

Ratlarda Sisplatin İle İndüklenmiş Böbrek Hasarına Karşı Melatonin ve Ginkgo Bilobanın Koruyucu Etkileri

Protective Effects Of Melatonin And Ginkgo Biloba On Cisplatin -Induced Kidney Damage In Rats

Murat YAĞMURCA¹, Orhan BAŞ², Önder ŞAHİN³,
Ahmet NACAR⁴, Şeref YÜKSEL⁵, Adnan NARCI⁶

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji¹, Anatomi², Patoloji³, İç Hastalıkları⁵,
Çocuk Cerrahisi⁶ Anabilim Dalları, AFYONKARAHİSAR
Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji⁴ Anabilim Dalı, HATAY

ÖZET: Amaç: Sisplatin solid tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan antikanserijen bir ilaçtır. Bu ilacın kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Bu çalışmanın amacı sisplatin ile indüklenmiş böbrek hasarına karşı melatonin ve ginkgo bilobanın koruyucu etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Ratlardan kontrol grubu, sadece sisplatin (7 mg/kg/gün, i.p) uygulanan grup, sisplatin (7 mg/kg/gün, i.p) + melatonin (ML) (4 mg/kg/gün, i.p) uygulanan grup ve sisplatin (7 mg/kg/gün, i.p) + ginkgo biloba (GB) (100 mg/kg/gün, oral) uygulanan gruplar oluşturuldu. 10. gün sonunda ratların böbrekleri histolojik olarak ışık mikroskopta incelenmek üzere çıkarıldı.

Bulgular: Sisplatin grubundan elde edilen böbrek dokusunda tübüler lezyon, sitoplazmik vakuoler değişiklikler, glomerüller ve vasküler lezyon gibi histopatolojik değişiklikler izlendi. Sisplatin+ML ve Sisplatin+GB birlikte verilen gruplardaki böbrek dokusunda histopatolojik değişikliklerde belirgin bir azalma gözlemlendi. Melatoninin hasarın histolojik olarak hafifletilmesinde ginkgo biloba'dan daha etkili olduğu tespit edildi.

Sonuç: Çalışma sonuçları sisplatin ile indüklenmiş böbrek hasarının azaltılmasında melatonin ve ginkgo biloba uygulamasının koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: böbrek, rat, sisplatin, melatonin, ginkgo biloba

ABSTRACT: Aim: Cisplatin is a widely used anti-neoplastic agent in the treatment of solid tumors. It is widely known that cisplatin is significantly taken up in human kidney and that repeat dose of the drug produces nephrotoxicity. The aim of this study was to investigate the protective effects of melatonin and ginkgo biloba on cisplatin-induced kidney damage.

Materials and Methods: The rats were divided into control, cisplatin alone (7 mg/kg, i.p.), cisplatin+melatonin (ML) (4mg/kg/day, i.p) and cisplatin+ginkgo biloba (GB) (100mg/kg/day, orally) groups. At the end of the 10th day, kidney tissues were removed for light microscopy and analysis.

Results: The tissue obtained from cisplatin group showed some histopathological changes such as tubular lesion, cytoplasmic vacuole alteration, glomerular and vascular lesion. In the cisplatin+ML and cisplatin+GB groups, histopathological evidence associated with kidney damage was markedly reduced. Melatonin was found to be more effective than ginkgo biloba in reducing the damage histologically.

Conclusion: These results show that cisplatin causes kidney damage and GB and ML treatment may prevent it to happen in kidney tissue as morphologically.

Key words: kidney, rat, cisplatin, melatonin, ginkgo biloba

GİRİŞ

Sisplatin testis, over, mesane, akciğer gibi organlara ait birçok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılan en etkili antineoplastik ilaçlardan

birdir. Sisplatinin nefrotoksisite, ototoksisite, ve kardiyomyopati gibi zararlı etkileri vardır (1,2). İlacın kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi ise nefrotoksisitedir (3,4).

Sisplatin ile nefrotoksisiteye yönelik bilgiler azdır. Son zamanlarda, bu ilaca bağlı nefrotoksisitenin serbest oksijen radikallerinin artmasına bağlı olarak meydana gelen oksidatif stresin artmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (4,5). Bu özelliğinin ortaya çıkmasından sonra antioksidan niteliği bilinen bir çok madde bu ilacın nefrotoksik et-

kisine karşı tedavi edici amaçla deneysel olarak kullanılmıştır (6-12)

Ginkgo biloba ekstresi (GB) ginkgo biloba ağacının yeşil yapraklarından elde edilir ve %24 ginkgo flavon glikozidleri ve %6 karakteristik terpen laktonları içerir. GB klinik tedavide yaygın olarak kalp ve beyin gibi organların dokularındaki dolaşımı arttırmak için kullanılmaktadır (13). GB, antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve vazodilatör etkilidir. GB, biyomembranları oksidatif strese karşı korumakta ve serbest oksijen radikallerini tutarak hücre kaybını en aza indirmektedir. GB'nin akciğerlerde bleomisine bağlı oksidatif ve nitrozatif stres artımına bağlı fibrozis gelişimini, etkili serbest radikal süpürücü ve antioksidan özellikleri nedeniyle engellediği daha önceki çalışmamızda gösterilmiştir (14).

Melatonin (5-methoxy-N-acetyl-tryptamine) nöroendokrin bir organ olan pineal bezde, triptofandan sentezlenerek, karanlıkta salgılanır ve plazma proteinlerine bağlanır. Melatonin karaciğerde metabolize olur ve başlıca metaboliti 6-hidroksimelatonin sülfat (6-HMS)'dir. İnsanlarda ekzojen melatoninin kısa bir metabolik yarı ömrü (20-60 dk.), büyük bir hepatik geçiş etkisi vardır (15). Melatonin, yaşlanma-karşıtı bir moleküldür, kimyasal karsinojenlere karşı DNA'nın korunması, endokrin ritmin düzenlenmesi, bazı antigonadotropik etkilerin açığa çıkarılması, sinir sistemi üzerinde koruyucu etkilerin oluşturulması, immün sistemin uyarılması ve serbest radikallerin giderilmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır. Melatoninin farklı organ ve dokularda direkt serbest radikal yakalayıcı ve indirekt antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (16,17). Melatoninin birçok biyolojik etkisinin yanı sıra, hücre içi kalsiyum düzeyini dengeleyebilmesi, güçlü bir radikal süpürücü (hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, peroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonu) ve antioksidan (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz stimülasyonu ve nitrik oksit sentaz inhibisyonu) özelliğinin olması (18), kanser kemoterapisine bağlı organ hasarlarında koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir (19,20).

Bu temel düşünceden yola çıkarak planladığımız çalışmamızın amacı; ratlarda sisplatin ile oluşturulan böbrek hasarında, antioksidan özelliği olan GB ekstraktının ve melatoninin koruyucu etkilerini, ışık mikroskopik düzeyde histopatolojik olarak, karşılaştırmalı biçimde incelemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmanın yapılabilmesi için Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan gerekli onay alınmıştır. Çalışmada, ağırlıkları 250-350 g arasında değişen 28 adet, 4 aylık, Sprague Dawley cinsi erkek ratlar kullanıldı. Hayvanlara 12/12 saat gece/gündüz periyodunda, standart rat pellet yem ve çeşme suyu verildi. Deney grupları ratlar rasgele seçilerek şu şekilde belirlendi: Grup 1 (n=7): Kontrol, Grup 2 (n=7): Sisplatin (Cisplatinum Ebewe, Liba İlaç Sanayi, Türkiye), Grup 3 (n=7): Sisplatin+Melatonin (Sigma, St Louis, MO, USA) ve Grup 4 (n=7): Sisplatin + GB (Tripharma İlaç Sanayi, Türkiye). Kontrol grubu ratlara 10 gün boyunca sadece intraperitoneal (i.p.) izotonik salin solüsyonu (melatonin ile eşit hacimde) uygulandı ve 3.gün sisplatin ile eşit hacimde izotonik salin solüsyonu i.p. uygulandı. Sisplatin 3. gün 7mg/kg i.p. tek doz olarak uygulandı (3). Melatonin grubuna 10 gün boyunca her gün 1x1 i.p. melatonin 4mg/kg dozda 1x1 olarak uygulanmaya başlandı ve 3. gün 7mg/kg sisplatin tek doz halinde i.p. olarak uygulandı (16). GB grubuna deney süresince 10 gün boyunca her gün oral yolla GB 100mg/kg dozda 1x1 olarak uygulanmaya başlandı ve 3. gün 7mg/kg sisplatin tek doz halinde i.p. olarak uygulandı (21).

Çalışmanın 10. gününün sonunda 1mg/kg xylazine ile 0.5ml/kg ketamin i.p. uygulanarak sağlanan genel anestezi altında ratlar sakrifiye edildi ve böbrek dokuları alındı. %10 Nötral tamponlu formalin ile fiksasyon işlemi tamamlandı. Dehidrasyon basamaklarını müteakip doku örnekleri parafin ile bloklandı. 4 µm kalınlığında mikrotomla kesitler alındı ve kesitlere hematoksilin – eozin boyaması uygulandı ve preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler Nikon microscope (ECLIPSE E600W, Tokyo, Japan) incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (Nikon Digitale Camera DP70, Tokyo, Japan) ile fotoğraf çekimleri yapıldı.

Her bir gruba ait böbrek kesitleri histolojik olarak tübüler nekroz/atrofi, tübüler vakuoler değişiklikler, glomerüler hasar, vasküler konjesyon/tromboz ve interstisyel inflamasyonun şiddet ve yaygınlığı dikkate alınarak incelendi. Her bir kesit 0-4 arasında (sırası ile hasar yok, az hasar, orta derecede hasar ve şiddetli hasar) skorlandı (22).

İstatistiksel analizler:

İstatistikler SPSS 9.05 ile yapıldı. Grupların dağılımları non-parametrik testlerden "One-sample Kolmogorov-Smirnov Test" ile değerlendirildi. Grupların normal dağılım göstermesinden dolayı istatistiksel karşılaştırma için parametrik testlerden "One-way

ANOVA” testi ve post-hoc testlerden LSD (Least significant difference) kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

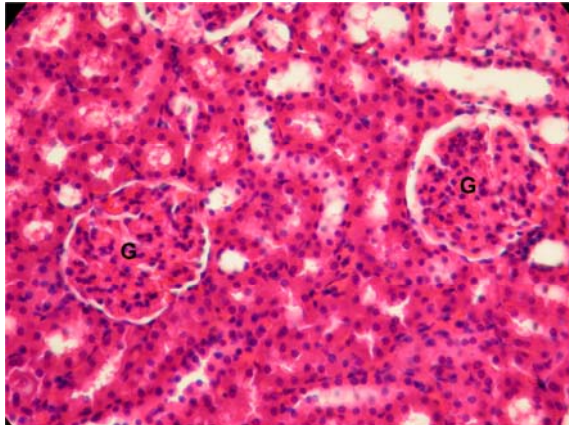
Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları ve istatistiksel karşılaştırmaları **Tablo 1**'de gösterilmiştir. Buna göre Grup 1 ratlarının böbrek dokusunda yapılan ışık mikroskopik incelemeler sonucu glomerül yapısı, bowman kapsülü ve bowman aralığı, proksimal ve distal tübüller histolojik açıdan normal morfolojik özellikler taşıyordu (**Resim 1**).

Grup 2'ye (sisplatin grubu) ait preparatlarda yapılan incelemeler sonunda; tübül nekroz (**Resim 2**), interstisyel ve periglomerüler fibrozis (**Resim 3**), interstisyel inflamasyon (**Resim 4**) gibi belirgin yapısal değişiklikler izlendi. Buna bağlı olarak sisplatin uygulanan gruptaki ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm parametreler açısından hasarın anlamlı bir şekilde artmış olduğu izlendi ($p=0.001$).

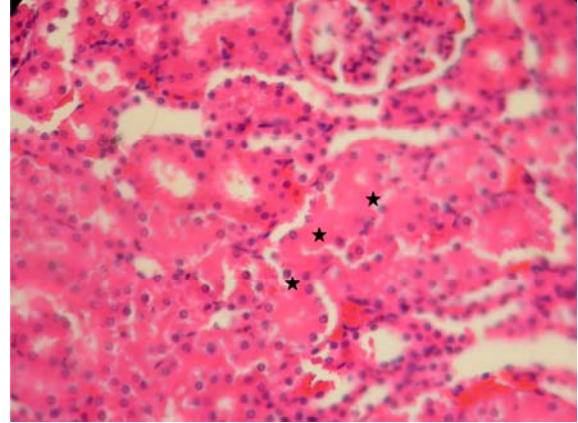
Grup 3'te (Sisplatin+Melatonin) histolojik incelemesinde ise; gözlenen değişikliklerin tek başına sisplatin uygulanan gruba göre belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) bir şekilde azalma gösterdiği izlendi (**Resim 5**).

Grup 4 (Sisplatin+GB)'de ise yine benzer şekilde gözlenen değişikliklerin tek başına sisplatin uygulanan gruba göre belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) bir şekilde azaldığı gözlemlendi (**Resim 6**).

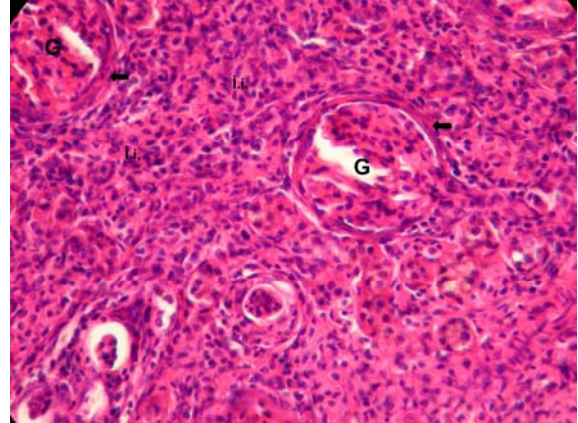
Grup 3 ve Grup 4'ün karşılaştırılmasında ise yalnız vasküler konjesyon-trombozis ($p=0.030$) ve interstisyel infiltrasyonda ($p=0.044$) Grup 3 ratlarda anlamlı olarak düştüğü gözlemlendi.



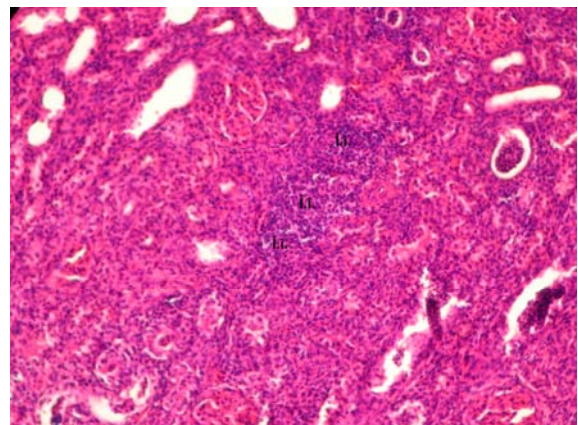
Resim 1. Kontrol grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Glomerüller (G) ve tübüller normal yapıda izlenmektedir. H-E X 10



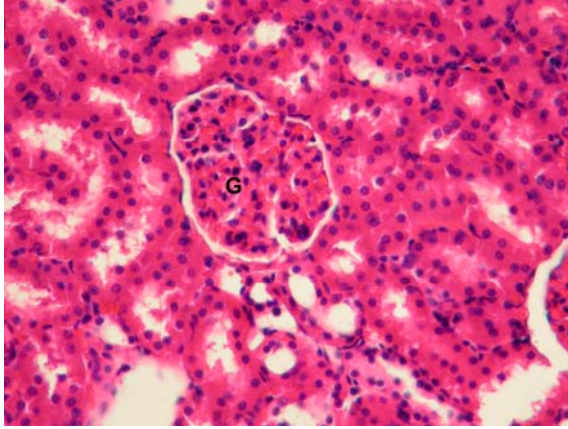
Resim 2. Sisplatin grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Tübül nekroz (yıldız) görülen alanlar izlenmektedir. H-E X 20



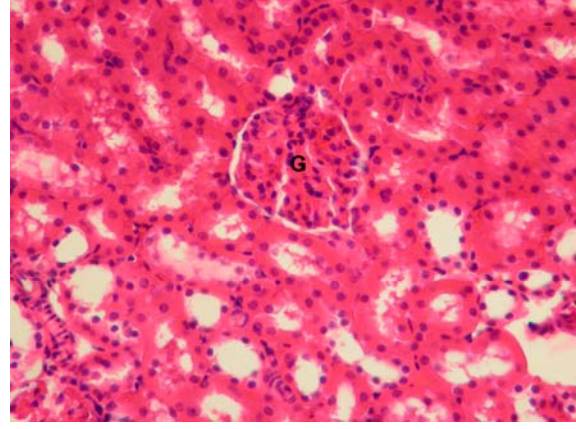
Resim 3. Sisplatin grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Böbrekte interstisyel inflamasyon (İ.i.), interstisyel fibrozis (İ.f.), peri glomerüler fibrozis (ok) alanları izlenmektedir. Glomerül (G). H-E X 20



Resim 4. Sisplatin grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Böbrekte interstisyel inflamasyon (İ.i.) alanları izlenmektedir. H-E X 20



Resim 5. Sisplatin+Melatonin grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Glomerül (G). H-E X 20



Resim 6. Sisplatin+Ginkgo Biloba grubuna ait rat böbreğinden histolojik bir görünüm. Glomerül (G). H-E X 20

Tablo 1. Gruplara ait histolojik değişikliklerin skorlarını gösteren tablo. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Grup I: Kontrol, Grup II: Sisplatin, Grup III: Sisplatin+Melatonin, Grup IV: Sisplatin+Ginkgo Biloba.

| Gruplar | Tübüler nekroz- atrofi | Tübüler vakuoler değişiklik | Glomerüller hasar | Vasküler konjesyon – trombozis | İnterstisyel infiltrasyon |
|-----------------|------------------------|-----------------------------|-------------------|--------------------------------|---------------------------|
| I | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| II | 3.28 \pm 0.48 | 3.42 \pm 0.53 | 3.42 \pm 0.53 | 3.14 \pm 0.37 | 3.42 \pm 0.53 |
| III | 1.57 \pm 0.53 | 1.42 \pm 0.53 | 1.42 \pm 0.53 | 1.00 \pm 0.57 | 1.57 \pm 0.53 |
| IV | 1.85 \pm 0.37 | 2.14 \pm 0.69 | 2.00 \pm 0.57 | 1.85 \pm 0.69 | 2.14 \pm 0.37 |
| p değeri | | | | | |
| I-II | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| I-III | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.001 |
| I-IV | 0.000 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.000 |
| II-III | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| II-IV | 0.001 | 0.006 | 0.002 | 0.003 | 0.002 |
| III-IV | A.D. | A.D. | A.D. | 0.030 | 0.044 |

TARTIŞMA

Kanser tedavisi sırasında kullanılan antineoplastik ilaçlar genellikle birçok organda fizyolojik homeostazisin bozulmasına neden olur. Kanser tedavisinde, son derece etkili platin türevi bir ilaç olan sisplatinin metabolitlerinin vücuttan atılımında hepatobilyer sistem ile böbrekler birlikte çalışır ve

en fazla böbreklerde birikim gösterir (23). Sisplatin; nefrotoksisite, hepatotoksisite, kemik iliği toksisitesi, gastrointestinal toksisite, ototoksisite ve periferik nöropati gibi istenmeyen yan etkilere sıklıkla sebep olabilmektedir. Kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi doza bağımlı olarak ortaya çıkan akut tübüler nekrozdur ve bu etkiye ilacı kullananların %30'unda rastlanmaktadır (13). İstenmeyen bu

yan etkiye karşı doz kısıtlamasına gidilmekte ve bu durum tedavide aksaklıklara neden olmaktadır.

Sisplatinin nefrotoksik etkisinin temelinde yatan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, oksidatif stresin önemli bir rolü olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Sisplatin kullanımı ile reaktif oksijen türlerinin arttığı ve bu durumun DNA hasarı ve membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Bu amaçla antioksidan etkisi bilinen bazı maddeler ile sisplatinin nefrotoksik etkisini azaltma veya önleme yolunda deneysel çalışmalar yapılmıştır (6-12).

Ancak literatür taramalarında antioksidan etkisi bilinen melatonin ve GB'nin karşılaştırmalı olarak sisplatin nefrotoksitesinde birlikte çalışılmadığını gördük ve sisplatin tedavisinde ek olarak kullanılacak etkili bir ilacın hangisi olduğunun anlaşılabilmesi yolunda alternatif olarak iki antioksidan maddeyi ilk kez denemek üzere bu tarz bir çalışma planladık.

Sisplatinin nefrotoksik etkileri üzerine melatonin ve GB'nin koruyucu etkilerini, oksidan ve antioksidan parametrelere bakılmaksızın sadece histopatolojik skorlarla değerlendirilmesi çalışmamızın sınırlayıcı faktörüdür.

Parlakpınar ve ark. (24) yapmış oldukları sisplatin ile indüklenen böbrek hasarı çalışmalarında böbrekte dilate tübül, belli belirsiz glomerüller, ödem ve interstisyumda fokal inflamasyon alanları izlemişlerdir. Ozyurt ve ark. (4) yapmış oldukları benzeri bir çalışmada özellikle proksimal tübülde aşırı tübül epitelyumu vakuolizasyonu, hücresel şişme ve dökülme tanımlamışlardır. İşeri ve ark. (25) sisplatin nefrotoksitesisi oluşturdukları çalışmalarında, şiddetli glomerüler konjesyon, dejenerasyon, Bowman boşluğunda dilatasyon, tübüler hücrelerde dejenerasyon tanımlamışlardır. Daha önce yapılmış bu çalışmaların ışığı altında histopatolojik böbrek değerlendirme kriterlerini oluşturarak çalışmamızı planladık. Histopatolojik incelemede; her bir gruba ait böbrek kesitleri tübüler nekroz/atrofi, tübüler vakuoler değişiklikler, glomerüler hasar, vasküler konjesyon/tromboz ve interstisyel inflamasyonun şiddet ve yaygınlığı dikkate alınacak şekilde skorlanarak incelendi. Sisplatin uygulanan grubun tüm parametreler açısından istatistiksel olarak da anlamlı hasar gösterdiği izlendi. Melatonin verilen grubun hasarla ilgili tüm parametreler açısından sisplatin grubu ile karşılaştırıldığına belirgin düzelme gösterdiği ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Melatonin verilen grubun GB uygulanan grup ile tübüler nekroz-atrofi, tübüler vakuoler değişiklikler ve glomerüler hasar parametreleri açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel ola-

rak anlamlı bir farkın olmadığı, ancak vasküler konjesyon-tromboz ve interstisyel infiltrasyon parametreleri dikkate alındığında istatistiksel anlamlılık ifade edecek şekilde melatoninin daha iyi sonuç verdiği izlendi. Yine GB uygulanan grubun tüm parametreler açısından sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında belirgin düzelme gösterdiği ve bununda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

GB'nin sisplatinin hasar yapıcı etkilerini, muhtemelen antioksidan özelliğinin olması, ortamda bulunan süperoksit ve hidroksil gibi radikalleri yakalayarak hücreleri lipid ve protein oksidasyonuna karşı koruması, platelet aktive edici faktörün (PAF) inhibisyonu, kan dolaşımını arttırarak hücrelerin oksijen kullanımına imkan oluşturması ve toksinlerin atılmasına olanak sağlaması gibi özellikleri ile azaltmış olduğu düşünülebilir (26).

Melatoninin güçlü lipofilik özelliği ile biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilmesi, hücreye yavaş bir şekilde penetre olan diğer antioksidanlara karşı önemli bir üstünlüğüdür. (24,25). Bu özelliği dikkate alındığında, melatoninin oksidan antioksidan sistemde ortaya çıkan zararlı ürünlerin ortadan kaldırılmasında GB'dan daha üstün olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen verilere göre, kanser tedavisinde kullanılan sisplatinin yüksek tek doz kullanımı böbrekte hasara neden olmaktadır. Melatoninin, bu hasarın histolojik olarak hafifletilmesinde ginkgo biloba'dan daha etkili olduğu gözlenmektedir. Sisplatin ve diğer antikanser ilaçların uygulaması sırasında, her iki antioksidan ilacın tedavi edici dozlarının ve ilaç uygulama sürelerinin daha iyi tespit edilebilmesi için; antioksidan sistemde yer alan enzim aktivitesinin ve bu enzimlere bağlı son ürünlerin de yer aldığı parametrelerin, ileri araştırmalar ile çalışılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Iraz M, Ozerol E, Gulec M, Tasdemir S, Idiz N, Fadillioglu E, Naziroglu M, Akyol O. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. *Cell Biochem Funct.* 2006;24:357-361.
2. Söğüt S, Kotuk M, Yilmaz HR, Ulu R, Ozyurt H, Yildirim Z. In vivo evidence suggesting a role for purine-catabolizing enzymes in the pathogenesis of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats and effect of erdosteine against this toxicity. *Cell Biochem Funct.* 2004;22:157-162.
3. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Ueda N, Shah SV. In vitro and in vivo evidence suggesting a role for iron

- in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int.* 1998;53:394-401.
4. Ozyurt H, Yildirim Z, Kotuk M, Yılmaz HR, Yağmurca M, Iraz M, Söğüt S, Gergerlioglu S. Cisplatin-induced acute renal failure is ameliorated by erdosteine in a dose-dependent manner. *J Appl Toxicol.* 2004;24:269-275.
 5. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev.* 1999;31:971-997.
 6. Mansour HH, Hafez HF, Fahmy NM. Silymarin modulates Cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *J Biochem Mol Biol.* 2006;39:656-661.
 7. Behling EB, Sendao MC, Francescato HD, Antunes LM, Costa RS, Bianchi Mde L. Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacol Rep.* 2006;58:526-532.
 8. Fujieda M, Naruse K, Hamazu T, Miyazaki E, Hayashi Y, Enomoto R, Lee E, Ohta K, Wakiguchi H, Enzan H. Effect of selenium on Cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron Exp Nephrol.* 2006;104:112-122.
 9. Mishima K, Baba A, Matsuo M, Itoh Y, Oishi R. Protective effect of cyclic AMP against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Free Radic Biol Med.* 2006;40:1564-1577.
 10. Mohan IK, Khan M, Shobha JC, Naidu MU, Prayag A, Kuppusamy P, Kutala VK. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by Spirulina in rats. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006;58:802-808.
 11. Fatima S, Arivarasu NA, Mahmood R. Vitamin C attenuates cisplatin-induced alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26:419-426.
 12. Söğüt S, Yılmaz HR, Songur A, Güleç M, Kotuk M, Ağlamış S. Siçanlarda cisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2004;2:23-28.
 13. Güleç M, Yılmaz HR, Iraz M, Ağlamış S, Söğüt S. Cisplatin Nefrotoksisitesi Oluşturulan Siçanların Plazma Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Adenozin Deaminaz Aktiviteleri Ve Nitrik Oksit Seviyelerine Ginkgo Biloba Ekstraktının Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2004;24:585-591.
 14. Iraz M, Erdogan H, Kotuk M, Yağmurca M, Kilic T, Ermis H, Fadilloğlu E, Yildirim Z. Ginkgo biloba inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Pharmacol Res.* 2006;53:310-316.
 15. Altun A, Vardar A, Altun B.U. Melatonin ve Kardiyovasküler Sistem. *nadolu Kardiyoloji Dergisi* 2001;1:283-288.
 16. Yildirim Z, Kotuk M, Erdogan H, Iraz M, Yagmurca M, Kuku I, Fadillioğlu E. Preventive effect of melatonin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *J Pineal Res.* 2006;40:27-33.
 17. Aydoğdu N, Kanter M, Erbaş H, Kaymak K. Kadmiyuma bağlı karaciğer hasarında taurin, melatonin ve asetilsisteinin nitrik oksit, lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidanlar üzerindeki etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi* 2007;29:089-096.
 18. Kavaklı A, Acet A, Parlakpınar H, Akpolat N, Şahna A. Ratlarda Beyin İskemi-Reperfüzyonu Sonucu Oluşan Morfolojik Değişikliklere Melatonin ve Pinealektonin'in Etkisi. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg* 2007;21:63-66.
 19. Oz E, Ilhan MN. Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin. *Mol Cell Biochem.* 2006;286:11-15.
 20. Kocak G, Erbil KM, Ozdemir I, Aydemir S, Sunar B, Tuncel M, Atalay S. The protective effect of melatonin on adriamycin-induced acute cardiac injury. *Can J Cardiol.* 2003;19:535-541.
 21. Erdogan H, Fadillioğlu E, Kotuk M, Iraz M, Tasdemir S, Oztas Y, Yildirim Z. Effects of Ginkgo biloba on plasma oxidant injury induced by bleomycin in rats. *Toxicol Ind Health.* 2006;22:47-52.
 22. Erdogan H, Fadillioğlu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res.* 2006;34:41-46.
 23. Van Montfoort JE, Hagenbuch B, Groothuis GM, Koepsell H, Meier PJ, Meijer DK. Drug uptake systems in liver and kidney. *Curr Drug Metab.* 2003;4:185-211.
 24. Parlakpınar H, Sahna E, Ozer MK, Ozugurlu F, Vardi N, Acet A. Physiological and pharmacological concentrations of melatonin protect against cisplatin-induced acute renal injury. *J Pineal Res.* 2002;33:161-166.
 25. İşeri S, Ercan F, Gedik N, Yüksel M, Alican I. Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Toxicology.* 2007;230:256-264.
 26. Peng SY, Zhang FY, Ou-Yang XY, Liu Y, Wang WJ. Effect of ginkgolide B on the platelet-activating factor induced changes of chemotaxis and cytoskeleton of macrophages.
 27. Yao Xue Xue Bao. 2006;41:156-160.