



**SİSPLATİN İLE OLUŞTURULAN NEFROTOKSİSİTE
MODELİNDE SAF LİKOPEN İLE AYNI MİKTARDA LİKOPEN
İÇEREN KARPUZ SUYUNUN RENOPROTEKTİF ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Büşranur TOPCU

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. İsmet YILMAZ

İkinci Tez Danışmanı

Doç. Dr. Hasan AYDIN

Yüksek Lisans Tezi - 2026

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİSPLATİN İLE OLUŞTURULAN NEFROTOKSİSİTE MODELİNDE SAF
LİKOPEN İLE AYNI MİKTARDA LİKOPEN İÇEREN KARPUZ SUYUNUN
RENOPROTEKTİF ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Büşranur TOPCU

Farmakoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç. Dr. İsmet YILMAZ**

**İkinci Tez Danışmanı
Doç. Dr. Hasan AYDIN**

**Tez Jüri Üyeleri
Doç. Dr. İsmet YILMAZ
Dr. Öğr. Üyesi Hacı Bayram BERKTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Dilan AŞKIN ÖZEK**

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından yürütülen TYL-2025-4061 numaralı proje kapsamında mali olarak desteklenmiştir.

**MALATYA
2026**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kuralları doğrultusunda Doç. Dr. İsmet YILMAZ danışmanlığında ve Doç. Dr. Hasan AYDIN'ın ikinci tez danışmanlığında hazırlayarak sunduğum “Sisplatin İle Oluşturulan Nefrotoksisite Modelinde Saf Likopen İle Aynı Miktarda Likopen İçeren Karpuz Suyunun Renoprotektif Etkilerinin Karşılaştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimde yer alan tüm veri, bilgi ve belgelerin akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, değerlendirme süreci ile ulaşılan sonuçların bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun biçimde sunulduğunu, çalışmamda yararlanılan tüm kaynaklara bilimsel kurallara uygun şekilde atıf yapılarak yer verildiğini, tez çalışmasının özgün nitelik taşıdığını ve çalışma ile yazım sürecinde patent ya da telif haklarını ihlal eden herhangi bir davranışta bulunmadığımı beyan ederim. Aksi bir durumun tespiti halinde doğabilecek tüm hukuki ve akademik sorumlulukları kabul ettiğimi beyan ederim. 14/04/2026

Büşranur TOPCU

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ix
ABSTRACT	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kanser	4
2.1.1. Kanserin Tanımı ve Epidemiyolojisi	4
2.1.2. Kemoterapötik Yaklaşımlar	5
2.1.3. Kemoterapinin Yan Etkileri	5
2.2. Sisplatin.....	7
2.2.1. Sisplatinin Farmakolojik Özellikleri	7
2.2.2. Antikanser Etki Mekanizması ve Klinik Kullanımı.....	9
2.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi	9
2.3.1. Nefrotoksisite Tanımı ve Klinik Önemi.....	10
2.3.2. Sisplatin'in Nefrotoksik Etki Mekanizması.....	10
2.3.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi ve Doğal Ürün İlişkisi.....	12
2.3.4. Preklinik Modellerde Nefrotoksisite Araştırmaları.....	13
2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	14
2.4.1. Oksidatif Stres Nedir?	14
2.4.2. Endojen Antioksidan Sistemler (SOD, CAT, GPx).....	15
2.4.3. Ekzojen Antioksidanlar ve Diyetle Alımı	16
2.5. Likopen	17
2.5.1. Kimyasal Yapısı ve Kaynakları	17
2.5.2. Antioksidan ve Anti-inflamatuvar Özellikleri	18
2.5.3. Renoprotektif Etki Mekanizmaları.....	18
2.6. Karpuz Suyu.....	19
2.6.1. Fitokimyasal Bileşimi ve Biyolojik Etkileri	19
2.6.2. Karpuz Suyunun Likopen İçeriği	20
2.6.3. Literatürde Karpuz ve Renoprotektif Etkisi Üzerine Çalışmalar.....	21

3. MATERYAL VE METOT	22
3.1. Araştırma Tasarımı	22
3.2. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	24
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulama Planı	24
3.4. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışı	25
3.4.1. Sisplatin Hazırlanışı ve Uygulaması	25
3.4.2. Saf Likopen Hazırlanışı ve Uygulaması	26
3.4.3. Karpuz Suyunun Standardizasyonu, Hazırlanışı ve Uygulaması.....	26
3.5. Sakrifiye Yöntemi ve Örneklemeye	29
3.5.1. Anestezi Protokolü, Sakrifiye, Kan ve Böbrek Örneklerinin Alınması	29
3.6. Biyokimyasal Analizler.....	29
3.6.1. Böbrek Dokusunun Hazırlanması	30
3.6.2. Serumda Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü.....	30
3.6.3. KİM-1 Ölçümü.....	31
3.7. Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi.....	31
3.7.1. MDA Düzeyinin Ölçümü.....	31
3.7.2. GSH Düzeyinin Ölçülmesi.....	32
3.7.3. SOD Aktivitesinin Belirlenmesi	32
3.7.4. CAT Aktivitesinin Belirlenmesi	33
3.8. Histolojik Örneklerin Hazırlanması	34
3.8.1. Böbrek Histoloji Örneğinin Hazırlanması	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Biyokimyasal Bulgular	36
4.1.1. Böbrek Dokusu Biyokimyasal Sonuçları	36
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	44
4.2.1. Kontrol Grubunun Histopatolojik Görüntü Bulguları.....	45
4.2.2. Sisplatin Uygulanan Grubun Histopatolojik Görüntü Bulguları.....	46
4.2.3. Sisplatin ve Likopen Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Görüntü Bulguları	49
4.2.4. Sisplatin ve Karpuz Suyu Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Görüntü Bulguları	50
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR	62

EKLER.....	72
EK-1. Özgeçmiş	72
EK-2. Etik Kurul Kararı.....	73



TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında engin bilgi birikimi, kıymetli yönlendirmeleri ve akademik rehberliğiyle çalışmama yön veren danışman hocam Doç. Dr. İsmet YILMAZ'a,

Tez sürecim boyunca karşılaştığım her sorunda desteğini esirgemeyen, deneysel çalışmalarında da gösterdiği özverili katkılarla sürecin verimli ilerlemesini sağlayan Arş. Gör. M. Burak AÇIKGÜL'e,

Tezimin HPLC çalışmalarında sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlamasında beni destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Selim ERDOĞAN'a,

Histopatolojik incelemelerin gerçekleştirilmesi ve sonuçların yorumlanmasına sağladığı katkılar için Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ'e,

Biyokimyasal analizlerdeki deneysel çalışmalara katkısı, sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanmasında desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Yakup YILMAZTEKİN'e,

Tez sürecinde ihtiyaç duyduğum her an değerli zamanını bana ayıran, yardım ve rehberliğini esirgemeyen Arş. Gör. Yaren Nur ZENNİ'ye,

Akademik rehberliğiyle desteğini hep hissettiren Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÇAKIR'a,

Çalışmamda emeklerini ve iyi niyetini esirgemeyen, her aşamada beni cesaretlendirerek destekleyen çalışma arkadaşlarım Ecz. Ahmet Hakan TÜRK'e, Ecz. Emine ARTAR'a, Ecz. Emre ACAR'a ve Ecz. Esin GÜNAY'a,

Eğitim sürecim boyunca maddi ve manevi desteklerini daima hissettiren, sabır ve sevgileriyle en büyük motivasyon kaynağım olan kıymetli anneme ve babama, her konuda desteğini hissettiren abim Abdulkadir TOPCU'ya ve bu süreçte dünyaya gelişiyle içimizi ısıtan canım yeğenim Faruk TOPCU'ya,

Tezimin son dönemlerinde desteğiyle motivasyonumu artıran Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Furkan KURT'a,

Deneysel çalışmalar süresince hayvan temini ile uygun çalışma ortamının sağlanmasındaki destekleri için İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi personeline,

Hayvanların temini ve deneysel çalışmalarım süresince hazırladıkları çalışma ortamı için İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi personeline, TYL-2025-4061 numaralı projeye maddi destek veren İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

ÖZET

Sisplatin ile Oluşturulan Nefrotoksisite Modelinde Saf Likopen ile Aynı Miktarda Likopen İçeren Karpuz Suyunun Renoprotektif Etkilerinin Karşılaştırılması

Amaç: Sisplatin ile oluşturulan deneysel nefrotoksisite modelinde likopen ve karpuz suyunun böbrek fonksiyon parametreleri, serum elektrolit düzeyleri, oksidatif stres ve böbrek hasarını yansıtan biyokimyasal ve histopatolojik belirteçler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi hedeflendi.

Materyal ve Metod: Sıçanlar kontrol, sisplatin, sisplatin+likopen ve sisplatin+karpuz suyu olmak üzere dört gruba ayrıldı. 7 mg/kg sisplatin tek doz intraperitoneal yolla, 4 mg/kg likopen ve HPLC ile miktar tayini yapılarak elde edilen 4 mg/kg likopen eşdeğeri karpuz suyu 10 gün boyunca oral yolla verildi. Deney sonunda serum örneklerinden BUN, Cr ve elektrolitler; böbrek dokularından MDA, GSH, SOD ve CAT düzeyleri ölçüldü. Ayrıca glomerüler hasar, tübüler dejenerasyon, nekroz/apoptoz, lümen tıkanıklığı, interstisyel yangı ve tübüler bazal membran kalınlığı histopatolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Sisplatin uygulanan grupta biyokimyasal parametrelerde bozulma, elektrolit dengesizliği ve oksidatif stres artışı gözlemlendi ($p<0,05$). Karpuz suyu, BUN ve Cr düzeylerinde belirgin düşüş sağlarken, elektrolit dengesini kısmen düzeltdi ve oksidatif stres göstergelerinde anlamlı iyileştirme oluşturdu ($p<0,05$). Histopatolojik incelemede, sisplatin grubunda glomerüler hasar ve tübüler nekroz ile lümen tıkanıklığı belirgin iken, karpuz suyu ve likopen uygulanan gruplarda özellikle tübüler lümen tıkanıklığı ve interstisyel yangıda kısmi iyileşme gözlemlendi; likopen grubunda en belirgin histolojik düzelme lümen tıkanıklığının azalması şeklindedir.

Sonuç: Karpuz suyunun antioksidan bileşenleri, sisplatine bağlı nefrotoksisiteyi biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde azaltmaktadır. Bu bulgular, karpuz suyunun böbrek fonksiyonlarını koruyarak nefrotoksisiteyi önlemede veya şiddetini azaltmada destekleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Karpuz suyu, Likopen, Nefrotoksisite, Oksidatif Stres, Sisplatin.

ABSTRACT

Comparison of the Renoprotective Effects of Pure Lycopene and Watermelon Juice Containing the Same Amount of Lycopene in a Nephrotoxicity Model Induced by Cisplatin

Objective: The aim of this study was to evaluate the effects of lycopene and watermelon juice on renal function parameters, serum electrolyte levels, the oxidative stress, and biochemical and histopathological markers reflecting kidney damage in an experimental nephrotoxicity model induced by cisplatin.

Materials and Methods: The rats were divided into four groups: control, cisplatin, cisplatin+lycopene, and cisplatin+watermelon juice. A single dose of 7 mg/kg cisplatin was administered intraperitoneally, while 4 mg/kg lycopene and a 4 mg/kg lycopene equivalent obtained by HPLC-determined watermelon juice were administered orally for 10 days. At the end of the experiment, BUN, Cr, and electrolyte levels were measured in serum samples, and MDA, GSH, SOD, and CAT levels were measured in kidney tissues. In addition, glomerular damage, tubular degeneration, necrosis/apoptosis, lumen obstruction, interstitial inflammation, and tubular basement membrane thickness were evaluated histopathologically.

Results: In the group treated with cisplatin, deterioration in biochemical parameters, electrolyte imbalance, and increased oxidative stress were observed ($p < 0,05$). Watermelon juice caused a significant decrease in BUN and Cr levels, partially corrected electrolyte balance, and produced a significant improvement in oxidative stress markers ($p < 0,05$). In histopathological examination, while glomerular damage, tubular necrosis, and lumen obstruction were prominent in the cisplatin group, partial improvement was observed, particularly in tubular lumen obstruction and interstitial inflammation, in the watermelon juice and lycopene-treated groups; the most pronounced histological improvement in the lycopene group was a reduction in lumen obstruction.

Conclusion: The antioxidant components of watermelon juice reduce cisplatin-induced nephrotoxicity at both the biochemical and histopathological levels. These findings suggest that watermelon juice may play a supportive role in preventing nephrotoxicity or reducing its severity by protecting kidney function.

Keywords: Watermelon Juice, Lycopene, Nephrotoxicity, Oxidative Stress, Cisplatin.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ALT	: Alanine Transaminaz
ANOVA	: Analysis of Variance
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
BRCA1	: Breast Cancer 1
BUN	: Kan Üre Azotu
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cr	: Kreatinin
CXCL1	: Kemokin Ligandı-1
DTNB	: 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoik asit
ER Stres	: Endoplazmik Retikulum Stresi
GFH	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IL-1	: İnterlökin-1
K	: Potasyum
KBH	: Kronik Böbrek Hasarı
KIM-1	: Böbrek Hasar Molekülü-1
MCP-1	: Monosit Kemotaktik Protein 1
MDA	: Malondialdehit
mNPC	: Metastatik Nazofarenks Karsinomu
NGAL	: Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin
Na	: Sodyum
P	: Fosfat
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBMK	: Tübüler Bazal Membran Kalınlığı
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Sisplatinin keşfi ve kullanım alanları (28)	8
Şekil 2.2. Sisplatin kaynaklı akut böbrek hasarı oluşumunun patofizyolojisi (34)	12
Şekil 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması	15
Şekil 2.4. Likopenin kimyasal yapısı	17
Şekil 3.1. Likopen için elde edilen temsili standart kalibrasyon eğrisi	27
Şekil 3.2. Likopen için elde edilen standart kalibrasyon eğrisi	28
Şekil 4.1. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının CAT aktivitesi yönünden karşılaştırılması	36
Şekil 4.2. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının SOD aktivitesi yönünden karşılaştırılması	37
Şekil 4.3. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının GSH düzeyi yönünden karşılaştırılması	38
Şekil 4.4. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının MDA düzeyi yönünden karşılaştırılması	38
Şekil 4.5. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının KIM-1 düzeyi yönünden karşılaştırılması	39
Şekil 4.6. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının BUN düzeyi yönünden karşılaştırılması	40
Şekil 4.7. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Cr düzeyi yönünden karşılaştırılması	40
Şekil 4.8. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Na düzeyi yönünden karşılaştırılması	41
Şekil 4.9. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının K düzeyi yönünden karşılaştırılması	42
Şekil 4.10. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Cl düzeyi yönünden karşılaştırılması	42
Şekil 4.11. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Ca düzeyi yönünden karşılaştırılması	43
Şekil 4.12. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının P düzeyi yönünden karşılaştırılması	43

Şekil 4.13. Kontrol grubunda normal histolojik yapıdaki glomerulus ve tübüller, H-E, x40.	46
Şekil 4.14. Proksimal ve distal tübüllerde yaygın ve şiddetli hidropik dejenerasyon, H-E, x40.	46
Şekil 4.15. Tübül epitel hücrelerinde nekroz ve deskuamasyon, H-E, x40.	47
Şekil 4.16. Medullar tübüllerde hiyalin silindirleri (oklar). H-E, x40.	47
Şekil 4.17. Medullar bölgede lenfositik infiltrasyon (oklar) ve tübüler dilatasyon. H-E, x40.	48
Şekil 4.18. Medullar tübüllerde hiyalin silindirleri (oklar). H-E, x40.	48
Şekil 4.19. Tübül lümende hiyalin silindirleri (oklar), H-E, x40.	49
Şekil 4.20. Sisplatin + karpuz suyu grubunda normal görünümde glomeruluslar, H-E, x40.	50
Şekil 4.21. Tübül epitelinde hidropik dejenerasyon (ok), H-E, x40.	50

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Kemoterapiye bağlı nefrotoksisitenin genel GFH evrelemesine göre sınıflandırılması .	10
Tablo 2.2. Karpuz suyunun fitokimyasal içerikleri ve etkisi	20
Tablo 3.1. Sisplatin nefrotoksisite çalışmaları için histopatolojik skora tablosu	34
Tablo 4.1. Böbrek dokusunun biyokimyasal parametrelerinin ortalama ve gruplar arası karşılaştırmaları	35
Tablo 4.2. Serum biyokimya parametrelerinin ortalama ve gruplar arası karşılaştırmaları	35
Tablo 4.3. Deney gruplarında böbrek histopatolojik bulgularının karşılaştırılması	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, hücrelerin ait oldukları dokuda kontrolsüz şekilde çoğalıp tümör oluşturduğu ve bazı durumlarda vücudun diğer bölgelerine yayıldığı çok faktörlü ve karmaşık bir hastalık olup hücre bölünmesi ve farklılaşmasını düzenleyen genetik mekanizmaların bozulması, kanserin başlıca nedenidir. Kanser insidansındaki artış, çevresel faktörler, artan yaşam süresi ve yaşam biçimindeki değişikliklerle ilişkilendirilmekte, günümüzde özellikle kemoterapötikler birçok solid ve hematolojik kanser tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Platin bazlı kemoterapötikler, çok sayıda tümör tipine karşı etkili olduklarından kanser tedavisinde yaygın olarak tercih edilmekte olup bu grup içinde yer alan ve cis-diklorodiaminplatin olarak bilinen sisplatin birçok malignitenin standart tedavi protokollerinin önemli bir bileşenidir (1). Sisplatin hücre çekirdeğindeki DNA zincirleriyle kovalent etkileşimlere girerek genetik materyalin okunmasını ve çoğaltılmasını engelleyerek antitümör etkinlik göstermekte, aynı zamanda normal dokuların da etkilenmesine yol açarak ciddi toksisitelere neden olduğundan dozu ve klinik kullanımı sınırlandırmaktadır (2).

Sisplatin uygulamasına bağlı gözlemlenen en ciddi yan etkilerden biri nefrotoksisite olup klinikte genellikle serumdaki kreatinin (Cr) konsantrasyonu ile kan üre azotu (BUN) değerlerinde yükselme ile çeşitli elektrolit bozuklukları dikkat çekmektedir. Proksimal tübül hücreleri sisplatin taşıyıcılar aracılığıyla hücre içine yoğun şekilde alabildiğinden, hasar ağırlıklı olarak bu hücrelerde görülmekte (3), gelişen nefrotoksisite hastalarda sisplatin dozunun azaltılmasını, hatta bazı hastalarda tedavinin sonlandırılmasını zorunlu kılmaktadır.

Böbrek fonksiyonlarının izlenmesinde yıllardır Cr ve BUN gibi klasik biyokimyasal göstergelerden yararlanılmaktadır. Bu parametreler renal hasarın erken evrelerinde genellikle geç cevap vermekte ve tanıda sınırlı bir duyarlılık sergilediğinden son dönemde böbrek hasarının daha erken aşamada ve daha özgül biçimde belirlenebilmesi için yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (3).

Sisplatine bağlı nefrotoksisite oluşumunda birçok biyolojik süreç birlikte rol oynamakta, oksidatif denge bozulmakta bunun sonucunda reaktif oksijen türleri artmakta ve antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca

inflamatuvar sinyal yollarının aktive olması, mitokondriyal işlev kaybı, endoplazmik retikulum stresinin artması nefrotoksisite gelişimine katkıda bulunmaktadır (4, 5).

Böbrek hasar molekülü (KIM-1), proksimal tübül hasarına özgü bir biyobelirteç olup sisplatin ilişkili nefrotoksisitenin erken göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir (6). Benzer şekilde, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) de akut böbrek hasarının erken tanısında ve klinik/deneysel çalışmalarda göz önünde bulundurulmuş önemli biyobelirteçlerden biri olarak öne çıkmaktadır (7). Sisplatin nefrotoksisitesinin önlenmesi veya azaltılmasına yönelik çeşitli destekleyici yaklaşımlar üzerinde çalışılmakta, nefrotoksisiteyi tamamen önleyemese de hidrasyon protokolleri ve diüretikler klinikte sıklıkla kullanılmaktadır. Son yıllardaki bu yöndeki araştırmalarda antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösteren doğal bileşikler incelenmektedir (8).

Karotenoidler grubuna ait olan likopen, lipofilik yapısı ve antioksidan etkinliği ile öne çıkan doğal bir bileşik olup başta domates ve karpuz olmak üzere kırmızı meyve ve sebzelerde oldukça fazla bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda likopenin, serbest radikalleri etkili biçimde nötralize edebilme kapasitesi, lipid peroksidasyonunu baskılaması ve hücrel antioksidan savunma sistemlerini güçlendirmesi sayesinde oksidatif stresin tetiklediği doku hasarını sınırlandırmaya yardımcı olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, inflamasyon sürecinde görev alan sitokinlerin salınımını azaltabildiği ve hücre ölümüne ilişkin apoptotik sinyal yollarını düzenleyici etkiler gösterebildiği de bildirilmektedir (9, 10).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, karotenoidlerin lipid peroksidasyonunu baskılaması, inflamatuvar cevabı düzenlemesi ve hücrel antioksidan savunma sistemlerini desteklemesi ile karotenoidlerce zengin beslenmenin, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif süreçlerde olumlu etkiler oluşturabileceği gözlenmiştir (11).

Karpuz, yalnızca yüksek düzeyde likopen içermesiyle değil, aynı zamanda C vitamini, fenolik bileşikler ve çeşitli antioksidan moleküller yönünden yüksek içeriğe sahip bir besin profiline sahiptir. Bu farklı biyoaktif bileşenlerin bir arada bulunmasının, oksidatif stres ve inflamasyonun eş zamanlı olarak rol oynadığı patolojik durumları önlemede sinerjik etki oluşturabileceği düşünülmektedir (12). Ancak karpuz suyunun ve içerdiği likopenin sisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerindeki etkileri yeterince aydınlatılmamış olduğundan bu alandaki deneysel çalışmalar hem mekanizmanın aydınlatılmasına hem de literatürdeki bilgi eksikliğinin giderilmesine katkı

sağlayacaktır. Bu bağlamda, sisplatin uygulanarak oluşturulan deneysel nefrotoksisite modelinde likopen ve karpuz suyunun böbrek fonksiyonları, elektrolit dengesi, oksidatif stres parametreleri ve böbrek hasar biyobelirteçleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi, hem sisplatin nefrotoksisitesinin süreçlerine ilişkin mekanizmaların aydınlatılması hem de doğal ürünlerin olası koruyucu etkilerinin ortaya konulması açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışma, sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisite modelinde, saf likopen ve eşdeğer miktarda likopen içeren karpuz suyunun renoprotektif etkilerini karşılaştırmayı amaçlamaktadır. Bu doğrultuda, sisplatin uygulamasının böbrek fonksiyon parametreleri, elektrolit düzeyleri ve böbrek hasar biyobelirteçleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi; likopen uygulamasının ise bu değişiklikler üzerindeki düzenleyici etkisinin ortaya konulması hedeflenmiştir. Elde edilen bulguların, sisplatinle ilişkili nefrotoksisitenin önlenmesine yönelik yeni yaklaşımlara katkı sağlaması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanserin en büyük küresel sağlık sorunu olduğu Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yayımlanan istatistikler doğrultusunda bildirilmektedir. Küresel Kanser Gözlemevinin 2018 yılı verilerine göre, 18,08 milyon yeni kanser teşhis edilmiş olup bunlar arasında 2,09 milyonu akciğer ve meme, 1,28 milyonu prostat kanseri olarak en sık görülen vakalardır. Kadınlarda 2,09 milyon vaka ile en sık meme kanseri görülmekte olup bunu akciğer, serviks uteri ve kolon kanserleri izlemektedir. Erkeklerde ise, 1,37 milyon vaka ile akciğer kanseri ilk sıradadır, bunu 1,28 milyon vaka ile prostat, 0,68 milyon vaka ile mide ve 0,60 milyon vaka ile karaciğer kanseri izlemektedir (13).

2.1.1. Kanserin Tanımı ve Epidemiyolojisi

Kanser, hücrelerin düzensiz büyüyüp çoğalmasıyla meydana gelen, başlangıçta DNA hasarı veya onarımı yetersizliğiyle ilişkili moleküler bozukluklardır. Sağlıklı hücreler organizmanın ihtiyaçlarına göre bölünme, farklılaşma ve ölüm süreçlerini sıkı mekanizmalarla sürdürür, ancak çeşitli iç veya dış uyaranlarla bu düzen bozularak hücreler kontrol dışı büyüme eğilimi gösterir ve kanser meydana gelir.

0-74 yaş arası bireylerde kansere bağlı ölüm riskinin genel olarak %10,6 olduğu bildirilmekte olup bu oran erkeklerde %12,7, kadınlarda ise %8,7 olarak hesaplanmıştır. Erkeklerde kansere bağlı ölüm riskinin en yüksek olduğu malignitelerin akciğer (%3,19), karaciğer (%1,46) ve mide (%1,36), kadınlarda ise meme (%1,41), akciğer (%1,32) ve rahim ağzı (%0,77) kanserlerinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Cinsiyete özgü kanserler hariç tutulduğunda, tiroid kanseri dışında tüm kanserlerde erkek/kadın ölüm oranının yaklaşık 0,61 olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte bazı kanser türlerinde erkeklerdeki mortalite belirgin biçimde daha yüksek olup, erkek/kadın ölüm oranının en fazla olduğu kanserlerin mesane (%2,87), yemek borusu (%2,36) ve karaciğer ile intrahepatik safra kanalları (%2,35) olduğu bildirilmektedir. Ayrıca kanser türlerine göre mortalite/insidans oranları incelendiğinde mortalitenin en yüksek olduğu kanser türünün pankreas (%94) olduğu, bunu karaciğer ve intrahepatik safra kanalları (%93), yemek borusu (%89) ve trakea, bronş ve akciğer (%84) kanserlerinin izlediği, en düşük mortalite/insidans oranının ise tiroid kanserlerinde (%7) görüldüğü

raporlanmakta, ayrıca prostat (%28) ve mesane (%36) kanserlerinde bu oranların nispeten düşük olduğu belirtilmektedir (13).

Murthy ve Mathew tarafından yapılan bir çalışmada, kanserin epidemiyolojisi, önlenmesi ve kontrolüne ilişkin önemli veriler sunulmuştur. Tanı ve tedavi alanındaki önemli gelişmelere rağmen, kanserin küresel ölçekte oluşturduğu hastalık yükünün artmaya devam ettiği bildirilmekte olup epidemiyolojik veriler, birçok kanser türünün önlenabilir olabileceğini göstermektedir (14).

2.1.2. Kemoterapötik Yaklaşımlar

Kanser tedavisinde en sık başvuru yöntemlerinden biri kemoterapidir. Bununla birlikte, hormon tedavisi ve biyolojik yaklaşımlar gibi farklı yöntemlerin, diğer tedavi yöntemlerini destekleyici biçimde tek başına veya birlikte uygulanabildiği bildirilmektedir. Her bir yaklaşımın avantaj sağlayan yönlerinin yanı sıra belirli sınırlamalarının da bulunması, kanserin bireye özgü bir hastalık niteliği taşıması ve tedaviye cevabın kişiden kişiye değişkenlik göstermesi nedeniyle, kanser tedavisinde tek ve kesin bir yaklaşımın bulunduğunu söylemek mümkün değildir (15).

Antikanser ilaçların farmakokinetik özelliklerinin, tümör hücrelerinin ilaca duyarlılığının ve hücre döngüsü özgüllüğünün bilinmesi önem taşımaktadır. Bazı tümörlerde reseptör ekspresyon düzeyleri belirlenerek tedavi planlanmaktadır. Özellikle meme kanseri hastalarında, östrojen ve progesteron reseptörlerinin analiz edilmesiyle uygulanacak tedavi belirlenmektedir. Prostat kanseri olgularında ise gonadotropin salgılatıcı hormon agonistleri veya antagonistleri aracılığıyla androjen salınımının kimyasal olarak baskılanması tedavi sürecinde temel yaklaşımlardan biri olarak değerlendirilmektedir (16).

2.1.3. Kemoterapinin Yan Etkileri

Pek çok sitotoksik madde, yalnızca malign hücreleri değil, aynı zamanda kemik iliği, gastrointestinal mukozalar ve saç folikülleri gibi hızlı bölünen normal dokuları da etkileyerek bu dokularda hasara yol açar (17). El ve ayaklarda meydana gelen kızarıklık, şişme hatta hissizleşme de bu yan etkiler arasındadır ve hastalarda parmak izi kaybına bile neden olabilmektedir. Hastaların tedaviye uyumunu ve tedavi sürecindeki yaşam kalitesini artırmak için bu yan etkiler hakkında hastayı bilgilendirmek, önlenmesi için yapılabilecekleri geliştirmek ve literatürde daha geniş yer bulmasını sağlamak oldukça önemlidir (18).

Kardiyotoksisite

Kardiyotoksisitenin özellikle doksorubisin, daunorubisin gibi antrasiklin grubu kemoterapötiklerle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu ilaçlara bağlı gelişen kardiyak değişiklikler akut ya da kronik olarak ortaya çıkabilmekte, kardiyomiyopati, iskemi, ventriküler disfonksiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyotoksik yan etkiler gözlenmektedir (19).

Kutanöz Toksisite

Kemoterapi deri üzerinde sitotoksik maddenin türüne bağlı olarak çeşitli değişikliklere yol açabilmektedir. Kutanöz reaksiyonların, nekroza kadar ilerlediği bazı durumlarda hastanın fiziksel görünümü ve psikolojik sağlığı da olumsuz etkilenmektedir. Yüksek doz kemoterapi uygulamalarında yaygın olarak gözlemlenen kutanöz reaksiyonlar arasında alopesi, eritem, hiperpigmentasyon, tırnak değişiklikleri ve fotosensitivite yer almaktadır (17, 20).

Gastrointestinal Toksisite

Özellikle yüksek doz kemoterapi uygulamaları sonucunda en erken gözlenen toksisite bulantı ve kusmadır, devamında anoreksi, mukozit, konstipasyon ve diyare gibi etkilerde gelişebilir. Hastaya uygun doz ve bireysel tedavi şeması oluşturularak bu yan etkiler azaltılabilir (21).

Hematolojik Toksisite ve Hepatotoksisite

Başlıca hematolojik toksik etkilerin miyelosupresyon, anemi, nötropeni ve trombositopeni olduğu, miyelosupresyonun, kemoterapide doz sınırlayıcı olarak yaygın bir yan etki şeklinde ortaya çıktığı, aneminin ise yavaş gelişen bir yan etki olduğu ve kemoterapi için doz sınırlayıcı olmadığı belirtilmektedir. İlaveten nötropeni ve trombositopeninin de kemoterapi etkisiyle gözlemlenebildiği rapor edilmektedir (22, 23).

Karaciğer yağlanması, kolestaz, kronik fibroz ve hepatoselüler fonksiyon bozuklukları başlıca karaciğer hasarlarındandır. Son zamanlarda yapılan klinik çalışmalarda lapatinib ile tedavi edilen hastalarda alanine transaminaz (ALT) ile diğer bir karaciğer enzimi olan aspartat transaminaz (AST) düzeyindeki değişiklikler başta olmak üzere hepatobiliyer sistem anormallikleri bildirilmiştir (24). Karmustin, sitozin arabinozid, L-asparajinaz, metotreksat ve streptozosin gibi bazı kemoterapötiklerin

karaciğer üzerinde toksik etki oluşturabildiği belirtilmekte olup bu ilaçlara bağlı olarak karaciğer enzimlerinde yükselme, ağrı, hepatomegali ve çeşitli karaciğer fonksiyon bozuklukları görülebilmektedir (25).

Nefrotoksisite

Kemoterapi böbrek hücrelerinde özellikle mitokondriyal solunumu bozarak hücresel hasarı başlatmakta ve nefrotoksisiteye sebep olabilmektedir. Kemoterapiye maruz kalan böbrek hücrelerinde enerji üretimi ile ilişkili proteinlerin azaldığı, oksidatif stresin arttığı ve bunun proksimal tübül hücre hasarına yol açtığı bildirilmektedir (26).

Sisplatin, metotreksat, ifosfamid, siklofosfamid ve nitrozüreler gibi kemoterapötiklerin kullanımı sonucunda hemorajik sistit, oligüri, dizüri, Cr artışı ve hiperürisemi gibi renal değişiklikler ortaya çıkmakta ve nefrotoksisite oluşmaktadır (1).

Nörotoksisite

Kemoterapinin yan etkilerinin en sık gözlendiği sistemlerden biri nörolojik sistemdir. Kan-beyin bariyerini geçebilenler birtakım değişiklikler meydana getirilebilmekte, geçemeyenler ise periferik sinir sisteminde toksisite oluşturulabilmektedir. Nörotoksik etkiler özellikle sisplatin ve vinka alkaloidleri gibi kemoterapötiklerle ilişkilendirilmektedir (27).

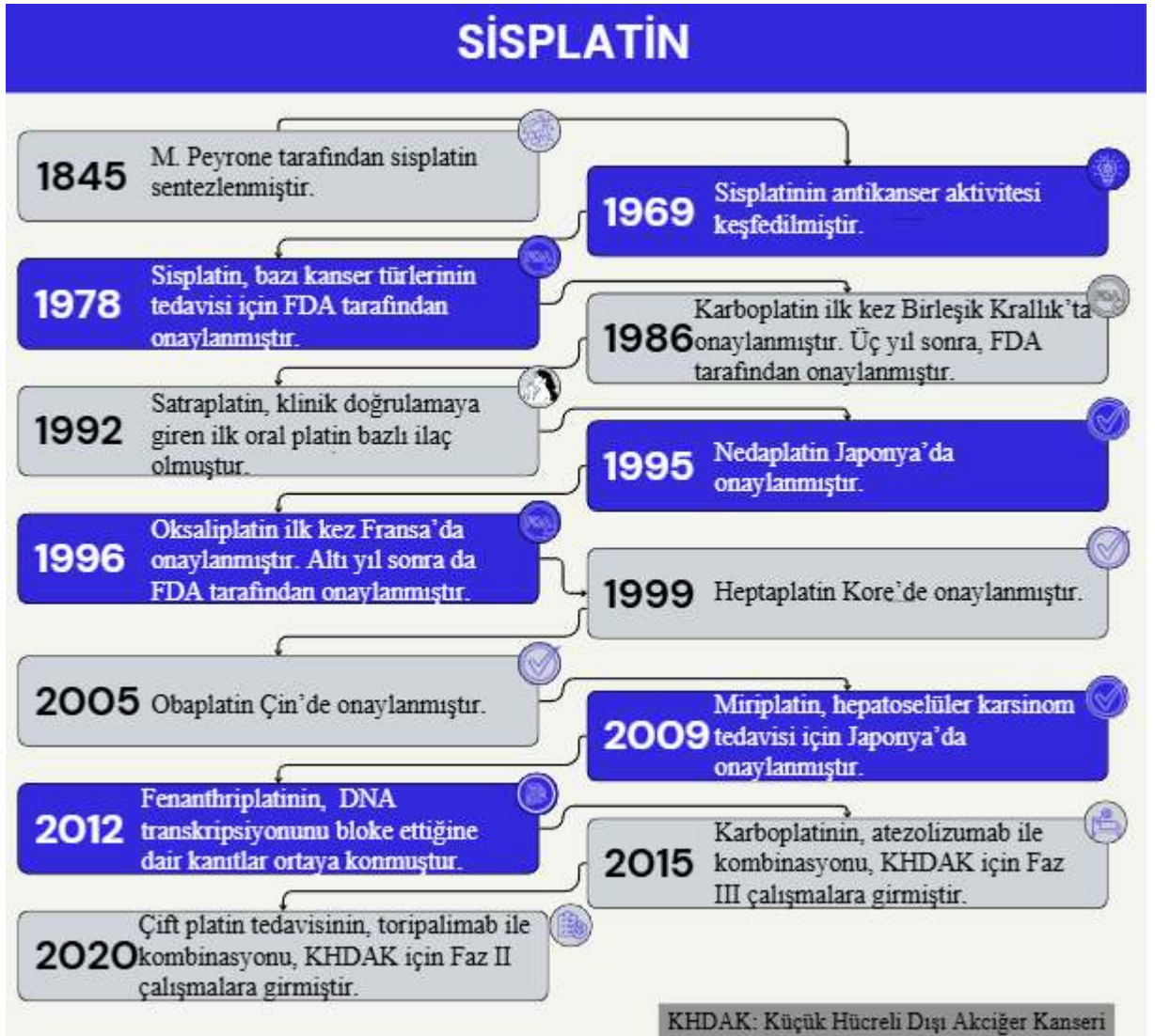
Pulmoner Toksisite

Pulmoner toksisite oluşturabilen kemoterapötikler arasında busulfan ve bleomisin bulunmakta, kemoterapiye bağlı dispnenin, tedavi sürecinde en belirgin toksisite bulgusu olup hızlı solunum gibi belirtilerin de buna eşlik edebileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte, paklitaksel ve dosetaksel kullanımında da göğüs ağrısı görülebilmektedir (25).

2.2. Sisplatin

2.2.1. Sisplatinin Farmakolojik Özellikleri

Tarihsel gelişime göre, cis-diklorodiaminplatin yani sisplatin, platin bazlı kanser ilaçlarının ilkidir. İlk kez 1845 yılında M. Peyrone tarafından sentezlenmiş, kimyasal yapısı ise 1893'te Alfred Werner tarafından belirlenmiştir. Bu konudaki tarihsel süreç aşağıdaki şekilde özetlenmektedir (Şekil 2.1) (1, 28).



Şekil 2.1. Sispaltinin keşfi ve kullanım alanları (28)

Sispaltinin antineoplastik etkisi, DNA çift zinciri üzerinde sarmal içi çapraz bağlar oluşturarak sentezi engelleyen bir yapı haline dönüşmesinden kaynaklanır. Bu etkileşim sonucunda ilaç, tümör hücrelerinde DNA biyosentezini durdurarak hücre bölünmesini baskılar. Sitotoksik etkisinin temelinde nükleer DNA'ya bağlanarak transkripsiyon ve DNA çoğaltım süreçlerini bozması yer almaktadır. Ayrıca sispaltin farklı yollarla mitokondri zar geçirgenliğini artırarak apoptoz sürecini başlatır, ancak bu durum aynı zamanda ilacın toksik etkilerinde de rol oynamaktadır. Etki şekli çift fonksiyonlu alkilleyicilere benzerlik gösterir ve yalnızca sis izomeri hücreler üzerinde sitotoksik etki oluşturur, hücre proliferasyonunu seçici ve spesifik biçimde baskımlarken aynı zamanda antibakteriyel özellik de sergilemektedir (25, 28, 29).

2.2.2. Antikanser Etki Mekanizması ve Klinik Kullanımı

1976 yılında Hollanda'da Pinedo tarafından, yaygın testis kanseri hastalarının tedavisinde uygulanan kombine kemoterapi rejiminin bir bileşeni olarak cis-diamindikloroplatin (sisplatin) klinik onkoloji pratiğine dahil edilmiştir. Bu tarihten itibaren sisplatin, farklı malignite türlerinin tedavi protokollerinde yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır (30).

1978 yılında, akciğer, over ve serviks başta olmak üzere farklı kanser türlerinin tedavi süreçlerinde kullanılmasına yönelik onay almış, bunu karboplatin ve oksaliplatinin klinik uygulamaya girişi takip etmiştir. Platin temelli ilaçlar, güçlü antineoplastik etkileri ve geniş kullanım alanları sayesinde klinik onkolojide en sık tercih edilen kemoterapötikler arasında yerini almış olup tümör hücrelerine özgü etki göstermeyip normal hücrelere de zarar verebildiklerinden klinik kullanımları kısıtlanmaktadır (28).

Rose ve ark. ileri evre yüksek dereceli over kanserinde nüks sonrası bireysel sağ kalımı incelemiş ve cerrahi sonrası paklitaksel ile birlikte sisplatin kullanıldığında belirgin sağ kalım oranının uzadığını gözlemlenmiş ve ileri evre over kanseri vakalarında temel tedavi olarak kullanmıştır (31). Byrski ve ark. breast cancer 1 (BRCA1) mutasyonu taşıyan metastatik meme kanserlilerde sisplatinin terapötik etkilerini incelemiş, sisplatinin yüksek düzeyde etkinlik sergilediğini ve genel hasta popülasyonunda kabul edilebilir düzeyde tolere edildiğini göstermiştir (32). Zhang ve ark. kemoterapi uygulanmamış metastatik nazofarenks karsinomu (mNPC) hastalarında sisplatin bazlı indüksiyon tedavisine setuksimab eklenmesinin etkinlik ve sağkalım üzerinde anlamlı artış sağladığını bildirmiştir (33).

2.3. Sisplatin Nefrotoksitesi

Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisite, böbreklerde yüksek oranda birikmesi ve renal taşıma sistemine zarar vermesiyle ilişkilidir. Sisplatin büyük ölçüde böbrekler yoluyla atıldığından, böbrek dokusunda birikerek normalde kanda zararsız düzeylerin böbreklerde toksik etki göstermesine neden olur. Tübüler epitel hücrelerinde sisplatin birikimi kandakinin yaklaşık beş katına çıkar, doza bağlı olarak gelişen bu toksisite, doz artışını sınırlandırır ve tedavi etkinliğini azaltır. Hasar ilk olarak proksimal tübüllerde başlar, ardından glomerül ve distal tübüller etkilenir. Tek doz sisplatin verilen hastaların yaklaşık %25-35'inde böbrek fonksiyon bozukluğu görülür. İlacın uygulanmasından

yaklaşık on gün sonra glomerüler filtrasyon oranı %20-40 azalabilir, buna Cr artışı, glomerüler filtrasyon hızının (GFH) düşüşü, hipomagnesemi ve hipokalemi eşlik eder (29).

2.3.1. Nefrotoksisite Tanımı ve Klinik Önemi

Nefrotoksisite, böbrek atılım mekanizmalarının hızlı şekilde azalması sonucu üre, Cr ve nitrojen gibi atık ürünlerin birikmesiyle böbrek hücrelerinde yapısal veya işlevsel bozulma gelişmesi sonucunda ortaya çıkar. Bu tür toksik hasar genellikle glomerüller, tübüller, interstisyel doku ya da renal damar yapıları düzeyinde meydana gelmekte olup, klinikte serum Cr değerlerinde yükselme, idrar miktarında azalma ve elektrolit dengesizlikleri şeklinde gözlenmektedir (34).

Sitotoksik maddelerin nefrotoksik etkisi; Serum elektrolit dengesinde bozulma, Cr düzeylerinde yükselme, GFH azalması ve ilerleyici olgularda kalıcı böbrek yetmezliği gelişimine kadar uzanabilen ciddi sonuçlara yol açabilmektedir. GFH düzeyi ve nefrotoksisite seviyesi tabloda belirtildiği gibidir (Tablo 2.1) (35). Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesi, ilaçların neden olduğu toksik böbrek hasarının erken tespiti için önemlidir ve klinikte yaygın sorgulanan parametrelerden biri böbrek hastalığının evresini ve böbrekler boyunca filtrelenmiş sıvıların akışının belirlenmesine yardımcı olan GFH'dır. Cr ve BUN gibi endojen parametreler çok daha sık kullanılır (36).

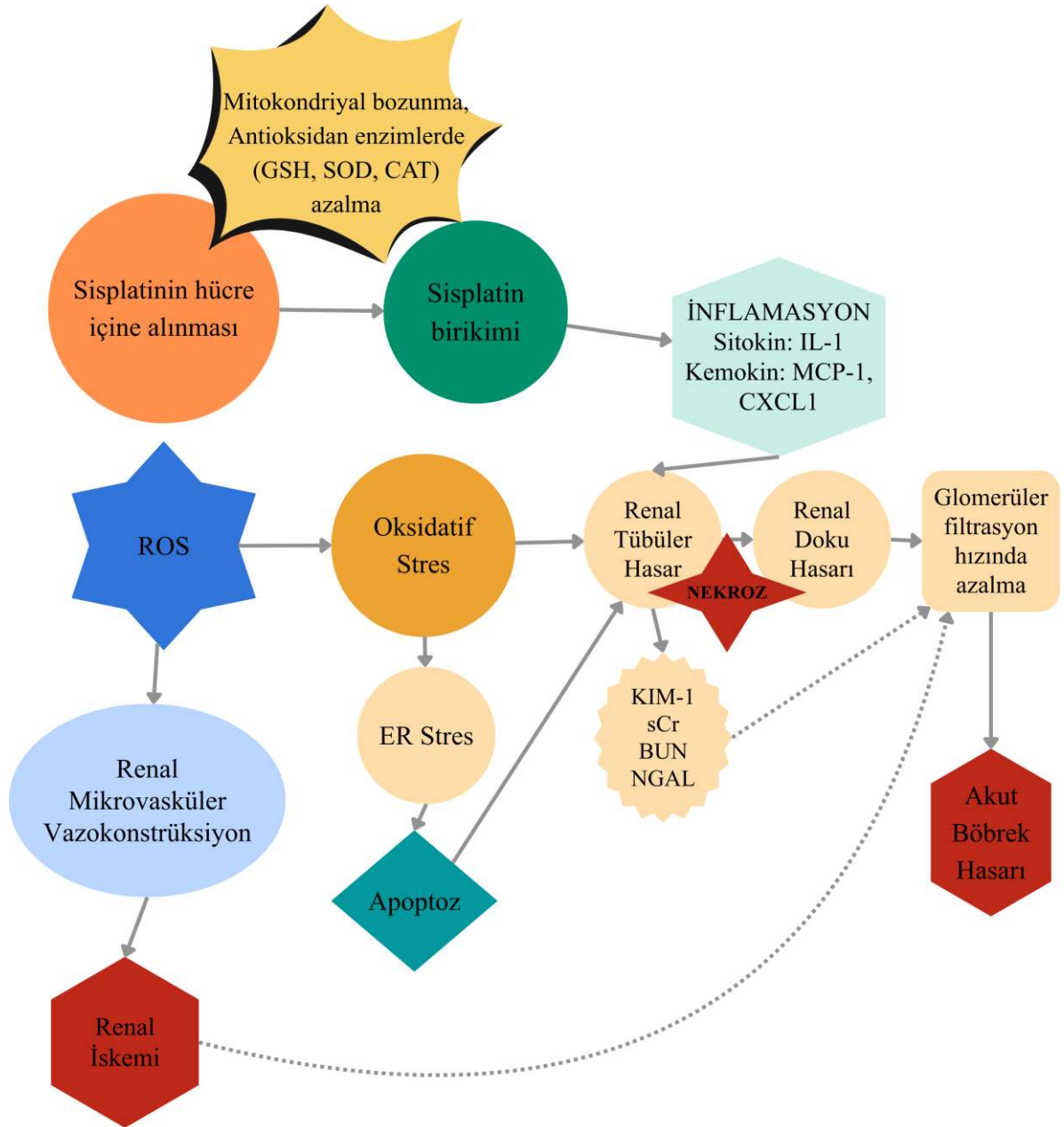
Tablo 2.1. Kemoterapiye bağlı nefrotoksisitenin genel GFH evrelemesine göre sınıflandırılması.

Evre	Tanım	GFH(mL/dk/1.73m ²)
1	Böbrek hasarı (Normal veya artmış GFH ile birlikte)	≥90
2	Hafif GFH azalması	60-89
3	Orta düzeyde GFH azalması	30-59
4	Ağır GFH azalması	15-29
5	Böbrek yetmezliği (veya diyaliz)	<15

2.3.2. Sisplatin'in Nefrotoksik Etki Mekanizması

Nefrotoksik bir ilacın uygulanmasını takiben böbrek hasarı; Akut böbrek hasarı (ABH), kronik böbrek hasarı, akut interstisyel nefrit ve glomerüler hasara bağlı nefrotik sendromun bir parçası olarak proteinüri vb. gibi farklı şekillerde kendini gösterebilir.

Sisplatin hücre içine alındıktan sonra mitokondriyal fonksiyonlarda bozukluk gözlenir ve antioksidan enzimlerin (GSH, CAT, SOD) düzeyinin azalmasına yol açar. Sisplatin birikimi sonucunda, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve nükleer faktör kappa-hafif zincir güçlendiricisi (NF- κ B) aktivasyonu ile inflamasyon başlar. İnflamasyon sürecinde İnterlökin-1 (IL-1) gibi sitokinler ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), kemokin ligandı-1 (CXCL1) gibi kemokinler rol oynar. Sisplatin birikimi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olur, ROS üretimiyle birlikte oksidatif stres meydana gelebilir. Aynı zamanda renal mikrovasküler vazokonstriksiyon oluşur bu da böbrek iskemisine yol açar. Oksidatif stres ve ROS, endoplazmik retikulum stresini (ER stres) ve renal tübüler hasarı tetikler. Bütün bu süreçler sonucunda, hücre ölümü (nekroz ve apoptoz) gelişir, bu da renal doku hasarına ardından glomerüler filtrasyon hızında azalmaya neden olur ve ABH ortaya çıkar. Bu süreç boyunca KIM-1, Cr, BUN ve NGAL gibi biyobelirteçlerde artış gözlemlenebilir (Şekil 2.2) (34).



Şekil 2.2. Sisplatin kaynaklı akut böbrek hasarı oluşumunun patofizyolojisi (34)

2.3.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi ve Doğal Ürün İlişkisi

Sisplatine bağlı nefrotoksisite farklı klinik ve patolojik tablolar şeklinde görülebilmekle birlikte, akut tübüler nekroz en yaygın formudur. Klinikte, düşük doz sisplatin kullanımı söz konusu olsa bile ABH'nın sıklıkla ortaya çıktığı, ilacın proksimal tübüler epitel hücreleri tarafından hücre içine alınarak toksik süreçlerin başlayabildiği bildirilmektedir (34).

Nefrotoksisite üzerine yapılan çalışma bulguları genellikle in vitro ve hayvan deneylerine dayanmaktadır, doğal ürün ve sisplatin etkileşimlerinin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri ile olası antagonistik etkileri tam olarak ortaya konulamamıştır. Doğal ürün kullanımının insanlardaki güvenlik ve etkinliğine ilişkin kanıtlar henüz yeterli değildir ve bu alanda araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Son yıllarda doğal antioksidan bileşikler öncelikli araştırma konusu haline gelmiş, bu doğal antioksidanların, sisplatinin antineoplastik etkinliğini azaltmadan böbreklerde oluşan ROS'u detoksifiye edebileceği bildirilmektedir (37). ROS ile reaksiyon veren antioksidan doğal bileşikler sürekli kullanıldığında, ROS kısmen veya tamamen elimine edilebilir karışım halinde kullanılan bitki ekstraktları birlikte sinerjistik etkiyle antioksidan düzeylerini artırabilir (38).

2.3.4. Preklinik Modellerde Nefrotoksisite Araştırmaları

Sisplatin kaynaklı ABH modellerinde semptomların genellikle uygulamadan sonraki ikinci günde başladığı ve üçüncü ile dördüncü günlerde zirveye ulaştığı ifade edilmektedir. Ayrıca dişi hayvanların bu toksik etkiye daha duyarlı olduğu ve sisplatin nefrotoksisitesinin klinik kullanımı sınırlayan önemli bir yan etki olduğu öne çıkmaktadır (39). Sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteye likopenin etkisini belirlemek üzerine yapılan çalışmalarda, deney hayvanlarına sisplatin 7mg/kg tek doz halinde intraperitoneal yolla enjekte edilip, likopen mısır yağı içerisinde çözündürülerek 4mg/kg dozunda oral gavaj yöntemiyle verilmiştir. On gün süren bu çalışmanın sonunda, likopen verilen grupta sisplatine bağlı böbrek hasarının biyokimyasal ve oksidatif stres parametreleri açısından hafiflediği rapor edilmiştir (40).

Yüksek doz folik asit kullanımıyla oluşturulan nefrotoksisite modellerinde, folik asidin proksimal tübül hücrelerindeki folat reseptörleri aracılığıyla neredeyse tamamen geri emildiği ancak aşırı dozlarda böbreklerde birikerek oksidatif strese sebep olduğu ve organel hasarı oluşturduğu belirtilmektedir (41, 42).

Gentamisin kaynaklı nefrotoksisite modellerinde, hayvanlarda yaklaşık bir hafta içinde renal inflamasyon, nekroz, tübüler dejenerasyon ve GFH düşüşü gibi klinik histopatolojik bulguların ortaya çıktığı bildirilmiş ve bu model ile hem potansiyel nefroprotektif etkinin ve hem de oksidatif stres temelli mekanizmaların değerlendirilmesi için yaygın ve güvenilir bir preklinik modeldir (43, 44).

Kotb ve ark. sisplatin enjeksiyonunun böbrek fonksiyon testlerinde üre ve Cr konsantrasyonlarında yükselmeye neden olarak böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı

tetiklediği ve toplam protein ile albümin seviyelerinde düşüş gözlemlendiği bildirmiştir (45).

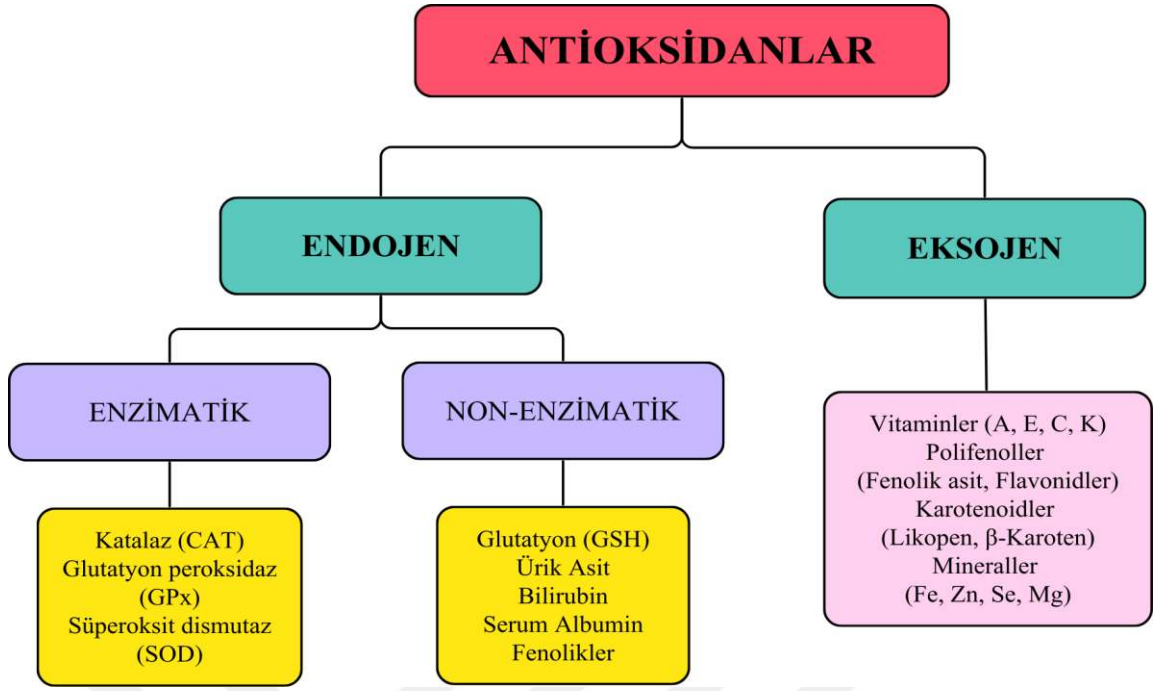
TNF- α , böbrekte apoptozis indüksiyonu ve geniş bir kemokin ve sitokin ağının aktivasyonu yoluyla böbrek hasarına aracılık etmede merkezi bir role sahiptir. Sisplatin enjeksiyonunun TNF- α seviyesinde önemli bir artışa yol açtığını, diğer yandan sıçanların sisplatin enjeksiyonundan 10 gün önce gallik asit ile ön tedavisinin TNF- α seviyesini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur (45).

2.4. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

2.4.1. Oksidatif Stres Nedir?

ROS, redoks reaksiyonları veya elektronik uyarılma ile moleküler oksijenden üretilir. Reaktif oksijen ile reaktif azot kökenli türler (ROS/RNS) olan serbest radikaller, hem mitokondri, endoplazmik retikulum vb. endojen kaynaklardan hem de ağır metaller, pestisitler, bazı ilaçlar vb. ekzojen kaynaklardan türetilir. ROS ve RNS'nin aşırı üretimi ile bu türlerin nötralizasyonu veya neden oldukları hücresel hasarın onarımı arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres oluşumuna neden olur (46).

Antioksidanlar, serbest radikallerle doğrudan etkileşime girerek bu moleküllerin reaktivitesini azaltabilir ya da serbest radikal oluşumunda görevli enzimlerin aktivitesini ve ekspresyonunu baskılayarak oksidatif hasarı dolaylı yoldan sınırlandırabilir. Ayrıca hücre içi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif dengenin sürdürülmesine katkıda bulunurlar. Kaynaklarına göre antioksidanlar, endojen ve ekzojen kaynaklı olarak iki grupta sınıflandırılır. Endojen antioksidanlar; organizma tarafından doğal olarak sentezlenen bileşiklerdir ve bu grupta süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri yer alır. Bunun yanında melatonin ve glutatyon (GSH) gibi bileşikler de endojen olarak üretilmelerine rağmen, çeşitli nedenlerle dışarıdan takviye şeklinde alınabilirler. Ekzojen antioksidanlar ise, beslenmeyle veya farmakolojik desteklerle vücuda alınan maddelerdir. Endojen ve ekzojen antioksidanların sınıflandırılması aşağıdaki şekilde gibidir (Şekil 2.3) (47).



Şekil 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması

Malondialdehit (MDA) ise, doğrudan bir antioksidan bileşik olmayıp, lipid peroksidasyonu sürecinde ortaya çıkan bir son ürün olarak oksidatif stresin göstergesi kabul edilmektedir. Endojen antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği durumunda MDA düzeylerinde artış meydana gelir ve buna bağlı olarak hücrel lipid yapılarında oksidatif hasar gözlenir (48).

Fosfat (P), hücrel enerji dengesinin sürdürülmesinde önemli bir rol alır. Hücre içi P konsantrasyonlarındaki düşüş, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun yavaşlamasına neden olabilir ve bunun sonucunda oksidatif stres seviyelerinde artış gözlenebilmektedir. Ayrıca P dengesinin bozulması, reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikleyerek hücre içi redoks homeostazının bozulmasına neden olabilmektedir (49).

2.4.2. Endojen Antioksidan Sistemler (SOD, CAT, GPx)

Endojen antioksidan enzimler; SOD, CAT ve GPx'dir. Endojen antioksidan enzimler, serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinde görev alarak hücrel lipid, protein ve nükleik asitlerde oksidatif hasarın oluşmasını önlemede temel bir rol üstlenir. Ancak GSH ve melatonin gibi endojen kaynaklı antioksidan bileşiklerle yapılan takviyelerin gerçek faydasının bulunup bulunmadığı hâlâ netlik kazanmamıştır (47, 50).

CAT, hücrelerde hidrojen peroksitin su ve oksijene indirgenmesini katalize eden enzimlerdir, Fe veya Mn gibi kofaktörlere bağlı olarak işlev gösterir. CAT, indirgeyici

moleküllere ihtiyaç duymadan hidrojen peroksidi parçalayabilir ve ayrıca bazı toksik bileşenlerin oksidatif metabolizmasında görev alır. SOD, süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen perokside dönüşümünü katalize eden metaloenzimlerdir. Bu enzimler, farklı dokularda ve organellerde yerleşerek serbest radikallerin birikimini önler ve oksidatif stresin etkilerini sınırlamada rol oynar (47).

GPx, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesini sağlayan enzimlerdir. GPx grubu, sitozol, mitokondri ve hücre dışı alanlarda farklı izoformlar halinde bulunur. Özellikle GPx4, kompleks lipid hidroperoksitlerini azaltabilen tek GPx olarak ferroptozis ve inflamatuvar cevapların düzenlenmesinde kritik rol oynar (47).

2.4.3. Ekzojen Antioksidanlar ve Diyetle Alımı

Ekzojen antioksidanlar, vücuda dışarıdan alınan vitaminler ve farmakolojik aktif maddeler aracılığıyla sağlanır ve reaktif O ve N türleriyle etkileşime girerek serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırır (51).

Lipofilik yapıda ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan E vitamini, peroksit oluşumunu engelleyerek GPx ile tamamlayıcı bir etki gösterir. C vitamini, lipidlerde oluşan α -tokoferoksil radikallerini tekrar α -tokoferole çevirerek ko-antioksidan olarak işlev görür, buna karşın Fe^{+3} iyonlarını Fe^{+2} formuna indirerek oksidan davranış da gösterebilir. Başlıca provitamin A kaynaklarından biri olan β -karoten ise yağda çözünebilen bir karotenoid olup, lipid peroksidasyonunu sınırlandırarak hücrel oksidatif hasarın azaltılmasına katkı sağlamaktadır. Folik asit, reaktif oksijen türlerini temizleme kapasitesine sahiptir ve diğer antioksidan vitaminlerle birlikte homosistein aracılı oksidatif hasarı azaltmada etkilidir (51).

Ekzojen antioksidanlar arasında ayrıca stilben türevleri (resveratrol vb.), fenolik bileşikler, yağ asidi türevleri, lesitinler, eser elementler (örneğin Se ve Zn) ve asetilsistein gibi farmakolojik etkenler de bulunmaktadır. Plazmadaki antioksidanların yaklaşık %85'ini albümin ve ürik asit oluştururken, bilirubin, β -karoten ve α -tokoferol de kanda bulunan önemli antioksidanlardır. Bu yapılar, hücrel savunmayı güçlendirerek oksidatif hasarın önlenmesine katkı sağlamaktadır (52).

Propolis, zengin flavonoid ve fenolik içeriği sayesinde güçlü bir antioksidan kaynağıdır ve hücrelerin serbest radikallerle oluşabilecek hasarlardan korunmasına katkı sağlar. Bitter çikolata ise yüksek kakao içeriğiyle flavonoid açısından zengin olup, antioksidan kapasitesi oldukça yüksektir. Nar, antosiyaninler ve polifenoller bakımından zengin olup, özellikle damar sağlığı ve hücrel koruma üzerinde olumlu

Bu pigmentin gıdalardaki konsantrasyonu, bitkinin türüne, yetiştirme koşullarına ve olgunluk derecesine bağlı olarak değişir. Özellikle karpuz, hem yüksek likopen içeriği hem de biyoyararlanımı açısından dikkat çeker, çünkü likopen kristalleri karpuzda, domatesten daha az yoğun yapıda bulunduğundan emilimi daha kolaydır (12). Likopenin suda çözünmemesi nedeniyle gıdalarla alımındaki etkinliği sınırlıdır, yağda çözünen bir molekül olduğundan, besinlerle kullanımında da yağlı gıdalarla birlikte tüketimi aktivitesini artırmaktadır (58).

2.5.2. Antioksidan ve Anti-inflamatuvar Özellikleri

Diyabetli sıçanlarda 28 gün süreyle farklı dozlarda likopen uygulanarak oksidatif stres incelendiğinde; diyabetin kan glukoz seviyesi, MDA ve kortizol düzeylerini artırırken, CAT, SOD ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı belirlenmiş olup likopen uygulaması ile bu parametreler belirgin şekilde tersine çevrilerek kortizol ve MDA düzeyleri azalırken antioksidan enzim aktivitelerinde artma kaydedilmiştir. Çalışmada inflamatuvar belirteçler doğrudan ölçülmemiş ancak oksidatif stresin baskılandığı ve kortizol seviyesinde düşüş gözlemlendiği için dolaylı olarak likopenin antiinflamatuvar etkisi olduğu sonucu desteklenmektedir (59). Likopen güçlü antioksidan olarak bilinse de literatürde yüksek konsantrasyon ve yüksek oksijen basıncı gibi bazı koşullarda prooksidan özellik gösterebildiği ve güvenli bir profile sahip olduğu bildirilmiştir (60).

Literatürlerde diyetle alınan likopen çalışmalarının birçoğunda domates kullanılmış, domates bileşenlerinin antiinflamatuvar etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, likopenin tek başına inflamasyonu belirgin şekilde engellediği ve diğer antiinflamatuvar bileşiklerle kombinasyonlarında da sinerjik etki oluşturarak inflamasyonu azaltan etki gösterdiği (61), karpuzdaki likopenin güçlü antiinflamatuvar ve iyi bir antioksidan kaynağı olduğu bildirilmektedir (12).

2.5.3. Renoprotektif Etki Mekanizmaları

Renoprotektif etki apoptoz süreçlerinin düzenlenmesi, inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkilidir. Likopen mevcut serbest radikalleri nötralize ederek ya da ROS oluşumunu engelleyerek oksidatif hasarın ilerlemesini durdurur, ROS oluşumu engellenemediğinde böbrek dokusunda birikerek hücre fonksiyonları bozulabilmektedir. Likopen tüm bu süreçleri baskılayarak renoprotektif etki oluşturur. Bu baskılamanın yanı sıra endojen antioksidanların (SOD, CAT, GPx enzimleri) ekspresyonunu artırarak

redoks dengesini de korumaktadır. Ayrıca likopen inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde ve mitokondriyal bütünlüğü sağlayarak apoptozun engellenmesinde de belirgin etki göstermektedir (62, 63).

Deneysel nefrotoksisite modellerinde likopen serum üre ve Cr düzeyinde düşüş sağlarken, serum Na düzeyinde artış sağlar. Endojen antioksidan enzimlerini yükseltir, glomerüler ve tübüler nekrozu ve lökosit inflamasyonunu azaltarak böbrek yapısını iyileştirir. Tüm bu bulgular likopenin çok yönlü bir renoprotektif etki gösterdiği sonucunu desteklemektedir (64).

2.6. Karpuz Suyu

2.6.1. Fitokimyasal Bileşimi ve Biyolojik Etkileri

Latince ismi *Citrullus lanatus* olan karpuz, zengin fitokimyasal bileşenler içeren bir meyvedir. Adetutu ve ark. karpuz suyunun başta alkaloidler ve fenolik içerikler açısından yüksek, antrokinon, tanin ve saponin açısından orta düzeyde, flavonoidler ve glikozitlerin ise eser miktarda bulunduğunu rapor etmektedirler (65).

Fenolik bileşikler, oksidatif stresin tetiklediği hücresel bozulmaları sınırlandırarak inflamasyon sürecini de azaltabilir. Alkaloidler sinir sistemi üzerinde etkili olup bazı türleri ağrı kesici özellik gösterir, orta konsantrasyondaki antrokinonlar geleneksel olarak müshil olarak kullanılmaktadır. Taninler, protein ve minerallerle bağlanarak besin emilimini azaltabilirler, saponinler ise sulu çözeltilerde köpük oluşturma, hemolitik aktivite ve kolesterol bağlama özellikleri gösterse de karpuz suyunda düşük miktarda bulunmaları nedeniyle toksik etki oluşturmazlar. Flavonoidler, oksidatif hücre hasarını önleyerek antikanser etkiler gösterebilir. Bu nedenle karpuz suyundaki flavonoid varlığı, inflamasyona, mikroorganizma kaynaklı strese ve tümör oluşumuna karşı koruyucudur. Ayrıca karpuz suyu β -karoten ve likopen açısından da zengindir. Sonuç olarak, aşağıdaki tabloda belirtilen içerikleri sayesinde oksidatif stresin tetiklediği hastalıkların önlenmesinde veya etkilerinin azaltılmasında kullanılabilecek doğal bir antioksidan kaynağı olabilir (Tablo 2.2) (65).

Tablo 2.2. Karpuz suyunun fitokimyasal içerikleri ve etkisi

FİTOKİMYASAL İÇERİK	KONSANTRASYON	ETKİSİ
Alkaloidler	Yüksek	Sinir sistemi üzerinde etkilidirler ve bazıları analjezik etki gösterebilmektedir.
Fenolik Bileşikler	Yüksek	Serbest radikalleri temizler, oksidatif hasarı ve inflamasyonu azaltırlar.
β-karoten	Yüksek	Güçlü antioksidandır, serbest radikalleri temizler, hücreleri oksidatif stresten korur ve A vitaminine dönüşerek görme ve doku sağlığını destekler.
Likopen	Yüksek	Güçlü serbest radikal temizleyici ve antioksidandır; özellikle kardiyovasküler ve antikanser etkiler sağlar.
Antrokinonlar	Orta	Geleneksel olarak müshil amacıyla kullanılır.
Taninler	Orta	Gıdalarda buruk tat oluşturur. Protein ve minerallerle bağlanarak besin emilimini azaltabilir.
Saponinler	Orta	Sulu çözeltilerde köpük oluşturur, hemolitik aktivite ve kolesterol bağlama özellikleri vardır; düşük konsantrasyonda toksik değildirler. Kırmızı kan hücrelerinin çökmesine sebep olabilir, kolesterol bağlayabilirler.
Flavonoidler	Eser miktarda	Suda çözünebilir güçlü antioksidanlar, serbest radikalleri temizler, kanser karşıtı etki sağlar.
Glikozitler	Eser miktarda	Hidroliz ile serbest siyanür açığa çıkarabilir, fakat kontrollü kullanıldığında toksik etkisi yoktur.

Venkataravana ve ark. karpuzun meyve, kabuk ve tohumlarından elde edilen ekstraktları in vitro inceleyerek karpuzun içerisindeki karotenoidler ve bioaktif bileşiklerle sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkiler gösterdiğini bildirmektedirler. Karpuzun L-sitrülin açısından zengin olduğu ve bu bileşiğin vücutta L-arginin'e dönüşerek nitrik oksit üretimini artırdığı, damar genişlemesini desteklediği ve kardiyovasküler sağlığı olumlu yönde etkilediği de çalışmada raporlanmıştır. (66).

2.6.2. Karpuz Suyunun Likopen İçeriği

Karpuz önemli bir doğal antioksidan kaynağı olup likopen içeriği toplam karotenoid içeriğinin büyük bir kısmını oluşturur. Likopen miktarı, karpuzun çeşidine ve yetiştirmeye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Cheol-Hyun Kim ve ark. karpuz suyunun likopen içeriğinin 11,3 mg/100 g olduğunu bildirilmektedir (12). Naz ve ark. karpuzdaki likopen miktarı 4,81 mg/100g iken domateste 3,03 mg/100g kadar olduğunu bildirmiştir (67). Sirikhet ve ark. karpuz suyunun likopen içeriğini $1,197 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiş ve günlük tüketimde biyoyararlanım açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır (68). Maoto ve ark. taze karpuz suyunda likopen miktarını

6,19 mg/100 g olarak (69), Galdeano ve ark. karpuz konsantresinde likopen içeriğinin 508,10 µg/g olduğunu rapor etmiştir (70). Oberoi ve Sogi, karpuz konsantresinin likopen içeriğini 12,20 mg/100 g olarak bildirmiştir (71).

2.6.3. Literatürde Karpuz ve Renoprotektif Etkisi Üzerine Çalışmalar

Karpuzun renoprotektif etkileri, mevcut literatürdeki çeşitli çalışmalarda incelenmiş ve karpuzun böbrek fonksiyonlarını destekleyici özelliklere sahip olabileceği gözlenmiştir. Siddiqui ve ark. karpuzun diüretik ve antiürolitiazik etkilerini değerlendirdiği araştırmada, karpuz kabuğu özütünün Na, Ca ve oksalat seviyelerini düşürerek idrar hacmini artırdığını ve böbrek taşı oluşumunu engellediğini ortaya koymuştur (72).

Michael ve ark. karpuz kabuğu etanol özütünün kurşun asetat ile indüklenen karaciğer ve böbrek hasarını iyileştirdiğini göstermiş, bu etki antioksidan savunma sistemlerinin güçlendirilmesiyle ilişkilendirilmiştir (73). Rahman ve ark. çalışmasına göre, karpuz kabuğu böbrek fonksiyonunu koruyucu etkiye sahiptir ve β-karoten, likopen, C vitamini, saponin, flavonoidler, sitrülün ve diğer biyoaktif moleküller açısından zengindir, bu bileşikler antioksidan savunmayı güçlendirerek oksidatif stresin neden olduğu böbrek hasarını azaltabilir (74). Kolawole ve ark. bu etkinin karpuz kabuğundaki sitrülün sayesinde nitrik oksit üretiminin artması ve nitrik oksitin hidroksil radikal temizleyici olarak oksidatif stres toleransını iyileştirmesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (75). Flora ve ark. karpuz kabuğu ekstresinin antioksidan savunmaları güçlendirerek, serum MDA ve laktat dehidrogenaz seviyelerini azalttığını bildirmektedirler (76).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Araştırma Tasarımı

Bu çalışma; sisplatin ile oluşturulan deneysel nefrotoksisite modelinde, HPLC ile miktar tayini yapılarak saf likopen ile eşdeğer miktarda likopen içeren karpuz suyunun böbrek fonksiyonları ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki olası renoprotektif etkilerini karşılaştırmak amacıyla planlanan, randomize kontrollü bir deneysel hayvan çalışmasıdır. Çalışmanın temel yaklaşımı, tek doz sisplatin uygulamasını takiben gelişen renal hasarın biyokimyasal ve oksidatif stres belirteçleri üzerinden ortaya koyulması ve antioksidan özellikleri bilinen saf likopen ile doğal bir likopen kaynağı olan karpuz suyunun bu hasar üzerindeki düzenleyici etkilerinin değerlendirilmesine dayanmaktadır.

Araştırma tasarımında, deneysel nefrotoksisite oluşturmak için sisplatin kullanıldı. Sisplatin uygulaması, böbrek fonksiyon bozuklukları, elektrolit dengesizlikleri, oksidatif stres artışı ve tübüler hasar ile karakterize deneysel bir zemin hazırlamaktadır. Çalışmada sisplatinin intraperitoneal yolla ve tek doz uygulanması, literatürde nefrotoksisite oluşturmak için sıkça tercih edilen ve hasarın belirgin şekilde ortaya çıktığı deneylere dayandırıldı. Araştırmanın karşılaştırmalı tasarımı, sisplatin kaynaklı böbrek hasarı üzerinde iki farklı müdahalenin etkisini aynı deneysel şartlar altında incelemeye imkan sağlamaktadır. Bu kapsamda, saf likopen uygulaması ile karpuz suyunun etkilerinin ayrı gruplar halinde değerlendirilmesi hedeflendi. Saf likopen, güçlü antioksidan özellikleri ve oksidatif stres mekanizmaları üzerindeki düzenleyici etkileri nedeniyle seçildi. Karpuz suyu ise yüksek likopen içeriğinin yanı sıra, doğal bileşimi içerisinde yer alan diğer antioksidan ve biyolojik olarak aktif bileşenler sayesinde potansiyel sinerjik etkilere sahip olabileceği düşüncesiyle çalışma kapsamına alındı. Böylece izole bir bileşik olan saf likopen ile doğal bir kaynak olan karpuz suyunun renoprotektif etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Deneyde Sprague-Dawley türü dişi sıçanların kullanılması, bu türün deneysel nefrotoksisite araştırmalarında sık kullanılması, fizyolojik cevaplarının iyi tanımlanmış olması ve laboratuvar koşullarına kolay uyum sağlaması nedeniyle planlandı. Hayvanların benzer yaş ve ağırlık aralığında seçilmesi, biyolojik değişikliğin en aza indirilmesini ve gruplar arası karşılaştırmaların daha güvenilir yapılmasını hedeflemektedir. Deney öncesi adaptasyon süreci, çevresel stres faktörlerinin deney

sonuçları üzerindeki olası etkilerini azaltmak amacıyla araştırma tasarımının önemli bir parçası olarak planlandı.

Bu çalışmada ortalama 270-280 g dişi Sprague-Dawley türü 28 sıçan her grupta 7 hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Sağlıklı kontrol grubu, deneysel müdahalelerin değerlendirilmesinde referans değerlerin elde edilmesini sağlamak amacıyla oluşturuldu. Sisplatin toksik kontrol grubu, nefrotoksisitenin başarıyla oluşturulup oluşturulmadığının değerlendirilmesine imkan tanımaktadır. Sisplatin+likopen grubu, saf likopenin sisplatin kaynaklı böbrek hasarına karşı potansiyel koruyucu etkilerini incelemeyi amaçlarken; Sisplatin+karpuz suyu grubu, doğal bir likopen kaynağının ve beraberinde bulunan diğer biyolojik bileşenlerin etkilerinin değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır. Bu grup dağılımı, hem toksik etkinin hem de farklı koruyucu yaklaşımların aynı deneysel çerçevede incelenmesine imkan tanıyan dengeli bir araştırma tasarımı sunmaktadır.

Deney süresi literatür bulguları dikkate alınarak sisplatin kaynaklı hasarın en yoğun görüldüğü dönem ile antioksidan tedavilerin etkisinin ortaya çıktığı zaman aralığı dikkate alınarak 10 gün olarak belirlendi (9, 77). Antioksidan bileşiklerin biyolojik etkilerinin değerlendirilebilmesi için yeterli süre tanınması, çalışma tasarımının bilimsel geçerliliğini artırmaktadır.

Araştırma kapsamında elde edilecek veriler, böbrek fonksiyonlarını yansıtan biyokimyasal parametreler, elektrolit düzeyleri, oksidatif stres göstergeleri ve böbrek hasarına özgü biyobelirteçler üzerinden değerlendirilecektir. Bu yaklaşım, sisplatin kaynaklı hasarın çok yönlü olarak ortaya konulmasını ve uygulanan müdahalelerin etkilerinin farklı biyolojik düzeylerde incelenmesini mümkün kılmaktadır. Araştırma tasarımı, yalnızca hasarın varlığını göstermekle sınırlı kalmayıp, olası koruyucu mekanizmaların dolaylı olarak yorumlanmasına da zemin hazırlamaktadır.

Sonuç olarak yürütülen bu deneyde, sisplatin ile indüklenen deneysel nefrotoksisite çalışması kapsamında saf likopen ile karpuz suyunun renoprotektif etkilerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeye imkan sağlayan, etik ilkelere uygun, kontrollü ve sistematik bir deneysel yaklaşım uygulandı. Elde edilen bulgular saf likopen ile doğal bir kaynak olan karpuz suyunun renoprotektif özelliklerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesine imkan sağlamaktadır.

3.2. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Sprague Dawley sıçanların böbrek fizyolojisi ve toksik cevapları iyi tanımlandığından sisplatinle indüklenen nefrotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir soydur (5). Uysal karakterleri ile laboratuvar koşullarına kolay uyum sağladıkları için deneylerin teknik doğruluğunu artırmaktadır (78). Dişi sıçanlar renal toksisite araştırmalarında sık tercih edilmektedir çünkü reaktif yüklerin yol açtığı stres ve antioksidan koruma mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda daha düşük bireysel varyasyon gösterirler, laboratuvar koşullarına hızlı uyum sağlarlar, sakin davranış özellikleri gösterirler ve fizyolojik cevapları ayrıntılı şekilde belgelendi (79).

Hayvanlar çalışma boyunca İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Üretim Merkezi bünyesinde kontrollü çevre koşullarına uygun olarak tutuldu. Oda sıcaklığı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, bağıl nem oranı % 55-60 ve aydınlatma süresi 12 saat ışık/12 saat karanlık periyodunda sürdürüldü. Tüm sıçanlara standart laboratuvar yemi ve temiz suya ad libitum erişim sağlandı. Barınma şartları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin Etik Kurul yönergelerine uygun olarak düzenlendi ve hayvan refahı çalışma boyunca korundu.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulama Planı

270-280 gr canlı ağırlıkta, 28 adet Sprague-Dawley türü dişi sıçan, her grupta 7 adet sıçan ($n=7$) olacak biçimde dört gruba ayrıldı:

1. Grup (Kontrol): Sıçanlara 10 gün boyunca yalnızca normal yem ve su verilerek, çalışmanın başlangıcında 1 mL/kg dozunda izotonik salin intraperitoneal yolla uygulandı; aynı zamanda 1 mL/kg zeytinyağı gavaj yoluyla verildi. Uygulanan izotonik salin ve zeytinyağı çözücü dozları, güvenli intraperitoneal enjeksiyon sınırları temel alınarak belirlendi (80, 81). Bu grup, uygulanan çözücülerin (salin ve zeytinyağı) biyolojik etkilerinden arındırılmış, deneysel müdahale yapılmayan fizyolojik referans grubu olarak kullanıldı, 11. gün hayvanlar ketamin (0,9 mL) + ksilazin (0,1 mL) kombinasyonu ile anestezi altında sakrifiye edildi ve kan ile böbrek doku örnekleri toplandı (82).

2. Grup (Sisplatin): İlk gün, 7 mg/kg sisplatin tek doz izotonik salin (%0,9 NaCl) içinde intraperitoneal yolla verildi. Bu doz, deneysel nefrotoksisite oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (40). İzotonik salin, sisplatinin stabilitesini sağlamak ve enjeksiyon sırasında hücre içi ve dışı iyon dengesini korumak amacıyla

yaygın olarak tercih edilmektedir (80, 83). Enjeksiyon kolaylığı ve intraperitoneal yolla uygulamada peritoneal irritasyonu azaltmak için, izotonik NaCl (0,9% sodyum klorür) ile toplam hacim 2-2,5 mL'ye tamamlanarak uygulandı. Uygulama hacminin sıçanlarda genellikle maksimum 10 mL/kg olması önerilmektedir (80). Bu nedenle uygulama hacmi bu sınır içerisinde tutulmuş, 11. gün hayvanlar ketamin (0,9 mL) + ksilazin (0,1 mL) kombinasyonu ile anestezi altında sakrifiye edildi ve kan ile böbrek doku örnekleri toplandı (82).

3.Grup (Sisplatin + Saf Likopen): Çalışmanın ilk günü, tek doz 7 mg/kg intraperitoneal yolla sisplatin uygulandı (40), ardından 10 gün boyunca, 4 mg/kg/gün dozunda saf likopen, uygulamadan hemen önce %100 zeytinyağı içinde çözündürülerek gavajla verildi (12). Zeytinyağı, likopenin çözünürlüğünü artırmak ve biyoyararlanımını desteklemek amacıyla güvenli ve biyouyumlu bir taşıyıcı olarak tercih edildi (9, 40). Bu grup, saf likopenin sisplatin kaynaklı böbrek hasarına karşı olası koruyucu etkilerini değerlendirmek amacıyla oluşturuldu. 11. gün hayvanlar ketamin (0,9 mL) + ksilazin (0,1 mL) kombinasyonu ile anestezi altında sakrifiye edildi ve kan ile böbrek doku örnekleri toplandı (82).

4. Grup (Sisplatin + Karpuz Suyu): Sıçanlara, araştırma başlangıcından itibaren 10 gün süreyle normal yem ve suya ilaveten, ilk gün tek doz halinde 7 mg/kg intraperitoneal yolla sisplatin uygulandı (40). Buna ilaveten, HPLC ile miktar tayini yapılan 4 mg/kg/gün likopene eşdeğer karpuz suyu 10 gün boyunca gavajla uygulandı, 11. gün hayvanlar ketamin (0,9 mL) + ksilazin (0,1 mL) kombinasyonu ile anestezi altında sakrifiye edildi ve kan ile böbrek doku örnekleri toplandı (82).

3.4. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışı

3.4.1. Sisplatin Hazırlanışı ve Uygulaması

7 mg/kg dozda katı formdaki sisplatin enjeksiyonluk serum fizyolojik içerisinde çözündürülerek homojen bir dağılım sağlanana kadar birkaç dakika vortekslendi, hazırlanan çözelti intraperitoneal yolla sıçanlara uygulandı. İkinci, üçüncü ve dördüncü gruplara ilk gün tek doz sisplatin enjeksiyonu yapıldı, uygulama sırasında her hayvanın vücut ağırlığı dikkate alınarak doz bireyselleştirildi ve enjeksiyon hacmi fizyolojik sınırlar içerisinde tutuldu. Uygulanan protokol, sisplatin kaynaklı nefrotoksisite modellerinde yaygın olarak kullanılan standart uygulama yöntemleriyle uyumludur ve deneyin hemen öncesinde hazırlanarak ilaç stabilitesi korundu (40).

3.4.2. Saf Likopen Hazırlanışı ve Uygulaması

Likopen uygulaması için gerekli doz, tartım sonrası %100 zeytinyağı içerisinde çözülerek 4 mg/kg konsantrasyonda hazırlandı, çözeltinin homojenliğini sağlamak amacıyla karışım 3 dakika boyunca vortexlendi ve ışığa duyarlılık nedeniyle her doz uygulama öncesinde günlük olarak hazırlandı (12). Elde edilen likopen süspansiyonu, üçüncü gruptaki sıçanlara 10 gün boyunca oral gavalajla verildi. Uygulanan dozlar hayvanların vücut ağırlığına göre bireyselleştirildi ve karışımın stabilitesinin korunması amacıyla hazırlanmasını takiben kısa sürede uygulandı.

Likopen, lipofilik bir molekül olduğundan suda az çözünür ve biyoyararlanımı sınırlıdır. Yağ bazlı taşıyıcı sistemler lipofilik bileşiklerin emilimini artırarak bağırsak epitelinden daha etkin bir şekilde absorbe edilmesini sağlar. Bu nedenle zeytinyağı kullanımı, likopenin gastrointestinal sistemden emilimini optimize etmek ve sistemik dolaşıma daha yüksek miktarda ulaşmasını sağlamak amacıyla tercih edildi. Ayrıca gavajla uygulama, bireysel doz kontrolü ve hayvanlar arasında doz farklılıklarının önlenmesine imkan tanımaktadır. Bu hazırlama yöntemi, lipofilik bileşiklerin yağ bazlı taşıyıcılarla günlük taze formda hazırlanmasının biyoyararlanımı artırdığına dair literatürle uyumludur (84).

3.4.3. Karpuz Suyunun Standardizasyonu, Hazırlanışı ve Uygulaması

Karpuzdaki likopen derişimleri, HPLC tekniğiyle İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında ölçüldü. Likopen ekstraksiyonu, Fish ve ark. önerdiği yöntemin bu çalışmaya uyarlanmış versiyonu ile gerçekleştirildi (85). Karpuz meyvesinden alınan 10 g'lık örnekler, 50 mL'lik falkon tüplere aktarıldı, örnekler 5 mL distile su eklendi ve tam çözünme sağlanıncaya kadar (yaklaşık 5 dakika) çalkalandı, ardından bütil hidroksitoluen (BHT, %0.05 w/v) içeren aseton, %95 etanol ve n-hekzan karışımından oluşan çözücü sistemi (1:1:2; v/v/v) toplam 20 mL olacak şekilde tüplere ilave edildi. Bu karışım, 200 rpm'de çalışan çalkalayıcıda 15 dakika süreyle karıştırılmış olup sonrasında çözeltinin faz ayrımının gerçekleşmesi için yaklaşık 5 dakika süreyle tüpler oda sıcaklığında bekletildi. Üst fazı oluşturan hekzan tabakası, likopeni içeren organik faz olarak dikkatlice pipetlenerek temiz amber tüplere aktarıldı.

Hazırlanan hekzan ekstraktı, HPLC analizleri öncesinde ışığa duyarlı olduğu için alüminyum folyo ile kaplanarak koyu ve serin bir ortamda saklandı. Bu süreçte,

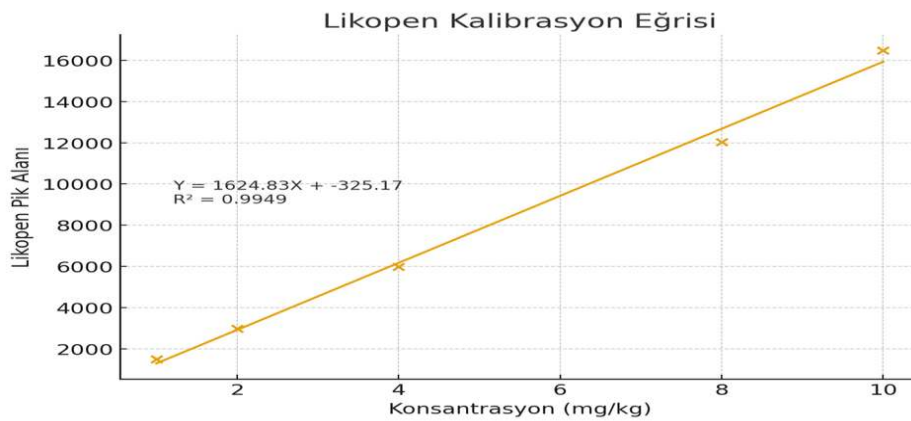
örneklerin oksidatif bozulmasını önlemek ve analitik doğruluğu artırmak için antioksidan katkı maddesi (BHT) kullanımı ve düşük ışıktaki saklama gibi önlemler titizlikle uygulandı. Ayrıca ekstraksiyon süresi ve çalkalama hızı gibi parametreler, likopen verimini optimize etmek amacıyla standart protokollerle uyumlu olarak belirlendi. Bu yaklaşım, likopenin karpuz suyu ve diğer meyve özleri içerisindeki lipofilik dağılımının doğru şekilde ölçülmesine imkan sağlamaktadır (85).

HPLC ile Likopen Analizi

Likopen düzeyinin belirlenmesi, Agilent 1100 HPLC cihazıyla yapılmıştır. Analiz öncesinde örnekler, 0,45 µm por genişliğine sahip poliviniliden florür şırınga filtresinden geçirildi ve ardından HPLC viallerine aktarıldı. Bu adım, kolona partikül taşınmasını engelleyerek cihazın performansını ve ölçümlerin doğruluğunu artırmaktadır.

Öncelikle likopen standart çözeltisi hazırlandı. Analite ait stok standart, 1mg/mL derişimde olacak şekilde %50 metanol ve %50 su karışımından oluşan çözücü sistemi kullanılarak hazırlandı ve analiz yapılana kadar örnekler -20°C’de muhafaza edildi. Her bir analiz serisinde kullanılan çalışma standartları, stok çözeltinin aynı çözücü sistemiyle günlük olarak seyreltilerek elde edildi. Bu sayede günlük ölçümlerde olası konsantrasyon değışiklikleri minimize edildi.

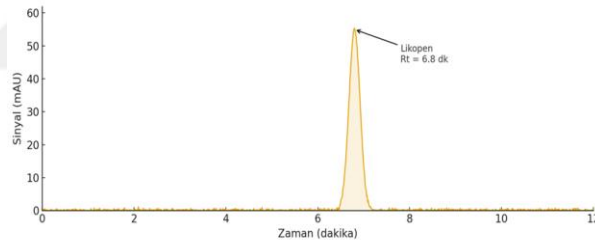
Kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla, stok standart çözeltiden farklı derişimlerde (1.0-10 µg/mL aralığında) beş noktali bir seri hazırlandı. Regresyon analizi, söz konusu çözeltilerin pik alanları kullanılarak gerçekleştirildi ve likopene ait kalibrasyon doğrusu oluşturuldu (Şekil 3.1). Sonuçlar µg/mL cinsinden değerlendirildi, bilinmeyen örneklerdeki likopen miktarları ise ilgili kromatogramlardan hesaplanarak kalibrasyon denklemi $Y = 16024,83X - 325,17$; $R^2 = 0,9949$ olarak bulundu.



Şekil 3.1. Likopen için elde edilen temsili standart kalibrasyon eğrisi

Kromatografik analizlerde UV-Vis dedektör tercih edilerek ayırma işlemi 250 x 4,6 mm boyutunda ve 5 µm partikül büyüklüğüne sahip C18 ters faz kolon üzerinde yapıldı. Mobil faz olarak metanol, asetonitril ve diklormetanın sırasıyla %50, %40, %10 hacim oranlarında oluşturulan karışım kullanıldı. Akış hızı 1,0 mL/dk seviyesinde tutuldu ve kolon 30 °C’de stabilize edildi. Örneklerin enjeksiyon hacmi 20 µL ayarlandı ve dedeksiyon, likopenin maksimum absorpsiyon dalgaboyu olan 503 nm’de gerçekleştirildi. Toplam analiz süresi 20 dk olarak uygulandı ve bu süre, likopenin kolonda yeterli ayrışmayı sağlayacak şekilde optimize edildi.

Likopenin kromatografik pikleri, analitik saflıktaki hazırlanan standart likopen çözeltisinin retansiyon süresi ile karşılaştırılarak tanımlandı. Miktar tayini, bilinen derişimlerde hazırlanan standart çözeltilerden elde edilen dış kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.2). Bu prosedür, lipofilik bir bileşik olan likopenin doğru ve tekrarlanabilir biçimde kantitatif olarak belirlenmesini sağlamaktadır. Ayrıca, örnek filtrasyonu, sıcaklık kontrolü ve mobil faz bileşenlerinin seçimi gibi metodolojik detaylar, analizin hassasiyetini ve güvenilirliğini artıran kritik adımlar olarak uygulandı.



Şekil 3.2. Likopen için elde edilen standart kalibrasyon eğrisi

Karpuz Suyunun Hazırlanışı

Hesaplanan verilerle 100 mL karpuz suyunda 8 mg likopen olduğu belirlenmiş, karpuz iç kısmından alınan parçalar küp şeklinde kesildikten sonra suyu çıkartılarak elde edilen sıvı, süzme kağıdı ile süzülüp berraklaştırılarak behere aktarıldı, beherin ağzı parafinle kapatıldıktan sonra örnekler -20°C’de donduruldu.

Depolama sonrası örnekler liyofilizatöre (Christ Alpha 1-2 LD plus, Almanya) yerleştirildi ve 0,12 mbar’da 72 saat tutularak kurutuldu, kurutma sonrası elde edilen bu katı, uygulama öncesinde uygun hacimde distile su ile sulandırılarak 4 mg/kg dozunda sıçanlara gavajla verildi. Bu süreç, likopenin stabilitesinin korunması ve biyoyararlanımının maksimize edilmesini sağlayacak şekilde planlandı.

Ek olarak, liyofilizasyon yöntemi sayesinde karpuz suyundaki likopen ve diğer bileşiklerin bozulmadan korunması sağlandı, uygulama sırasında homojen dağılım elde etmek amacıyla çözeltinin iyice karıştırılması sağlandı. Bu yöntem, doğal kaynaklı likopenin saf likopenle karşılaştırmalı olarak deneysel modellerde güvenli ve kontrollü bir şekilde uygulanmasına imkan tanımaktadır.

3.5. Sakrifiye Yöntemi ve Örneklem

3.5.1. Anestezi Protokolü, Sakrifiye, Kan ve Böbrek Örneklerinin Alınması

Deneyin 11. gününde sıçanlara genel anestezi sağlamak amacıyla intraperitoneal yolla 10 mg/kg ksilazin ile 90 mg/kg ketamin uygulandı, derin anestezinin olduğu, refleks kaybı ve solunumda yavaşlama gibi fiziksel bulgular gözlemlenerek doğrulandı, akabinde hayvanlar kardiyak ponksiyon yöntemiyle sakrifiye edildi, kan ve böbrek dokuları alındı (77). Alınan kan örnekleri 3000 rpm de 15 dk santrifüje edilerek elde edilen serumlar önce +4 °C'da daha sonra -24 °C'da muhafaza edildi ve bu serum örneklerinden Cr, BUN, Na, Cl, K, Ca ve P değerleri ölçüldü.

Böbrek dokuları, hem histopatolojik hem de biyokimyasal analizler için kullanıldı. Histopatolojik incelemeler için alınan böbrekler %10'luk formol çözeltisi içerisinde muhafaza edilerek histopatoloji laboratuvarına gönderildi daha sonra parafin bloklarına gömülüp kesit alınarak mikroskopik değerlendirmeye tabi tutuldu. Bu dokularda histopatolojik olarak hücresel hasar, nekroz, inflamasyon ve diğer morfolojik değişiklikler değerlendirildi. Bu histopatolojik incelemeler ve yorumlanması Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü.

Diğer böbrek biyokimyasal analizler için kullanıldı. Bu örnek, -20 °C'de muhafaza edilerek oksidatif stres parametreleri ölçüldü. Bu kapsamda, SOD, MDA, GSH ve CAT aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Bu biyokimyasal analizler İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD'da yapıldı ve yorumlandı.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Çalışma boyunca gerçekleştirilen tüm biyokimyasal değerlendirmelerde, numunelerin protein düzeylerinin doğruluğunu sağlamak için Bradford yöntemi temel analiz tekniği olarak kullanıldı (86). Bu yöntem, proteinleri boyar bir bileşik ile etkileşime sokarak absorbansta değişiklik oluşturması prensibine dayanmaktadır.

Ölçülen absorbans değerleri, bilinen protein standartları kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırıldı ve numunelerdeki toplam protein konsantrasyonu mg/mL cinsinden hesaplandı. Bradford yöntemi, basit uygulaması ve kısa analiz süresi ile yüksek hassasiyet sunması nedeniyle biyokimyasal çalışmalar için tercih edildi.

3.6.1. Böbrek Dokusunun Hazırlanması

pH7.4 olacak şekilde 50 mM P tampon hazırlamak için, 6,059 g K_2HPO_4 ile 2,07 g KH_2PO_4 , 800 mL distile suda çözüldü ve çözeltinin pH'ı ayarlandıktan sonra, distile su ilavesiyle toplam hacim 1 L'ye tamamlandı. Bu tampon, dokuların homojenizasyonu sırasında iyonik dengeyi koruyarak enzim aktivitelerinin stabil kalmasına yardımcı olmaktadır.

Biyokimyasal analizlerde kullanmak için -80 °C'de muhafaza ettiğimiz böbrek dokularından ağırlık/hacim oranı 1/10 olacak şekilde örnekler tartılarak, hazırlanan P tampon üzerine eklendi. Bu karışım, 6000 rpm'de 5 dk boyunca homojenizatörde işlenerek dokuların tamamen parçalanması sağlandı. Homojenatlar, 15 dk süresince +4 °C'de 15.000 g'de santrifüjlenmiş ve üst fazdaki süpernatantlar dikkatlice ayrıldı. Bu süpernatantlar, SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH ve KIM-1 ölçümleri için kullanıldı. Elde edilen homojenatlardan MDA ölçümü yapıldı. Santrifüjleme ve süpernatanın dikkatlice ayrılması, numunelerde olası mekanik bozulma veya kontaminasyonu önleyerek analitik sonuçların doğruluğunu artırmaktadır. Bu yöntem, dokuların biyokimyasal parametreler açısından korunmuş ve homojen bir şekilde hazırlanmasını sağlayarak, hem oksidatif stress hem de böbrek fonksiyon belirteçlerinin güvenilir biçimde ölçülmesine imkan tanımaktadır.

3.6.2. Serumda Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

BUN, Cr, Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kan örnekleri analiz edildi. Ölçümler İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Beckman Coulter marka AU5800 model cihaz kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm ölçümler üretici firma tarafından önerilen standart prosedürler doğrultusunda yapıldı.

Elde edilen sonuçlar, böbrek fonksiyonunun çeşitli biyokimyasal belirteçler üzerinden değerlendirilmesini sağlamak amacıyla kaydedilmiş ve istatistiksel analiz için hazırlandı. Bu parametreler, böbreklerin filtrasyon ve elektrolit dengesi gibi temel işlevlerini yansıtmaması nedeniyle, nefrotoksisite çalışmalarında güvenilir göstergeler

olarak kabul edildi. Ayrıca ölçüm sırasında cihazın kalibrasyon ve kontrol örnekleri kullanılarak sonuçların doğruluğu ve tekrarlanabilirliği sağlandı.

3.6.3. KIM-1 Ölçümü

Böbrek hasar belirtici olan KIM-1 düzeyleri, ticari olarak temin edilen Reed Biotech firmasına ait ELISA kiti (Katalog No: RE2750R) kullanılarak belirlendi. Bu amaçla analizlerde böbrek doku homojenatları santrifüj edilerek elde edilen supernatant örnekleri kullanıldı. Ölçüm öncesinde supernatant örnekleri kit prosedürüne uygun olarak 50 kat seyreltildi ve bu sayede absorbans değerlerinin standard eğri aralığında kalması sağlandı.

Reaksiyon sonunda oluşan renk değişimi ELISA mikroparka okuyucusunda uygun dalga boyunda ölçüldü, elde edilen absorbans değerleri standart eğri yardımıyla konsantrasyonlara dönüştürüldü ve sonuçlar pg/mL cinsinden ifade edildi.

Bu yöntem, KIM-1'in böbrek tübüler hasarını hassas ve güvenilir biçimde göstermesi nedeniyle nefrotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Analiz sırasında kit kontrolleri ve replikatlar kullanılarak ölçümlerin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği sağlandı. Ayrıca süpernatant örneklerin uygun şekilde seyreltilmesi ve ölçüm sırasında kullanılan standard prosedürler, yüksek duyarlılık ve spesifite elde edilmesine katkı sağlamaktadır.

3.7. Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi

3.7.1. MDA Ölçümü

Böbrek doku homojenatlarında MDA düzeyleri, literatürde tanımlanmış tiyobarbitürik asit (TBA) esaslı spektrofotometrik yöntemle belirlendi (87). Böbrek dokularından %10 (ağırlık/hacim) oranında homojenatlar, %1,15'lik KCl çözeltisi ile çözülerek dokuların tamamen dispersiyonunun sağlanması amaçlandı.

Elde edilen homojenata 1,5 mL %1 fosforik asit ile 0,5 mL % 0.6 TBA çözeltisi eklenerek karışım vortex ile homojen hale getirildi. Hazırlanan örnekler kaynar su banyosunda 45 dk inkübe edildi, bu süreç MDA ile TBA arasındaki renk reaksiyonunun oluşmasını sağlar. İnkübasyonun ardından numunelerin oda sıcaklığında soğuması beklenerek ve üzerine 2 mL n-bütanol ilave edilerek tekrar karıştırıldı. Karışımlar, n-bütanol fazının ayrılmasını sağlamak amacıyla karanlık ortamda 24 saat bekletildi.

Oluşan organik fazın absorbanası, spektrofotometrik olarak 532 nm dalga boyunda ölçüldü. MDA miktarı, tetrametoksipropan stok çözeltisinden hazırlanan 20, 40, 60, 80, 100 ve 200 nmol/L konsantrasyon noktaları kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplandı. Sonuçlar, protein miktarına normalize edilerek mmol / mg protein birimiyle raporlandı. Bu yaklaşım, böbrek dokusundaki lipid peroksidasyonunun hassas ve tekrarlanabilir biçimde değerlendirilmesini sağlamaktadır.

3.7.2. GSH Düzeyinin Ölçülmesi

Örneklerdeki GSH düzeyleri, 5,5'-ditiobis- (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanılarak yapılan kolorimetrik reaksiyonla 412 nm'de ölçüldü (88). Bu yöntem, indirgenmiş tiyol gruplarının DTNB ile reaksiyona girerek sarı renkli TNB kompleksini oluşturması prensibine dayanır.

Analiz öncesinde örnekler %10'luk triklorasetik asit (TCA) ile çöktürülmüş ve 1000xg'de 5 dk süreyle santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan 0,5 mL alınarak 2 mL Tris-EDTA tampon (0,2 M , pH 8,9) ve 0,1 mL 0,01M DTNB ilave edildi. Karışım, oda sıcaklığında 5 dk süreyle bekletilerek renk değişimi sağlandı.

Oluşan TNB kompleksinin absorbanası, Shimadzu UV-1201 model spektrofotometre kullanılarak 412 nm dalga boyunda ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri, GSH standard çözeltisinden elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla konsantrasyon birimlerine dönüştürüldü ve sonuçlar mmol/mg protein olarak raporlandı. Bu yöntem, böbrek dokusundaki indirgenmiş GSH miktarının hassas ve güvenilir biçimde belirlenmesini sağlamaktadır.

3.7.3. SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

Hücrel antioksidan savunmanın önemli bir enzimi olan SOD, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve oksijen molekülüne çevrilmesini sağlar. Böbrek dokusunda SOD aktivitesi, süperoksit radikali üretimine ve nitroblue tetrazolyum (NBT) indirgenmesinin inhibisyonuna dayalı kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlendi (89).

Bu kapsamda deney tüplerine 100 µL supernatant eklendi ve ardından ksantin (0,3 mmol/L), yaklaşık 0,6 mmol/L Na₂EDTA, 150 mmol/L NBT, Na₂CO₃ (400 mmol/L) ve 1 g/L bovin serum albümini içeren 2,85 mL reaktif karışımı ilave edildi. Reaksiyonun başlatılması amacıyla, 2M (NH₄)₂SO₄ kullanılarak ksantin oksidaz enzim

çözeltisinden 167 U/L olacak biçimde hazırlanarak her tüpe 100 µL eklendi ve örnekler 20 dk boyunca karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından reaksiyon, tüplere 0,8 mmol/L CuCl_2 çözeltisinden 1 mL eklenerek durduruldu ve 560 nm dalga boyunda absorbens değerleri ölçüldü. Numunelere ait SOD aktivitesi, standart SOD enzimi kullanılarak oluşturulan inhibisyon eğrisi yardımıyla hesaplandı, sonuçlar doku protein miktarına normalize edilerek U/mg protein birimiyle ifade edildi.

3.7.4. CAT Aktivitesinin Belirlenmesi

CAT, aerobik metabolizma sırasında hücrelerde oluşan H_2O_2 'nin su ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize eden önemli bir antioksidan enzimdir. H_2O_2 'nin ayrışma hızına dayanan spektrofotometrik yöntem kullanılarak böbrek dokusundaki CAT aktivitesi analiz edilmiştir (90). Analizden önce 1/15 mmol/L konsantrasyonda ve pH 7,0 değerinde P tampon hazırlandı. Bu amaçla KH_2PO_4 'den 3,522 g ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'dan 7,268 g alınarak distile suda çözüldü ve pH ayarlaması yapıldıktan sonra çözelti distile su ile 1L hacme tamamlandı. Hazırlanan P tamponuna %30'luk H_2O_2 çözeltisi ilave eklenerek 10 mmol/L konsantrasyonda hidrojen peroksit çözeltisi elde edildi ve spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda absorbens 0,5 olacak şekilde ayarlandı.

Ölçüm sırasında küvete 950 µL H_2O_2 çözeltisi ve 50 µL böbrek süpernatanı eklendi, hızlı bir şekilde karıştırıldıktan sonra cihazda alınan ilk okuma başlangıç absorbens olarak kaydedildi. Absorbans değişimi 1 dk boyunca izlendi ve elde edilen absorbens değeri kullanılarak fark hesaplandı. CAT aktivitesi, molar absorpsiyon katsayısı esas alınarak hesaplandı. Ölçüm süresi boyunca kaydedilen absorbens değişiminin ölçüm süresine bölünmesiyle elde edilen değerin; toplam reaksiyon hacmi ve molün mikromole çevrilmesini sağlayan çarpan (10^6) ile çarpılması ve bu sonucun molar absorpsiyon katsayısı, ışık yolu uzunluğu ve kullanılan numune hacmine bölünmesiyle hesaplandı ve sonuçlar U/mg protein cinsinden ifade edildi. Bu yöntem, böbrek dokusundaki CAT aktivitesinin hassas biçimde ölçülmesini sağlamak ve dokuda oluşan oksidatif stresin değerlendirilmesinde güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır.

3.8. Histolojik Örneklerin Hazırlanması

3.8.1. Böbrek Histoloji Örneğinin Hazırlanması

Çalışmanın 11. gününde kurban edilmiş sıçanların böbrek dokuları histopatolojik değerlendirme için örneklendi. Doku örnekleri %10 formalin içinde en az 48 saat fikse edilerek fiksasyonun ardından dokular rutin doku takip işlemine alınıp, artan konsantrasyonlardaki alkol serileri ile dehidrate edilip, ksilen ile saydamlaştırılıp parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler hazırlanıp hematoxilen-eozin (H&E) yöntemiyle boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelenerek histomorfolojik değişiklikler açısından değerlendirildi. Histolojik değerlendirmede glomerüller ve tübülointerstisyel hasarı yansıtan aşağıdaki parametreler esas alınarak her parametre 0-3 arasında derecelendirildi (Tablo 3.1) (91).

Tablo 3.1. Sisplatin nefrotoksisite çalışmaları için histopatolojik skorum tablosu

Parametre	0 (Normal)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)
Glomerüler hasar	Normal glomerüler yapı	Minimal konjesyon veya hafif mezangial genişleme	Belirgin mezangial genişleme ± Bowman aralığında hafif genişleme	Glomerüler yapı bozulması; kapiller lümenlerde belirgin daralma/çökme eğilimi; glomerül kollapsı/kaybı veya yaygın ağır yapısal bozulma
Tübüler dejenerasyon (vakuolizasyon/ şişme)	Yok	Hafif vakuolizasyon/şişme; sınırlı fırçamsı kenar kaybı	Dejenerasyon belirgin; fırçamsı kenar kaybı yaygın	Çok belirgin dejenerasyon; epitel bütünlüğünde bozulma / diffüz ağır dejenerasyon; epitel bütünlüğü ciddi bozuk
Tübüler nekroz/apoptoz (deskuamasyon, nükleer değişiklikler)	Yok	Az sayıda nekrotik/apoptotik hücre; minimal deskuamasyon	Nekrotik/apoptotik hücreler belirgin; lümende hücrel debris artışı	Yaygın nekroz; belirgin deskuamasyon; epitel sürekliliğinde kayıp / çok yaygın nekroz; tübüler epitelin büyük kısmında kayıp/çökme
Hiyalin Silindirleri	Yok	Nadir proteinöz materyal veya az sayıda cast	Cast ve debris belirgin; lümenlerde sık	Çok sayıda cast; belirgin tıkanıklık / yaygın tıkanıklık; yoğun debris ile akım engeli
İnterstisyel yangı (lenfosit-makrofaj ağırlıklı)	Yok	Hafif infiltrasyon	Orta derecede infiltrasyon	Şiddetli infiltrasyon; yer yer tübülit eşlik edebilir / yaygın çok şiddetli infiltrasyon; belirgin tübülit ve doku hasarı
Tübül bazal membran kalınlaşması (TBMK)	Kalınlaşma yok; bazal membran normal	Hafif kalınlaşma; fokal/kısa segmentlerde	Belirgin kalınlaşma; multifokal; bazı tübüllerde duvar kalınlığı artışı	Şiddetli kalınlaşma; çok sayıda tübülde belirgin; yer yer laminasyon / yaygın kalınlaşma; atrofik tübüllerle birlikte ileri yapısal değişiklik

4. BULGULAR

Elde edilen verilerin parametrik test varsayımlarını karşılayıp karşılamadığını değerlendirmek amacıyla, öncelikle dağılım özellikleri Shapiro-Wilk normallik testi kullanılarak analiz edildi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda incelenen değişikliklerin normal dağılım gösterdiği belirlendi. Normal dağılım şartını sağlayan verilerde, deney grupları arasındaki farkların istatistiksel açıdan anlamlılığı tek yönlü varyans analizi olan One-Way ANOVA ile incelendi. ANOVA testi sonucunda anlamlı farklılık belirlenen parametrelerde, bu farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığını ortaya koymak amacıyla en küçük anlamlı fark LSD Post Hoc çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde $p < 0,05$ anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. Analiz sonuçları tablo 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Böbrek dokusunun biyokimyasal parametrelerinin ortalama ve gruplar arası karşılaştırmaları

Gruplar → Parametreler ↓	Kontrol Ort±SD	Sisplatin Ort±SD	Sisplatin + Likopen Ort±SD	Sisplatin + Karpuz Suyu Ort±SD
CAT (U/mg protein)	59965±5054	56600±9688	53610±9057	48884±7008 ^a
SOD(U/mg protein)	782,3±45,2	690,4±61,1 ^a	670,2±71 ^a	525,5±33,5 ^{a,b,c}
GSH (mmol/mg protein)	4,42±0,65	5,96±0,46 ^a	6,11±0,64 ^a	17±1,66 ^{a,b,c}
MDA(mmol/mg protein)	6,17±0,78	6,87±0,71	5,76±0,79 ^b	3,89±0,69 ^{a,b,c}
KIM-1 (pg/mL)	111,7±20	87,5±11,8 ^a	90,8±12,2 ^a	59,9±4,88 ^{a,b,c}

SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, MDA: Malondialdehit, KIM-1: Böbrek Hasar Molekül-1, a: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p<0,05$ sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p<0,05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında.

Tablo 4.2. Serum biyokimya parametrelerinin ortalama ve gruplar arası karşılaştırmaları

Gruplar→ Parametreler↓	Kontrol Ort±SD	Sisplatin Ort±SD	Sisplatin + Likopen Ort±SD	Sisplatin + Karpuz Suyu Ort±SD
BUN (mg/dL)	22,66±1,74	19,68±2,81	24,14±5,52 ^b	22,33±3,49
Cr (mg/dL)	0,254±0,03	0,331±0,01 ^a	0,362±0,04 ^a	0,35±0,08 ^a
Na (mmol/L)	134,5±3,68	135,3±3,45	140±2,94 ^{a,b}	131,1±4,21 ^{b,c}
K (mmol/L)	5,14±0,5	5,2±0,3	6,02±0,7 ^{a,b}	4,91±0,4 ^c
Cl (mmol/L)	99,2±3,35	97,5±2,38	101±1,95 ^b	97,4±2,57 ^c
Ca (mg/dL)	9,8±0,69	10±0,77	10,1±0,84	9,81±0,44
P (mg/dL)	6,58±0,69	6,68±0,9	6,31±0,8	6,05±0,52

BUN: Kan üre azotu a: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p<0,05$ Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p<0,05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında.

4.1. Biyokimyasal Bulgular

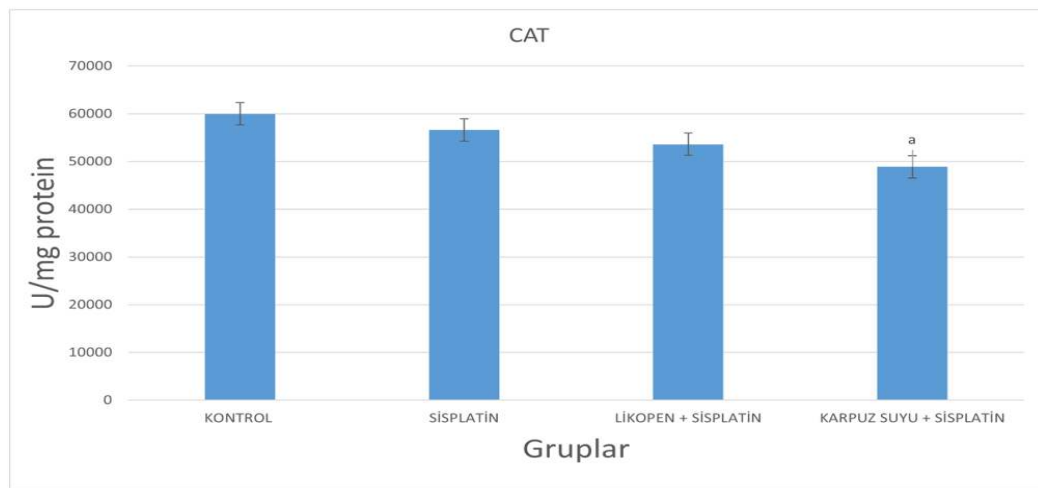
28 adet dişi Sprague-Dawley sıçandan elde edilen böbrek dokularında oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemiyle ilişkili biyokimyasal parametreler değerlendirildi. Bu kapsamda SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile indirgenmiş GSH ve MDA düzeyleri daha önce tanımlanmış spektrofotometrik yöntemler esas alınarak manuel ölçüldü.

Böbrek hasarının değerlendirilmesinde kullanılan erken dönem biyobelirteçlerinden biri olan KIM-1 düzeyi, ticari olarak temin edilen ELISA kiti yardımıyla ölçüldü. Sistemik böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla ise serumdan BUN, Cr, Na, K, Cl, Ca ve P gibi temel elektrolit düzeyleri, rutin klinik analizlerde kullanılan biyokimya otoanalizatörü ve üretici firma talimatlarına uygun ticari kitler aracılığıyla belirlendi.

4.1.1. Böbrek Dokusu Biyokimyasal Sonuçları

CAT Aktivitesi Sonuçları

CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, karpuz suyu verilen grupta kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir düşüş belirlendi (Şekil 4.1) ($p < 0,05$).

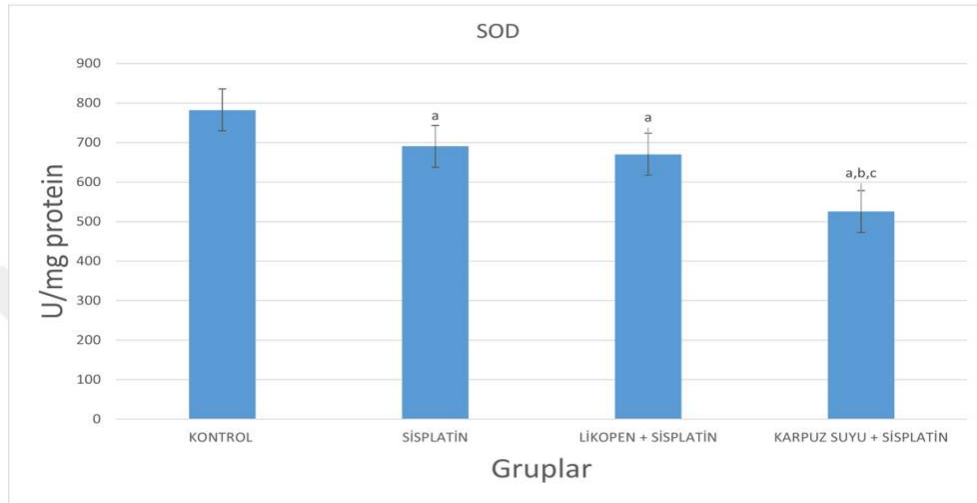


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.1. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının CAT aktivitesi yönünden karşılaştırılması

SOD Aktivitesi Sonuçları

SOD aktivitesi; kontrol grubuna kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p < 0,05$). Sisplatin ve likopen gruplarına göre karpuz suyu verilen grupta SOD aktivitesinin istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlendi (Şekil 4.2) ($p < 0,05$).

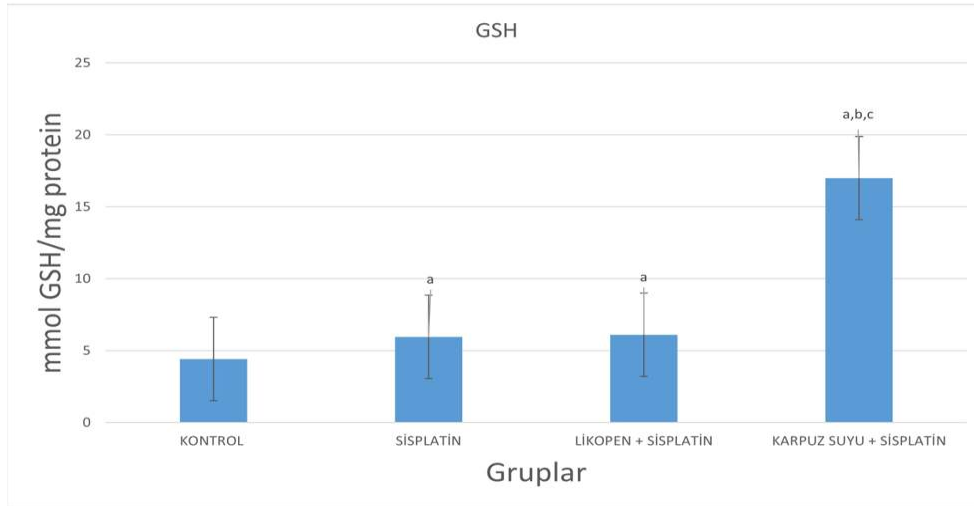


(a: $p < 0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0,05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0,05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.2. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının SOD aktivitesi yönünden karşılaştırılması

GSH Düzeyi Sonuçları

Redükte GSH düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme belirlendi ($p < 0,05$). Bununla birlikte, sisplatin ve likopen gruplarıyla karşılaştırıldığında, karpuz suyu grubunda GSH düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 4.3) ($p < 0,05$).

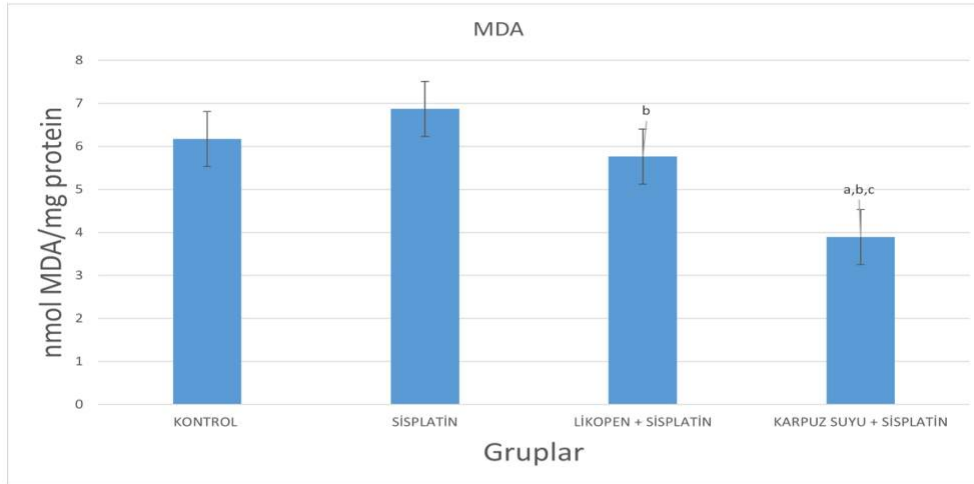


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.3. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının GSH düzeyi yönünden karşılaştırılması

MDA Düzeyi Sonuçları

MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna kıyasla karpuz suyu grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ($p < 0.05$), sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında, likopen ve karpuz suyu gruplarında artmış olan MDA düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.4) ($p < 0.05$).

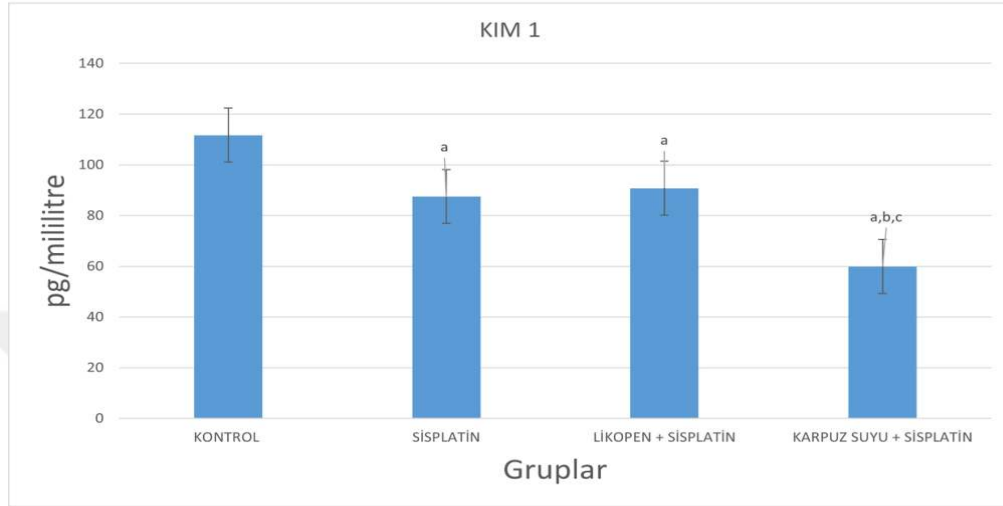


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.4. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının MDA düzeyi yönünden karşılaştırılması

KIM-1 Düzeyinin Sonuçları

KIM-1 düzeyleri incelendiğinde; Kontrol grubuna kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı bir azalma ($p < 0,05$), sisplatin ve likopen gruplarıyla karşılaştırıldığında karpuz suyu grubunda KIM-1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (Şekil 4.5) ($p < 0,05$).



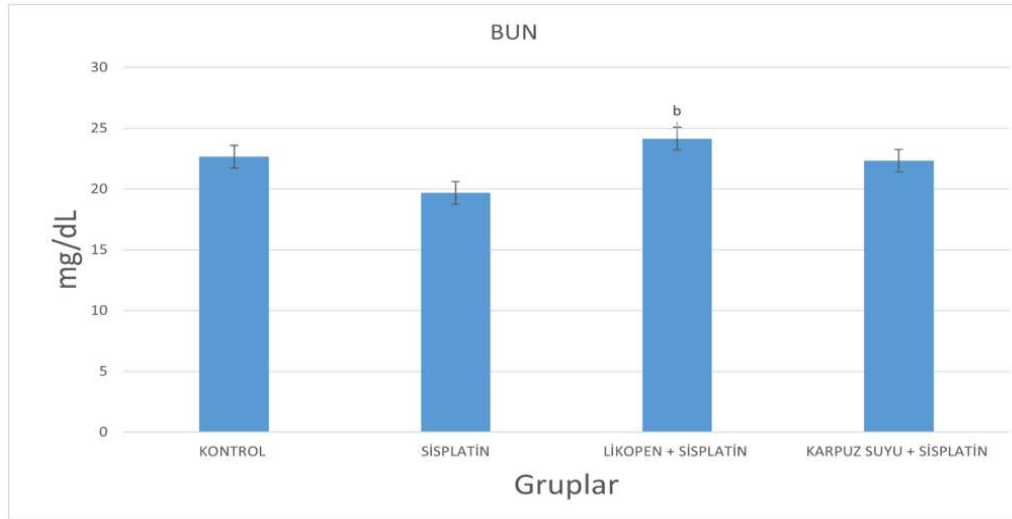
(a: $p < 0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0,05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0,05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.5. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının KIM-1 düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum Biyokimya Parametreleri Sonuçları

Serum BUN Düzeyi Sonuçları

Serum BUN düzeyleri incelendiğinde, likopen uygulanan grupta sisplatin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi (Şekil 4.6) ($p < 0,05$).

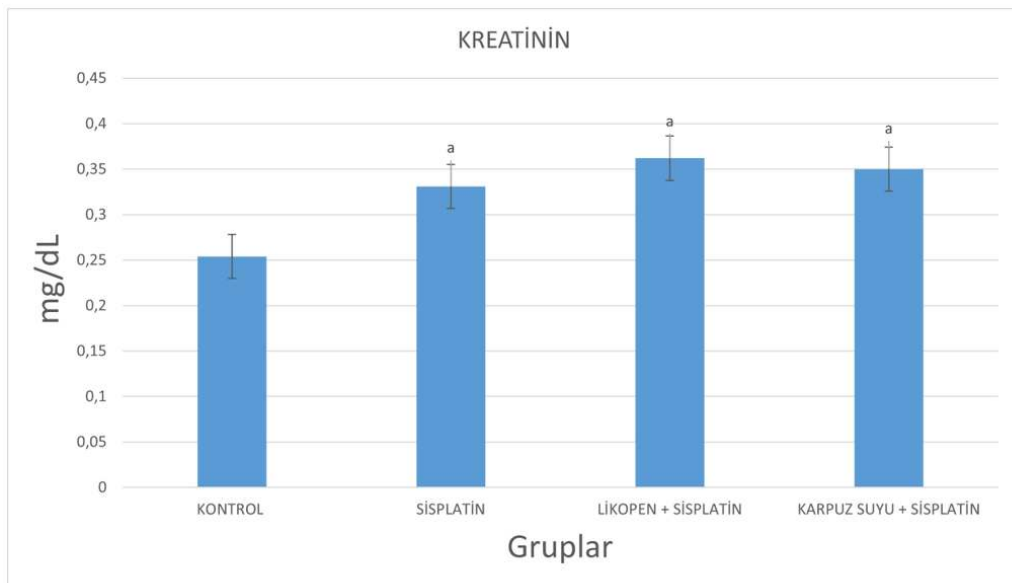


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.6. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının BUN düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum Cr Düzeyi Sonuçları

Serum Cr değerleri incelendiğinde; kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda anlamlı düzeyde yükselme belirlendi (Şekil 4.7) ($p < 0,05$).

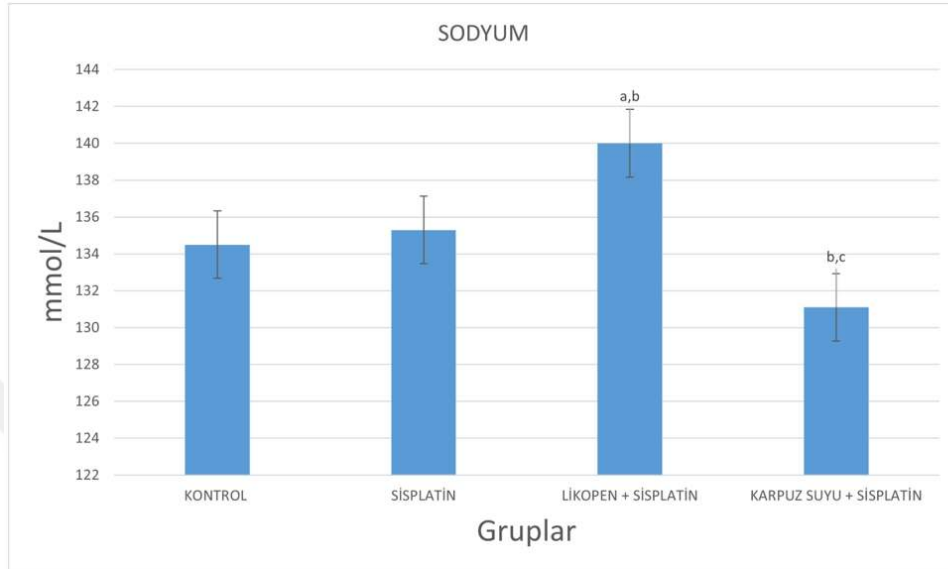


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.7. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Cr düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum Na Düzeyi Sonuçları

Serum Na düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında likopen grubunda anlamlı düzeyde bir artış ($p < 0,05$), ayrıca hem sisplatin hem de likopen gruplarına göre karpuz suyu grubunda anlamlı bir azalma belirlendi (Şekil 4.8) ($p < 0,05$).

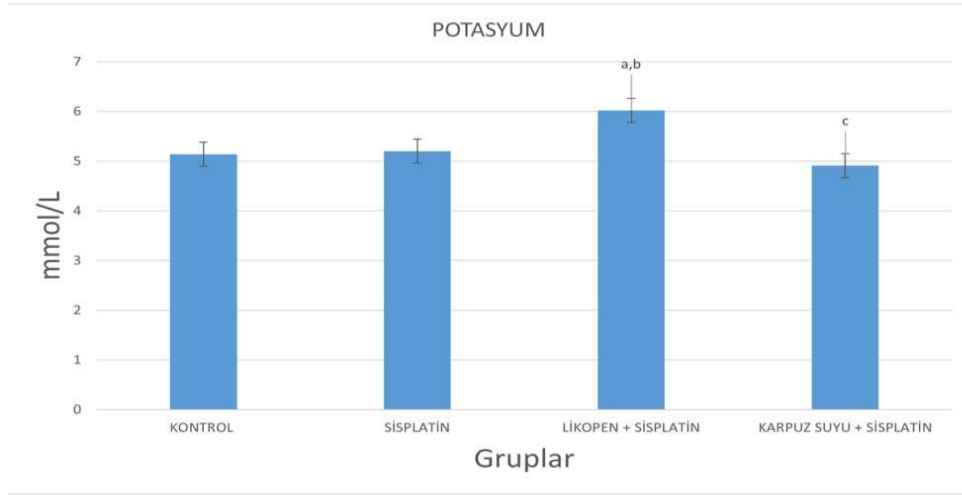


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.8. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Na düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum K Düzeyi Sonuçları

Serum K düzeyleri değerlendirildiğinde; Likopen grubunda kontrol ve sisplatin gruplarına kıyasla anlamlı bir yükselme ($p < 0,05$), buna karşılık karpuz suyu verilen grupta K düzeyleri likopen grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulundu (Şekil 4.9) ($p < 0,05$).

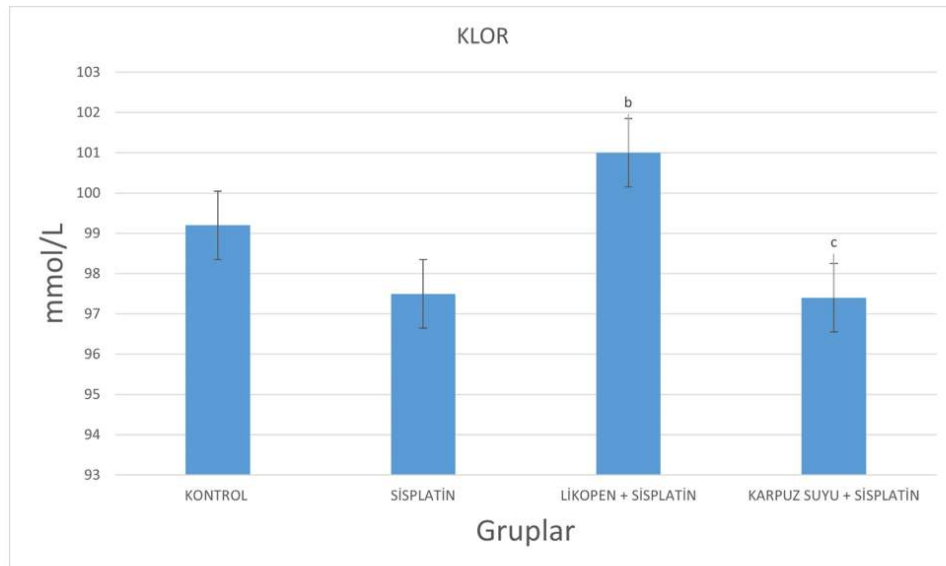


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.9. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının K düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum Cl Düzeyi Sonuçları

Serum Cl düzeyleri; Sisplatin grubuna göre likopen grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bunun yanında likopen grubuna göre karpuz suyu grubunda Cl düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığı belirlendi (Şekil 4.10) ($p < 0,05$).

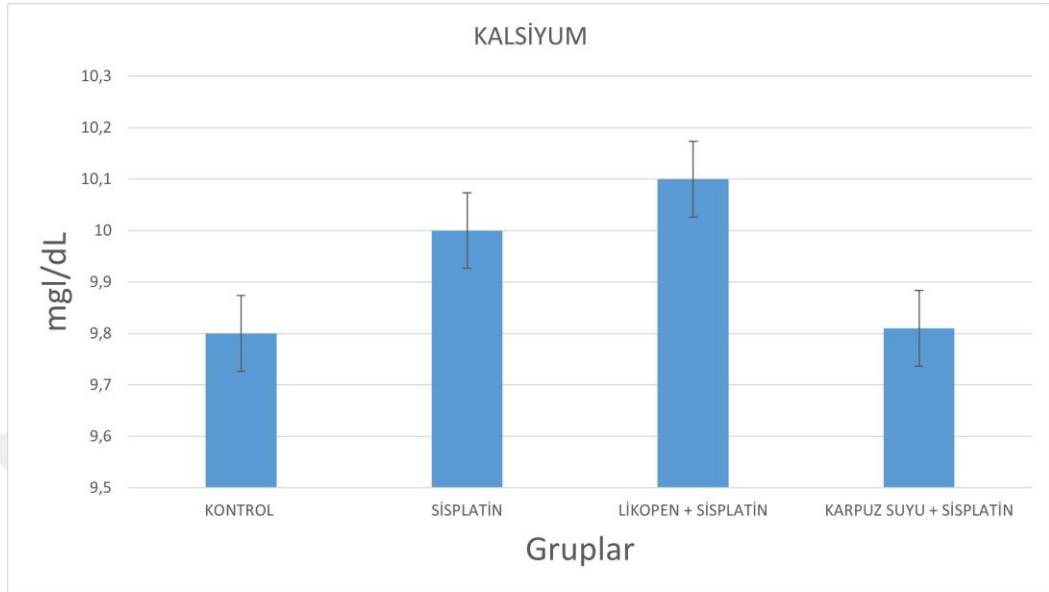


(a: $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, b: $p < 0.05$ cisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, c: $p < 0.05$ likopen grubu ile karşılaştırıldığında)

Şekil 4.10. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Cl düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum Ca Düzeyi Sonuçları

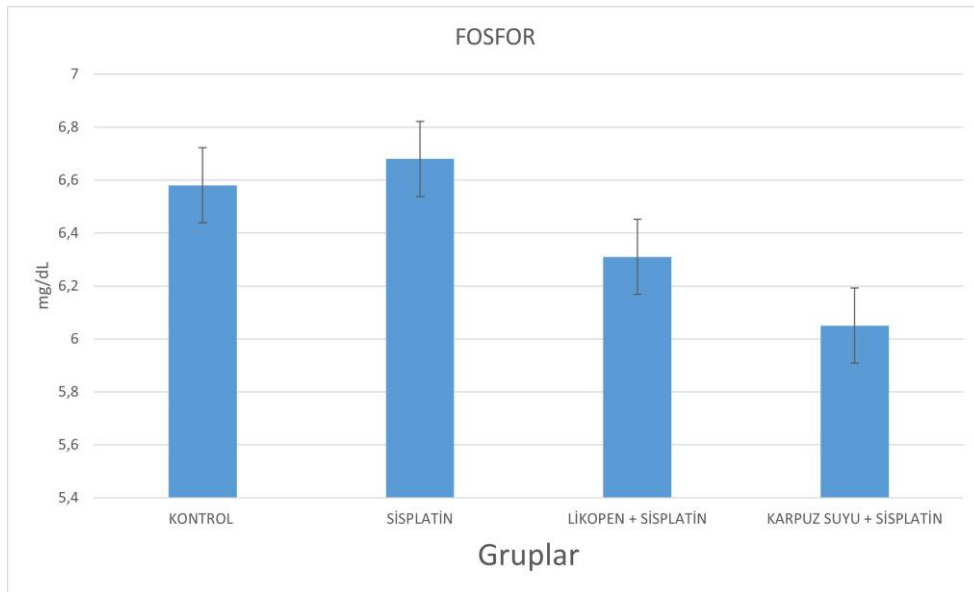
Serum Ca düzeyleri değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının Ca düzeyi yönünden karşılaştırılması

Serum P Düzeyi Sonuçları

Serum P sonuçları değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Kontrol grubu, sisplatin, likopen ve karpuz suyu gruplarının P düzeyi yönünden karşılaştırılması

4.2. Histopatolojik Bulgular

Sisplatin uygulaması, kontrol grubuna kıyasla glomerüler hasar, tübüler dejenerasyon, tübüler nekroz, lümen tıkanıklığı, interstisyel yangı ve Tübüler Bazal Membran Kalınlığı (TBMK) skorlarında anlamlı artışa yol açarak belirgin nefrotoksisite oluşturdu (Tablo 4.3).

Sisplatin ile birlikte karpuz suyu uygulanması, özellikle tübüler nekroz, lümen tıkanıklığı, interstisyel yangı ve TBMK değerlerinde medyan skorları sisplatin grubuna göre düşürme eğilimi gösterdi; ancak çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi sonrası sisplatin grubuna göre istatistiksel olarak doğrulanmış bir azalma belirlenmedi ($p < 0,05$). Sisplatin ile birlikte likopen uygulanması ise genel olarak tübüler hasar ve yangı göstergelerinde skorları düşürme eğilimi oluşturdu ve bu iyileştirici etkinin lümen tıkanıklığı parametresinde sisplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştığı görüldü ($p < 0,05$). Bununla birlikte glomerüler hasar skoru, sisplatin verilen tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla yüksek seyrederek, uygulanan desteklerin glomerüler komponent üzerinde yetersiz koruma sağladığı izlendi. Genel olarak bulgular, karpuz suyu ve özellikle likopenin sisplatine bağlı böbrek hasarında tübüler düzeyde kısmi bir iyileşme potansiyeli taşıdığını ancak istatistiksel olarak en net etkinin likopen grubunda lümen tıkanıklığının azaltılması şeklinde ortaya çıktığını düşündürdü.

Tablo 4.3. Deney gruplarında böbrek histopatolojik bulgularının karşılaştırılması

Gruplar↓ Hasar çeşitleri→	Glomerüler Hasar	Tübüler Dejenerasyon	Tübüler Nekroz/ Apoptoz	Lümen Tıkanıklığı	İnterstisyel Yangı	TBMK
Kontrol	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
Sisplatin	1 (1-1) ^a	2 (2-2) ^a	2 (2-2) ^a	2 (2-2) ^a	2 (1-2) ^a	3 (3-3) ^a
Sisplatin+likopen	1 (1-1) ^a	1 (1-2)	1 (1-1)	1 (1-1) ^b	0.5 (0-1)	2 (2-3)
Sisplatin+karpuz suyu	1 (1-1) ^a	2 (1-2) ^a	1 (1-2) ^a	1 (1-1)	0.5 (0-1)	2 (2-2)

Değerler median (minimum-maksimum) olarak verildi. a Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek ($p < 0,05$), b Sisplatin grubuna göre istatistiksel olarak düşük ($p < 0,05$).

Sisplatin uygulanan grupta glomerüler hasar, tübüler dejenerasyon, tübüler nekroz, hiyalin silindirleri, interstisyel yangı ve TBMK skorları kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttı ($p < 0,05$). Sisplatin + karpuz suyu grubunda, özellikle interstisyel yangı ve lümen tıkanıklığı skorlarında kontrol değerlerine yaklaşma eğilimi gözlenmekle birlikte, glomerüler hasar ile tübüler dejenerasyon ve nekroz/apoptoz skorları kontrol grubuna göre yüksek kaldı. Sisplatin+likopen grubunda tübüler hasarı yansıtan parametrelerde (tübüler dejenerasyon, tübüler nekroz ve interstisyel yangı)

skorların genel olarak daha düşük seyrettiği izlendi. Lümen tıkanıklığı skoru, sisplatin grubuna göre yalnızca sisplatin+likopen grubunda anlamlı olarak azaldı ($p < 0,05$). Tübüler bazal membran skorları sisplatin grubunda en yüksek düzeyde belirlenirken, karpuz suyu ve likopen uygulanan gruplarda daha düşük medyan değerler elde edildi, ancak bu azalma her iki grup için sisplatine karşı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

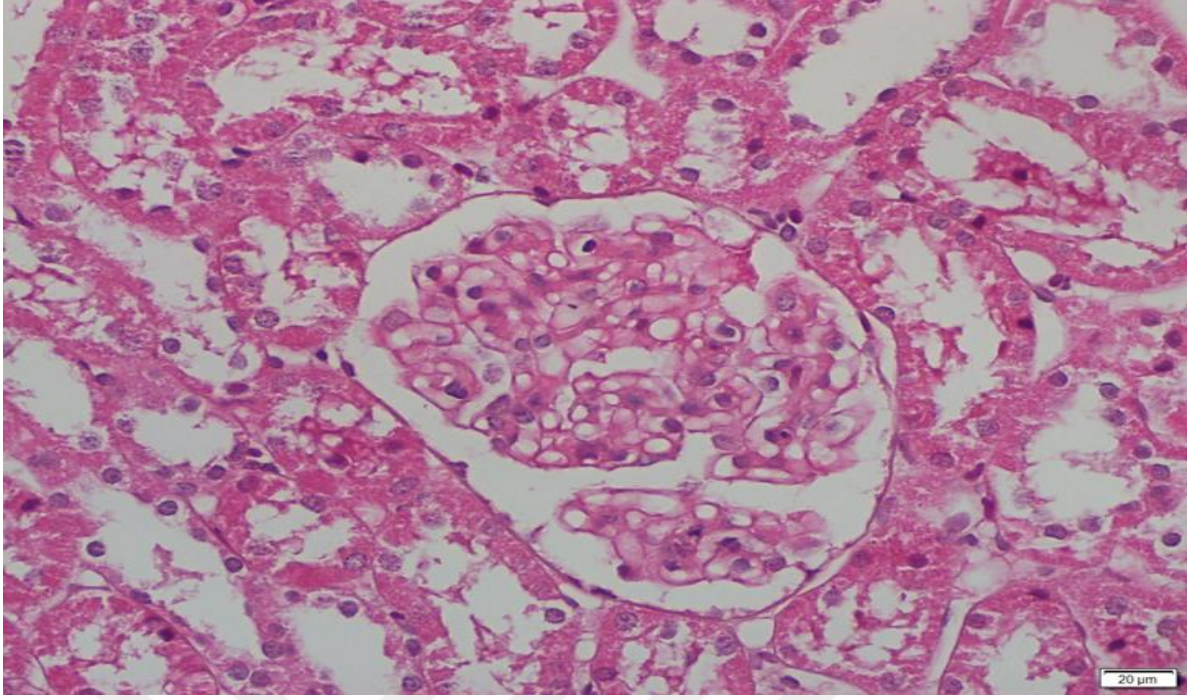
Likopen uygulanan grupta tübüler hasarı yansıtan skorların genel olarak daha düşük seyretmesi ve özellikle hiyalin silindirlerinin oluşumu sisplatine göre anlamlı azalması, likopenin güçlü antioksidan ve membran stabilizan özellikleri üzerinden tübüler epitel kaybını ve luminal debris birikimini azaltabileceğine işaret etmektedir. Tübüler bazal membran skorlarının tedavi gruplarında daha düşük eğilim göstermesine rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşmaması, bazal membran düzeyindeki yeniden yapılanmanın daha uzun zaman gerektiren bir süreç olabileceğini veya bu parametrenin değişimini yakalamak için daha geniş örneklem ve uzun takip gerektiğini düşündürmektedir.

Bu çalışmanın bulguları, likopenin sisplatin kaynaklı böbrek hasarında özellikle tübüler lümen tıkanması üzerinden şekillenen patolojiyi azaltmada daha belirgin katkı sağlayabileceğini, karpuz suyunun ise daha çok yangısal bileşenlerde sınırlı bir iyileşme eğilimi oluşturabileceğini düşündürmektedir. Burada “karpuz suyu” ile “likopen” arasındaki farkın, aktif bileşenin hedef dokuya ulaşma düzeyi ve standardizasyonu (saf bileşik vs. matriks içinde değişken konsantrasyon) ile ilişkili olması beklenir. Dolayısıyla, aynı antioksidan hattı hedefleseler bile, biyoyararlanım ve doz standardizasyonu farklılıkları histopatolojik çıktılarda ayrışmaya yol açabilir.

Sonuç olarak, sisplatin nefrotoksisitesinde karpuz suyu ve likopenin hasarı azaltma yönünde etkiler gösterebileceği, ancak istatistiksel olarak en net iyileştirici etkinin likopen grubunda lümen tıkanıklığının azalması şeklinde ortaya çıktığı değerlendirilmiştir.

4.2.1. Kontrol Grubunun Histopatolojik Görüntü Bulguları

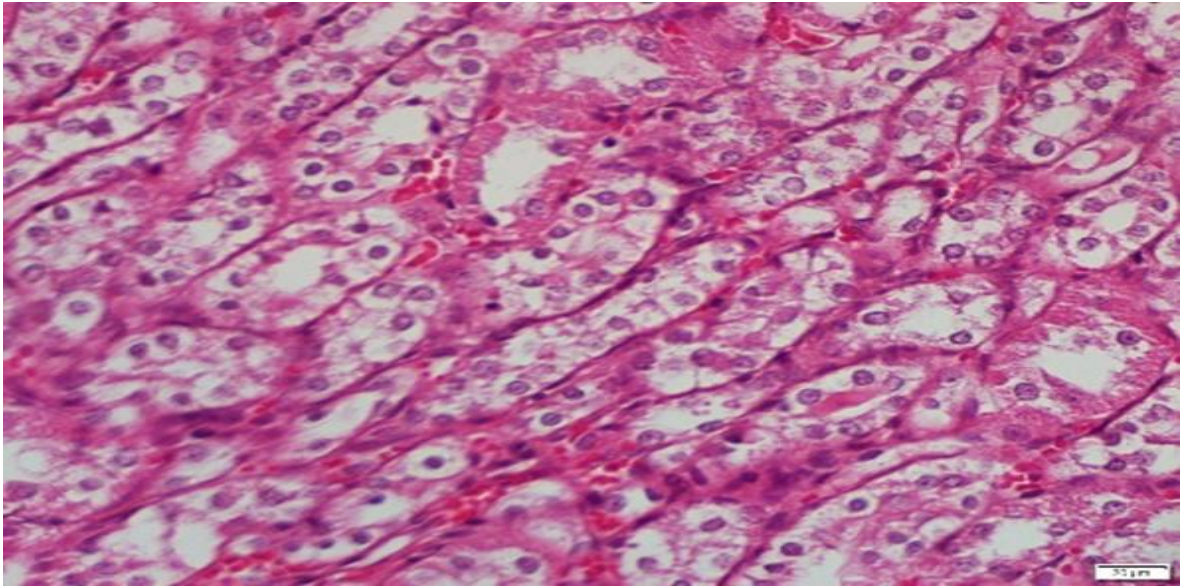
Kontrol grubunda böbrek dokusunun genel mimarisi korunmuş olup glomerüller ve tübüler yapılar normal görünümdeydi. Glomerüler hasar ya da bazal membranda belirgin bir bozulma belirlenmedi, tübüler atrofi ve lümen tıkanıklığı gözlenmedi. İnteristiyumda belirgin ödem veya hücrel infiltrasyon görülmedi. Tübüler epitelde nekroz/apoptoz bulgusu yoktu ve interstisyel alanda lenfosit-makrofaj ağırlıklı inflamasyon izlenmedi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Kontrol grubunda normal histolojik yapıdaki glomerulus ve tübüller, H-E, x40.

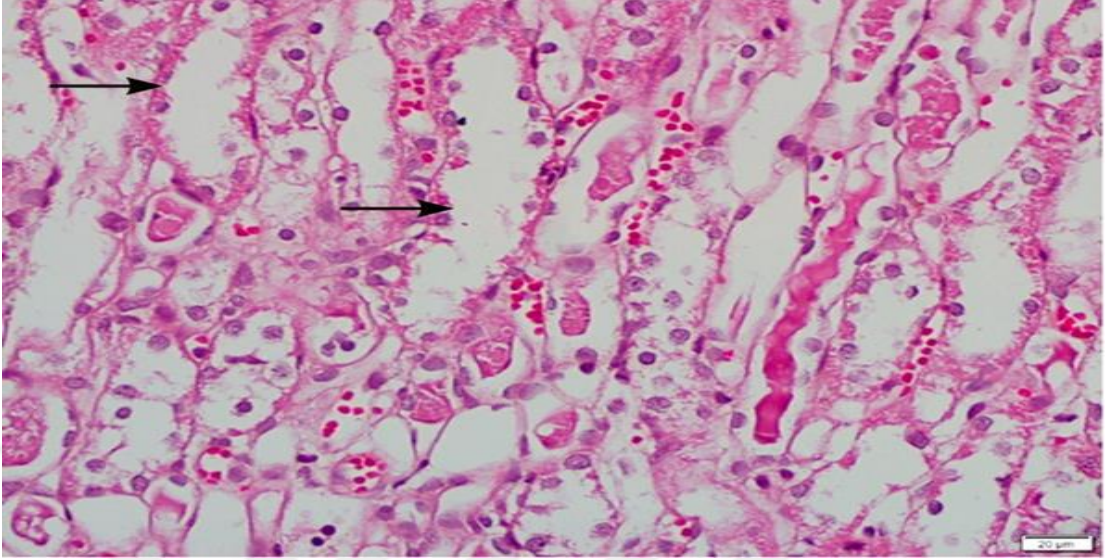
4.2.2. Sisplatin Uygulanan Grubun Histopatolojik Görüntü Bulguları

Sisplatin uygulanan sıçanların böbrek dokularında lezyonların baskın olarak tübüller kompartmanda yer aldığı, özellikle korteks ve kortikomedüller bileşkede belirgin olduğu gözlemlendi. Proksimal tübül epitelinde belirgin hidropik/vakuoler dejenerasyon, sitoplazmik eozinofilide artış belirlendi (Şekil 4.14).



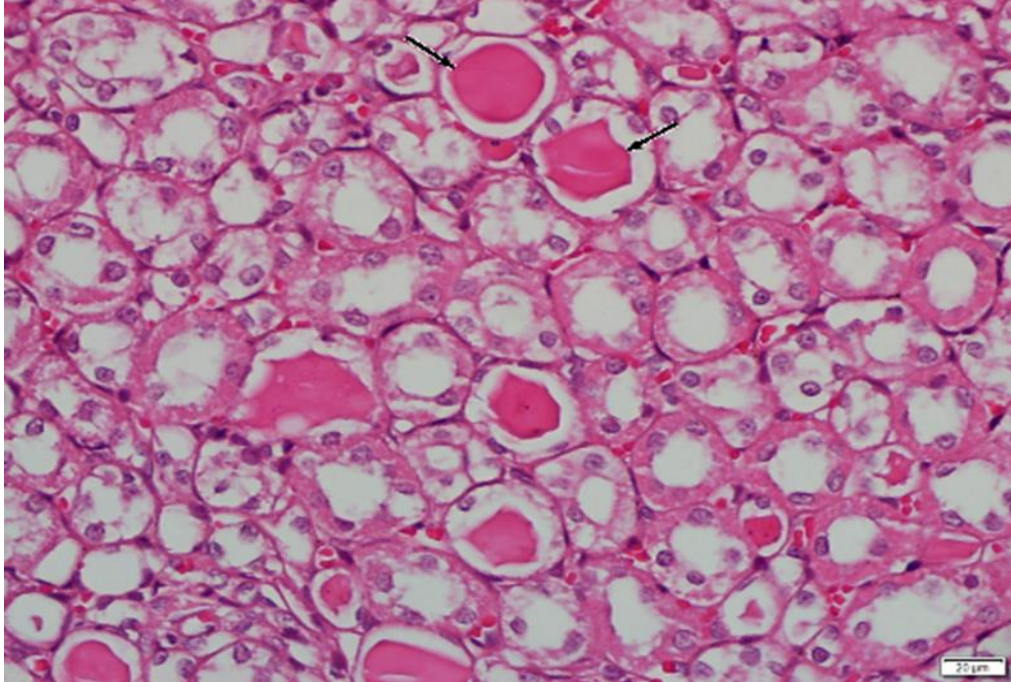
Şekil 4.14. Proksimal ve distal tübüllerde yaygın ve şiddetli hidropik dejenerasyon, H-E, x40.

Ayrıca, tübül epitelinde belirgin epitel hücre dökülmesi/nekroz odakları ve lümende proteinöz-debris birikimi ile karakterize akut tübüler hasar dikkati çekti (Şekil 4.15).



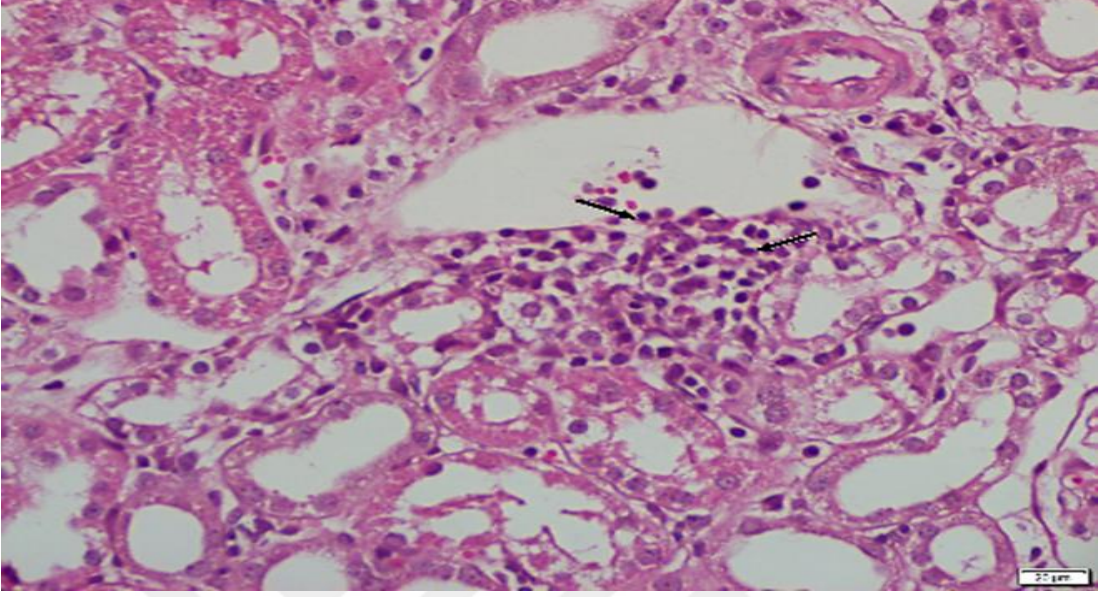
Şekil 4.15. Tübül epitel hücrelerinde nekroz ve deskuamasyon, H-E, x40.

Tübül lümenlerinde nekrotik hücre kalıntıları ve proteinöz materyale bağlı hiyalin silindir oluşumları belirlendi (Şekil 4.16). Bazı alanlarda tübüler dilatasyon ile birlikte, yer yer tübüler atrofiyle uyumlu histomorfolojik düzensizlikler gözlemlendi.



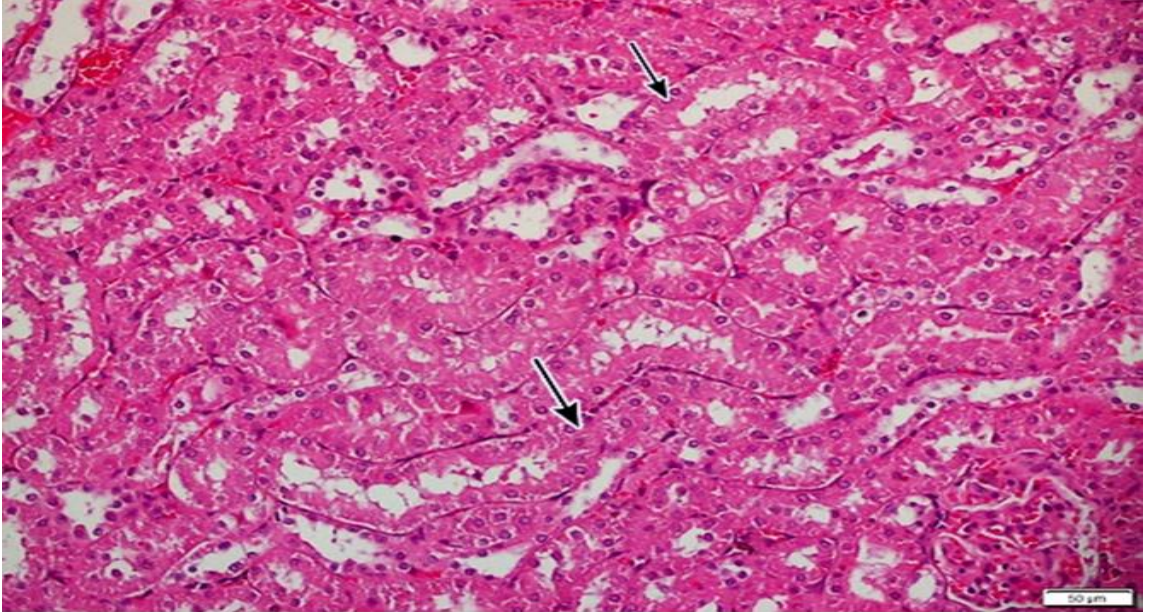
Şekil 4.16. Medullar tübüllerde hiyalin silindirleri (oklar). H-E, x40.

İnterstisyel alanda belirgin ödem ve damar yapılarında konjesyon ile birlikte interstisyumda çoğunlukla lenfosit-makrofaj ağırlıklı yangısal hücre infiltrasyonu belirlendi (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Medullar bölgede lenfohistiositik infiltrasyon(oklar) ve tübüler dilatasyon. H-E, x40.

Ayrıca özellikle hasarlı/atrofik tübüllerde tübül bazal membranlarında kalınlaşma dikkat çekti (Şekil 4.18).



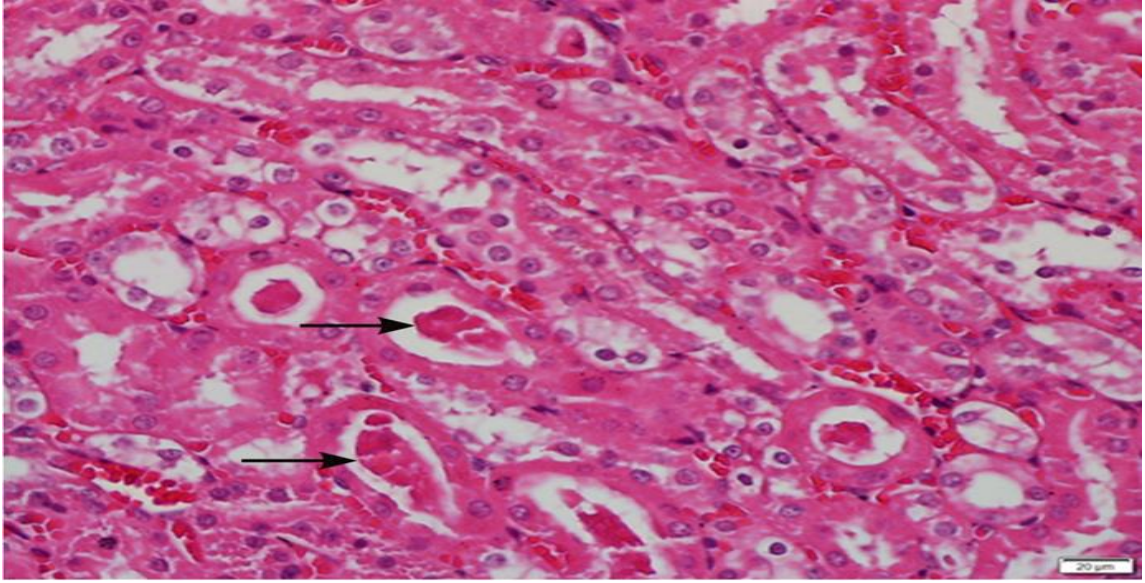
Şekil 4.18. Medullar tübüllerde hiyalin silindirleri (oklar). H-E, x40.

Glomerüler yapılarda primer hedefe yönelik ağır lezyon izlenmemekle birlikte bazı olgularda hafif glomerüler konjesyon ve sınırlı mezangial genişleme gözlemlendi.

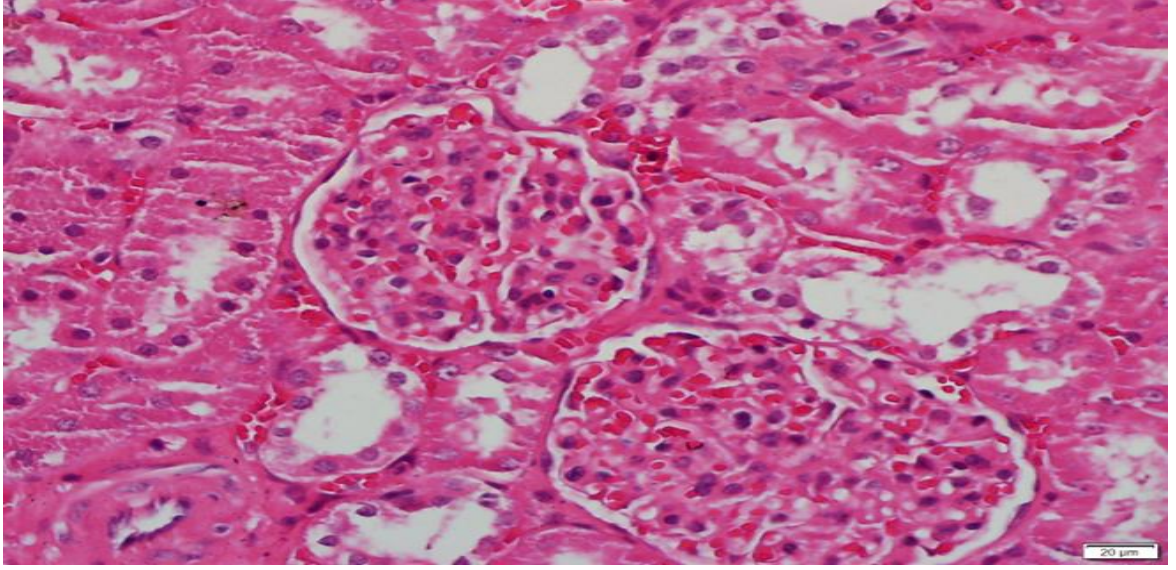
Tübüllerin bir kısmında bazofilik rejeneratif epitel, epitelin yassılaşması ve yer yer mitotik figürler ile uyumlu rejenerasyon bulguları da mevcuttur.

4.2.3. Sisplatin ve Likopen Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Görüntü Bulguları

Likopen verilen grupta sisplatine bağlı böbrek hasarının şiddetinde belirgin azalma izlendi. Glomerüllerde genişleme/konjesyon bulguları daha sınırlı olup yapısal bozulma minimal düzeyde kaldı. Tübüler yapılarda atrofi ve lümen tıkanıklıkları sisplatin grubuna kıyasla daha hafif ve daha sınırlı alanlarda izlendi. Kistik değişiklikler nadir/fokal düzeyde görülmüş veya belirgin değildi. İki olguda tübüler lümende hiyalin silindirleri belirlendi. (Şekil 4.19). İnterstisyel infiltrasyon incelenen 6 olgunun hiçbirinde mevcut değildi ve glomeruluslarda kayda değer bir bulguya rastlanmadı (Şekil 4.20).



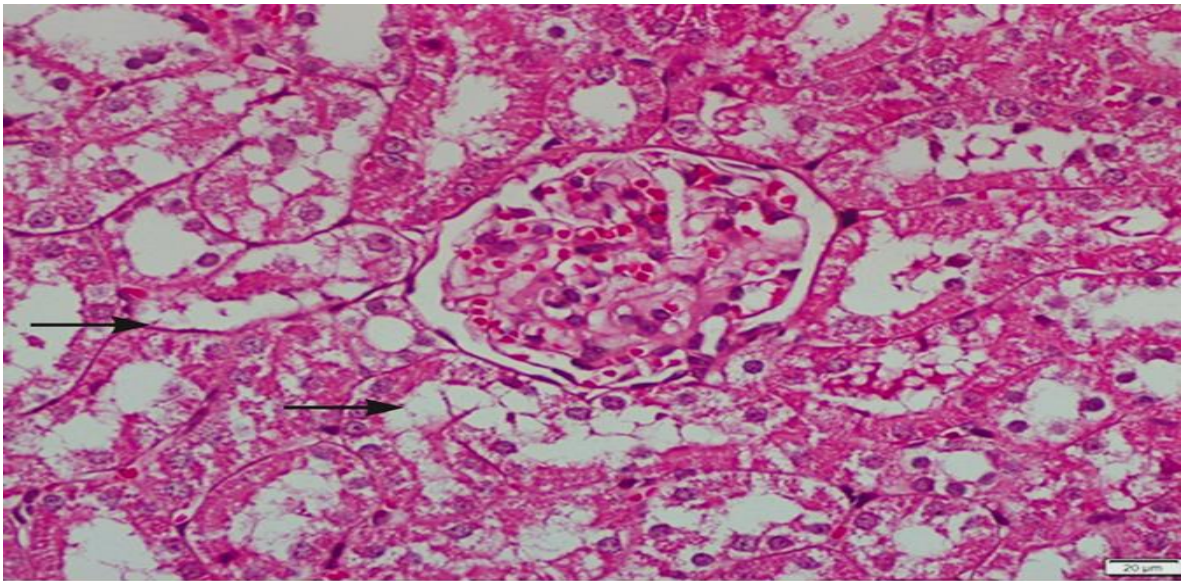
Şekil 4.19. Tübüler lümende hiyalin silindirleri (oklar), H-E, x40.



Şekil 4.20. Sisplatin + karpuz suyu grubunda normal görünümde glomeruluslar, H-E, x40.

4.2.4. Sisplatin ve Karpuz Suyu Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Görüntü Bulguları

Karpuz suyu verilen grupta da sisplatine bağlı lezyonların şiddetinde azalma tespit edildi. Glomerüllerdeki değişiklikler genellikle hafif düzeyde kaldı, belirgin yapısal bozulmanın sınırlı olduğu gözlemlendi. Tübüler epitelde hidropik dejenerasyon (Şekil 4.21), atrofi ve lümen tıkanıklıkları sisplatin grubuna göre daha düşük şiddette gözlemlendi, kistik değişiklikler çoğunlukla minimal düzeyde izlendi. İnterstisyel ödem ve hücrel infiltrasyon azalarak tübüler epiteldeki nekroz/apoptoz bulguları belirgin şekilde hafifledi.



Şekil 4.21. Tübül epitellerinde hidropik dejenerasyon (ok), H-E, x40.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sisplatin uygulamasına bağlı gelişen böbrek hasarı üzerinde, likopen ve likopen içeriği aynı olacak şekilde hazırlanan karpuz suyunun etkileri karşılaştırılmıştır. Karpuz suyundaki likopen miktarının HPLC ile belirlenerek saf likopen ile eşdeğer dozda uygulanması, elde edilen bulguların sadece doz kaynaklı değil, uygulanan formun içeriğine bağlı olarak yorumlanmasına imkan sağlamaktadır.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; sisplatin uygulanan gruba kıyasla likopen verilen grupta serum BUN seviyesinin belirgin düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, saf likopenin sisplatin kaynaklı böbrek fonksiyon bozukluğu üzerinde beklenen renoprotektif etkiyi bu parametre açısından ortaya koyamadığını düşündürmektedir. Siplatin nefrotoksitesi, oksidatif stres artışı, inflamatuvar cevap ve tübüler hasar ile ilişkilendirilmekte olup, bu süreçler GFH azalması ve azotlu metabolitlerin kanda birikimi ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle BUN düzeylerindeki artış, böbrek fonksiyon bozukluğunun önemli bir biyokimyasal göstergesi olarak kabul edilmektedir (3).

Literatürde likopenin sisplatin kaynaklı böbrek hasarı üzerindeki etkileri incelendiğinde, çoğu çalışmanın likopenin lipid peroksidasyonunu azalttığını ve antioksidan savunma sistemlerini desteklediğini bildirdiği görülmektedir. Ateşşahin ve ark. sisplatin nefrotoksitesi modelinde likopen uygulamasının BUN düzeyinde her zaman belirgin bir iyileşme sağlayamadığını (40), Mahmoodnia ve ark. likopen takviyesinin oksidatif stres belirteçleri üzerinde olumlu etkiler oluşturmaya rağmen, BUN ve Cr gibi klasik parametrelerde sınırlı ve değişken sonuçlar elde edildiğini bildirmektedirler. Bu durum, likopenin antioksidan etkilerinin fonksiyonel biyokimyasal parametrelere doğrudan ve kısa sürede yansımaya bileceği ihtimalini düşündürmektedir (92). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızda likopen grubunda BUN düzeylerinin yüksek seyretmesi literatürle uyumlu olup, sisplatin nefrotoksitesinin yalnızca oksidatif stres mekanizmaları üzerinden değil, aynı zamanda hemodinamik ve tübüler fonksiyonları üzerinden de şekillendiğini göstermektedir. Dolayısıyla saf likopen uygulamasının, böbrek fonksiyon testleri açısından tek başına yeterli bir koruma sağlamayabileceği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda Cr düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında belirgin düzeyde artmış olması, sisplatin uygulamasının böbrek fonksiyonları üzerinde

belirgin bir bozulmaya yol açtığını göstermektedir. Cr, GFH değişimlerini yansıtan temel parametrelerden biri olup, sisplatin ile oluşturulan deneysel nefrotoksisite modellerinde sıklıkla artış gösterdiği bildirilen parametrelerdendir. Pabla ve ark. sisplatinin renal tübüler hücrelerde hasara neden olarak Cr düzeylerinde yükselmeye yol açtığını belirtmiştir (3). Likopen uygulamasının Cr düzeyleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, literatürde farklı sonuçların bildirildiği görülmektedir. Ateşşahin ve ark. likopenin oksidatif stres parametrelerini belirgin şekilde iyileştirdiğini ancak Cr düzeylerinde tam bir normalizasyon sağlayamadığını rapor etmiştir (40). Benzer şekilde, Peres ve ark. Cr'in böbrek hasarına cevabın daha geç sürede ortaya çıktığını ve erken dönemde uygulanan antioksidan tedavilere her zaman duyarlı olmayabileceğini vurgulamıştır (8). Bu bağlamda çalışmamızda likopen ve karpuz suyu uygulanan gruplarda Cr düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek seyretmesi, söz konusu uygulamaların GFH göstergeleri üzerinde kısa sürede belirgin bir koruyucu etki oluşturmadığını düşündürmektedir. Elde edilen bulgular, sisplatin nefrotoksisitesinde Cr artışının yalnızca oksidatif stresle sınırlı olmayıp, hemodinamik değişiklikler, tübüler hasar ve inflamatuvar süreçler gibi çok faktörlü patofizyolojik mekanizmaların birlikte etkisiyle ortaya çıkabileceğini desteklemektedir.

Serum Na değerleri incelendiğinde, kontrol ve sisplatin gruplarına kıyasla likopen grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir. Sisplatin uygulamasının renal tübüler hücrelerde hasara yol açarak Na geri emilim mekanizmalarını bozduğu, bu nedenle serum Na düzeylerinde düzensizliklere neden olabileceğini düşündürmektedir. Pabla ve ark. sisplatinin Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini baskılayarak tübüler iyon taşınmasını olumsuz etkilediğini belirtmiştir (3). Sisplatinin özellikle proksimal tübüler hücrelerde Na geri emilimini bozarak serum Na düzeylerinde artışa neden olabildiği, Minzi ve ark. sisplatin ilişkili nefrotoksisite çalışmasında da vurgulanmıştır (93). Çalışmamızda likopen grubunda gözlenen Na artışı, literatürde bildirilen sisplatin kaynaklı tübüler disfonksiyon bulgularıyla uyum göstermektedir. Buna karşılık karpuz suyu uygulanan grupta Na düzeylerinin hem sisplatin hem de likopen grubuna göre daha düşük seyretmesi, bu uygulanan tübüler iyon taşınımı üzerinde daha düzenleyici bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir. Tolouian ve ark. çok bileşenli doğal ürünlerin tek başına uygulanan antioksidanlara kıyasla hücre membranı stabilitesi ve iyon kanalları üzerinde daha dengeli etkiler oluşturabileceğini bildirmiştir. Çalışmamızda karpuz suyu grubunda elde edilen bulgular bu görüşü desteklemektedir.

K parametresi incelendiğinde, likopen grubunda kontrol ve sisplatin gruplarına göre anlamlı bir artış gözlenmesi, K dengesinin yeterince sağlanamadığını göstermektedir. Sisplatin nefrotoksisitesinde distal tübüler hasarın ve hücrel membran bütünlüğündeki bozulmanın K regülasyonunu olumsuz etkileyebileceği, Pabla ve ark. deneysel çalışmalarında ayrıntılı olarak ortaya konmuştur (3). Bu bağlamda, çalışmamızda likopen grubunda K düzeylerinin yükselmiş olması, sisplatinin oluşturduğu tübüler hasarın antioksidan uygulamaya rağmen tam olarak düzelmediğini düşündürmektedir. Ayrıca, karpuz suyu grubunda K düzeylerinin likopen grubuna kıyasla daha düşük ve dengeli seyretmesi, bu uygulamanın homeostazını korumada daha etkili olabileceğine işaret etmektedir. Bu durum, karpuz suyunun içerdiği likopenin yanı sıra biyoaktif bileşenlerin birlikte etki göstererek tübüler fonksiyonları destekleyebileceği görüşüyle örtüşmektedir.

Cl düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, likopen grubunda sisplatin grubuna kıyasla gözlenen anlamlı artış, asit-baz dengesi ve tübüler reabsorpsiyon süreçlerinin tam olarak normale dönmediğini göstermektedir. Özkok ve ark. sisplatin nefrotoksisitesinde Cl taşınımının özellikle tübüler hasara duyarlı parametrelerden biri olduğunu ve antioksidan müdahalelere her zaman paralel cevap vermediğini bildirmiştir (4). Çalışmamızda likopen grubunda elde edilen Cl sonuçları, bu literatür bilgileriyle uyumlu bulunmuştur. Buna karşın karpuz suyu grubunda Cl düzeylerinin daha dengeli seyretmesi, bu uygulamanın tübüler fonksiyonlar üzerindeki düzenleyici etkisinin daha belirgin olabileceğini düşündürmektedir. Miller ve ark. sisplatin ilişkili elektrolit dengesizliklerini ele alan çalışmalarında da, tübüler düzeydeki iyileşmenin yalnızca oksidatif stresin azalmasıyla değil, hücrel fonksiyonların bütüncül olarak desteklenmesiyle sağlanabileceği vurgulanmıştır (94).

Serum Ca ve P düzeylerinde gruplarda anlamlı bir fark belirlenmedi. Bu sonuç, sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisite modelinde mineral dengesinin kısa süreli uygulamalarda serumda değişmeyebileceğini düşündürmektedir. Ca ve P gibi mineraller, böbrek fonksiyonlarının yanı sıra sistemik hormonal regülasyon mekanizmalarıyla da sıkı biçimde kontrol edilmektedir. Bu nedenle akut nefrotoksisite modellerinde serum Ca ve P değerlerinde belirgin farklılıkların ortaya çıkmaması biyolojik olarak tutarlı bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Literatürde, sisplatin tedavisi gören hastalarda serum elektrolitleri ve minerallerle ilgili yapılan çalışmalarda benzer karmaşık eğilimler bildirilmiştir. Arankumar ve ark. beş siklus sisplatin tedavisi sonrasında serum Ca ve P düzeylerinde azalmalar gözlenmiş olmakla birlikte, bu

değişimler her birey için tutarlı bir şekilde anlamlı fark yaratmamıştır (95). Bu tip bulgular, mineral iyonlarının sadece böbrek hasarına doğrudan cevap vermekle kalmayıp aynı zamanda paratiroid hormonu, vitamin D metabolizması ve hücrel transport mekanizmalarına bağlı olarak düzenlendiğini göstermektedir. Ayrıca günümüze kadar gelen çalışmalarda, serum elektrolit dengesizliklerinin sisplatin tedavisinde sık görülebileceğini ancak bu değişikliklerin mineral parametrelerinde belirgin farklılıklar oluşturmada da seyredebileceğini rapor etmiştir. Bu bulgular, serum Ca ve P düzeylerinin kısa vadeli nefrotoksisite modellerinde stabilize olabildiğini ve homeostatik mekanizmalar tarafından korunduğunu düşündürmektedir (96). Dolayısıyla, çalışmamızda serum Ca ve P düzeyleri arasında anlamlı bir farkın olmaması, sisplatin nefrotoksisitesinin mineral metabolizması üzerinde kısa dönemde belirgin bir etki oluşturmadığını ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda CAT aktivitesi değerlendirildiğinde, karpuz suyu verilen grubun kontrol grubuna göre anlamlı düşüş sergilediği tespit edilmiştir. Özellikle sisplatin uygulanan dokularda CAT aktivitesinin inhibe edildiği, bunun sonucunda oksidatif stres yükünün arttığı ve hücrel savunma kapasitesinin zayıfladığı bildirilmiştir (97). Bu bulgu, çalışmamızda karpuz suyu grubunda gözlenen CAT aktivitesi düşüşü ile temel mekanizmalar açısından örtüşmektedir. Buna ek olarak, doğal antioksidan içeriği zengin bileşiklerin sisplatin kaynaklı oksidatif stres parametrelerini iyileştirebildiği birçok çalışmada gösterilmiş olmasına rağmen, CAT aktivitesinin her durumda korunmasının garanti olmadığı da bildirilmiştir. Örneğin bazı bitkisel antioksidan uygulamalarında enzimatik antioksidan aktivitelerinde artış gözlenmesine karşın, CAT aktivitesinin belirli doz veya uygulama sürelerinde yetersiz cevap verdiği bildirilmektedir (98). Bu durum, antioksidan takviyenin yalnızca ROS üretimini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda enzimatik savunma sistemlerinin düzenlenmesinde de kompleks etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, karpuz suyu uygulanan grupta CAT aktivitesinde belirlenen azalma, sisplatin nefrotoksisitesine eşlik eden oksidatif stres yükünün ve enzimatik antioksidan sistemdeki denge kaybının bir yansıması olabilir. Mevcut literatür, CAT gibi kritik antioksidan enzimlerin düzenlenmesinin hem oksidatif hem de antioksidan metabolik ağlarla etkileşim içinde olduğunu göstermektedir; bu bağlamda çalışmamızın bulguları literatürle uyumludur (97, 98).

Çalışmamızda SOD enzim aktivitesi incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla sisplatin, likopen ve karpuz suyu uygulanan tüm gruplarda anlamlı bir düşüş olduğu belirlendi. Bu bulgu, sisplatin nefrotoksisitesinin oksidatif stres düzeyini yükselterek

antioksidan enzim savunma mekanizmalarının kapasitesini azaltabildiğini göstermektedir. SOD, süperoksit radikalini daha az zararlı türevler haline dönüştürerek hücreleri oksidatif hasardan koruyan birincil savunma mekanizmalarından biridir, bu enzimin aktivitesindeki azalma, hücre içi ROS birikimini ve buna bağlı doku hasarını artırabilir. Güncel çalışmalar, sisplatinle oluşturulan akut böbrek hasarı modellerinde SOD aktivitesindeki azalmanın ortak bir oksidatif stres göstergesi olduğunu rapor etmiştir. Rosinidin'in sisplatin nefrotoksitesine karşı koruyucu etkilerini araştıran bir çalışma, sisplatinin renal dokularda SOD aktivitesini baskıladığını ve bu durumun oksidatif stres seviyeleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (99). Bu çalışma, SOD aktivitesindeki düşüşün sisplatin uygulamasının önemli bir patofizyolojik etkisi olduğuna dair destek sağlamaktadır. Benzer şekilde, diosminin sisplatin kaynaklı böbrek hasarında antioksidan enzim aktivitelerini düzenlediği bir preklinik modelde, SOD dahil olmak üzere enzimatik antioksidan savunmanın sisplatin ile baskılandığı ve diosmin uygulamasıyla bu etkinin kısmen geri döndürülebildiği gösterilmiştir (100). Bu bulgu, antioksidan tedavilerin SOD aktivitelerini artırma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koyarken, aynı zamanda her antioksidan müdahalenin SOD'u tamamen koruyamadığını da göstermektedir. Ayrıca, sisplatin nefrotoksitesisi ile ilişkili oksidatif stres ve antioksidan cevap üzerine yapılan sistematik bir çalışmada da, SOD'un sisplatin tedavisi sonrasında belirgin şekilde düştüğü ve bu düşüşün ABH'nin önemli bir biyokimyasal göstergesi olduğu ifade edilmiştir (101). Bu veriler, çalışmamızda gözlenen SOD aktivitesi düşüşünün literatürde de sıkça doğrulandığını göstermektedir. Doğal ürünlerin ve fito-bileşiklerin etkilerini inceleyen yakın tarihli modellerde SOD gibi enzimatik antioksidan aktivitelerinin dahi bazen beklenen düzeltmeyi göstermediği, bunun ise doz, uygulama süresi ve moleküler hedef farklılıkları sebebiyle olabileceği belirtilmiştir (102). Bu bağlamda, karpuz suyu uygulanan grupta gözlenen SOD aktivitesi düşüşü, likopen veya diğer bioaktif bileşenlerin antioksidan etkilerinin tüm enzimatik savunma sistemlerini eşit şekilde artırmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki GSH seviyeleri kontrol grubuna kıyasla sisplatin, likopen ve karpuz suyu uygulanan tüm gruplarda anlamlı şekilde artmıştır. Karpuz suyu grubunda sisplatin ve likopen gruplarına göre GSH artışı daha belirgindir. Sisplatin nefrotoksitesinde GSH'nin korunması veya artması, hücrel savunmanın aktif olduğunu düşündürmektedir. Güncel literatürde de sisplatin uygulanan modellerde GSH metabolizmasının bozulduğu, GSH düzeylerinin çoğu durumda azaldığı ve bunun dokularda oksidatif hasarla doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. Liu ve ark.

çalışmasında, sisplatin tedavisinin renal hücrelerde GSH metabolizmasını bozduğu, bunun sonucunda aktif antioksidan/oksitlenmiş oksidan oranının azaldığı ve durumun hem apoptosis hem de ferroptik hücre ölümünü tetiklediği belirtilmiştir (103). Bu bulgular, sisplatin nefrotoksisitesinin GSH cevaplarını zorladığını ve metabolik yollarda belirgin değişimlere neden olduğunu ortaya koyar. Buna karşın literatürde, bazı antioksidan uygulamalarının GSH seviyelerini yükselttiği ve bu artışın renoprotektif etkiyle ilişkili olduğu da rapor edilmiştir. Rosinidin gibi flavonoid türevlerinin sisplatin kaynaklı böbrek hasarında GSH dahil olmak üzere antioksidan parametreleri iyileştirdiği ve bu etkilerin hücreyi oksidatif strese karşı koruduğu bildirilmiştir (99). Bu da GSH düzeylerindeki artışın sadece bir cevap değil aynı zamanda antioksidan sistemin modülasyonunun da bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca literatürde GSH takviyesinin sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkiler oluşturduğu, BUN ve Cr gibi fonksiyonel parametreleri iyileştirdiği ve genel dokusal hasarı azalttığı bildirilmiştir (104). Çalışmamızda karpuz suyu verilen grupta GSH düzeylerinin diğer tedavi gruplarına göre daha yüksek olması, karpuzun likopen ve sitrülün gibi doğal bileşenlerinin birlikte GSH havuzunun (redükte GSH +oksitlenmiş GSH) korunması veya artırılması üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, hücresel antioksidan cevabın tek bir molekül ya da yolakla sınırlı kalmayıp, birden fazla biyokimyasal mekanizmanın etkileşimiyle şekillendiğini göstermektedir.

Çalışmamızda böbrek dokusundaki MDA düzeyleri açısından bakıldığında, kontrol grubuna kıyasla karpuz suyu uygulanan grupta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca sisplatin grubuyla karşılaştırıldığında hem likopen hem de karpuz suyu gruplarında MDA düzeylerinde belirgin azalma olduğu; likopen grubuna göre karpuz suyu verilen grupta MDA düzeyinin daha da anlamlı şekilde düştüğü tespit edilmiştir. Literatürde sisplatin uygulanan deneysel nefrotoksisite araştırmalarında MDA düzeylerindeki artış yaygın şekilde rapor edilmiştir. Punicalagin'in sisplatin ile indüklenen böbrek hasarını araştırdığında, sisplatin tedavisinin doku MDA seviyelerini belirgin şekilde artırdığı ve bu artışın antioksidan savunma sisteminin bozulmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir; Punicalagin uygulamasının MDA'yı düşürdüğü ve oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (105). Bu çalışma, sisplatinle artmış lipid peroksidasyonunun antioksidan uygulamalarla tersine çevrilebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde rosmarinik asidin sisplatinle oluşturulan akut böbrek hasarında etkilerini değerlendiren modelde de, sisplatin uygulamasının MDA seviyelerini yükselttiği;

antioksidan tedavi ile bu yükselmenin belirgin şekilde baskılandığı gösterilmiştir (106). Bu bulgular, lipid peroksidasyonuna bağlı MDA artışının sisplatin nefrotoksitesinin önemli bir bileşeni olduğunu ve antioksidan destekle bu etkinin azaltılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bazı çalışmalar MDA artışının sisplatin ile birlikte oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur; bu çalışmalar, antioksidan uygulamaların ROS üretimini düşürerek MDA seviyelerini azaltılabileceğini ileri sürmüştür (107). Bu literatür çerçevesinde, çalışmamızda karpuz suyu ve likopen uygulaması ile MDA düzeylerinin anlamlı şekilde düşmesinin, oksidatif stres yükünün azaltılması ve lipid peroksidasyonunun engellenmesi yoluyla sağlandığı söylenebilir. Bu sonuçlar, karpuz suyu gibi kompleks doğal bileşiklerin antioksidan kapasitesinin sisplatin ile artan MDA düzeyini kontrol altına almada etkili olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda böbrek dokusundaki KIM-1 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla sisplatin ve likopen gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiş, karpuz suyu verilen grupta ise belirgin düşüş gözlenmiştir. Sisplatin nefrotoksitesine bağlı ABH modellerinde KIM-1 seviyelerinin yükseldiği ve bu artışın geleneksel parametrelerden önce ortaya çıktığı güncel klinik ve deneysel çalışmalarda raporlanmıştır (108, 109). Bu bağlamda, çalışmamızda karpuz suyu grubunda KIM-1 düzeyindeki anlamlı azalış, tübüler hücrelerin korunmasına yönelik bir antioksidan veya renoprotektif etkinin göstergesi olarak yorumlanabilir. Güncel klinik verilerde, sisplatin tedavisi gören kanser hastalarında KIM-1'in idrar veya serum düzeylerinde artışın ABH'nı erken ve gizli dönemde tespit etmede geleneksel parametrelere göre daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (109). Bu çalışmalar, KIM-1'in henüz Cr veya BUN düzeylerinde anlamlı değişim olmadan önce bile böbrek hasarını yansıtabileceğini göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda KIM-1 düzeylerindeki azalmanın, sisplatin kaynaklı böbrek hasarının sınırlandırılmasıyla ilişkili olabileceği ve bunun bilimsel açıdan anlamlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca KIM-1 yalnızca hasar göstergesi değil aynı zamanda doku iyileşme süreçlerine de işaret edebilen bir parametre olarak değerlendirilmiştir. Sisplatin modelinde KIM-1'in yönetimi ve tübüler hücre cevaplarının modülasyonu ile ilgili yaklaşımlar, bu molekülün böbrek onarım süreçlerinde potansiyel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (110). Dolayısıyla KIM-1 düzeylerindeki azalış, yalnızca hasarın azalması değil aynı zamanda doku onarım mekanizmalarının aktive olmasının bir yansıması olabilir. Sonuç olarak, çalışmamızda KIM-1 düzeylerinde kaydedilen anlamlı azalış, karpuz suyunun antioksidan ve renoprotektif etkileri ile

sisplatin nefrotoksisitesinde tübüler hasarın belirgin şekilde azaltılmasıyla uyumlu görülmektedir. Bu gözlem, KIM-1'in sadece böbrek fonksiyon bozukluklarını değil, tübüler bütünlüğün korunmasını da yansıtan duyarlı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini desteklemektedir (108-110).

Yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda sisleptatin uygulamasının böbrek dokusunda belirgin bir hasar paterni oluşturduğu ve lezyonların ağırlıklı olarak tübüler kompartmanda yoğunlaştığı gösterilmiştir. Kontrol grubunda renal doku düzeninin korunmuş olması, gözlenen değişikliklerin deneysel nefrotoksisiteye bağılı geliştiğini desteklemektedir. Sisleptatin grubunda glomerüler hasar, tübüler dejenerasyon, tübüler nekroz, lümen tıkanıklığı, hiyalin silindir oluşumu ve interstisyel yangı skorlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir. Güncel literatürde sisleptatin nefrotoksisitesinin temel olarak proksimal tübüler hücrelerde ilaç birikimi sonucu geliştiğı; DNA hasarı, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres artışı ve inflamatuvar cevabın aktivasyonu ile akut tübüler hasara yol açtığı bildirilmektedir (111, 112). Çalışmamızda özellikle korteks ve kortikomedüller bileşkede belirginleşen hidropik dejenerasyon, epitel dökülmesi ve nekroz odakları bu mekanizmalarla uyumludur.

Sisleptatin grubunda lümen içerisinde proteinöz debris ve hiyalin silindir oluşumu dikkat çekmiştir. Literatürde tübüler epitel kaybı sonrası intralüminal protein birikimi ve hücre kalıntılarının silindir formasyonu oluşturduğu ve bunun tübüler obstrüksiyona katkıda bulunduğı belirtilmektedir (111). Bu durum çalışmamızda lümen tıkanıklığı skorlarının yüksek bulunmasını açıklamaktadır.

Likopen uygulanan grupta tübüler dejenerasyon, nekroz ve interstisyel yangı skorlarının genel olarak daha düşük seyretmesi ve özellikle lümen tıkanıklığı parametresinde sisleptatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma belirlenmesi, likopenin koruyucu etkisini düşündürmektedir. Güncel çalışmalar likopenin güçlü bir lipofilik antioksidan olduğunu, hücre membranında lipid peroksidasyonunu azalttığını ve oksidatif hasarı sınırlayabildiğini bildirmektedir (113). Oksidatif stresin sisleptatin nefrotoksisitesinde merkezi rol oynadığı göz önüne alındığında likopenin özellikle tübüler epitel bütünlüğünü koruyarak luminal debris oluşumunu azaltmış olabileceğı düşünülmektedir (111, 112).

Karpuz suyu grubunda bazı histopatolojik göstergelerde iyileşme eğilimleri izlenmiş olsa da, çoklu karşılaştırmaların ardından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Bu durum, karpuz suyunda bulunan aktif bileşenlerin doğal matriks içindeki dağılımının ve hedef dokuda ulaşabildiğı etkin konsantrasyonun

saf likopene kıyasla değişken olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, literatürde doğal antioksidanların farmakokinetik davranışlarının saf, standartlaştırılmış bileşiklerle karşılaştırıldığında farklılık gösterebileceği belirtilmektedir (112).

Glomerüler hasar skorlarının sisplatin uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla yüksek seyretmesi, sisplatinin esas olarak tübüler yapıları hedeflediğini, glomerüler değişikliklerin ise daha sınırlı ve ikincil mekanizmalar sonucu ortaya çıktığını gösteren güncel literatürle uyumludur (111). Ayrıca glomerüler komponentteki yapısal değişikliklerin geri dönüşünün daha uzun süre gerektirebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak, histopatolojik bulgular sisplatin kaynaklı nefrotoksisitenin ağırlıklı olarak tübüler yapıları etkilediğini doğrulamaktadır. Likopen uygulaması, özellikle tübüler lümen tıkanıklığının azaltılmasında belirgin bir koruyucu etki gösterirken, karpuz suyu sınırlı bir iyileşme eğilimi ortaya koymuştur. Bu bulgular, sisplatinin neden olduğu oksidatif stress ve inflamasyonun böbrek hasarındaki temel rolünü desteklemekte ve likopenin bu patolojide potansiyel bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, sisplatin ile nefrotoksisite oluşturulan hayvan deneyi modelinde saf likopen ve eşdeğer miktarda likopen içeren karpuz suyu uygulamalarının böbrek fonksiyonları, elektrolit dengesi, oksidatif stres parametreleri ve böbrek hasar belirteçleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular, özellikle karpuz suyu uygulamasının böbreklerdeki oksidatif stres belirteçlerini düzenleyerek hücrel antioksidan savunmayı güçlendirdiğini ortaya koymaktadır. Bu kapsamda SOD ve CAT aktivitelerinde gözlenen değişimler, redükte GSH seviyelerinin korunması ve MDA düzeylerinde sağlanan düşüş doğal antioksidanların lipid peroksidasyonunu sınırlayarak hücrel savunma mekanizmalarını desteklediğini göstermektedir (40, 107, 114).

Çalışmamızdaki elektrolit sonuçları, karpuz suyu uygulamasının Na, K ve Cl düzeylerini likopen ve sisplatin gruplarına kıyasla daha dengeli bir şekilde sürdürdüğünü ortaya koymuştur. Bu bulgular, literatürde doğal antioksidan uygulamalarının elektrolit dengesini desteklediğini ve böbrek tübüler fonksiyonlarını koruyabileceğini belirten güncel çalışmaları destekler niteliktedir (107, 115). Buna karşın, kandaki Ca ve P düzeylerinde belirgin bir değişiklik gözlenmemiş olup bu durum, antioksidan uygulamalarının mineral homeostazı üzerindeki etkisinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir (107, 116).

BUN ve Cr değerleri incelendiğinde, likopen ve karpuz suyu uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre yüksek seviyeler korunmuş, buna karşın karpuz suyu grubunda elektrolit dengesi açısından daha stabil bir görünüm gözlemlenmiştir. Bu durum, literatürde bildirilen, antioksidan uygulamalarının oksidatif stres göstergelerini iyileştirebilmesine rağmen klasik böbrek fonksiyon testlerinde erken dönemde her zaman anlamlı düzelme sağlamadığı bulgularıyla uyumludur (40, 92).

Böbrek hasar belirteci KIM-1 seviyeleri, karpuz suyu uygulanan grupta diğer gruplara göre daha düşük bulunmuş ve renoprotektif potansiyelini ortaya koymuştur. Bu bulgu, karpuz suyunun yalnızca likopen içeriğine değil, aynı zamanda içerdiği farklı biyoaktif ve antioksidan bileşenlerin birlikte etkisine bağlı olarak daha kapsamlı bir koruyuculuk sağlayabileceğini düşündürmektedir (114, 115).

Tüm bu verilerden yola çıkarak; 7 mg/kg/gün sisplatin uygulamasının böbrek fonksiyonlarında bozulma ve oksidatif stres artışı ile karakterize belirgin nefrotoksisite oluşturduğu; 4 mg/kg/gün likopen uygulamasının bazı biyokimyasal ve oksidatif stres

parametrelerinde düzenleyici etki gösterdiği, ancak bu etkinin tüm parametreler için yeterli düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Buna karşılık, karpuz suyu verilen grupta hem böbrek fonksiyon parametrelerinde hem de antioksidan savunma ve lipid peroksidasyon göstergelerinde belirgin olumlu etkiler gözlemlenmiştir.

SOD ve CAT aktivitelerindeki değişimler, redükte GSH düzeylerinde gözlenen artış ve MDA düzeylerindeki azalma, karpuz suyunun lipid peroksidasyonunu azalttığını ve hücrel savunmayı desteklediğini ortaya koymaktadır. KIM-1 düzeylerindeki düşüş ve elektrolit dengesinin korunması, karpuz suyunun renoprotektif potansiyelini desteklemektedir. Elde edilen veriler, güncel literatürde bildirilen doğal antioksidanların sisplatin kaynaklı oksidatif hasarı sınırladığı ve bazı böbrek fonksiyon parametrelerini olumlu yönde etkileyebildiği bulgularıyla uyumludur (40, 92, 107, 114-116).

Bu çalışmada elde edilen histopatolojik veriler, sisplatinin böbrek dokusunda özellikle proksimal tübüler yapılarda belirgin dejenerasyon, nekroz, lümen tıkanıklığı ve interstisyel inflamasyon oluşturarak akut nefrotoksisiteye yol açtığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, sisplatinin tübüler hücrelerde birikerek oksidatif stres artışı, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamatuvar cevap aktivasyonu üzerinden hasar oluşturduğunu bildiren güncel literatürle uyumludur (111, 112). Likopen uygulanan grupta özellikle tübüler lümen tıkanıklığında istatistiksel olarak anlamlı azalma belirlenmesi likopenin güçlü antioksidan özellikleri sayesinde lipid peroksidasyonunu azaltarak tübüler epitel bütünlüğünü koruyabileceğini düşündürmektedir (113). Karpuz suyu uygulamasında ise histopatolojik parametrelerde iyileşme eğilimi gözlenmekle birlikte, bu etkinin istatistiksel olarak sınırlı kalması doğal matriks içindeki aktif bileşenlerin biyoyararlanım ve doz standardizasyonu farklılıklarıyla ilişkili olabilir.

Sonuç olarak; Sisplatin nefrotoksisitesinde hasarın ağırlıklı olarak tübüler düzeyde geliştiğini doğrulamaktadır. Bu bağlamda, karpuz suyu ve likopen gibi doğal antioksidanların sisplatin tedavisine eşlik eden nefrotoksisiteyi önleme veya azaltmada potansiyel bir destekleyici olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Gelecek çalışmalarda, karpuz suyunun içerdiği farklı biyoaktif bileşenlerin araştırılması ve klinik çalışmalara temel oluşturabilmesi amacıyla, farklı hayvan modellerinde uzun süreli değerlendirilmesi de önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740:364-78.
2. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(8):573-84.
3. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int.* 2008;73(9):994-07.
4. Ozkok A, Edelstein CL. Pathophysiology of cisplatin-induced acute kidney injury. *Biomed Res Int.* 2014;2014:967826.
5. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci.* 2007;334(2):115-24.
6. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002;62(1):237-44.
7. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C ve ark. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005;365(9466):1231-38.
8. Peres LAB, Cunha Júnior AD. Acute nephrotoxicity of cisplatin: molecular mechanisms. *Braz J Nephrol.* 2013;35(4):332-40.
9. Rao A, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res.* 1999;19(2):305-23.
10. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys.* 1996;336(1):1-9.
11. Yılmaz İ. Karotenoidler. *J Turgut Ozal Med Cent.* 2010;17(3):223-31.
12. Kim CH, Park MK, Kim SK, Cho YH. Antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of lycopene in watermelon. *Int J Food Sci Technol.* 2014;49(9):2083-91.
13. Mattiuzzi C, Lippi G. Current cancer epidemiology. *J Epidemiol Glob Health.* 2019;9(4):217-22.
14. Murthy N, Mathew A. Cancer epidemiology, prevention and control. *Curr Sci.* 2004;86(4):518-27.

15. Baykara O. Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi. 2016;5(3):154-65.
16. Chu E, Sartorelli AC. Kanser kemoterapisi. İçinde: Katzung BG (editör). Temel ve klinik farmakoloji, 12. baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2014:949-975.
17. Utlu Z. Kemoterapötik kullanımına bağlı kutanöz yan etkilerin değerlendirilmesi [Doktora tezi]. Malatya: Atatürk Üniversitesi; 2017.
18. Oral SÖ, Dere E. Parmak izi kaybına neden olan kanser ilaçlarına genel bakış. Doğu Karadeniz Sağlık Bilimleri Dergisi. 2023;2(3):127-40.
19. Üstüner O, Güneş Y. Kemoterapötik ajanların kardiyotoksitesisi. Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences Internal Medicine Special Topics. 2021;7(3):102-9.
20. Reyes-Habito CM, Roh EK. Cutaneous reactions to chemotherapeutic drugs and targeted therapy for cancer: part II. J Am Acad Dermatol. 2014;71(2):217.e1-11.
21. Topçuoğlu P. Gastrointestinal sistem toksisitesi. İçinde: Hematolojide destek tedavileri ve infeksiyonlar kursu kitabı. Ankara: Türk Hematoloji Derneği; 2007. s.16-18.
22. Friedlaender A, Vuilleumier A, Viassolo V, Ayme A, De Talhouet S, Combes JD ve ark. BRCA1/BRCA2 germline mutations and chemotherapy-related hematological toxicity in breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat. 2019;174(3):775-83.
23. Koral L. Metastatik küçük hücre dışı akciğer kanserinde oral vinorelbinin üçüncü seri tedavide etkinlik ve toksisite değerlendirmesi: tek merkez deneyimi. Namık Kemal Tıp Dergisi. 2020;8(3):429-35.
24. Tao G, Huang J, Moorthy B, Wang C, Hu M, Gao S ve ark. Potential role of drug metabolizing enzymes in chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity and hepatotoxicity. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2020;16(11):1109-24.
25. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 2011;31(2):137-50.
26. Perez JD, Colucci JA, Sakata MM, Cunha TS, Arita DY, Casarini DE. Proteomic approaches in understanding a detected relationship between chemotherapy-induced nephrotoxicity and cell respiration in HK-2 cells. Nephron Physiol. 2011;119(1):1-10.
27. Morris EC, Neelapu SS, Giavridis T, Sadelain M. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. Nat Rev Immunol. 2022;22(2):85-96.

28. Liu H, Zou J, Li X, Ge Y, He W. Drug delivery for platinum therapeutics. *J Control Release*. 2025;380:503-23.
29. Birinci H, Halıcıoğlu BŞ, Öztatlıcı M, Yüncü M. Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisite ve ultrastrüktürel hasar üzerine kurkuminin koruyucu etkisi. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2021;8(4):598-605.
30. Sleijfer DT, Meijer S, Mulder NH. Cisplatin: a review of clinical applications and renal toxicity. *Pharm Weekbl Sci*. 1985;7(6):237-44.
31. Rose PG, Java JJ, Salani R, Geller MA, Secord AA, Tewari KS ve ark. Nomogram for predicting individual survival after recurrence of advanced-stage high-grade ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol*. 2019;133(2):245-54.
32. Byrski T, Dent R, Blecharz P, Foszczynska-Kloda M, Gronwald J, Huzarski T ve ark. Results of a phase II open-label non-randomized trial of cisplatin chemotherapy in patients with BRCA1-positive metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2012;14(4):R110.
33. Zhang M, Huang H, Li X, Huang Y, Chen C, Fang X ve ark. Long-term survival of patients with chemotherapy-naïve metastatic nasopharyngeal carcinoma receiving cetuximab plus docetaxel and cisplatin regimen. *Front Oncol*. 2020;10:1011.
34. McSweeney KR, Gadanec LK, Qaradakhi T, Ali BA, Zulli A, Apostolopoulos V. Mechanisms of cisplatin-induced acute kidney injury: pathological mechanisms, pharmacological interventions, and genetic mitigations. *Cancers (Basel)*. 2021;13(7):1572.
35. Eren E, Ata A, Arıcan A. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ve nefrotoksisite. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2012;26(3):229-35.
36. Džidić-Krivić A, Sher EK, Kusturica J, Farhat EK, Nawaz A, Sher F. Unveiling drug induced nephrotoxicity using novel biomarkers and cutting-edge preventive strategies. *Chem Biol Interact*. 2024;388:110838.
37. Dasari S, Njiki S, Mbemi A, Yedjou CG, Tchounwou PB. Pharmacological effects of cisplatin combination with natural products in cancer chemotherapy. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1-22.
38. Güder A, Korkmaz H. Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallr. and their mixture. *Iran J Pharm Res*. 2012;11(3):913-23.

39. Zaaba NE, Beegam S, Elzaki O, Yasin J, Nemmar BM, Ali BH ve ark. The nephroprotective effects of α -bisabolol in cisplatin-induced acute kidney injury in mice. *Biomedicines*. 2022;10(4):842.
40. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology*. 2005;212(2-3):116-23.
41. Yan LJ. Folic acid-induced animal model of kidney disease. *Anim Model Exp Med*. 2021;4(4):329-42.
42. Goossens JF, Thuru X, Bailly C. Properties and reactivity of the folic acid and folate photoproduct 6-formylpterin. *Free Radic Biol Med*. 2021;171:1-10.
43. Lee MC, Cheng KJ, Chen SM, Li YC, Imai K, Lee CM ve ark. A novel preventive mechanism of gentamicin-induced nephrotoxicity by atorvastatin. *Biomed Chromatogr*. 2019;33(11):e4639.
44. Erseckin V, Mert H, İrak K, Yildirim S, Mert N. Nephroprotective effect of ferulic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in female rats. *Drug Chem Toxicol*. 2022;45(2):663-69.
45. Kotb ES, Serag WM, Elshaarawy RF, Hafez HS, Elkhayat Z. The protective role of gallic acid in cisplatin nephrotoxicity. *Front Sci Res Technol*. 2021;2(1):48-52.
46. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A ve ark. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-49.
47. Korczowska-Łącka I, Słowikowski B, Piekut T, Hurla M, Banaszek N, Szymanowicz O ve ark. Disorders of endogenous and exogenous antioxidants in neurological diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(10):1945.
48. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(1):11-26.
49. Hambardikar V, Guitart-Mampel M, Scoma ER, Urquiza P, Nagana GG, Raftery D ve ark. Enzymatic depletion of mitochondrial inorganic polyphosphate increases the generation of reactive oxygen species and the activity of the pentose phosphate pathway in mammalian cells. *Antioxidants*. 2022;11(4):685.
50. Yılmaz İ. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *J Turgut Ozal Med Cent*. 2010;17(2):143-54.

51. Kılıç H, Gül MŞ. Antioksidanlar. Vet J Mehmet Akif Ersoy Univ. 2016;1(1):65-76.
52. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D ve ark. Oxidative stress, aging, and diseases. Clin Interv Aging. 2018;13:757-72.
53. Bülbül SF, Bulat G, Gülbahçe A, Deprem G. Bazı besinlerin antioksidan özellikleri. Çocuk Sağlığı Hastalık Derg. 2021;64(1-2):25-32.
54. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. FASEB J. 1995;9(15):1551-58.
55. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington (DC): ILSI Press; 2001.
56. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. J Nutr. 1992;122(11):2161-66.
57. Shi J, Maguer ML. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. Crit Rev Food Sci Nutr. 2000;40(1):1-42.
58. Garrido M, González-Flores D, Marchena AM, Prior E, García-Parra J, Barriga C ve ark. A lycopene-enriched virgin olive oil enhances antioxidant status in humans. J Sci Food Agric. 2013;93(8):1820-26.
59. Eze ED, Afodun AM, Sulaiman SO, Ponsiano N, Ezekiel I, Adams MD ve ark. Lycopene attenuates diabetes-induced oxidative stress in Wistar rats. J Diabetes Endocrinol. 2018;9(2):11-19.
60. Kawata A, Murakami Y, Suzuki S, Fujisawa S. Anti-inflammatory activity of β -carotene, lycopene and tri-n-butylborane, a scavenger of reactive oxygen species. In Vivo. 2018;32(2):255-64.
61. Hazewindus M, Haenen GR, Weseler AR, Bast A. The anti-inflammatory effect of lycopene complements the antioxidant action of ascorbic acid and α -tocopherol. Food Chem. 2012;132(2):954-58.
62. Daniel E, Mohammed A, Tanko Y, Ahmed A. Effects of lycopene on kidney antioxidant enzyme activities and functions in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. Cell Biol. 2015;3(1):1-13.
63. Patil AA, Doijad R, Koparde A. Renoprotective effect of lycopene on renal functional and histopathological changes in gentamycin-induced nephrotoxicity in rats. Res J Pharm Technol. 2020;13(7):3237-40.

64. Shalaby AM, El Shaer DF. Lycopene protects against renal cortical damage induced by nandrolone decanoate in adult male rats. *Ann Anat.* 2019;224:142-52.
65. Adetutu A, Olorunnisola OS, Owoade OA. Nutritive values and antioxidant activity of *Citrullus lanatus* fruit extract. *Food Nutr Sci.* 2015;6(11):1056-64.
66. Venkataravana LN, Uppin J, Ramanjineyulu NC, Krishna PG, Narayana JL. Discovering bioactive phytoconstituents from *Citrullus lanatus* for antimicrobial and antioxidants therapeutic applications. *Eur J Med Chem Rep.* 2024;12:100229.
67. Naz A, Butt MS, Sultan MT, Qayyum MMN, Niaz RS. Watermelon lycopene and allied health claims. *EXCLI J.* 2014;13:650-60.
68. Sirikhet J, Chanmahasathien W, Raiwa A, Kiattisin K. Stability enhancement of lycopene in *Citrullus lanatus* extract via nanostructured lipid carriers. *Food Sci Nutr.* 2021;9(3):1750-60.
69. Maoto MM, Beswa D, Jideani AI. Optimization of thermosonication conditions for critical quality parameters of watermelon juice using response surface methodology. *Sci Rep.* 2024;14(1):13803.
70. Galdeano MC, dos Santos Gomes F, Chávez DWH, Almeida EL, Moulin LC, Tonon RV. Lycopene-rich watermelon concentrate used as a natural food colorant: stability during processing and storage. *Food Res Int.* 2022;160:111691.
71. Oberoi DPS, Sogi DS. Prediction of lycopene degradation during dehydration of watermelon pomace (cv. Sugar Baby). *J Saudi Soc Agric Sci.* 2017;16(1):97-103.
72. Siddiqui WA, Shahzad M, Shabbir A, Ahmad A. Evaluation of anti-urolithiatic and diuretic activities of watermelon (*Citrullus lanatus*) using in vivo and in vitro experiments. *Biomed Pharmacother.* 2018;97:1212-21.
73. Michael OS, Bamidele O, Ogheneovo P, Ariyo TA, Adedayo LD, Oluranti OI et al. Watermelon rind ethanol extract exhibits hepato-renal protection against lead-induced impaired antioxidant defenses in male Wistar rats. *Curr Res Physiol.* 2021;4:252-59.
74. Rahman H, Manjula K, Anoosha T, Nagaveni K, Eswaraiah MC, Bardalai D. In vitro antioxidant activity of *Citrullus lanatus* seed extracts. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013;6(3):152-57.
75. Kolawole T, Adienbo O, Dapper V. Ameliorative effects of hydromethanolic extract of *Citrullus lanatus* rind on semen parameters, reproductive hormones and testicular oxidative status following nicotine administration in male Wistar rats. *Niger J Physiol Sci.* 2019;34(1):83-90.

76. Flora S, Gautam P, Dwivedi N. Dose-dependent effects of ethanol on lead-induced oxidative stress in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2012;31(1):61-73.
77. Roldán-Gutiérrez JM, de Castro MDL. Lycopene: the need for better methods for characterization and determination. *Trends Anal Chem*. 2007;26(2):163-70.
78. Festing MF, Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J*. 2002;43(4):244-58.
79. Beery AK, Zucker I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011;35(3):565-72.
80. Gad SC. *Animal models in toxicology*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2006.
81. Turner PV, Pekow C, Vasbinder MA, Brabb T. Administration of substances to laboratory animals: equipment considerations, vehicle selection, and solute preparation. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011;50(5):614-27.
82. Morton DB. Experimental procedures: general principles and recommendations. In: *The welfare of laboratory animals*. Dordrecht, Springer Netherlands; 2007. p.81-115.
83. Cubells MP, Aixela JP, Brumos VG, Pou SD, Flaqué MV. Stability of cisplatin in sodium chloride 0.9% intravenous solution related to the container's material. *Pharm World Sci*. 1993;15(Suppl 1):34-6.
84. Guo Y, Mao X, Zhang J, Sun P, Wang H, Zhang Y et al. Oral delivery of lycopene-loaded microemulsion for brain-targeting: preparation, characterization, pharmacokinetic evaluation and tissue distribution. *Drug Deliv*. 2019;26(1):1191-1205.
85. Fish WW, Perkins-Veazie P, Collins JK. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *J Food Compos Anal*. 2002;15(3):309-17.
86. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1-2):248-54.
87. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86(1):271-78.
88. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*. 1968;25:192-205.

89. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988;34(3):497-500.
90. Aebi H. Catalase in vivo. *Methods in Enzymol Oxygen Radicals in Biological Systems. Cilt 105.* Akademik Yayınevi, 1984:121-6.
91. Gautier JC, Riefke B, Walter J, Kurth P, Mylecraïne L, Guilpin V ve ark. Evaluation of novel biomarkers of nephrotoxicity in two strains of rat treated with cisplatin. *Toxicol Pathol.* 2010;38(6):943-56.
92. Mahmoodnia L, Mohammadi K, Masumi R. Ameliorative effect of lycopene effect on cisplatin-induced nephropathy in patient. *J Nephropathol.* 2017;6(3):144.
93. Minzi OM, Lyimo TE, Furia FF, Marealle AI, Kilonzi M, Bwire GM ve ark. Electrolytes supplementation can decrease the risk of nephrotoxicity in patients with solid tumors undergoing chemotherapy with cisplatin. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2020;21(1):69.
94. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins.* 2010;2(11):2490-518.
95. Arunkumar PA, Viswanatha GL, Radheshyam N, Mukund H, Belliyappa MS. Science behind cisplatin-induced nephrotoxicity in humans: a clinical study. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(8):640-4.
96. Alrfaei BM, Almutairi AO, Aljohani AA, Alammar H, Asiri A, Bokhari Y ve ark. Electrolytes play a role in detecting cisplatin-induced kidney complications and may even prevent them: retrospective analysis. *Medicina.* 2023;59(5):890.
97. Kucuk EV, Bindayi A, Mese M, Gulcu Bulmus F, Parmaksiz E, Cetinel AC ve ark. A randomized study to assess the efficacy of herbal product to prevent cisplatin-induced nephrotoxicity in a rat model. *Arch Ital Urol Androl.* 2017;89(3):192-6.
98. Almaghrabi OA. Molecular and biochemical investigations on the effect of quercetin on oxidative stress induced by cisplatin in rat kidney. *Saudi J Biol Sci.* 2015;22(2):227-31.
99. Gilani SJ, Bin-Jumah MN, Al-Abbasi FA, Nadeem MS, Alzarea SI, Ahmed MM ve ark. Rosinidin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity via subsiding proinflammatory and oxidative stress biomarkers in rats. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(15):9719.
100. Anwer T, Alshahrani S, Somaili AM, Khubrani AH, Ahmed RA, Jali AM ve ark. Nephroprotective effect of diosmin against cisplatin-induced kidney damage by

- modulating IL-1 β , IL-6, TNF α and renal oxidative damage. *Molecules*. 2023;28(3):1302.
101. Han Z, Deng T, Yan D, Jia Y, Tang J, Wang X. Hydrogen sulfide protects against cisplatin-induced experimental nephrotoxicity in animal models: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ*. 2025;13:e19481.
 102. Al Suleimani YM, Nomeir Y, Al Maskari R, Ali H, Manoj P, Abdelrahman AM. Riociguat alleviates cisplatin-caused kidney injury by suppressing oxidative stress and inflammation. *Biology* . 2025;14(10):1346.
 103. Dong XQ, Chu LK, Cao X, Xiong QW, Mao YM, Chen CH ve ark. Glutathione metabolism rewiring protects renal tubule cells against cisplatin-induced apoptosis and ferroptosis. *Redox Rep*. 2023;28(1):2152607.
 104. Xu YY, Jiang N, Liu TS, Qu HQ, Wang T. Evaluation of the effect of glutathione on cisplatin antitumor activity and kidney injury at different administration times. *Mol Med Rep*. 2012;6(5):1075-80.
 105. Aladaileh SH, Al-Swailmi FK, Abukhalil MH, Ahmeda AF, Mahmoud AM. Punicalagin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rats. *Life Sci*. 2021;286:120071.
 106. Xiang Y, Ji M, Wu L, Lv L, Liang Q, Deng R ve ark. Rosmarinic acid prevents cisplatin-induced liver and kidney injury by inhibiting inflammatory responses and enhancing total antioxidant capacity, thereby activating the Nrf2 signaling pathway. *Molecules*. 2022;27(22):7815.
 107. Zhou J, Nie RC, Yin YX, Cai XX, Xie D, Cai MY. Protective effect of natural antioxidants on reducing cisplatin-induced nephrotoxicity. *Dis Markers*. 2022;2022:1612348.
 108. Szumilas D, Owczarek AJ, Brzozowska A, Niemir ZI, Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J. The value of urinary NGAL, KIM-1, and IL-18 measurements in the early detection of kidney injury in oncologic patients treated with cisplatin-based chemotherapy. *Int J Mol Sci*. 2024;25(2):1074.
 109. McMahon KR, Chui H, Rassekh SR, Schultz KR, Blydt-Hansen TD, Mammen C ve ark. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 to detect pediatric cisplatin-associated acute kidney injury. *Kidney360*. 2022;3(1):37-50.

110. Holditch SJ, Brown CN, Lombardi AM, Nguyen KN, Edelstein CL. Recent advances in models, mechanisms, biomarkers and interventions in cisplatin-induced acute kidney injury. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):3011.
111. Tang C, Livingston MJ, Safirstein R, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: new insights and therapeutic implications. *Nat Rev Nephrol.* 2023;19(1):53-72.
112. Motwani SS, Sandhu SK, Kitchlu A. Cisplatin nephrotoxicity: novel insights into mechanisms and preventative strategies. *Semin Nephrol.* 2022;42(6):151341.
113. Mapuskar KA, Pulliam CF, Zepeda-Orozco D, Griffin BR, Furqan M, Spitz DR, et al. Redox regulation of Nrf2 in cisplatin-induced kidney injury. *Antioxidants.* 2023;12(9):1728.
114. Dogukan A, Tuzcu M, Agca CA, Gencoglu H, Sahin N, Onderci M ve ark. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin-induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2, and HSPs expression. *Nutr Cancer.* 2011;63(3):427-34.
115. Gómez-Sierra T, Eugenio-Pérez D, Sánchez-Chinchillas A, Pedraza-Chaverri J. Role of food-derived antioxidants against cisplatin induced-nephrotoxicity. *Food Chem Toxicol.* 2018;120:230-42.
116. Imam F, Kothiyal P, Alshehri S, Afzal M, Iqbal M, Khan MR ve ark. Hirsutidin prevents cisplatin-evoked renal toxicity by reducing oxidative stress/inflammation and restoring the endogenous enzymatic and non-enzymatic level. *Biomedicines.* 2023;11(3):804.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Kararı

