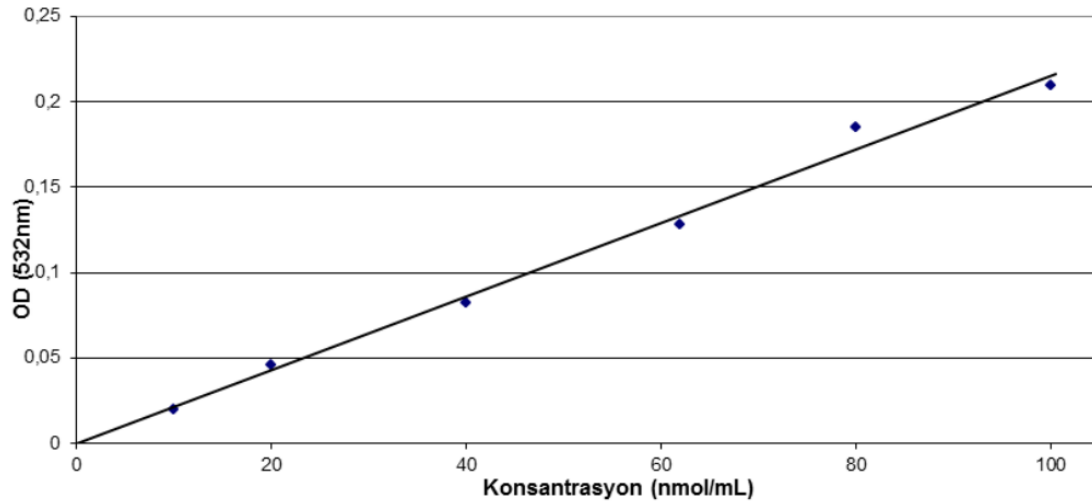
3.2.9.1.1. Standart Eğri Çizimi

Günlük standart çözelti, stok standarttan 6.6 µL alınarak 100 mL saf su ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bu standart çözeltilerden yararlanılarak 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/mL konsantrasyonlarında çalışma standartları elde edilmiştir. Deneyde kullanılacak ayıraçlar, aşağıda belirtilen sıraya ve miktarlara göre tüplere eklenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

| Tüp no. Konsantrasyon (nmol/ml) | 0 0 | 1 100 | 2 80 | 3 60 | 4 40 | 5 20 | 6 10 |
|--|--------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Standart(ml) | - | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| % 8,1 SDS (ml) | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| % 20 HAc(ml) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| % 0,8 TBA (ml) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Saf su (ml) | 0,8 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,7 |
| Vortekslenir, 95 C’de 30 dk inkübe edilir, soğutulur | | | | | | | |

Tüplere n-butanol/piridin karışımı eklendikten sonra, içerik homojen hale gelene kadar vortekslenmiştir. Ardından, tüpler 4000 rpm’de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan üstteki organik faz dikkatlice alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerlerine göre standart eğri oluşturulmuştur. Şekil 17’de MDA’ya ait standart eğri yer almaktadır.



Şekil 17. MDA standart eğrisi

Örnek analizi için, yukarıda açıklanan şekilde hazırlanmış belirli bir hacimde serum örneği alınmıştır. Serumda MDA düzeyinin belirlenmesi amacıyla, gerekli ayraçlar Tablo 6'da belirtilen sıraya ve hacimlere uygun olarak tüplere eklenmiştir.

Tablo 6. Serumda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı

| | Kör (ml) | Std (ml) | Örnek (ml) |
|---|----------|----------|------------|
| Standart (60 nmol/ml) | - | 0,1 | - |
| Süpernatant | - | - | 0,1 |
| SDS | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Asetik Asit | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| TBA | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Saf su | 0,8 | 0,7 | 0,7 |
| Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C'de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur. | | | |
| Saf su | 1 | 1 | 1 |
| n-Bu/Pi | 5 | 5 | 5 |

Çözeltiler vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Daha sonra, tüpler 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonucunda üstte biriken organik faz dikkatlice alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Elde edilen değerler, standart eğri ya da günlük hazırlanmış standart çözelti yardımıyla değerlendirilmiştir.

Hesaplama:

$$\text{MDA Düzeyi (nmol/mg)} = \text{MDA Değeri (nmol/ml)}$$

3.2.9.2. GPX düzeyinin ölçümü

GPX aktivitesinin belirlenmesinde Beutler yöntemi uygulanmıştır. Tablo 7’de belirtilen şekilde hazırlanan reaksiyon tüpleri, 37 °C’de 10 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından karışımlar 1 cm’lik kuvars küvetlere aktarılmış, üzerine 10 µL 7 mM t-bütilhidroperoksit eklenerek ölçüm işlemi başlatılmıştır. NADPH’ın oksidasyonu sırasında meydana gelen optik yoğunluk azalması kinetik olarak izlenmiş ve enzim aktivitesi bu değişim üzerinden değerlendirilmiştir.

Tablo 7. GPX Tayini için Tüplerin Hazırlanışı

| | |
|----------------------------|--------|
| 1 M Tris-HCl Ph 8.0 tampon | 100 µl |
| 0.1 M GSH | 20 µl |
| 10 U/ml GR | 100 µl |
| 2 Mm NADPH | 100 µl |
| Örnek | 10 µl |
| Distile su | 660 µl |

µl: mikrolitre.

Aşağıdaki formüle göre GPX aktivitesi hesaplanmıştır (105).

$$\text{GPX Aktivitesi (U/ml)} = \frac{\Delta\text{OD} * V_T (1.0 \text{ ml})}{6,22 * V_H (0,010 \text{ ml})}$$

ΔOD : Dakikadaki optik dansite değişimi

V_H : Örnek hacmi

V_T : Toplam hacim

6,22: 2mM NADPH yıkım hızının verdiği OD değeridir.

3.2.9.3. SOD düzeyinin ölçümü

SOD düzeylerinin belirlenmesinde, FineTest firmasına ait ticari kit (Rat Total SOD ELISA Kit, Ürün Kodu: ER1950) kullanılmıştır. Uygulama, üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Ölçüm protokolü:

Standart çözeltiler, kitin yönergelerinde belirtilen hacimlerde sulandırılarak hazırlanmıştır.

Her bir mikrotitre plakasına 100 µL standart ya da örnek numune eklenmiş, plakalar kapatılarak 37 °C’de 90 dakika süreyle karanlık ortamda inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından, plakadaki koruyucu film dikkatlice çıkarılmıştır.

Plaka distile suyla 2 kez yıkanmıştır.

Tüm kuyulara 100 µL biyotin ile işaretli antikor çözeltisi eklenmiş, plakalar tekrar kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda film yavaşça çıkarılmış ve plakalar distile suyla 3 kez yıkanmıştır. Her yıkamada 350 µL yıkama tamponu eklenip 1 dakika beklenmiş ve ardından boşaltılarak yıkama tekrarlanmıştır.

Ardından tüm kuyulara 100 µL HRP-konjuge streptavidin (SABC) çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası film çıkarılmış ve plakalar distile suyla 5 kez yıkanmıştır. Her yıkama adımında 350 µL yıkama tamponu eklenip 1 dakika bekletilerek işlem tamamlanmıştır.

Tüm kuyulara 90 µL TMB substrat çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37 °C'de 10–20 dakika süreyle inkübe edilmiştir.

Ardından her kuyuya 50 µL durdurma çözeltisi (Stop solution) ilave edilerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

Durdurma işleminden sonraki 10 dakika içinde, absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda Spectramax 384 Plus ELISA okuyucu ile ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar ng/L cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.9.4. ELASTIN düzeyinin ölçümü

Örneklerin ELASTIN düzeyinin belirlenmesinde FineTest markasına ait Rat Eln ELISA Kit (Ürün Kodu: ER0508) kullanılmış ve analizler üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Ölçüm protokolü şu şekilde uygulanmıştır:

Standart çözeltiler, kitin belirttiği hacimlerde seyreltilmiştir.

Her kuyucuğa 100 µL standart veya numune eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C'de 90 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından yapışkan kâğıt yavaşça çıkarılmıştır.

Yıkama cihazı ile distile su kullanılarak 2 kez yıkama yapılmıştır.

Tüm kuyulara 100 µL biyotin işaretli antikor çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında yapışkan kâğıt dikkatlice çıkarılmıştır.

Distile su ile 3 kez yıkama yapılmış; her yıkamada 350 µL yıkama tamponu eklenip 1 dakika beklenmiş ve yıkama tekrarlanmıştır.

Tüm kuyulara 100 µL HRP-Streptavidin konjugat (SABC) çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonun ardından yapışkan kâğıt çıkarılmıştır.

Distile su ile 5 kez yıkama yapılmış; her yıkamada 350 µL yıkama tamponu eklenerek 1 dakika beklenmiş ve işlem tekrarlanmıştır.

Yıkama işleminden sonra tüm kuyulara 90 µL TMB substrat çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C’de 10-20 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µL stop solüsyon eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

Stop solüsyon ilavesinden sonraki 10 dakika içinde, absorbans ölçümü 450 nm dalga boyunda Spectramax 384 Plus ELISA okuyucu cihazı ile yapılmıştır.

Sonuçlar ng/L biriminde raporlanmıştır.

3.2.9.5. GPX4 düzeyinin ölçümü

Örneklerin GPX4 düzeyinin belirlenmesinde FineTest markasına ait Rat GPX4 ELISA Kit (Ürün Kodu: ER1977) kullanılmış ve analizler üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Ölçüm protokolü şu şekilde uygulanmıştır:

Standart çözeltiler, kitte tarif edilen hacimlerde seyreltilmiştir.

Her kuyucuğa 100 µL standart veya numune eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C’de 90 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından yapışkan kâğıt yavaşça çıkarılmıştır.

Yıkama cihazı ile distile su kullanılarak 2 kez yıkama işlemi yapılmıştır.

Tüm kuyulara 100 µL biyotin işaretli antikor çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında yapışkan kâğıt dikkatlice çıkarılmıştır.

Distile su ile 3 kez yıkama yapılmış; her yıkamada 350 µL yıkama tamponunda 1 dakika beklenmiş ve yıkama tekrarlanmıştır.

Tüm kuyulara 100 µL HRP-Streptavidin konjugat (SABC) çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonun ardından yapışkan kâğıt çıkarılmıştır.

Distile su ile 5 kez yıkama yapılmış; her yıkamada 350 µL yıkama tamponu eklenerek 1 dakika beklenmiş ve işlem tekrarlanmıştır.

Yıkama işleminden sonra tüm kuyulara 90 µL TMB substrat çözeltisi eklenmiş, plakalar kapatılarak 37°C'de 10-20 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µL stop solüsyon eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

Stop solüsyon ilavesinden sonraki 10 dakika içinde, absorbans ölçümü 450 nm dalga boyunda Spectramax 384 Plus ELISA okuyucu cihazı ile yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar ng/L biriminde raporlanmıştır.

3.2.10. İstatistiksel analizler

Sürekli değişkenlerin normallik testi Shapiro-Wilk yöntemi ile yapılmıştır. Normal dağılıma uygun olan değişkenlerin analizinde parametrik testler, uygun olmayanlarda ise parametrik olmayan testler uygulanmıştır. İki bağımsız grup karşılaştırmalarında Student's t testi veya Mann-Whitney U testi kullanılmış; üç ve daha fazla grup karşılaştırmalarında ise Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Kruskal-Wallis testi tercih edilmiştir. Tüm verilerin analizleri Statistica v.13.3.1 programı ile gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık seviyesi tüm analizlerde $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Morfometrik Bulgular

Böbrek dokusuna ait morfometrik ölçümler değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Böbrek morfometrik ölçüm sonuçları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Böbrek morfometrik ölçüm sonuçları.

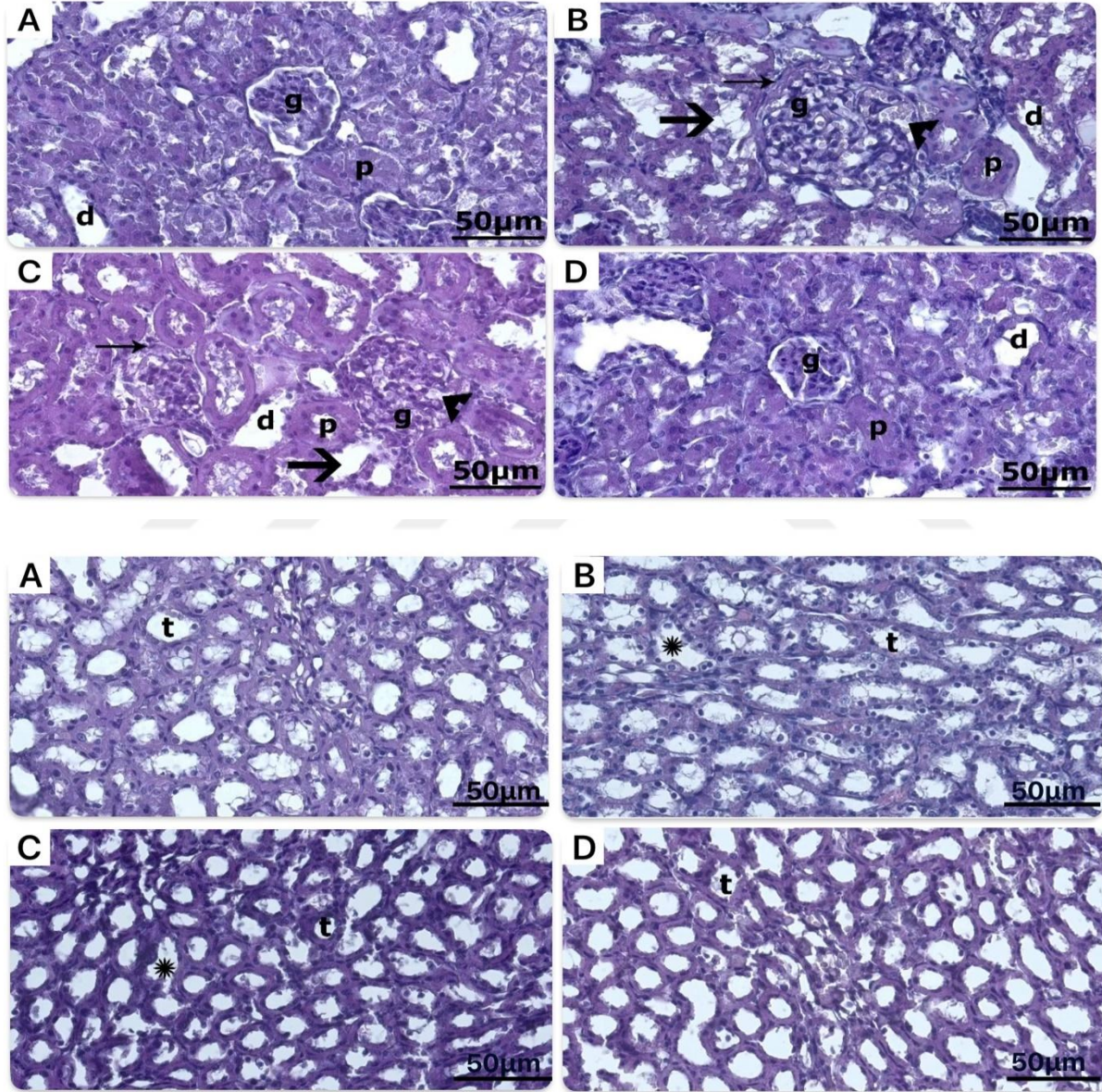
| Parametreler | Kontrol (Ort±SS) | Cis (Ort±SS) | Cis+Bro (Ort±SS) | Bro (Ort±SS) | P |
|--|------------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Böbreğin uzunluğu (cm) | 1,84±0,06 | 1,87±0,09 | 1,76±0,12 | 1,77±0,04 | p (> 0,05) |
| Hilum Renale Seviyesinden Genişlik (cm) | 1,02±0,06 | 1,01±0,06 | 1,02±0,11 | 0,98±0,04 | |
| Hilum Renale Seviyesinden Kalınlık (cm) | 0,93±0,07 | 0,95±0,07 | 0,92±0,07 | 0,91±0,03 | |
| Üst Yarım En Geniş Kalınlık (cm) | 0,83±0,07 | 0,89±0,05 | 0,85±0,07 | 0,87±0,06 | |
| Alt Yarım En Geniş Kalınlık (cm) | 0,80±0,06 | 0,79±0,04 | 0,77±0,07 | 0,75±0,06 | |
| Hilum Renale Uzunluk (cm) | 0,40±0,07 | 0,48±0,06 | 0,46±0,07 | 0,48±0,04 | |
| Hilum Renale Açısı (derece) | 95,16±15,74 | 105,06±16,4 | 119,00±18,96 | 112,43±11,76 | |
| Hilum Renale Genişlik (cm) | 0,15±0,03 | 0,15±0,04 | 0,11±0,04 | 0,13±0,04 | |
| Yüzey Alanı (cm ²) | 1,76±0,29 | 1,83±0,18 | 2,26±0,38 | 2,38±0,66 | |
| Üst Yarım En Geniş Mesafe (cm) | 1,08±0,08 | 1,11±0,02 | 1,07±0,08 | 1,04±0,04 | |
| Alt Yarım En Geniş Mesafe (cm) | 1,07±0,07 | 1,10±0,06 | 1,04±0,09 | 1,08±0,04 | |
| Sinus Renalis Yüzey Alanı (cm ²) | 0,79±0,15 | 0,96±0,25 | 0,92±0,13 | 0,92±0,33 | |
| Sağ Böbrek Ağırlığı (gr) | 1,08±0,21 | 1,00±0,13 | 0,91±0,20 | 0,97±0,08 | |
| Sağ Böbrek Hacmi (ml3) | 2,00±0 | 1,86±0,24 | 1,75±0,27 | 1,83±0,26 | |

Ort: ortalama, SS: standart sapma, gr: gram, cm: santimetre, cm²: santimetrekare, Cis: Sisplatin, Bro: Bromelain

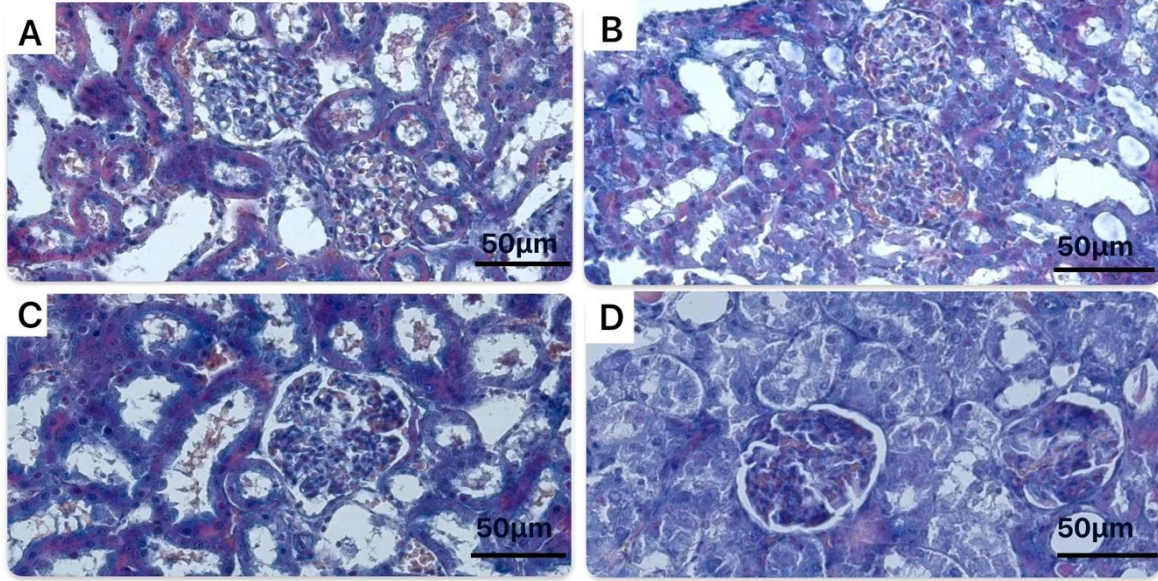
4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol ve Bro gruplarında glomerül yapısının, Bowman aralığının, tübüllerin epitel yapılarının, kanal duvarlarına ait epitel yapılarının ve lümenlerinin normal histolojik görünümde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 18 A, D). Damar duvar yapıları normal görünümde izlenmiştir. İnterstisyel alanda fibrozis bulgularına rastlanmamıştır. Normal yoğunlukta PAS (+) tutulum gözlenmiştir. Cis grubunda ise patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Tübüler

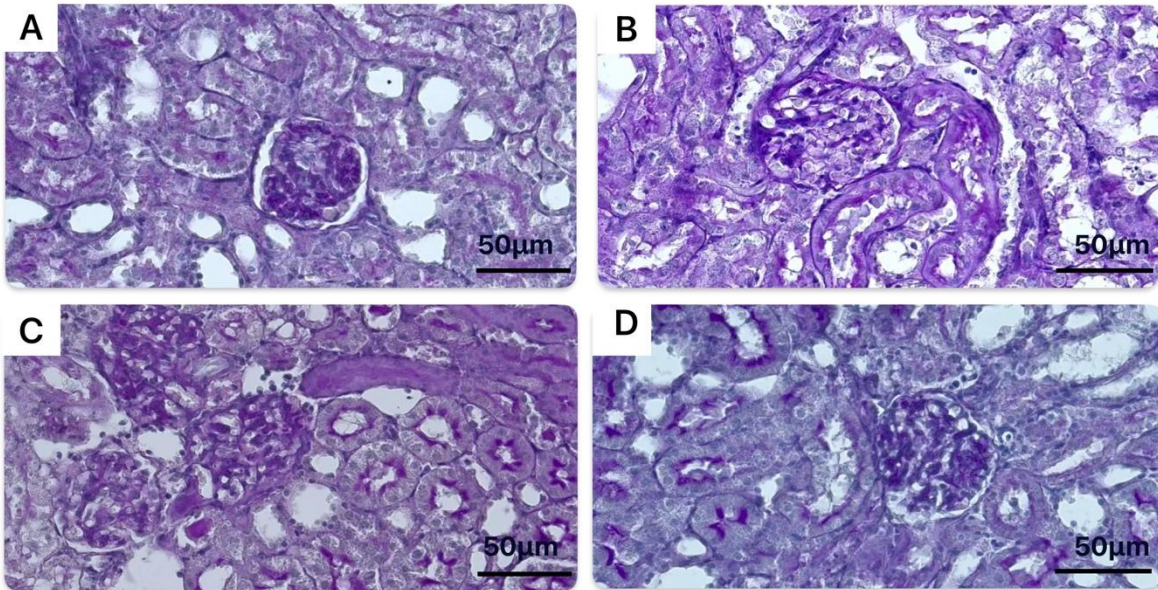
nekrozis, glomerular kapillerde dilatasyon, Bowman aralığında daralma, tübüler defekt, düzensiz şekilli glomerüller ve kanal duvar yapılarında defekt bulgularına rastlanmıştır (Şekil 18 B). İnterstisyel alanda fibrozis bulgularına rastlanmamıştır. PAS (+) tutulum oranında artış gözlenmiştir (Şekil 20 B). Cis+Bro grubunda glomerül yapıların, tübül ve kanal duvarlarının korunduğu belirlenmiştir (Şekil 18 C). İnterstisyel alanda fibrozis bulgularına rastlanmamıştır (Şekil 19 C). Normal yoğunlukta PAS (+) tutulum gözlenmiştir (Şekil 20 C). Tüm gruplarda inflamasyon ve hemorajik bulgulara rastlanmamıştır.



Şekil 18. A, B, C ve D gruplarına ait Hematoksilen- Eozin boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. g; Glomerul, p; Proksimal tübül, d; Distal tübül, t; Toplayıcı kanal. **Ok başı;** kapiller dilatasyon, **ince ok;** küçülmüş Bowman aralığı, **kalın ok;** tübüler defekt, **yıldız;** kanal defekti, A kontrol, B Cis, C Cis+Bro, D Bro.



Şekil 19. A, B, C ve D gruplarına ait Masson Trichrome boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. A kontrol, B Cis, C Cis+Bro, D Bro.



Şekil 20. A, B, C ve D gruplarına ait PAS boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. A kontrol, B Cis, C Cis+Bro, D Bro.

4.2.1. Histopatolojik skorlama

İncelenen örnekler glomerüler defekt, tübüler defekt, kanal defekti, fibrozis, hemoraji ve inflamasyon bulguları açısından değerlendirilmiştir. Cis grubunda glomerüler defekt, tübüler defekt ve kanal defekti yönünden diğer gruplarla kıyaslandığında artış tespit edilmiştir; ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında fibrozis,

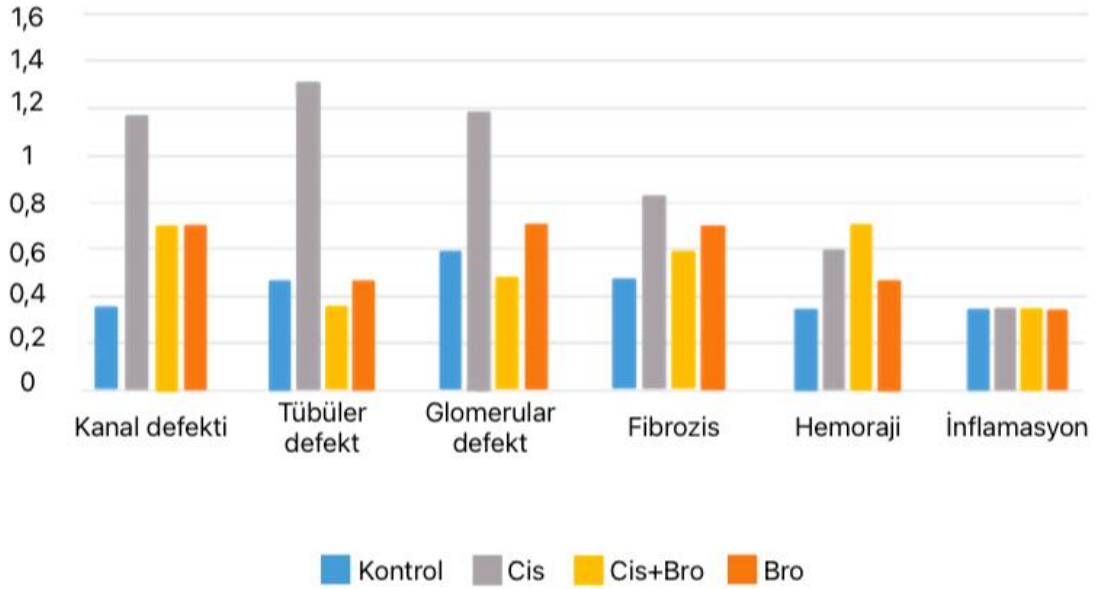
hemoraji ve inflamasyon bulguları açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 21’de gösterilmiştir.

Tablo 9. Böbrek doku örneklerinin histopatolojik sonuçları.

| Parametreler | Kontrol (Ort±SS) | Cis (Ort±SS) | Cis+Bro (Ort±SS) | Bro (Ort±SS) | P |
|-------------------|------------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Glomerular defekt | 0,37 ± 0,52 | 1,25 ± 1,04 | 0,75 ± 0,46 | 0,75 ± 0,70 | p (> 0,05) |
| Tübüler defekt | 0,50 ± 0,53 | 1,37 ± 1,30 | 0,37 ± 0,52 | 0,50 ± 0,92 | |
| Kanal defekti | 0,62 ± 0,74 | 1,25 ± 1,16 | 0,50 ± 0,53 | 0,75 ± 1,04 | |
| Fibrozis | 0,50 ± 0,53 | 0,87 ± 0,83 | 0,62 ± 0,52 | 0,75 ± 0,87 | |
| Hematoloji | 0,38 ± 0,52 | 0,63 ± 0,92 | 0,75 ± 0,71 | 0,50 ± 0,76 | |
| İnflamasyon | 0,38 ± 0,52 | 0,38 ± 0,52 | 0,38 ± 0,52 | 0,38 ± 0,52 | |

Ort: ortalama, SS: standart sapma, Cis: Sisplatin, Bro: Bromelain

Histopatolojik Skorlama



Şekil 21. Histopatolojik skorlama.

4.2.2. Histomorfometrik bulgular

Yapılan ölçümler sonucunda, gruplar arasında korteks ve medulla tabakalarının kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Glomerular alan ve Bowman aralığı ölçümleri açısından kontrol grubuyla Cis ve Cis+Bro grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir ($p<0,05$, $p=0,004$). Aynı şekilde, Bro grubuyla Cis ve Cis+Bro grupları karşılaştırıldığında da glomerular alan ve Bowman aralığı açısından anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p<0,05$, $p=0,004$). Feret's çapı ölçümleri değerlendirildiğinde ise kontrol ve Cis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,03$). Elde edilen bulgular Tablo 10 ve Şekil 22'de sunulmuştur.

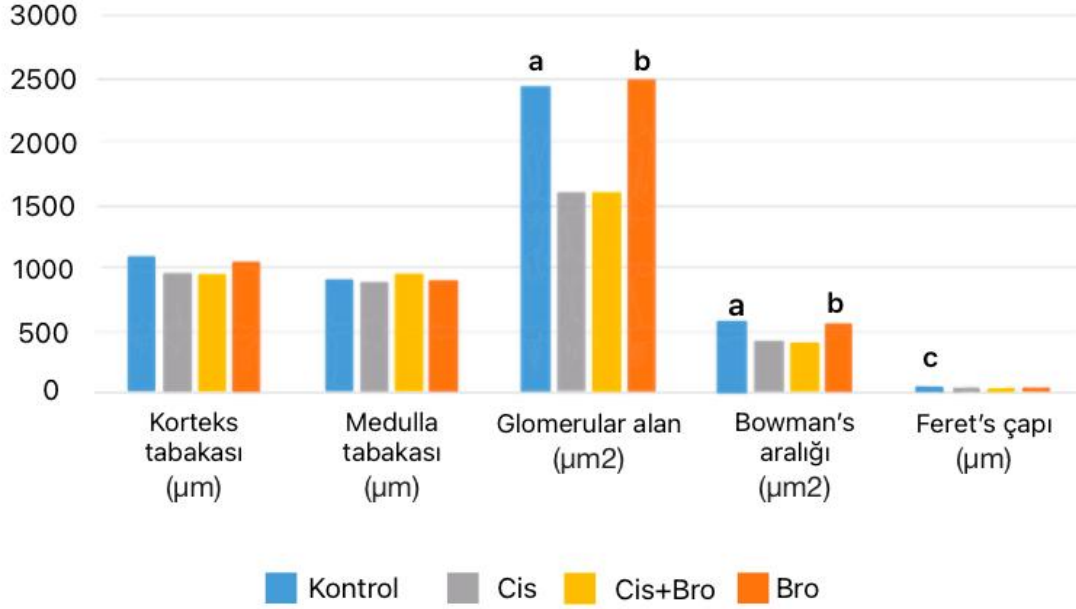
Tablo 10. Böbrek doku örneklerinin histomorfometrik sonuçları.

| Parametreler | Kontrol (Ort±SS) | Cis (Ort±SS) | Cis+Bro (Ort±SS) | Bro (Ort±SS) |
|--|-------------------------------|------------------|------------------|-----------------------------|
| Korteks tabaka kalınlığı (μm) | 1082,06 ± 154,18 | 959,76 ± 46,41 | 968,23 ± 61,08 | 1046,69 ± 85,58 |
| Medulla tabaka kalınlığı (μm) | 903,02 ± 77,65 | 879,73 ± 36,18 | 936,45 ± 35,72 | 910,86 ± 68,87 |
| Glomerular alan (μm^2) | 2438,63 ± 251,65 ^a | 1607,62 ± 263,14 | 1671,26 ± 178,96 | 2518 ± 306,66 ^b |
| Bowman aralığı alanı (μm^2) | 584,85 ± 22,87 ^a | 414,31 ± 31,32 | 420,86 ± 13,16 | 554,65 ± 22,88 ^b |
| Feret's Çap (μm) | 68,44 ± 10,42 ^c | 53,43 ± 4,14 | 58,24 ± 6,20 | 62,24 ± 7,92 |

Gruplar arasında korteks ve medulla tabaka kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)
^a Kontrol grubu ile Cis ve Cis+Bro grupları arasında glomerular alan açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$)
^b Kontrol grubu ile Cis ve Cis+Bro grupları arasında bowman aralığı alanı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,004$)
^c Kontrol grubu ile Cis grubu arasında Feret's Çap ölçümü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,03$)

Ort: ortalama, SS: standart sapma, Cis: Sisplatin, Bro: Bromelain

Histomorfometrik Ölçümler



Şekil 22. Histomorfometrik ölçümler a; Kontrol grubu ile Cis ve Cis+Bro grupları arasındaki anlamlı fark, b; Bro grubu ile Cis ve Cis+Bro grupları arasındaki anlamlı fark, c; Kontrol ile Cis grubu arasındaki anlamlı fark.

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Gruplara göre biyokimyasal parametrelere ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 11'de gösterilmektedir.

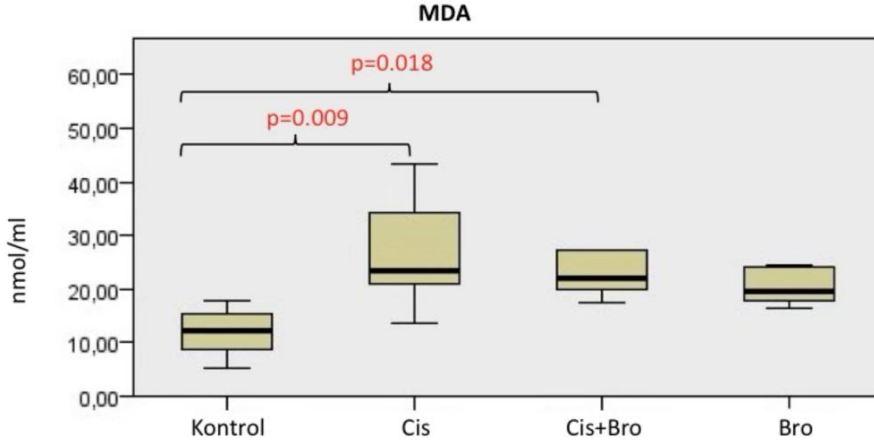
Tablo 11. Gruplara göre biyokimyasal parametrelere ait tanımlayıcı istatistikler.

| Parametreler | Grup | N | Ort±SS | Min - Maks | P |
|-----------------|---------|---|-------------|-------------|---------|
| MDA (nmol/ml) | Kontrol | 7 | 11,90±4,51 | 5,33-17,67 | p>0,05 |
| | Cis | 7 | 27,31±11,14 | 13,56-43,52 | p=0,009 |
| | Cis+Bro | 6 | 26,61±12,34 | 17,48-50,86 | p=0,018 |
| | Bro | 6 | 20,45±3,46 | 16,48-24,63 | p>0,05 |
| SOD (ng/ml) | Kontrol | 7 | 3,32±0,38 | 2,81-3,76 | p=0,000 |
| | Cis | 7 | 2,91±0,41 | 2,36-3,48 | p>0,05 |
| | Cis+Bro | 6 | 2,12±0,94 | 1,22-3,31 | p=0,001 |
| | Bro | 6 | 3,03±0,23 | 2,79-3,29 | p=0,000 |
| ELASTIN (ng/ml) | Kontrol | 7 | 3,54±0,11 | 3,37-3,69 | p>0,05 |
| | Cis | 7 | 3,32±0,37 | 2,56-3,65 | p>0,05 |
| | Cis+Bro | 6 | 3,42±0,21 | 3,05-3,57 | p>0,05 |
| | Bro | 6 | 3,22±0,58 | 2,05-3,59 | p>0,05 |
| GPX4 (ng/ml) | Kontrol | 7 | 3,59±0,19 | 3,24-3,77 | p=0,024 |
| | Cis | 7 | 3,60±0,08 | 3,49-3,68 | p=0,023 |
| | Cis+Bro | 6 | 3,24±0,32 | 2,87-3,64 | p>0,05 |
| | Bro | 6 | 3,48±0,19 | 3,17-3,64 | p>0,05 |
| GPX (nmol/ml) | Kontrol | 7 | 0,07±0 | 0,07-0,08 | p>0,05 |
| | Cis | 7 | 0,08±0,01 | 0,07-0,08 | p>0,05 |
| | Cis+Bro | 6 | 0,07±0 | 0,07-0,07 | p>0,05 |
| | Bro | 6 | 0,07±0 | 0,06-0,07 | p>0,05 |

Ort: ortalama, SS: standart sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum, Cis: Sisplatin, Bro: Bromelain

1) MDA için:

Deney gruplarından elde edilen doku örneklerinin MDA düzeylerinin bulguları Şekil 23'te verilmiştir.

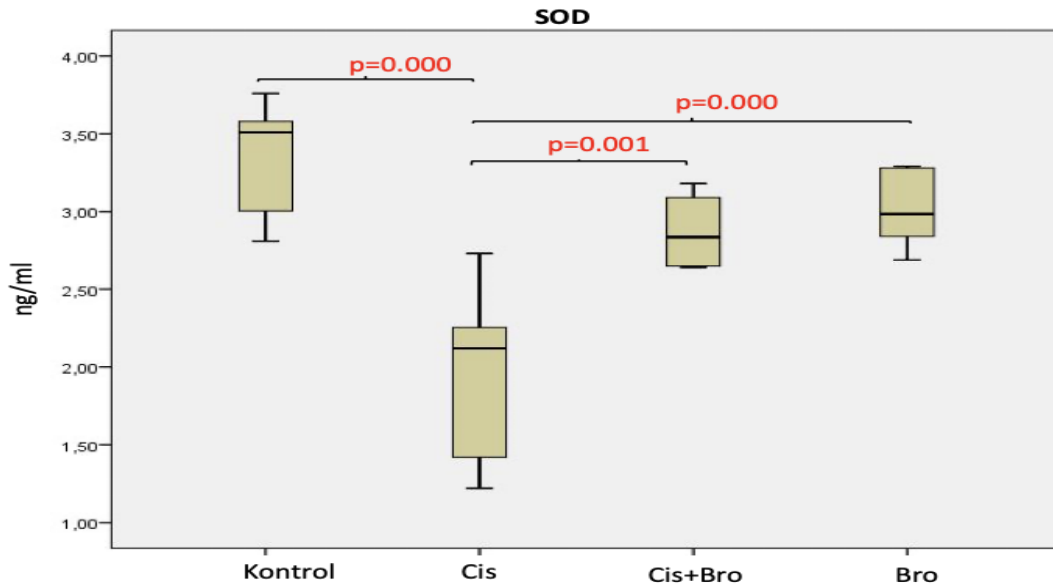


Şekil 23. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Cis ve Cis+Bro gruplarında ölçülen MDA düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0,009$, $p=0,018$). Buna karşın, Bro grubuyla kontrol grubu arasında MDA seviyeleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

2) SOD için;

Deney gruplarından elde edilen doku örneklerinin SOD düzeylerinin bulguları Şekil 24'te verilmiştir.

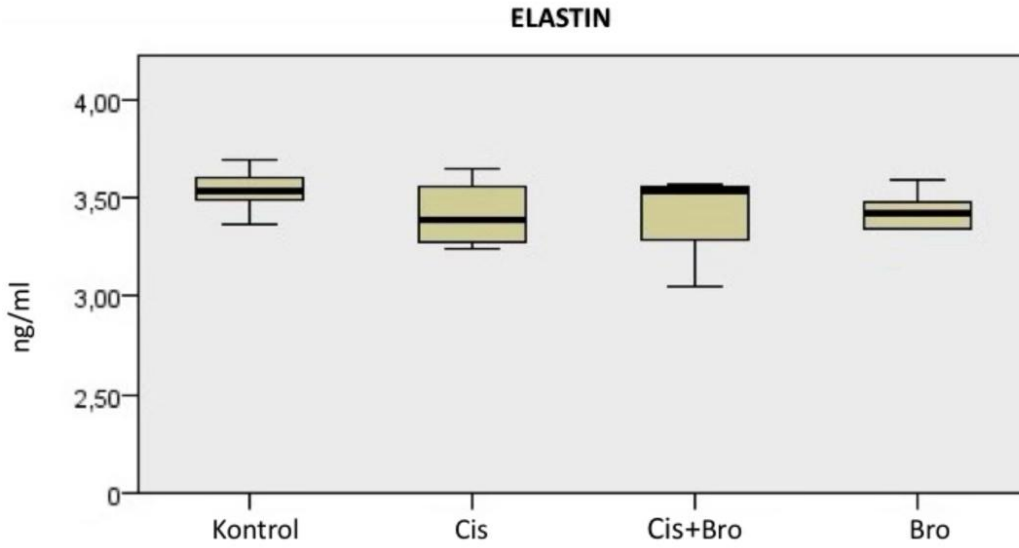


Şekil 24. Grupların SOD düzeylerinin karşılaştırılması.

Cis gruplarındaki SOD seviyelerinin, kontrol, Cis+Bro ve Bro grupları grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha az olduğu tespit edilmiştir ($p=0,000$, $p=0,001$, $p=0,000$).

3) ELASTIN için;

Deney gruplarından elde edilen doku örneklerinin ELASTIN düzeylerinin bulguları Şekil 25'te verilmiştir.

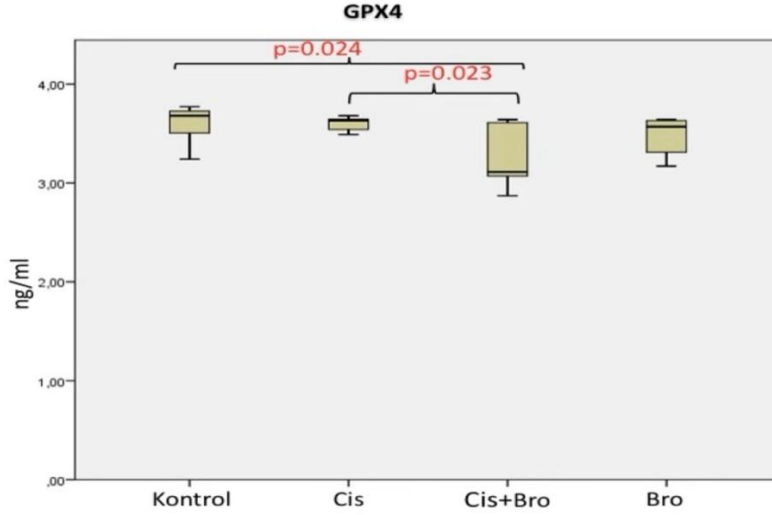


Şekil 25. Grupların ELASTIN düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar arasında ELASTIN seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

4) GPX4 için;

Deney gruplarından elde edilen doku örneklerinin GPX4 düzeylerinin bulguları Şekil 26'da verilmiştir.

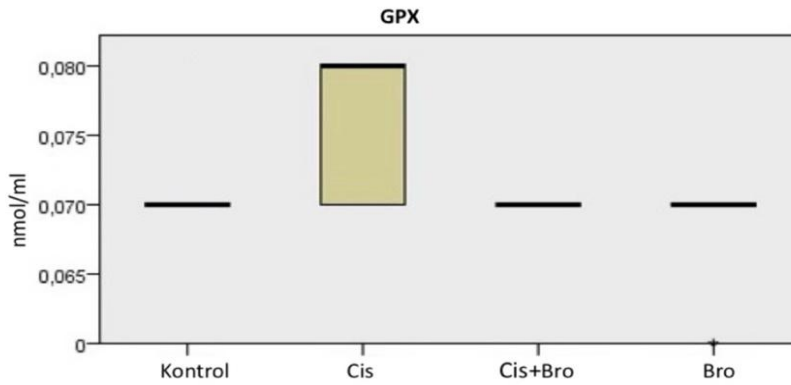


Şekil 26. Grupların GPX4 düzeylerinin karşılaştırılması.

Kontrol ve Cis gruplarındaki GPX4 seviyelerinin, Cis+Bro grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,024$, $p=0,023$). Ancak yalnızca Bro grubuyla yapılan karşılaştırmalarda herhangi bir istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

5) GPX için;

Deney gruplarından elde edilen doku örneklerinin GPX düzeylerinin bulguları Şekil 27’de verilmiştir.



Şekil 27. Grupların GPX düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar arasında GPX seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Kanser, dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı problemi olarak varlığını sürdürmektedir. Kanser tedavisinde, standart protokollere ek olarak kemoterapi, etkinliği ve yaygın kullanımı nedeniyle en sık başvurulan yöntemlerden biridir. Ancak kemoterapi sürecinde kullanılan ilaçların, sadece hedeflenen tümör hücrelerini değil, aynı zamanda sağlıklı dokuları da olumsuz etkilediği bilinmektedir (106). Bu bağlamda yaygın olarak kullanılan antineoplastik kemoterapötik ajanlardan biri olan Cis, özellikle akciğer, özofagus, mide, baş-boyun, testis, over ve mesane kanserleri gibi birçok malignitenin tedavisinde etkin bir rol oynamaktadır (42, 53, 54, 107).

Cis'in antikanser etkisine aracılık eden mekanizmalar, aynı zamanda çeşitli sistemik yan etkilerin gelişimine de zemin hazırlamaktadır. Bu yan etkiler arasında nefrotoksisite, hepatotoksisite, anafilaksi, ototoksisite, nörotoksisite ve kemik iliği baskılanması gibi ciddi komplikasyonlar yer almaktadır (108). Klinik veriler, Cis tedavisi alan hastaların yaklaşık %30'unda nefrotoksisite geliştiğini ortaya koymaktadır (109). Bu durum, Cis ve benzeri ajanların terapötik kullanımlarında dikkatli olunması gerektiğini ve olası toksik etkilerin dikkate alınarak tedavi planlamasının yapılmasının önemini göstermektedir. Özellikle uzun süreli Cis uygulamalarının böbrek fonksiyonları ve yapısal bütünlüğü üzerinde olumsuz etkiler yarattığı bildirilmektedir (110).

Literatürde, bazı farmakolojik ajanların ve patolojik süreçlerin böbrek morfolojisi üzerinde değişikliklere neden olduğu ve bu değişikliklerin böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olabileceği belirtilmektedir (111, 112). Hwang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, radyolojik yöntemlerle yapılan böbrek uzunluğu ölçümlerinin karşılaştırmalı analizi sonucunda, ultrasonografik ölçümlerin böbrek uzunluğunu olduğundan düşük tahmin ettiği saptanmıştır (111). Diğer taraftan, Giral ve ark., böbrek kütesinin transplantasyon sonuçları üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, küçük hacimli böbreklerin büyük vücut kitlesine sahip alıcılara nakledilmesinin böbrek klirensinde artışa neden olduğunu, ancak proteinüri riskini de artırdığını bildirmiştir (112).

Böbrek morfometrik ölçümlerindeki sapmaların bazı böbrek hastalıklarının tanısında belirleyici olabileceği, farklı çalışmalarda vurgulanmıştır (113, 114). Böbrek uzunluğu, genişliği ve kalınlığı gibi parametreler ile böbrek fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki olması, bu ölçümlerin nefropatilerin tanı ve takibinde önemini artırmaktadır (115). Özellikle böbrek enfeksiyonları, nefrolojik hastalıklar, diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi

patolojiler, böbrek boyutlarını doğrudan etkileyen durumlar arasında yer almaktadır. Nitekim literatürde yer alan çok sayıda çalışmada, hipertrofi ve atrofiye bağlı olarak farklı nefropatilerde böbrek ölçümlerinin önemli varyasyonlar gösterdiği bildirilmiştir (116, 117). Glodny ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise böbrek uzunluğu, genişliği ve hacmindeki değişikliklerin aterosklerotik böbrek hastalığı, arteriyel hipertansiyon, renal vasküler hastalık ve diabetes mellitus gibi sistemik hastalıklarla ilişkili olabileceği ortaya konmuştur (118). Diğer bazı çalışmalarda da böbrek uzunluğunun kronik böbrek yetmezliği vakalarında anlamlı şekilde daha kısa olduğu, akut böbrek yetmezliği durumlarında ise böbrek uzunluğunun normal sınırlarda ya da artmış olabileceği bildirilmiştir (119, 120).

Mevcut çalışmada morfometrik parametrelerde değişiklik saptanmamıştır. Morfometrik parametreler nefrotoksisite göstergesi değildir. Bu parametrelerin Cis'te görülen nefrotoksisite göstergesi olmadığı tespit edilmiştir.

Cis, böbrekte vasküler hasara yol açarak iskemik değişikliklere, renal doku hasarına ve glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalmaya neden olarak akut böbrek yetmezliği gelişimine katkıda bulunmaktadır (110,121). Yapılan çalışmalarda, Cis'e bağlı gelişen nefrotoksisitenin özellikle erken dönemlerde böbreğin proksimal tübüllerinin S3 segmentinde dilatasyon ve glomerüler düzeyde yapısal bozulmalar ile karakterize olduğu bildirilmiştir (122, 123). Düşük moleküler ağırlığı nedeniyle Cis, glomerüler bazal membranı kolaylıkla geçebilmekte ve proksimal tübüllerin iç medulla ve dış korteks bölgelerinde birikerek toksik etki oluşturmaktadır (109). Elri'nin sıçan modeli ile gerçekleştirdiği çalışmada, kontrol grubuna kıyasla Cis uygulanan grupta glomerül alanında anlamlı bir azalma saptanmıştır (127). Benzer şekilde, Parlakpınar ve ark. (128), Şahin (133) ve Kanter ve ark. (135) da Cis uygulanan gruplarda glomerüler alanın azaldığını veya tamamen ortadan kalktığını bildirmiştir. Cis, glomerüler filtrasyon ve proksimal tübüler sekresyon yoluyla böbrekten atılırken, hem glomerüler yapılarla doğrudan temas ederek hem de tübüler hasar oluşturarak intraglomerüler basınç artışına neden olabilmektedir. Bu durum, bazı glomerüler yapıların kısmen ya da tamamen bozulmasına yol açabilir (135). Abouzed ve ark. (139) ile Alibakhshi ve ark. (150) da benzer şekilde Cis grubunda glomerüler alanın azaldığını bildirmiştir.

Mevcut çalışmada da literatüre benzer olarak, Cis grubunda glomerüler alanda belirgin bir azalma gözlenmiştir. Cis uygulaması, oksidatif stres yoluyla podosit, mezangial hücre ve endotel hücrelerinde apoptoza neden olabilir. Bu hücre kaybı glomerül hacminde küçülmeye ve glomerüler alanın daralmasına yol açar (167).

Bowman aralığına ilişkin bulgular incelendiğinde, Şahin (133) ile Abouzed ve ark. (139) Bowman aralığında daralma olduğunu ifade etmişlerdir. Mevcut çalışmada Cis

uygulanan grupta Bowman aralığında daralma saptanmıştır. Cis, glomerülo-tübüler sinyalizasyonu bozarak glomerüller kasılmaya ve Bowman'ın alanının daralmasına neden olur (139).

Kelada ve ark. (137) çalışmalarında Cis grubunda feret çapının arttığını bildirirken, mevcut çalışmada bunun aksine anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bowman kapsülü daraldığı için feret's çapının da azaldığı kanaatindeyiz.

Altındağ ve Ergen (130) hem korteks hem de medullada kalınlaşma olduğunu bildirirken, Kelada ve ark. (137) sadece kortekste kalınlaşma, medullada ise kalınlıkta azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Düşük moleküler ağırlığı nedeniyle Cis, glomerüller bazal membranı kolaylıkla geçebilmekte ve proksimal tübüllerin medulla ve korteks bölgelerinde birikerek toksik etki oluşturmaktadır (121). Buna karşılık, mevcut çalışmada korteks ve medulla kalınlıkları açısından farklılıklar edilmiştir fakat istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

Histopatolojik bulguların değerlendirildiği çalışmalarda, Abouzed ve ark. (139), Imam ve ark. (141), Majd ve ark. (143), Anwer ve ark. (144), El-Beshbishy ve ark. (148) ile Meng ve ark. (149), Cis uygulanan gruplarda tübüler defektler geliştiğini belirtmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da bu bulgularla paralel olarak Cis grubunda tübüler defektlere rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, Cis'e bağlı gelişen nefrotoksisitenin böbreğin proksimal tübüllerde dilatasyon ve glomerüller hasar ile karakterize olduğu bildirilmiştir (122).

Chen ve ark. (160), Jana ve ark. (161) ile Natochin ve ark. (162), glomerüller düzeyde de hasar oluştuğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada da benzer şekilde glomerüller defekt bulguları gözlenmiş olup, bu durum Cis'in yalnızca tübüler düzeyde değil, aynı zamanda glomerüller yapılarında da hasara yol açabileceğini göstermektedir (122).

Fibrozis açısından, Altındağ ve Ergen (130) Kelada ve ark. (137), Cis grubunda fibrotik değişiklikler saptadıklarını belirtmişlerdir. Buna karşın, mevcut çalışmamızda hiçbir grupta fibrozis bulgusuna rastlanmamıştır. Benzer şekilde, Parlakpınar ve ark. (128) ile Abouzed ve ark. (139) hemoraji bulguları bildirmişken, çalışmamızda bu tür bir bulgu gözlenmemiştir. İnflamasyon açısından ise, Acar ve ark. (163), Zhang ve ark. (164) ile Humanes ve ark. (165) çalışmaları Cis uygulanan gruplarda inflamasyon saptamamıştır. Bizim çalışmamızda da gruplar arasında herhangi bir inflamatuvar bulguya rastlanmamıştır. Bu durumun olası nedenleri arasında fibrozis ve hemorajik değişikliklerin gelişmesi için yeterli zamanın geçmesi gerektiği örnek gösterilebilir (128,130,137).

Literatürde Cis'in oluşturduğu nefrotoksisiteye karşı birçok antioksidan madde kullanılmıştır. Örneğin, Aslantaş (124) çalışmasında Cis ile Necrostatin-1 uygulanan grupta

böbrek dokusunun normal morfolojik yapısını koruduğunu göstermiştir. Elri (127), Cis ile agmatin uygulanan sıçanlarda böbrek dokularının normale yakın boyutlarda olduğunu ve tübüler dejenerasyonun kısmen azaldığını ifade etmiştir.

Gordaliza ve ark. (166) ise Cis ile silastatin uygulamasının korteks ve medullada Cis kaynaklı değişiklikleri belirgin şekilde azalttığını bildirmiştir. Diğer bazı çalışmalarda da melatonin, erdostein, sinapsik asit, kuşburnu ekstraktı, E vitamini, roxadustat ve diosmin gibi maddelerin Cis kaynaklı nefrotoksisiteyi azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (128,129,130,134,135,142,144). Mevcut çalışmada kullanılan Bro'nun histopatolojik olarak koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Cis ve benzeri maddelerin, oksidan-antioksidan dengeyi bozarak oksidatif stresi indüklediği ve hücre içi moleküler mekanizmaların işleyişini olumsuz etkilediği bildirilmektedir (110, 138). Bu süreçte ortaya çıkan serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun en yaygın belirteci MDA olup, uzun yıllardır oksidatif stresin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır (56). Literatürde yer alan çalışmalarda, Abouzed ve ark. (139), Kazak ve ark. (140), İmam ve ark. (141), Arıkan ve ark. (142), Majd ve ark. (143), Cis uygulamasının sıçan böbreklerinde MDA düzeylerini anlamlı şekilde artırdığını bildirmiştir. Mevcut çalışmada da literatürle uyumlu olarak Cis grubunda MDA düzeyinin anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu artışın, Cis'in oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtla ilişkili nefrotoksik etkilerinin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresi baskılayan ajanlar "antioksidan" olarak tanımlanmakta olup, antioksidan savunma mekanizmaları serbest radikallerin elimine edilmesini, endojen antioksidan kapasitenin artırılmasını ve dışarıdan antioksidan alımını kapsamaktadır. Bu sistemin önemli bileşenleri arasında SOD ve GPX gibi enzimler yer almaktadır (60). Yapılan çalışmalarda, Anwer ve ark. (144), Kaya ve ark. (145), Abass ve ark. (146), Adewale ve ark. (147), Cis grubunda SOD düzeylerinin belirgin şekilde azaldığını bildirmiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda da Cis grubunda SOD seviyeleri diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu azalma, Cis'in oksidatif stres oluşturucu etkisi ve mitokondriyal antioksidan savunmayı baskılamasıyla açıklanabilir (146).

GPX düzeylerine ilişkin olarak; El-Beshbishy ve ark. (148), Meng ve ark. (149), Alibakhshi ve ark. (150) ve Liu ve ark. (151), Cis grubunda GPX düzeylerinde azalma olduğunu bildirmiştir. Ancak Gonzalez ve ark. ile Boran ve ark.'nın çalışmaları, Cis uygulamasının GPX düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını ortaya koymuştur (168,169). Mevcut çalışmada da gruplar arasında GPX düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Ferroptoz, 2012 yılında tanımlanmış olup; klasik hücre ölümü türlerinden apoptoz, nekroz ve otofajiden farklı olarak demir birikimi ve lipid peroksidasyonu ile karakterize edilen bir hücre ölüm biçimidir (11). Ferroptozun aktivasyonu ya da inhibisyonu, çeşitli hastalıkların tedavisi açısından yeni bir hedef olarak değerlendirilmektedir (156).

Cis kaynaklı böbrek hasarında GPX4 düzeylerinin arttığı ve bu artışın hücrel bir savunma yanıtı olduğu bildirilmiştir. Xie ve ark. (152), Hu ve ark. (153), Zhou ve ark. (154) ve Zhang ve ark. (155) yaptıkları çalışmalarda GPX4'ün kanser hücrelerinde ferroptozu inhibe ettiğini ve GPX4'ün kanser hücrelerinde ferroptozu inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. Mevcut çalışmada da benzer şekilde Cis grubu GPX4 düzeyleri, Cis+Bro grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur.

Cis kaynaklı nefrotoksisiteye karşı birçok bileşiğin koruyucu etkisi çeşitli çalışmalarla değerlendirilmiştir. Abouzed ve ark. (139) gentamisin, Kazak ve ark. (140) nobiletin, İmam ve ark. (141) hirsutidin, Arıkan ve ark. (142) roxadustat'ın; Cis ile indüklenen oksidatif stres ortamında MDA seviyesini anlamlı şekilde düşürdüğünü ifade etmiştir. Yine Anwer ve ark. (144) diosmin, Kaya ve ark. (145) β -glukan, Abass ve ark. (146) papaverin ve Adewale ve ark. (147) Phoenix dactylifera ile yapılan çalışmalarda, Cis grubunda azalan SOD seviyesinin bu maddelerle artırıldığı bildirilmiştir. GPX aktivitesini artırarak böbrekte koruyucu etki gösterdiği bildirilen diğer bileşikler arasında El-Beshbishy ve ark. (148) tarafından alfa lipoik asit (ALA), Meng ve ark. (149) tarafından daidzein, Alibakhshi ve ark. (150) tarafından zingeron ve Liu ve ark. (151) tarafından selenyum sayılabilir. GPX4 düzeyini artırarak ferroptozu inhibe eden ve böylece Cis nefrotoksisitesine karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilen bileşikler ise sırasıyla Xie ve ark. (152) tarafından pirokatekol, Hu ve ark. (153) tarafından D vitamini reseptör agonistleri ve Zhou ve ark. (154) tarafından polydatin olarak belirtilmiştir.

Bro'nun anti-inflamatuar, apoptoz indükleyici ve immün modülatör etkileri sayesinde kanserin önlenmesi ve tedavisinde olumlu etkiler gösterdiğine dair pek çok çalışma bulunmaktadır (170,171). Maurer (172), Bro'nun kanser hücrelerinde apoptozu tetikleyerek hücrelerin çoğalmasını engellediğini, Pavan ve ark. (173) ise Bro'nun, özellikle kolon ve meme kanseri hücrelerinde tümör büyümesini ve yayılımını azalttığını ifade etmişlerdir.

Cis kaynaklı nefrotoksisite ve ferroptozis üzerine Bro tedavisinin etkisini değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmada, Bro desteğinin oksidatif stres ve inflammatuar yanıtları belirli ölçüde hafiflettiği gözlemlenmiştir (174). Literatürde Cis nefrotoksisitesinde Bro kullanımı ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. El-Demerdash ve ark. (158), Bro tedavisinin alüminyum ile indüklenen nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkiler sağladığını; Al-

Otaibi ve ark. (159) ise kurşun toksisitesine bağlı böbrek hasarında Bro'nun koruyucu etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Kaya ve ark.'nın Bro verilen sıçanlarda Cis kaynaklı böbrek hasarının belirgin şekilde azaldığı, histopatolojik bulguların olumlu yönde değiştiği rapor edilmiştir (175).

Kanser tedavisinde antineoplastik etki gösteren Cis'in neden olduğu oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın Bro kullanımı ile azaltılabildiği tespit edilmiştir. Bro'nun, Cis kaynaklı nefrotoksisite ve ferroptozise karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Cis'in oluşturduğu toksisitelere karşı farklı organları da değerlendiren ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde kanser tedavisinde, Cis yaygın şekilde kullanılan etkili bir antineoplastik ajan olarak öne çıkmaktadır. Ancak böbreklerin yüksek kan akışı, tübül yapılarında maddeleri yoğunlaştırma yetenekleri ve aktif metabolik faaliyetleri nedeniyle bu ilaç böbrek dokusunda birikerek toksik etkilere yol açabilmektedir. Bu birikim, özellikle böbreklerde nefrotoksisiteye neden olurken, oluşum mekanizmasında oksidatif stres, hücre ölümü, fibrin birikimi ve inflamatuvar süreçler gibi pek çok biyolojik faktör rol oynamaktadır.

Yapılan bu çalışmada, Cis uygulamasına bağlı olarak sıçan böbrek dokularında meydana gelen nefrotoksisite ve ferroptozis değerlendirilmiştir.

Araştırma bulgularına göre:

- Morfometrik incelemelerde anlamlı bir farklılık gözlenmemiş olsa da, histomorfometrik analizlerde glomerular alan, Bowman aralığı ve Feret çapında belirgin azalmalar saptanmıştır.
- Histopatolojik değerlendirmeler, glomerüler yapıda bozulmalar, tübüler deformasyonlar ve kanal sisteminde hasar oluştuğunu göstermiştir.
- Biyokimyasal analizler, MDA seviyelerinde artışa, buna karşılık SOD düzeylerinde azalmaya işaret etmiştir.

Bu veriler doğrultusunda, Cis tedavisinin neden olduğu oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtların Bro desteği ile belirli ölçüde hafifletilebildiği görülmüştür. Bu nedenle, Bro'nun Cis kaynaklı nefrotoksisite ve ferroptozise karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceği önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Akdeniz M., Yardımcı B. Kanser Aşıları Derleme, Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi, 2016; 8(2),1-2.
2. Ada S., Ertürk C., Uçar A., Akyüz S., Doğan F., Yücel B. Kanser Hücre Metabolizması, Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı Dergisi, 2012; 3, 66–75.
3. Karakoc H. T., Altintas R., Parlakpınar H., Polat A., Samdanci E., Sagir M., ve ark. Protective Effects Of Molsidomine Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Adv Clin Exp Med*, 2015; 24, 585-593.
4. Cherry S. M., Hunt P. A., Hassold T. J. Cisplatin Disrupts Mammalian Spermatogenesis, But Does Not Affect Recombination Or Chromosome Segregation, *Mutat Res*, 2004; 564, 115-128.
5. Çetintaş V. B., Eroğlu Z. Sisplatin Direncinde Etkili Moleküler Mekanizmalar, Derleme, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyoloji Ad, 2013; 20(2),72-79.
6. Fang C., Lou D., Zhou L., Wang J., Yang B., He Q., et al. Natural Products: Potential Treatments For Cisplatin-induced Nephrotoxicity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021; 42,1951–1969.
7. Eren E., Ata A., Arıcan A. Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Nefrotoksisite, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2012; 26(3):229-235.
8. Miller R. P., Tadagavadi R. K., Ramesh G., Reeves W. B. Mechanism of Cisplatin Nephrotoxicity, *Journal of Toxins*, 2010; ISSN 2072-6651, 2, 2490-2518.
9. Liu Z., Ma Z., Wang Z., Ren S., Tang S., Wang Y., et al. Supplementation of American Ginseng Berry Extract Mitigated Cisplatin- Evoked Nephrotoxicity By Suppressing ROS-Mediated Activation of MAPK and NF-κB Signaling Pathways, *Food Chem Toxicol*, 2017; 110,62-73.
10. Mohammad R. M., Muqbil I., Lowe L., Yedjou C., Hsu H. Y., Lin L. T., et al. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Semin Cancer Biol*, 2015; 35: S78–S103.
11. Dixon S. J., Lemberg K. M, Lamprecht M. R., Skouta R., Zaitsev E. M, Gleason C. E., et al. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of NonApoptotic Cell Death. *Cell*, 2012; 149: 1060–1072.

12. Stockwell B. R., Angeli J. P. F., Bayir H., Bush A. I., Conrad, M., Dixon, S. J., et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*, 2017; 171(2), 273-285.
13. Xie Y., Hou W., Song X., Yu Y., Huang J., Sun X., et al. Ferroptosis: Process and function. *Cell Death & Differentiation*, 2016; 23(3), 369- 379.
14. Yang W. S., Stockwell B. R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chemistry & biology*, 2008; 15(3), 234-245.
15. Bian Z., Hann H. W., Ye Z., Yin C., Wang Y., Fang W., et al. Ferritin level prospectively predicts hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Oncology Letters*, 2018; 16(3), 3499-3508.
16. Thévenod F. Iron and its role in cancer defense: A double-edged sword. *Met Ions Life Sci*, 2018; 18, 437-467.
17. Hassannia B., Vandenabeele P., Berghe, T. V. Targeting ferroptosis to iron out cancer. *Cancer cell*, 2019; 35(6), 830-849.
18. Iqbal P. F., Malik M. A., Wani W. A. Serendipity of Cisplatin, and The Emergence of Metallodrugs in Cancer Chemotherapy, *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 2018; 7, 654-664.
19. Avarave S., Thomas J., Radha V., Altaff K. Synergistic protective effect of *Camellia sinensis* leaf buds and *Camellia sinensis* flowers against Cisplatin-induced nephrotoxicity in rats and characterization of its bioactive compounds. *Nat Prod Res*, 2022; 36(17):4470-4.
20. Brien S., Lewith G., Walker A. F., Middleton R., Prescott P., Bundy R. Bromelain as an adjunctive treatment for moderate-to-severe osteoarthritis of the knee: a randomized placebo-controlled pilot study. *QJM*, 2006; 99(12):841-50.
21. Sadler T. W. *Langman's Medical Embryology*, Lippincott Williams & Wilkins (Wolters Kluwer), Baltimore, MD, USA, 2012, 313-326.
22. Moore K. L., Persaud T. V. N., Torchia M. G. *Before We are Born E-Book: Essentials of Embryology and Birth Defects with STUDENT CONSULT Online Access*: Elsevier Health Sciences, 2015; s. 175-180.
23. Arıncı A., Elhan A., *Anatomi. Cilt 1*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2016; 315.
24. Dere F. *Anatomi atlası ve ders kitabı*. Nobel Tıp Kitabevleri, 2010.
25. Netter F. H. *İnsan Anatomi Atlası. 5. Baskı*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2011: 2014.

26. Gövsa Gökmen F. Sistematik Anatomi. In: Gövsa Gökmen F (Eds). Systema Urinarium. İzmir. İzmir Güven Kitabevi, 2008; p 534-540.
27. Missoum A. Recent updates on mesenchymal stem cell based therapy for acute renal failure. *Curr. Urol.*, 2019; 13(4), p: 189-199.
28. Brown S. A., Crowell W. A., Brown C. A., Barsanti J. A., Finco D. R. Pathophysiology and management of progressive renal disease. *Vet J.*, 1997; 154(2):93-109.
29. Seyahi N., Ateş K., Süleymanlar G. Türkiye’de renal replasman tedavilerinin güncel durumu: Türk Nefroloji Derneği kayıt sistemi 2015 yılı özet raporu. *Turk Neph Dial Transpl.*, 2017; 26(2):154-60.
30. Bazmandegan G., Amirteimoury M., Kaeidi A., et al. Sumatriptan ameliorates renal injury induced by Cisplatin in mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2019; 22(5):563-7.
31. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem.*, 2019; 88:102925.
32. Blackadar C. B., Historical review of the causes of cancer. *World J Clin Oncol.* 59, 2016; 7(1):54-86.
33. Hussain S. P., Hofseth L. J., Harris C. C. Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer.*, 2003; 3(4):276-85.
34. Hanahan D., Weinberg A. R. Hallmarks of Cancer: The Next Generation, *Cell*, 2011; 144, 646-674.
35. World Health Organization. Pricing of cancer Medicines and Its Impacts, 2018; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>, accessed 18 November 2019.
36. Baykara O. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, Derleme, Balıkesir, 2016; 5 (3), 154-165.
37. Chabner B. A., Roberts T. G. Timeline: Chemotherapy and The War on Cancer, *Nat Rev Cancer*, 2005; 5, 65–72.
38. Kazdal D., Hofman V., Christopoulos P., Ilić M., Stenzinger A., Hofman P. Fusion-positive non-small cell lung carcinoma: Biological principles, clinical practice, and diagnostic implications. *Genes Chromosomes Cancer.*, 2022; 61(5):244-60.
39. Makovec T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiol Oncol.*, 2019; 53(2):148-58.
40. Dasari S., Tchounwou P. B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.*, 2014; 740:364-78.

41. Heinemann V., Quietzsch D., Gieseler F., et al. Randomized phase III trial of gemcitabine plus Cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol.*, 2006; 24(24):3946-52.
42. Barabas K., Milner R., Lurie D., Adin C. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *Vet Comp Oncol.*, 2008; 6(1):1-18.
43. Loehrer P. J., Einhorn L. H. Drugs five years later. Cisplatin. *Ann Intern Med.*, 1984; 100(5):704-13.
44. Harder H. C, Rosenberg B. Inhibitory effects of anti-tumor platinum compounds on DNA, RNA and protein syntheses in mammalian cells in vitro. *Int J Cancer.*, 1970; 6(2):207-16.
45. Welters M. J., Fichtinger-Schepman A. M., Baan R. A., et al. Pharmacodynamics of Cisplatin in human head and neck cancer: correlation between platinum content, DNA adduct levels and drug sensitivity in vitro and in vivo. *Br J Cancer.*, 1999; 79(1):82-8.
46. Goodsell D. S. The molecular perspective: Cisplatin. *Oncologist.*, 2006; 11(3):316-7.
47. Jacobs C., Kalman S. M., Tretton M., Weiner M. W. Renal handling of cis diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Treat Rep.*, 1980; 64(12):1223-6.
48. Choie D. D, del Campo A. A, Guarino A. M. Subcellular localization of cis dichlorodiammineplatinum (II) in rat kidney and liver. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1980; 55(2):245-52.
49. Weiss R. B., Poster D. S. The renal toxicity of cancer chemotherapeutic agents. *Cancer Treat Rev.*, 1982; 9(1):37-56.
50. Dinç, A. *Alcea dissecta ve Ruscus aculeatus L. Bitkilerinin Sıçanlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Modelinde Koruyucu Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2019.*
51. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.*, 2007; 35(5):1147-50.
52. Finaud J., Lac G., Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.*, 2006; 36(4):327-58.
53. Barnham K. J., Masters C. L., Bush A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov.*, 2004; 3(3):205-14.
54. Burton G. J., Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 2011; 25(3):287-99.
55. Liguori I., Russo G., Curcio F., et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.*, 2018; 13:757-72.

56. Czerna M., Mikołajewska K., Zieliński M., Gromadzińska J., Wąsowicz W. Today's oxidative stress markers. *Med Pr.*, 2015; 66(3):393-405.
57. Ponnuswamy P., Ostermeier E., Schrötle A., et al. Oxidative stress and compartment of gene expression determine proatherosclerotic effects of inducible nitric oxide synthase. *Am J Pathol.*, 2009; 174(6):2400-10.
58. Kim S. K., Choe J. Y., Park K. Y. Rebamipide Suppresses Monosodium Urate Crystal-Induced Interleukin-1 β Production Through Regulation of Oxidative Stress and Caspase-1 in THP-1 Cells. *Inflammation.*, 2016; 39(1):473-82.
59. Yuan J., Murrell G. A., Trickett A., Wang M. X. Involvement of cytochrome c release and Caspase-3 activation in the oxidative stress-induced apoptosis in human tendon fibroblasts. *Biochim Biophys Acta.*, 2003; 1641(1):35-41.
60. Naito Y., Yoshikawa T. Oxidative stress-induced posttranslational modification of proteins as a target of functional food. *Forum Nutr.*, 2009; 61:39-54.
61. Betteridge D. J. What is oxidative stress? *Metabolism.*, 2000; 49(2):3-8.
62. Ni L., Cheng Y., Xiaoyan W. Targeting ferroptosis in acute kidney injury. *Cell Death & Disease* 13.2, 2022; 182.
63. Li Y., Yan H., Xu X., Liu H., Wu C., Zhao L. Erastin/sorafenib induces Cisresistant nonsmall cell lung cancer cell ferroptosis through inhibition of the Nrf2/xCT pathway. *Oncol Lett.*, 2019; 19: 323–333.
64. Dixon S. J., Stockwell B. R. The Role Of Iron And Reactive Oxygen Species In Cell Death. *Nat Chem Biol.*, 2014; 10: 9–17.
65. Görlach A., Dimova E. Y., Petry A., Martínez-ruiz A., Hernansanz- Agustín P., Rolo A. P., et al. Reactive Oxygen Species, Nutrition, Hypoxia And Diseases: Problems Solved? *Redox Biol.*, 2015; 6:372–385.
66. Ortega A. L., Mena S., Estrela J. M. Glutathione In Cancer Cell Death. *Cancers (Basel)*, 2011; 3: 1285–1310.
67. Sato H., Tamba M., Ishii T., Bannai S. Cloning And Expression Of A Plasma Membrane Cystine/Glutamate Exchange Transporter Composed Of Two Distinct Proteins. *J Biol Chem*, 1999; 274: 11455–11458.
68. Feng H., Stockwell B. R. Unsolved Mysteries: How Does Lipid Peroxidation Cause Ferroptosis? *PLOS Biol*, 2018; 16: E2006203.
69. Gaschler M. M., Hu F., Feng H., Linkermann A., Min W., Stockwell B. R. Determination Of The Subcellular Localization And Mechanism Of Action Of Ferrostatins In Suppressing Ferroptosis. *ACS Chem Biol*, 2018; 13: 1013–1020.

70. Jiang L., Kon N., Li T., Wang S. J., Su T., Hibshoosh H., et al. Ferroptosis As A P53-mediated Activity During Tumour Suppression. *Nature*, 2015; 520: 57–62.
71. Torti S. V., Torti F. M. Iron And Cancer: More Ore To Be Mined. *Nat Rev Cancer*, 2013; 13: 342–355.
72. Battaglia A. M, Chirillo R., Aversa I., Sacco A., Costanzo F., Biamonte F. Ferroptosis And Cancer: Mitochondria Meet The Iron Maiden Cell Death. *Cells*, 2020; 9: 1505.
73. Zhang F., Tao Y., Zhang Z., Guo X., An P., Shen Y., et al. Metalloreductase Steap3 Coordinates The Regulation Of Iron Homeostasis And Inflammatory Responses. *Haematologica*, 2012; 97: 1826–1835.
74. Dixon S. J. Ferroptosis: Bug Or Feature? *Immunol Rev*, 2017; 277: 150–157.
75. Muckenthaler M. U., Galy B., Hentze M. W. Systemic Iron Homeostasis And The Iron-responsive Element/Iron-regulatory Protein (IRE/IRP) Regulatory Network. *Annu Rev Nutr*, 2008; 28: 197–213.
76. Dolma S., Lessnick S. L., Hahn W. C., Stockwell Br. Identification Of Genotype-selective Antitumor Agents Using Synthetic Lethal Chemical Screening In Engineered Human Tumor Cells. *Cancer Cell*, 2003; 3: 285–296.
77. Yang W. S., Stockwell B. R. Synthetic Lethal Screening Identifies Compounds Activating Iron-dependent, Nonapoptotic Cell Death In Oncogenic- Ras-harboring Cancer Cells. *Chem Biol*, 2008; 15: 234–245.
78. Cao J. Y., Dixon S. J. Mechanisms Of Ferroptosis. *Cell Mol Life Sci*, 2016; 73: 2195–87 2209.
79. Fan Z., Wirth A. K., Chen D., Wruck C. J., Rauh M., Buchfelder M., et al. Nrf2-keap1 Pathway Promotes Cell Proliferation And Diminishes Ferroptosis. *Oncogenesis*, 2017; 6: E371–e371.
80. Gaschler M. M., Stockwell B. R. Lipid Peroxidation in Cell Death. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017; 482: 419–425.
81. Skouta R., Dixon S. J., Wang J., Dunn D. E., Orman M., Shimada K., et al. Ferrostatins Inhibit Oxidative Lipid Damage And Cell Death In Diverse Disease Models. *J Am Chem Soc*, 2014; 136: 4551–4556.
82. Hauck A. K., Bernlohr D. A. Oxidative Stress And Lipotoxicity. *J Lipid Res*, 2016; 57: 1976–1986.
83. Garcia S. C., Grotto D., Bulcão R. P., Moro A. M., Roehrs M., Valentini J., et al. Evaluation Of Lipid Damage Related To Pathological And Physiological Conditions. *Drug Chem Toxicol*, 2013; 36: 306–312.

84. Ayala A., Muñoz M. F., Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, And Signaling Mechanisms Of Malondialdehyde And 4-hydroxy-2- Nonenal. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 1–31.
85. Lachaier E., Louandre C., Godin C., Saidak Z., Baert M., Diouf M., et al. Sorafenib Induces Ferroptosis In Human Cancer Cell Lines Originating From Different Solid Tumors. *Anticancer Res*, 2014; 34: 6417–6422.
86. Louandre C., Ezzoukhry Z., Godin C., Barbare J. C., Mazière J. C., Chauffert B., et al. Iron-dependent Cell Death Of Hepatocellular Carcinoma Cells Exposed To Sorafenib. *Int J Cancer*, 2013; 133: 1732– 1742.
87. Ma S., Henson E. S, Chen Y., Gibson S. B. Ferroptosis Is Induced Following Siramesine And Lapatinib Treatment Of Breast Cancer Cells. *Cell Death Dis*, 2016; 7: E2307–e2307.
88. Roh J. L., Kim E. H., Jang H. J., Park J. Y., Shin D. Induction Of Ferroptotic Cell Death For Overcoming Cisplatin Resistance Of Head And Neck Cancer. *Cancer Lett*, 2016; 381: 96–103.
89. Kurata M., Suzuki M., Agar N. S. Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals. *Comp Biochem Physiol B*, 1993; 106(3):477-87.
90. Beuth J. Proteolytic enzyme therapy in evidence-based complementary oncology: fact or fiction? *Integr Cancer Ther.*, 2008; 7(4):311-16.
91. Agrawal P., Nikhade P., Patel A., Mankar N., Sedani S. Bromelain: A Potent Phytomedicine. *Cureus.*, 2022; 14(8): e27876.
92. Brien S., Lewith G., Walker A. F., Middleton R., Prescott P., Bundy R. Bromelain as an adjunctive treatment for moderate-to-severe osteoarthritis of the knee: a randomized placebo-controlled pilot study. *QJM.*, 2006; 99(12):841-50.
93. Rowan A. D., Buttle D. J., Barrett A. J. The cysteine proteinases of the pineapple plant. *Biochem J.*, 1990; 266(3):869-75.
94. Maurer H. R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life Sci.*, 2001; 58(9):1234-45.
95. Arshad Z. I., Amid A., Yusof F., Jaswir I., Ahmad K., Loke S. P. Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2014; 98(17):7283-97.
96. Rowan A. D., Buttle D. J. Pineapple cysteine endopeptidases. *Methods Enzymol.*, 1994; 244:555-68.

97. Lenarcic B., Ritonja A., Turk B., Dolenc I., Turk V. Characterization and structure of pineapple stem inhibitor of cysteine proteinases. *Biol Chem Hoppe Seyler.*, 1992; 373(7):459-64.
98. Harrach T., Eckert K., Schulze-Forster K., Nuck R., Grunow D., Maurer H. R. Isolation and partial characterization of basic proteinases from stem Bromelain. *J Protein Chem.*, 1995; 14(1):41-52.
99. Gregory S., Kelly N. D. Bromelain: a literature review and discussion of its therapeutic application. *Alt Med Rev.*, 1996; 1(4):243-57.
100. Akman T., Akman L., Erbas O., Terek M. C., Taskiran D., Ozsaran A. The preventive effect of oxytocin to Cisplatin-induced neurotoxicity: an experimental rat model. *Biomed Res Int.*, 2015; 2015:167235.
101. Akaras N., Toktay E., Aydemir Celep N., Yüce N., Şimşek H., Özkan H. İ. Antioxidant effects of Bromelain on paracetamol-induced renal injury in rats. *Arch Basic Clin Res.*, June 10, 2023. DOI: 10.5152/ABCR.2023.
102. Türk E., Güvenç M., Cellat M., Uyar A., Kuzu M., Ağgül A. G., ve ark. Zingerone protects liver and kidney tissues by preventing oxidative stress, inflammation, and apoptosis in methotrexate-treated rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 2022; 45(3), 1054-1065.
103. Ilić S., Stojiljković N., Sokolović D., Jovanović I., Stojanović N. Morphometric analysis of structural renal alterations and beneficial effects of aminoguanidine in acute kidney injury induced by Cisplatin in rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 2020; 98(2), 117-123.
104. Dogan A., Dalar A., Sadullahoglu C., Battal A., Uzun Y., Celik I. Investigation of the protective effects of horse mushroom (*Agaricus arvensis* Schaeff.) against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Mol Biol Rep.*, 2018; 45(5):787-97.
105. Haskaya G. Parkinson hastalığında oksidatif stres ve melatonin düzeyleri. MS thesis. 2015, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
106. Liguori I., Russo G., Curcio F., et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.*, 2018; 13:757-72.
107. Gold J. M., Raja A. *Cisplatin*, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2022.
108. Karagöl N. Cisplatin Nefrotoxicity and Treatment Approaches. *International Journal of PharmATA*, 2023; 3(1): 14-22

109. Akca G., Eren H., Tumkaya L., Mercantepe T., Horsanali M. O., Deveci E., ve ark. The Protective Effect of Astaxanthin Against Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats. *Biomed Pharmacother*, 2018; 100:575-582.
110. Pabla N., Dong Z. Cisplatin Nephrotoxicity: Mechanisms and Renoprotective Strategies. *Kidney Int*. 2008; 73(9):994-1007.
111. Hwang H. S., Yoon H. E., Park J. H., Chun H. J., Park C. W., Yang C. W., et al. Noninvasive And Direct Measures Of Kidney Size In Kidney Donors. *Am J Kidney Dis.*, 2011; 58:266-271.
112. Giral M., Nguyen J. M., Karam G., Kessler M., Hurault De Ligny B., Buchler M. Impact Of Graft Mass On The Clinical Outcome Of Kidney Transplants. *J Am Soc Nephrol.*, 2005; 16:261-268.
113. Kadioglu, A. Renal measurements, including length, parenchymal thickness, and medullary pyramid thickness, in healthy children: what are the normative ultrasound values? *A.J.R. Am. J. Roentgenol.*, 2010; 194(2):509-15.
114. Han B. K., Babcock D. S. Sonographic measurements and appearance of normal kidneys in children. *A.J.R. Am. J. Roentgenol.*, 1985; 145(3):611-6.
115. Buchholz N. P., Abbas F., Biyabani S. R., Talati J., Javed Q., Afzal M., ve ark. Ultrasonographic renal size in individuals without known renal disease. *J Pak Med Assoc.*, 2000; 50:12-6.
116. Fernandes M. M., Lemos C. C., Lopes G. S., Madeira E. P., Santos O. R., Dorigo D., ve ark. Normal renal dimensions in a specific population. *Int Braz J Urol.*, 2002; 28:510-5.
117. Moorthy K. H., Venugopal P. Measurements of renal dimensions in vivo: A critical appraisal. *Indian J Urol*. 2011; 27:169-75.
118. Glodny B., Unterholzner V., Taferner B., Hofmann K. J., Rehder P., Strasak A., ve ark. Normal kidney size and its influencing factors - a 64-slice MDCT study of 1.040 asymptomatic patients. *B.M.C. Urol*. 2009; 9:19.
119. Thakur V., Watkins T., McCarthy K., Beidl T., Underwood N., Barnes K., ve ark. Is kidney length a good predictor of kidney volume? *Am. J. Med. Sci.*, 1997; 313(2):85-9.
120. Emamian S. A., Nielsen M. B., Pedersen J. F., Ytte L. Kidney dimensions at sonography: correlation with age, sex, and habitus in 665 adult volunteers. *A.J.R. Am. J. Roentgenol.*, 1993; 160(1):83-6.
121. Yao X., Panichpisal K., Kurtzman N., Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci*. 2007; 334(2): 115-124.

122. Fatima S., Arivarasu N. A., Mahmood R. Vitamin C attenuates Cisplatin-induced alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport. *Hum Exp Toxicol.*, 2007; 26:419- 426.
123. Taguchi T., Nazneen A., Ruhul-Abid M., Razzaque M. S. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol.*, 2005; 148: 107-121.
124. Aslantaş M. İzole perfüze rat böbreğinde cisplatin nefrotoksitesini üzerine necrostatin'in koruyucu etkilerinin araştırılması. MS thesis. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014.
125. Güntürk İ., et al. The effect of N-acetylcysteine on inflammation and oxidative stress in Cisplatin-induced nephrotoxicity: a rat model. *Turkish Journal of Medical Sciences* 49.6, 2019: 1789-1799.
126. Kaushik S., Tomar A., Puthanmadhom Narayanan S., Chandra Nag T., Singh Arya D., Bhatia J. Pitavastatin Attenuates Cisplatin-Induced Renal Injury by Targeting MAPK and Apoptotic Pathways, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2019; 71, 1072-1081.
127. Elri, T. Cisplatin nefrotoksitesine karşı Agmatinein koruyucu etkisinin TC-99M DMSA uptake'i ve serum sistatin c ile değerlendirilmesi. 2013.
128. Parlakpınar H., Sahna E., Ozer M. K., Ozugurlu F., Vardi N., Acet A. Physiological and pharmacological concentrations of melatonin protect against Cisplatin-induced acute renal injury. *J Pineal Res.*, 2002; 33: 161-166.
129. Ozyurt H., Yildirim Z., Kotuk M., Yılmaz H. R., Yağmurca M., Iraz M., et al. Cisplatin-induced acute renal failure is ameliorated by erdosteine in a dose-dependent manner. *J Appl Toxicol.*, 2004; 24: 269-275.
130. Altındağ F., Ergen H. Sinapic acid alleviates Cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating oxidative stress and apoptosis. *Environmental Science and Pollution Research* 30.5, 2023; 12402-12411.
131. Moreno-Gordaliza E., et al. Lipidomics reveals Cisplatin-induced renal lipid alterations during acute kidney injury and their attenuation by cilastatin. *International journal of molecular sciences*, 22.22, 2021; 12521.
132. Tan B., et al. Tryptophan pathway-targeted metabolomics study on the mechanism and intervention of Cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Chemical Research in Toxicology* 34.7, 2021; 1759-1768.
133. Şahin, B. Ratlarda Cisplatin Nefrotoksitesinde Sanggenon C'nin Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2022.

134. Çiftçi S. D. Ratlarda Sisplatinin Tetiklediği Akut Nefrotoksisite Hasarı Üzerine Rosa Canina L. (Kuşburnu) Ekstraktının Etkisinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, Gümüşhane Üniversitesi, Temmuz 2023.
135. Kanter M., Tarladaçalışır Y. T., Uygun M. Sisplatin nefrotoksisitesinde E vitamininin koruyucu etkileri: Işık ve elektron mikroskopik çalışma. Tıp Araştırmaları Dergisi 5.3, 2007; 83-90.
136. Işeri S., Ercan F., Gedik N., Yüksel M., Alican I. Simvastatin attenuates Cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. Toxicology, 2007; 230: 256-264.
137. Kelada Melad N., et al. Protective effect of platelet-rich plasma on Cisplatin-induced nephrotoxicity in adult male albino rats: histological and immunohistochemical study. Biological Trace Element Research 202.3, 2024; 1067-1083.
138. Koyuncu İ. Ratlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Üzerine Naringenin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 7.1, 2018; 119-125.
139. Abouzed T. K., et al. Assessment of gentamicin and Cisplatin-induced kidney damage mediated via necrotic and apoptosis genes in albino rats. BMC Veterinary Research 17, 2021; 1-9.
140. Kazak F., et al. Protective effects of nobiletin on Cisplatin induced neurotoxicity in rats. International Journal of Neuroscience 132.5, 2022; 531-537.
141. Imam F., et al. Hirsutidin prevents Cisplatin-evoked renal toxicity by reducing oxidative stress/inflammation and restoring the endogenous enzymatic and non-enzymatic level. Biomedicines 11.3, 2023; 804.
142. Arıkan C., et al. Roxadustat protects rats from Cisplatin-induced acute kidney injury. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 23.7, 2024; 1077-1082.
143. Majd N. E., et al. Effects of chemical and green nano-zinc oxide on histological changes, oxidative stress, and apoptosis in rat kidney associated with Cisplatin. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 59, 2023: e20960.
144. Anwer T., et al. Nephroprotective effect of diosmin against Cisplatin-induced kidney damage by modulating IL-1 β , IL-6, TNF α and renal oxidative damage. Molecules 28.3, 2023; 1302.
145. Kaya K., et al. β -Glucan ameliorates Cisplatin-induced oxidative and histological damage in kidney and liver of rats. Biotechnic & Histochemistry 99.2, 2024; 92-100.

146. Abass S. A., et al. Unraveling the nephroprotective potential of papaverine against Cisplatin toxicity through mitigating oxidative stress and inflammation: insights from in silico, in vitro, and in vivo investigations. *Molecules* 29.9, 2024; 1927.
147. Adewale O. O., et al. Water-soluble phenolics from Phoenix dactylifera fruits as potential reno-protective agent against Cisplatin-induced toxicity: pre-and post-treatment strategies. *Drug and Chemical Toxicology* 47.6, 2024; 1058-1071.
148. El-Beshbishy Hesham A., et al. Abrogation of Cisplatin-induced nephrotoxicity in mice by alpha lipoic acid through ameliorating oxidative stress and enhancing gene expression of antioxidant enzymes. *European journal of pharmacology* 668.1-2, 2011; 278-284.
149. Meng H., et al. Ameliorative effect of daidzein on Cisplatin-induced nephrotoxicity in mice via modulation of inflammation, oxidative stress, and cell death. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017; 1, 3140680.
150. Alibakhshi T., et al. Protective effects of zingerone on oxidative stress and inflammation in Cisplatin-induced rat nephrotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 105, 2018; 225-232.
151. Liu S., et al. Selenium status in diet affects nephrotoxicity induced by Cisplatin in mice. *Antioxidants* 11.6, 2022; 1141.
152. Xie X., et al. Pyrocatechol Alleviates Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting ROS Production. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2022.1, 2022; 2158644.
153. Hu Z., et al. VDR activation attenuate Cisplatin induced AKI by inhibiting ferroptosis. *Cell death & disease* 11.1, 2020; 73.
154. Zhou L., et al. Polydatin attenuates Cisplatin-induced acute kidney injury by inhibiting ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2022.1, 2022; 9947191.
155. Zhang X., et al. Inhibition of tumor propellant glutathione peroxidase 4 induces ferroptosis in cancer cells and enhances anticancer effect of Cisplatin. *Journal of cellular physiology* 235.4, 2020; 3425-3437.
156. Li S., Huang Y. Ferroptosis: an iron-dependent cell death form linking metabolism, diseases, immune cell and targeted therapy. *Clinical and Translational Oncology* 24.1, 2022; 1-12.
157. Hadian K., Stockwell B. R. SnapShot: ferroptosis. *cell* 181.5, 2020; 1188-1188.

158. El-Demerdash F. M., et al. Nephroprotective role of bromelain against oxidative injury induced by aluminium in rats. *Environmental toxicology and pharmacology* 80, 2020; 103509.
159. Al-Otaibi W. R., Virk P., Elobeid M. Ameliorative potential of stem Bromelain on lead-induced toxicity in Wistar rats. *Acta Biologica Hungarica* 66, 2015; 149-160.
160. Chen Y., et al. Assessment of Cisplatin-induced kidney injury using an integrated rodent platform. *Toxicology and applied pharmacology* 268.3, 2013; 352-361.
161. Jana S., et al. Early diagnostic biomarkers for acute kidney injury using Cisplatin-induced nephrotoxicity in rat model. *Current research in toxicology* 5, 2023; 100135.
162. IuV N., et al. Characteristics of the action of Cisplatin and cycloplatam on the rat kidney. *Biulleten'Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny* 108.7, 1989; 52-54.
163. Acar R., Karadurmus N., Koc B. Analysis of tissue cytokine levels in rats with Cisplatin-induced experimental nephrotoxicity. *Eurasian Journal of Medical Investigation* 4.3, 2020; 376-379.
164. Zhang B., et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity is mediated by tumor necrosis factor- α produced by renal parenchymal cells. *Kidney international* 72.1, 2007; 37-44.
165. Humanes B., et al. Cisplatin-induced renal inflammation is ameliorated by cilastatin nephroprotection. *Nephrology Dialysis Transplantation* 32.10, 2017; 1645-1655.
166. Moreno-Gordaliza E., et al. Lipidomics reveals Cisplatin-induced renal lipid alterations during acute kidney injury and their attenuation by cilastatin. *International journal of molecular sciences* 22.22, 2021; 12521.
167. Yao X., et al. Cisplatin nephrotoxicity: Pathogenic mechanisms and perspectives for protection. *Kidney International*, 72(8), 2007; 983–990.
168. González R., et al. Lipid Peroxides and Antioxidant Enzymes in Cisplatin-Induced Chronic Nephrotoxicity in Rats. *Toxicology*, vol. 201, no. 1-3, 2004; pp. 1–8.
169. Boran T., et al. The Effect of Celastrol on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Bezmialem Science*, vol. 7, no. 2, 2019; pp. 145–150.
170. Sagar S. M., et al. Bromelain in the treatment of cancer: a review of its mechanisms and clinical potential. *Cancer Letters*, 1999; 146(2), 101-106.
171. Taussig S. J., et al. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and its clinical application. *The Journal of Ethnopharmacology*, 1988; 22(2), 191-203.
172. Maurer H. R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001; 58(9), 1234-1245.

173. Pavan R., et al. Bromelain: a literature review and discussion on its therapeutic applications. *Biotechnology Research International*, 2012.
174. Koc M., et al. Anti-inflammatory effects of bromelain. *Planta Medica*, 2009; 75(1), 37-41.
175. Kaya A., et al. Protective effects of bromelain on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, 2020; 12, 123-131.



8. ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Şekil 1. Kalıcı böbreğin gelişimi..... | 4 |
| Şekil 2. Karın arka duvarında böbreklerin pozisyonu | 5 |
| Şekil 3. Böbreğin iç yapısı | 8 |
| Şekil 4. Nefronun yapısı..... | 9 |
| Şekil 5. Cis'in kimyasal yapısı. | 11 |
| Şekil 6. Cis'in nefrotoksisite mekanizması. | 14 |
| Şekil 7. Hücre Ölüm Mekanizmaları. | 16 |
| Şekil 8. Ferroptotik yollar. | 19 |
| Şekil 9. Bro'nun kimyasal yapısı. | 20 |
| Şekil 10. Image J programında facies anterior'daki ölçüm parametreleri. | 24 |
| Şekil 11. Image J programında margo medialis tarafında görünen ölçüm parametreleri. | 25 |
| Şekil 12. Image J programında sinüs renalis yüzey alanı ölçümü. | 26 |
| Şekil 13. İmage J programı korteks tabaka kalınlığı ölçümü (μm) X4 lük objektif büyütmesi. | 29 |
| Şekil 14. İmage J programı Feret's çap ölçümü (μm) X40 lük objektif büyütmesi. | 30 |
| Şekil 15. İmage J programı Glomerular alan ölçümü (μm^2) X40 lük objektif büyütmesi. | 30 |
| Şekil 16. İmage J programı Bowman aralığı alan ölçümü (μm^2) X40 lük objektif büyütmesi. | 31 |
| Şekil 18. A, B, C ve D gruplarına ait Hematoksilen- Eozin boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. | 39 |
| Şekil 19. A, B, C ve D gruplarına ait Masson Trichrome boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. | 40 |
| Şekil 20. A, B, C ve D gruplarına ait PAS boyama x40'lık objektif büyütmesine ait görüntüler. | 40 |
| Şekil 21. Histopatolojik skorlama..... | 41 |
| Şekil 22. Histomorfometrik ölçümler | 43 |
| Şekil 23. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması | 45 |
| Şekil 24. Grupların SOD düzeylerinin karşılaştırılması | 45 |
| Şekil 25. Grupların ELASTIN düzeylerinin karşılaştırılması..... | 46 |
| Şekil 26. Grupların GPX4 düzeylerinin karşılaştırılması | 47 |
| Şekil 27. Grupların GPX düzeylerinin karşılaştırılması | 47 |

9. TABLOLAR DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Tablo 1. Rutin Doku Takibi Prosedürü | 27 |
| Tablo 2. Hematoksilen–Eozin boyama aşamaları. | 27 |
| Tablo 3. Masson trichrome boyama aşamaları. | 28 |
| Tablo 4. PAS boyama aşamaları..... | 28 |
| Tablo 5. MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı..... | 32 |
| Tablo 6. Serumda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı | 33 |
| Tablo 7. GPX Tayini için Tüplerin Hazırlanışı | 34 |
| Tablo 8. Böbrek morfometrik ölçüm sonuçları. | 38 |
| Tablo 9. Böbrek doku örneklerinin histopatolojik sonuçları. | 41 |
| Tablo 10. Böbrek doku örneklerinin histomorfometrik sonuçları. | 42 |
| Tablo 11. Gruplara göre biyokimyasal parametrelere ait tanımlayıcı istatistikler. | 44 |

10. ETİK KURUL BELGESİ



11. ÖZGEÇMİŞ

