

ARAŞTIRMA

Sıçanlarda sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri *

Sadık Söğüt ¹, H. Ramazan Yılmaz ², Ahmet Songur ³, Mukaddes Güleç ⁴, Mahir Kotuk ⁵, Seda Ağlamış ⁶

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay,

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Isparta,

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyon,

⁴ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya, Anabilim Dalı,

⁵ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,

⁶ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya

Özet

Amaç: Sisplatin insanlarda baş, boyun, akciğer, testis, ovaryum gibi bir çok solid tümörde etkili bir antitümör ilaç olarak kullanılmaktadır. Tedavi esnasında serbest oksijen radikalleri üreterek başta böbrek olmak üzere bir çok organda toksisiteye neden olduğu için doz kısıtlamasına gidilmektedir. E vitamini (E vit) serbest radikal süpürücü bir antioksidandır. Bu çalışmada sıçanlarda sisplatinine bağlı akut renal yetmezlik modelinde E vitamininin koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlar 3 gruba ayrıldı; Grup-I (n=7), 3. gün serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Grup-II (n=8), 3. gün tek doz 7 mg/kg sisplatin i.p. olarak uygulandı. Grup-III (n=9), sisplatin+E vit, deney süresince (toplam 7 gün) her gün i.p. olarak E vit 10 mg/kg 1x1 dozunda

ve 3. Günde 7 mg/kg sisplatin tek doz halinde i.p. olarak verildi. Sisplatin verilisinden 5 gün sonra sıçanların böbrekleri genel anestezi altında alındı. Doku homojenize edildi ve süpernatant elde edildi. Süpernatantdan heksokinaz (HK), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), laktat dehidrogenaz (LDH) ve malat dehidrogenaz (MDH) aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Bulgular: Tek doz olarak verilen sisplatinin kontrol grubuna göre diğer iki grupta, MDH dışındaki diğer enzimlerin aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olduğu görüldü. Sisplatin grubu ile sisplatin+E vit grubu karşılaştırıldığında, E vit uygulanmasının HK, G6PD enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak artışa neden olurken MDH aktivitesinde azalmaya neden olduğu görüldü. Sisplatin uygulanan grupların böbrek dokusu LDH aktiviteleri arasında anlamlı bir değişme gözlenmedi.

Sonuç: Sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasar esnasında glikoliz ve pentoz fosfat metabolitik yollarının hasarı sınırlamak amacıyla aktive olduğu ve E vit'in bu durumu daha da artırmasıyla korumaya çalıştığı gözlemlendi. Bu sonuçlar sisplatinin istenmeyen etkilerinin daha etkili, ekonomik ve kolay uygulanabilir ilaçlarla önlenilebileceği veya azaltılabileceği konusunda alternatifler bulmada yol gösterici olabilir.

Anahtar kelimeler: Sisplatin, nefrotoksisite, metabolik enzimler, E vitamini, sıçan

* Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmış ve 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresinde Poster olarak sunulmuştur

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Sadık Söğüt
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı
31100 Antakya/Hatay
Tel: 0 326 214 16 49/117
Fax: 0 326 214 49 77
E-mail: sadiksogut2@hotmail.com

The effect of vitamine-E on metabolic enzyme activities during cisplatin-induced nephrotoxicity in rats

Abstract

Purpose: Cisplatin is used as an effective antitumor agent for treatment of many solid tumors such as head, neck, lung, testis, ovaryum in human. Its usage is limited due to its toxicity to many organs including kidneys via free oxygen radicals. Vitamin E (Vit E) is an antioxidant agent. The aim of this study was to investigate whether Vit E is a protective agent against cisplatin induced acute renal failure or not.

Materials and Methods: Rats were divided into three groups: Group-I, %0.9 NaCl solution was injected every day during the experimental procedure (n=7); Goup-II, cisplatin was administrated single i.p. dose of 7 mg/kg at 3rd day os the experimental procedure (n=8); Group-III, Vit E was injected every day i.p. dose of 10 mg/kg in addition to cisplatin injection (n=9). The kidneys were removed under anesthetized 5 days after the cisplatin administration. Tissue was homogenized and supernatant was separated. The activities of hexokinase (HK), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), lactate dehydrogenase (LDH) and malate dehydrogenase (MDH) were measured spectrophotometrically from supernatant.

Results: Single dose cisplatin in two study group caused statistically increase activities of all enzymes except MDH in comparison with control group. Vit E treatment resulted in higher activities of HK and G6PD, but lower activity of MDH than only cisplatin administration. There was no significant difference in LDH activity between groups. In conclusion, glycolysis and pentose phosphate metabolic ways were activated during cisplatin induced renal injury and Vit E was try to protect the tissue from injury by increasing the activities much more.

Conclusion: These results may help to show that cisplatin induced undesired toxicities may be prevented or decreased by cheapest ways.

Keywords: Cisplatin, nephrotoxicity, metabolic enzyme, vitamine-E, rat

Sisplatin (Cis-dichlorodiammineplatinum [II], CDDP); testis, over, mesane, baş-boyun, akciğer, böbrek, osteojenik ve uteroservikal karsinomalar gibi bir çok kanser türünde yaygın olarak kullanılan etkili antikanser ilaçlardan biridir. Bununla birlikte yüksek doz sisplatin uygulaması vücutta nefrotoksisite, kemik iliği toksisitesi, gastrointestinal toksisite, ototoksisite ve periferik nöropati gibi istenmeyen yan etkilere sıklıkla sebep olduğu için doz kısıtlamasına gidilmekte-

dir (1-4). Sisplatinle oluşturulan nefrotoksisiteyi ve diğer yan etkileri azaltmak için deneysel ve klinik çalışmalarda çeşitli ilaçlar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarla sisplatinin aşırı serbest radikal üretimiyle oksidatif renal hasar yaptığına dair kanıtlar ileri sürülmüştür (5-8). Bu yüzden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon, selenyum, flavonoidler, dietil ditiyokarbamates, erdosteine, kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve Nigella sativa ekstraktı gibi antioksidan maddelerin deney hayvanlarında sisplatinle oluşturulan nefrotoksisitede koruyuculuğu çalışılmıştır (9-16).

E vitamini (E vit) doğada 8 tokoferolden oluşan ve yağda eriyen bir vitamindir. Bu 8 tokoferol içinde doğada en çok bulunan ve en aktif olanı alfa-tokoferol'dür. E vit biyolojik sistemler için önemli bir antioksidandır ve dokularda özellikle membrandan zengin kısımlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu membran bölgelerinde lipit peroksidasyonu zincirini kırarak hücre hasarını önler ve ayrıca hücre içi sinyal iletilişinin normal şekilde gerçekleştirilmesi bu vitaminin varlığı ile mümkün olur (17-19).

Bu deneysel çalışmada, sıçanlarda sisplatin ile deneysel olarak akut böbrek yetmezliği oluşturulması ve böbrek dokusunda heksokinaz (HK), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), laktat dehidrogenaz (LDH) ve malat dehidrogenaz (MDH) enzim aktivitelerini tespit edilmesi ve bunlar üzerine E vit'in olumlu etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 24 adet erkek erişkin Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Hayvanlara 12/12 saat gece/gündüz periyodunda, standart sıçan pellet yem ve çeşme suyu verildi. Deneysel grupları şu şekilde belirlendi: Grup 1 (n=7): Kontrol, Grup 2 (n=8): Sisplatin ve Grup 3 (n=9): Sisplatin + E vit. Kontrol grubundaki sıçanlara sadece 3. gün intraperitoneal (i.p.) olarak sisplatinle eşit hacimde izotonik salin solüsyonu uygulandı. Sisplatin (Cisplatinum Ebewe, 0.5 mg/ml) 3. gün 7 mg/kg vücut ağırlığı dozu i.p. olarak Zhang ve ark. tarafından belirtildiği şekilde uygulandı (20). E vit grubuna deney süresince her gün i.p. olarak E vit (Evigen, 300mg/2ml, ampul, Aksu) 10 mg/kg dozda 1x1 olarak uygulanmaya başlandı ve 3. gün 7 mg/kg sisplatin tek doz halinde i.p. olarak uygulandı. Sisplatin verilmişinden 5 gün sonra deneyin 7. gününün sonunda 1 mg/kg xylazine ile 0.5 ml/kg ketamin i.p. uygulanarak sağlanan genel anestezi altında böbrek dokuları alındı. Biyokimyasal analiz için, böbrek dokusu çıkarıldıktan sonra soğuk (+4°C) 0.15 M'lık KCI ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile kuruldu. Böbrek dokusu tartıldıktan sonra parçalara ayrıldı ve bir homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T 25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık soğuk KCI çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi, ısınmayı önlemek için bir

buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Elde edilen homojenat 5000 g'de 1 saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi. Analiz zamanına kadar -40°C'de bekletildi. HK, G6PD, LDH ve MDH enzimlerinin aktiviteleri Mannheim ve ark.'larının tarif ettiği şekilde süpernatantda spektrofotometrik olarak tayin edildi (21). Süpernatant protein tayini Lowry metoduna (22) göre yapıldı.

İstatistiksel Analizler: İstatistikler SPSS® 9.05 ile yapıldı. Grupların dağılımları Non-parametrik testlerden "One-sample Kolmogorov-Smirnov Test" ile değerlendirildi. Grupların normal dağılım göstermesinden dolayı istatistiksel karşılaştırma için parametrik testlerden "One-way ANOVA" testi ve post-hoc testlerden LSD (Least significance difference) kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Böbrek dokusunda HK, G6PD, LDH VE MDH aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. Sisplatin verilen sıçanlarda kontrol grubuna göre HK, G6PD ve LDH aktivitelerinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Böbrek dokusu HK ve G6PD enzim aktivitelerindeki bu artma sisplatin + E vit grubunda diğer gruplara göre daha fazlaydı. E vit + sisplatin ile sisplatin grubu arasında LDH aktivitesi açısından anlamlı fark gözlemlenmedi. Kontrol ile sisplatin grubu karşılaştırıldığında böbrek dokusu MDH aktiviteleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmezken sisplatin + E vit grubu MDH aktivitesi diğer iki gruptan anlamlı derecede düşük bulundu.

Tartışma

Vücudun tüm dokularında ortaya çıkan çeşitli kanser türleri günümüzde önemini gittikçe artırmaktadır. Dünya genelinde kanser türleri ile ilgili erken tanı, etyolojinin ortaya çıkarılması, patogenezin açıklanması ve yeni tedavi şekilleri için ilaçların geliştirilmesi üzerine oldukça fazla çalışma yapılmaktadır (23,24). Bunun yanında günümüzde yaygın olarak kullanılan antineoplastik ajanların etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak için de yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Bazı ajanların kanser tedavisinde oldukça yaygın kullanılmalarına rağmen sıklıkla tümörlü doku dışındaki diğer dokularda etkilenmekte ve ciddi yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu yan etkilerin görülmesi ile birlikte birkaç alternatif yol denenmektedir. Tedavi protokolü değiştirilebilmekte, bu da çok etkili olan bir ilaç yerine daha az etkili bir ilaca geçilmekle mümkün olmaktadır ve arzu edilmeyen bir seçenektir. Diğer bir seçenek tedavi dozunda kısıtlamaya gidilmesidir. Bu da tümör dokusunun istenen oranda sınırlandırılmasına engel olabilmektedir. Diğer bir seçenek ise bu istenmeyen yan etkileri önleyecek veya

azaltacak diğer bir ajanın kullanılmasıdır ki bu da maliyeti oldukça artıran bir seçenektir (25).

Sisplatin akciğer tümörlerinde ve bir çok solid tümör tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili ve ekonomik tedavi sağlayan önemli bir antineoplastik ajandır. Ancak tedavi esnasında bir çok önemli yan etki görülmektedir. Bunlardan en sık görüleni ve en ciddi olanı böbrek yetmezliğidir ve doz kısıtlamasına gidilmesini gerektiren istenmeyen bir yan etkidir. Son zamanlarda yapılan bir çok çalışmada bu yan etkinin serbest oksijen radikalleri ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir (9,26,27). Sisplatinin böbrek yetmezliği yan etkisini önlemek için amifostine gibi bazı ajanlar kullanılmaktadır (25). Amifostine bu yan etkiyi azaltmasına rağmen sisplatinle birlikte kullanıldığında maliyeti 10 kat artırmaktadır. Bundan dolayı C vitamini, adenosin antagonistleri, L-histodinol, aminoguanidin, CAPE, nifedipine, glutamin ve erdoistine gibi ilaçlar sisplatin toksisitesini önlemek için denenmiştir (9-16).

E vit öncelikle enzimatik olmayan oksidasyonu engelleyen bir antioksidandır. Doğada çok kolay elde edilmekte, ayçiçek yağı gibi bitkisel yağlarda bolca bulunmaktadır (28-31). Yağda eridiği için hücre membranına lokalizedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA's) oksidasyonunda engelleyici bir görev alır ve çoklu doymamış yağ asidi alımının artmasıyla E vit'e ihtiyaç artar. E vit hücre membranlarında yer alan PUFA's ları radikallerin ataklarından korumaya çalışır. $O^{\bullet-}$, $\bullet OH$, O_2 ve diğer radikalleri süpürür. Lipit peroksil (LOO^{\bullet}) radikallerini yıkarak lipit peroksidasyonu (LPO)'nun zincir reaksiyonunu kırar ve antioksidan özelliğini burada gösterir. Reaksiyon sonunda tokoferoksil radikali oluşur ve bu stabil bir moleküldür, böylece peroksidasyon durmuş olur (28,32,33).

Bu çalışmamızda sisplatinin 7 mg/kg'lık tek dozu ile sıçanlarda böbrek yetmezliği oluşturduk. Bu yüksek doz sisplatin uygulamasının böbrek dokusunun ne oranda etkilediğini gösterebilmek için böbrek dokusunda bazı metabolik enzimlerin aktivitelerini tespit ettik. Ayrıca sisplatin uygulamasıyla oluşabilecek enzim aktivite değişikliklerini E vit'in nasıl etkileyeceğini gözlemlemek amacıyla bir grup sıçana sisplatinle birlikte E vit uyguladık. Sisplatin uygulamasının HK, G6PD ve LDH aktivitelerini anlamlı şekilde artırdığı, MDH aktivitesini fazla etkilemediği, sisplatinle birlikte E vit uygulamasının HK ve G6PD aktivitelerini dahada artırdığı, LDH aktivitelerini etkilemediği, MDH aktivitesindeki hafif artışı ise anlamlı şekilde azalttığı tespit edildi.

E vitamini GSH ile birlikte kullanıldığında karaciğer malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal düzeyleri azalmış olarak bulunmuş (34). Laughton ve arkadaşları E vit'in bleomisin (BLM) kaynaklı fibrozis modelinde oluşan DNA hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermişler ve benzer olarak hamsterlarda E vit eksikliğinin BLM ile oluşturulan akciğer hasarını hızlandırdığını

göstermişlerdir (35). Kılınç ve ark. E vit verilmesinin subkutan uygulanan BLM'nin fibrotik etkilerini önemli derecede azalttığını bulmuşlardır. Böylece yüksek doz E vit uygulamanın antikanserojen olarak BLM kullanan hastalarda fibrozisi geciktirme ve engelleme açısından katkı sağlayabileceğini ileri sürmüşlerdir (36).

Yaptığımız bir çalışmada sisplatinin böbrek dokusunda LPO oluşturarak böbrek hasarına yol açtığını ve oksidan/antioksidan parameterlerde anlamlı değişiklikler yaptığını göstermiştik (7). Diğer bir çalışmamızda ise sisplatinin böbrek dokusu ve plazma pürin katabolizması enzimleri olan adozin deaminaz ve ksantin oksidaz aktivitelerini anlamlı derecede yükselttiğini ve antioksidan erdosteine ile bu artışın vücudun yarısına bir şekilde düşürüldüğünü göstermiştik (37).

Bu çalışmamızda sisplatinin böbrek dokusu HK, G6PD ve LDH enzim aktivitelerindeki artış böbrek dokusunda oluşan hasarın önlenmesi veya azaltılması amacıyla vücudun çeşitli enzimatik ve non enzimatik savunma sistemlerinin devreye girmesi ve hasara karşı bu moleküllerin sentezinin artırılması amacıyla olmuş olabilir. Bu hasarın önlenmesi veya azaltılması için oluşan moleküllerin sentezi için bu enzimler artmış olabilir. E vit ilavesi yapılan grupta HK ve G6PD aktivitelerinin daha da artması hasarın giderilmesi veya önlenmesine yönelik savunmayı desteklemek amacıyla olabileceğini akla getirmektedir.

Glikoliz reaksiyon zinciri esnasında HK'ın çok önemli fonksiyonu vardır (38). Glukozun glukoz-6-fosfata dönüşmesini katalizler ve benzer diğer enzim olan glikokinazdan farklı olarak sadece karaciğer ve pankreasda değil vücutta bir çok dokuda bulunmasının yanında glukoz konsantrasyonlarının düşük olduğu durumlarda aktiftir ve metabolizma için çok önemlidir. Glukoz-6-fosfatta bir aşama sonra G6PD ile 6-fosfoglukonolaktona dönüşür. G6PD pentoz fosfat yolunda çok önemli rol oynamasının yanında antioksidan özelliği olan bir enzimdir (39). Vücut için çok önemli fonksiyonları olan ve aynı zamanda redükleyici molekül olan NADPH pentoz fosfat reaksiyon zincirleri sonucu oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerde NADPH'ler enerji üretimi ve yağ asidi sentezi, kolesterol sentezi, çeşitli reaksiyonlarda bir elektron vericisi ve okside glutasyonu (GSSG) redükte GSH'a çevirmek gibi çok önemli işlevler görmektedir (40-41). Vücutta oluşan hasarların tamiri için NADPH, D-deoksiriboz 5-fosfat ve D-riboz 5-fosfat gibi moleküller çok önemlidir.

Bütün bu olaylar ışığında HK ve G6PD vücutta hasarlı dokuların tamirinde gereklidir ve bizim çalışmamızda da hasarın boyutunu sınırlamak açısından bu enzimlerin sentezi artmış olabilir. Antioksidan özelliği ve biyolojik sistemlerdeki DNA ve protein hasarını önleme özelliği kanıtlanmış E vit uygulaması ile bu enzimlerin aktivitelerinin artmış olarak bulunması bu görüşümüze desteklemektedir. Ayrıca dolaylı yollardan GSH-Px yardımı ile H₂O₂'yi H₂O'ya çeviren ve toksik etkisini engelleyerek antioksidan özellik gösteren redükte

GSH'ın NADPH yardımı ile okside glutatyondan üretimini artırıyor ve bu şekilde de enzimatik antioksidan özellik gösteriyor olabilir.

Çalışmamızda LDH aktivitesi cisplatinle birlikte artmış ve E vit bunu pek etkilememiştir. LDH aktivitesi vücudun çoğu hücresinde bulunur ve hücrenin sitoplazmasında sabit kalmaktadır (41). Oksijen miktarının azaldığı durumlarda NADPH'ı kullanarak piruvatın laktata dönüşmesini sağlar ve ATP oluşturur. LDH enzim aktivitesinin osteosarkom gibi bazı tümörlerin büyümesinde ve remisyonunda bir belirteç olarak kullanılabilmesi, kemoterapi tedavisinin takibinde kullanılabilmesi düşünülmektedir. Nakamura ve Kitagawa fareler üzerine yaptıkları çalışmada tümör kitlesi ile LDH enzim aktivitesi arasında bir paralellik olduğunu, tümöre bağlı ölümün tahmin edilmesinde LDH düzeyinin kullanılabilmesini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar aralarında sisplatininde bulunduğu antikanser ilaç tedavisinin LDH enzim aktivitesinde geçici bir artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir (42).

Kobayashi yaptığı çalışmada aralarında sisplatininde bulunduğu kemoterapi tedavisi alan over kanseri hastaların idrar ile atılan LDH, GGT ve ALP aktivitelerinde tedavi sonrası kontrol grubuna göre 10 kat artış olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle idrar LDH düzeyi ile idrar protein konsantrasyonunun birlikte değerlendirilmesinin sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitenin duyarlı belirteçleri olarak kullanılabilmesi ileri sürülmektedir (43,44). Hannemann ve Baumann sıçan böbrek hücreleri ile yaptıkları in vitro çalışmada sisplatinin doza bağlı olarak LDH aktivitesinde inhibisyona neden olduğunu, fakat bu inhibisyonun nefrotoksisite ile ilişkilendirilemeyeceğini ileri sürmektedirler (45). Kawai ve ark. tarafından yapılan in vitro çalışmada sisplatin uygulanan lenfokinin aktive ettiği öldürücü hücrelerden (LAK) LDH salımında anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (46).

Sonuç olarak; sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasar esnasında glikoliz ve pentoz fosfat metabolitik yollarının hasarı sınırlamak amacıyla aktive olduğu ve E vit'in bu durumu daha da artırmasıyla korumaya çalıştığı, bunu da redükte edici moleküllerin üretimini ve nükleik asit sentezini artıran enzim aktivitelerini indükleyerek yaptığı söylenebilir. Bu da bize sisplatinin istenmeyen yan etkilerinin daha etkili, ekonomik ve kolay uygulanabilir ilaçlarla önlenilebileceği veya azaltılabileceği konusunda alternatifler bulmada yol gösterici olabilir.

Kaynaklar

1. Hara M, Yoshida M, Nishijima H et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res* 2001; 30: 129-138.
2. Bodenner DL, Dedon PC, Keng PC, Katz JC, Borch

- RF. Selective protection against cisplatin-induced toxicity in kidney, gut, and bone marrow by DDTC. *Cancer Res* 1986; 46: 2751-2755.
3. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khattab MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol C* 2002; 132: 123-128.
4. Madasu R, Ruckenstein MJ, Leake F, Steere E, Robbins T. Ototoxic effects of supradose cisplatin with sodium thiosulfate neutralization in patients with head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123: 978-981.
5. Matsushima H, Yonemura K, Ohishi K, Hishida A. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med* 1998;131: 518-526.
6. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, et al. In vitro and in vivo evidence suggesting a role for iron in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 1998;53:394-400.
7. Yildirim Z, Söğüt S, Odacı E, et al. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 149-156.
8. Sugihara K, Nakano S, Koda M, Tanaka K, Fukuishi N, Gemba M. Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Jpn J Pharmacol* 1987; 43: 247-252.
9. Anand AJ, Bashey B. Newer insights into cisplatin nephrotoxicity. *Ann Pharmacoter* 1993; 27: 1519-1525.
10. Fadillioglu E, Erdogan H, Sogut S, Kuku I. Protective effects of erdosteine against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *J Appl Toxicol* 2003; 23: 71-74.
11. Fadillioglu E, Oztas E, Erdogan H, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 47-52.
12. el Daly ES. Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J Pharm Belg* 1998; 53: 87-93.
13. Yağmurca M, Fadilloğlu E, Erdoğan H, Uçar M, Söğüt S, Irmak MK. Erdosteine prevents doxorubicin induced cardio-toxicity in rats *Pharmacol Res* 2003; 48(4): 377-382.
14. Knight RJ, Collis MG, Yates MS, Bowmer CJ. Amelioration of cisplatin-induced acute renal failure with 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 1062-1068.
15. Badary OA, Nagi MN, Al-Sawaf HA, Al-Harbi MM, Al-Bekairi AM. Effect of L-histidinol on cisplatin nephrotoxicity in the rat. *Nephron* 1997; 77: 435-439.
16. Deray G, Dubois M, Beaufils H, et al. Effects of nifedipine on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Clin Nephrol*. 1988; 30: 146-50.
17. Nagel E, zu Vilsendorf AM, Bartels M, Pichlmayr R. Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. *Internat J Vit Nutr Res* 1997; 67: 298-306.
18. Packer L. Interactions among antioxidants in health and disease: vitamin E and its redox cycle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 20: 271-276.
19. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 24th edition. Appleton & Lange. London 1996: 343-357.
20. Zhang JG, Viale M, Esposito M, Lindup WE. Tiopronin protects against the nephrotoxicity of cisplatin in the rat. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18: 713-7.
21. Boehringer Mannheim, Biochemica Information, Glucose 6-phosphate dehydrogenase, Hexokinase, Lactate dehydrogenase, Malate dehydrogenase. sayfalar; 99-100, 113-114, 121-122, 125-126, 1973.
22. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Rondall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*; 1951; 193: 265-275.
23. Babu E, Gopalakrishnan VK, Sriganth IN, Gopalakrishnan R, Sakthisekaran D. Cisplatin induced nephrotoxicity and the modulating effect of glutathione ester. *Mol Cell Biochem* 1995; 144: 7-11.
24. Sheikh-Hamad D, Timmins K, Jalali Z. Cisplatin-induced renal toxicity: possible reversal by N-cetylcysteine treatment. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1640-1644.
25. Weichert-Jacobsen KJ, Bannowski A, Kuppers F, Loch T, Stöckle M. Direct amifostine effect on renal tubule cells in rats. *Cancer Res* 1999; 59: 3451-3.
26. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Ueda N, Shah S. Role of cytochrome P-450 as a source of catalytic iron in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 1998; 54: 1562-1569.
27. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev* 1999; 3: 971-97.
28. Nagel E, zu Vilsendorf AM, Bartels M, Pichlmayr R. Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. *Internat J Vit Nutr Res* 1997; 67: 298-306.
29. Bulger EM, Maier RV. Antioxidants in critical illness. *Arch Surg* 2001; 136: 1201-1207.
30. Packer L. Interactions among antioxidants in health and disease: vitamin E and its redox cycle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 20: 271-276.
31. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 24th edition. Appleton & Lange. London 1996: 343-357.
32. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*, second edition, Clarendon Press, Oxford, New York, USA, 1995: 1-81.
33. Champe PC, Harvey RA. *Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya*. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul 1997: 171-190.
34. Meydani SN, Meydani M, Blunberg JB, et al. Vitamin E supplementation enhances in vivo immune response in healthy elderly: a dose-response study. *J Am Med Assoc* 1997; 277: 1380-1386.
35. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hault JR,

Tablo 1. Böbrek heksokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, laktat dehidrogenaz ve malat dehidrogenaz enzim aktiviteleri (ortalama \pm standart hata). A.D. Anlamlı değil.

	HK	G6PD	LDH	MDH
	mU/mg protein	mU/mg protein	U/mg protein	U/mg protein
I-Kontrol (n=7)	0.285 \pm 0.02	0.356 \pm 0.01	0.0365 \pm 0.0001	0.206 \pm 0.001
II-Sisplatin (n=8)	0.359 \pm 0.02	0.514 \pm 0.02	0.0451 \pm 0.0001	0.218 \pm 0.001
III-Sisplatin +E-vit (n=9)	0.431 \pm 0.01	0.613 \pm 0.04	0.0441 \pm 0.0002	0.163 \pm 0.0001
P değerleri				
I-II	0.034	0.003	0.004	A.D.
I-III	0.0001	0.0001	0.009	0.03
II-III	0.030	0.032	A.D.	0.005

Halliwell B. İnhibition of mammalian S-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 1673-1681.

36. Kılınç C, Özcan O, Karaöz E, Sunguroğlu K, Kutluay T, Karaca L. Vitamin E reduces bleomycin-induced lung fibrosis in mice: biochemical and morphological studies. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1993;4:249-269.

37. Sogut S, Kotuk M, Yilmaz HR, Ulu R, Ozyurt H, Yildirim Z. In vivo evidence suggesting a role for purine-catabolizing enzymes in the pathogenesis of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats and effect of erdosteine against this toxicity. *Cell Biochem Funct*. 2004; 22(3): 157-62.

38. Magnani M, Stocchi V, Dacha M, Fornaini G. Regulatory properties of rabbit red blood cell hexokinase at conditions close to physiological. *Biochim Biophys Acta*; 1984; 804: 145-153.

39. Ho HY, Cheng ML, Lu FJ, et al. Enhanced oxidative stress and accelerated cellular senescence in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient human fibroblasts. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 156-169.

40. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. Twenty-fourth edition, Prentice-Hall International, Inc, The United States of America, 1996.

41. Ganczakowski M, Town M, Bowden DK, et al.

Multiple glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants correlate with malaria endemicity in Vanuatu Archipelago (Southwestern Pacific). *Am J Hum Genet* 1995; 56: 294-301.

42. Nakamura T, Kitagawa T. Anticancer drug screening test with LDH in nude mouse bearing bone and soft part sarcoma. *Cancer*. 1985; 56(5): 1112-1116.

43. Kobayashi H. [Cisplatin and ovarian carcinoma--early detection of cisplatin-induced nephrotoxicity] *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1985; 37(6): 888-896.

44. Smith MA, Smith JH, Litterst CL, Copley MP, Uozumi J, Boyd MR. In vivo biochemical indices of nephrotoxicity of platinum analogs tetraplatin, CHIP, and cisplatin in the Fischer 344 rat. *Fundam Appl Toxicol*. 1988; 10(1): 62-72.

45. Hannemann J, Baumann K. İnhibition of lactate-dehydrogenase by cisplatin and other platinum-compounds: enzyme leakage of LDH is not a suitable method to measure platinum-compound-induced kidney cell damage in vitro. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1988; 60(3): 371-379.

46. Kawai K, Sasaki T, Saijo-Kurita K, Akaza H, Koiso K, Ohno T. Additive effects of antitumor drugs and lymphokine-activated killer cell cytotoxic activity in tumor cell killing determined by lactate-dehydrogenase-release assay. *Cancer Immunol Immunother*. 1992; 35(4): 225-229.