



ARAŞTIRMA

NARİNGENİNİN SİSPLATİN OTOTOKSİTESİNE KARŞI ETKİSİNİN HAYVAN MODELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ozan GÖKLER 

Koç Üniversitesi, KBB BBC Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Giriş: Bu çalışmanın amacı, naringenin sisplatin kaynaklı ototoksititeye karşı koruyucu etkisini odyolojik ve biyokimyasal parametreleri değerlendirilerek araştırmaktır.

Gereç ve yöntemler: Otuz iki erkek sıçan, her biri sekiz sıçan olmak üzere 4 gruba (kontrol, sisplatin, naringenin + cisplatin ve naringenin) ayrıldı. Her iki kulaktan distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) ve işitsel beyin sapı yanıtı (ABR) testleri tüm gruplarda çalışmanın başında ve 6. günde yapıldı. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için 6. günde intrakardiyak kan örnekleri alındı.

Bulgular: Odyolojik değerlendirmede, grup 2' de (sisplatin), diğer gruplarla karşılaştırıldığında 6. günde DPOAE değerlerinde anlamlı düşüşler ve ABR eşiklerinde anlamlı artışlar vardı. Grup 1 (kontrol), 3 (naringenin + cisplatin) ve 4' te (naringenin) tedavi öncesi ve sonrası DPOAE ve ABR sonuçları arasında anlamlı bir fark yoktu. Biyokimyasal analizlerde toplam oksidan durumu (TOS) değeri grup 2' de (cisplatin) diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksekti. Toplam antioksidan durumu (TAS) değeri grup 3' te (naringenin + sisplatin) grup 2' ye göre anlamlı olarak yüksekti.

Sonuç: Odyolojik testler ve biyokimyasal, naringenin antioksidan düzeylerini artırarak ve oksidatif stres parametrelerini azaltarak sisplatin ototoksitesine karşı koruyucu etkisi olabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: Ototoksitite, naringenin, sisplatin, otoakustik emisyon, işitsel beyin sapı yanıtı

EVALUATION OF THE EFFECT OF NARINGENIN ON CISPLATIN INDUCED OTOTOXICITY IN ANIMAL MODEL SUMMARY

Introduction: The aim of this study is to investigate the protective effect of naringenin against cisplatin induced ototoxicity by evaluating audiological and biochemical parameters.

Materials and methods: Thirty-two male rats were divided into 4 groups (control, cisplatin, naringenin + cisplatin and naringenin) including eight rats each. Distortion product otoacoustic emission (DPOAE) and auditory brainstem response (ABR) tests from both ears were performed in all groups at the beginning of the study and also on day 6. Intracardiac blood samples were taken on day 6 for assessment of biochemical parameters.

Results: In audiological assessment, in group 2 (cisplatin), there were significant decreases in DPOAE values and significant increases in ABR thresholds on day 6 as compared with other groups. In Groups 1 (control), 3 (naringenin + cisplatin) and 4 (naringenin) there was no significant difference between the pre- and posttreatment DPOAE and ABR results. In biochemical analyses, the total oxidant status (TOS) value was significantly higher in group 2 (cisplatin) than in the other groups. The total antioxidant status (TAS) value was significantly higher in group 3 (naringenin+cisplatin) than in group 2.

Conclusions: The audiological tests and biochemical revealed that naringenin may have protective effect against cisplatin ototoxicity by increase antioxidant levels and reduce oxidative stress parameters.

Keywords: Ototoxicity, naringenin, cisplatin, otoacoustic emission, auditory brainstem response

İletişim kurulacak yazar: Dr. Ozan GÖKLER, Koç Üniversitesi, KBB BBC Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye, E-mail: ogokler@ku.edu.tr

Gönderilme tarihi: 20 Mayıs 2021, revizyonun gönderildiği tarih: 25 Mayıs 2021, yayın için kabul edilme tarihi: 25 Mayıs 2021

Kaynak gösterimi Gökler O. Naringenin Sisplatin Ototoksitesine Karşı Etkisinin Hayvan Modelinde Değerlendirilmesi KBB-Forum 2021;20(2):060-066

GİRİŞ

Flavonoidler, serbest radikal oluşumunu azaltma yeteneklerinden dolayı güçlü antioksidan aktivite sergileyen meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerdir. Naringenin, domates, kakao ve greylift, limon ve portakal gibi turuncgiller açısından oldukça zengin bir biyoflavonoiddir. Naringenin'in antioksidan¹, antiinflamatuvar² ve serbest radikal temizleyici etkilere sahip olduğu³ ve ayrıca lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir⁴. Geçmiş çalışmalar naringenin antitümöral⁵, hepatoprotektif⁶ ve nefroprotektif⁷ özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Sisplatin, akciğer, baş-boyun, yumurtalık ve mesane kanserlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılan etkili bir antineoplastik ilaçtır. Sisplatin antikanser etkisini deoksiribonükleik asit sentezini inhibe ederek ve reaktif oksijen



radikallerinin seviyesini artırarak gösterir. Ek olarak, mitokondriyal hasarın bir nedeni olan hücre içi glutasyonun azalmasına yol açar ve bu da lipid peroksidasyonuna neden olur⁸. Bununla birlikte, sisplatinin nefrotoksisite, ototoksisite, nörotoksisite ve kemik iliği toksisitesi gibi doza bağlı yan etkileri vardır. Sisplatin tedavisinden saatler veya günler sonra kendini gösterebilen ototoksisite için şu anda rutin bir tedavi yöntemi mevcut değildir⁹. Sisplatin kaynaklı ototoksisite, başta yüksek frekanslarda olmak üzere tüm frekanslarda bilateral, progresif ve geri dönüşümsüz sensörinöral işitme kaybı şeklinde gelişir¹⁰.

Sisplatin ototoksisitesinin hücrel ve moleküler mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Sisplatinin, Corti'nin organı, stria vaskularis, spiral bağ ve spiral ganglionik hücrelerde aşırı miktarda serbest oksijen radikal üretimine neden olarak koklea ve dış saç hücrelerinde (OHC'ler) oksidatif hasara ve apoptoza¹¹ yol açtığı belirtilmiştir. Ayrıca sisplatin, kokleadaki antioksidan enzimleri azaltır. Lipoik asit, resveratrol, kurkumin ve Gingko biloba ekstresi gibi antioksidan ajanların sisplatinin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisini inceleyen bir dizi çalışma yayınlanmıştır¹²⁻¹⁴.

Naringenin tedavisinin sıçanlarda sisplatin kaynaklı nefrotoksisite, hepatotoksisite ve genotoksisiteye karşı önemli ölçüde koruduğu da gösterilmiştir¹⁵. Bununla birlikte, naringenin'in sisplatin ile indüklenen ototoksisite üzerindeki potansiyel koruyucu etkisi araştırılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı naringenin sisplatin ototoksisitesine karşı koruyucu etkisini odyolojik testler ve biyokimyasal parametrelerle değerlendirmektir.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışma, lokal etik kurul tarafından onaylanmıştır.

Hayvanlar

Çalışma için 250 ila 300 gr ağırlığındaki 32 yetişkin erkek Sprague Dawley sıçanı kullanıldı. Preyer refleksi pozitif olan sıçanlar seçildi ve tüm sıçanların timpanik membranları ve dış kulak kanalları 2.7 mm 0o endoskop ile incelendi. Kulak kanallarında kulak kiri bulunan ve otitis media veya timpanik membran

perforasyonu belirtileri gösteren sıçanlar çalışmaya alınmadı. Tüm sıçanlar, yiyecek ve suya serbest erişime sahipti ve 12 saatlik bir aydınlık / karanlık döngüsü altında, kontrollü sıcaklığa (25°C) sahip bir ortamda tutuldu.

İlaçlar ve Kimyasallar

Cisplatin, Hospira'dan (50 mg / 50mL, Warwickshire, BK) elde edildi. % 0.5 karboksimetil selüloz ve % 98 naringenin Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, ABD'den elde edildi (% 98 naringenin, % 0.5 karboksimetil selüloz içinde çözülür). Ksilazin hidroklorür (Rompun), İstanbul, Bayer'den satın alındı. Ketamin hidroklorür (Ketalar) ise Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye' dendi.

Deneysel gruplar

32 sıçan rastgele dört gruba ayrıldı. Her grup sekiz sıçan içeriyordu:

Grup 1 (n = 8) 5 gün boyunca her gün peroral olarak (p.o) % 0.5 karboksimetil selüloz aldı.

Grup 2 (n = 8), karboksimetil selüloz uygulamasından iki gün sonra tek bir intraperitoneal doz sisplatin (16 mg / kg) aldı.

Grup 3 (n = 8) naringenin 50 mg / kg ve % 0.5 karboksimetil selüloz p.o. sisplatin enjeksiyonundan iki gün önce her gün naringenin 50 mg / kg ve % 0.5 karboksimetil selüloz p.o. aldı; 3. günde intraperitoneal tek doz sisplatin (16 mg / kg) uygulandı ve naringenin uygulaması 5. güne kadar sürdürüldü.

Grup 4 (n = 8) 5 gün boyunca her gün naringenin 50 mg / kg ve % 0.5 karboksimetil selüloz p.o. aldı.

Kullanılan naringenin dozunun ayarlanılmasında daha önce yapılan çalışmalar örnek alınmıştır⁶.

Çalışmanın başlangıcında ve 6. günde, tüm sıçanlara periton içi 5 mg / kg ksilazin hidroklorür ve 40 mg / kg ketamin hidroklorür ile anestezi uygulanmıştır. Anestezi sonrası DPOAE ve ABR ölçümleri yapılmıştır. 6. günde tüm sıçanlardan biyokimyasal parametreleri hesaplamak için intrakardiyak kan örnekleri alınmıştır.

Odyolojik değerlendirme

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE)

DPOAE' leri ölçmek için Neurosoft Neuro-audio cihazı (Ivanova, Rusya) kullanılmıştır. Ölçümler sessiz bir odada



yapılmıştır. En küçük boyutlu timpanometri probu dış kulak kanalına yerleştirilerek her iki kulakta ölçümler yapılmıştır. DPgram ölçümleri 988, 2222, 3200, 4444, 5000, 6154, 8000, 8889, 10000 ve 11429 Hz frekanslarında gerçekleştirilmiştir. Sinyal gürültü oranının 6 dB SPL üzerindeki DPOAE değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

İşitsel beyin sapı yanıtı (ABR)

ABR ölçümleri sessiz bir odada Neurosoft Neuro-audio cihazı (Ivanova, Rusya) ile subdermal iğne elektrotları kullanılarak yapılmıştır. Alternatif polaritelerde click uyarıları sağlamak için ER-2 insert kulaklık kullanılmıştır. İşitsel uyarı olarak 21/saniye tekrar hızında 30-2000 Hz bant-pass filtreli 16 kHz'lik Tone-Burst uyarısı kullanılmıştır. Eşik, 100 dB SPL' den başlayarak, ardından eşığe ulaşılan kadar 10 dB'lik basamaklar ile azaltılarak belirlendi. ABR eşığı beşinci dalganın gözlemlendiği en düşük yoğunluk seviyesi olarak tanımlanmıştır.

Biyokimyasal değerlendirme

Biyokimyasal analizler için sıçanlardan alınan kan örnekleri 3.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve serum izole edilmiştir. Oksidatif stres, pro- ve antioksidanlar arasındaki dengenin pro-oksidaanlara doğru kayması anlamına gelir ¹⁶. Zaman ve maliyet nedeniyle farklı antioksidanları tek tek ölçmek zordur. Yakın zamanda geliştirilen toplam antioksidan durumu (TAS) ölçme yöntemi, tüm antioksidanların serumda basit bir ölçümle tek bir parametre olarak kısa sürede çok düşük bir maliyetle kaydedilmesini sağlar ¹⁷. TAS, antioksidanların birleşik aktivitesini ve toplam antioksidan seviyesini ölçerek kapsamlı antioksidan durumunu değerlendirir. Bununla birlikte, tek bir prooksidan molekülün ölçümü için pratik yöntemler yoktur, ancak bunun yerine tek bir parametre olan toplam oksidan durumu (TOS) serumda ölçülebilir ¹⁸. TOS, toplam oksidan seviyelerinin bir göstergesidir. Oksidatif stres indeksi (OSI) vücuttaki oksidatif stres için daha doğru bir indeks sağlar, çünkü bu oran tüm oksidan ve antioksidan aktivitelerin toplamını hesaba katar. TAS ve TOS, Rel Assay Diagnostics kiti (Mega Tip San ve Tic Ltd Sti, Gaziantep, Türkiye) ile ölçülmüştür ve OSI, TAS ve TOS'tan (OSI: TOS / TASX100) hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz SPSS sürüm 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Tüm nicel değişkenler merkezi konum ölçümleri (ortalama ve medyan) ve dağılım ölçümleri (standart sapma) kullanılarak hesaplanmıştır. Veri normalliği Kolmogorov-Smirnov testleri kullanılarak kontrol edilmiştir.

DPOAE ve ABR değerlerinin gruplar arası karşılaştırmaları için tek yönlü ANOVA kullanılmıştır ve gruplar arasındaki farklar p <0.05' te istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey's (HSD) post-hoc testi kullanılmıştır.

Eşleştirilmiş örnekler t-testi, DPOAE ve ABR değerlerinin grup içi karşılaştırmaları için kullanılmıştır ve grup içindeki fark p <0.05' te istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Gruplar arası biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde tek yönlü ANOVA kullanılmıştır ve gruplar arası farklar p <0.05' te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi). Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey's (HSD) post-hoc testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon

Grup 2'de 6. gündeki SNR oranı değerleri (SNR, dB), 998 frekansı haricinde başlangıç değerlerinden anlamlı derecede düşüktü (p <0.001).

Grup 1, 3 ve 4' te çalışma başında ve 6. günde ölçülen SNR değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p> 0.05) (Şekil 1).

Gruplar arası karşılaştırmada, başlangıç değerlerinde fark olmamasına rağmen, 6. günde 998 hariç tüm frekanslar için 2. grupta değerler anlamlı olarak daha düşüktü (p <0.008).

İşitsel beyin sapı yanıtı

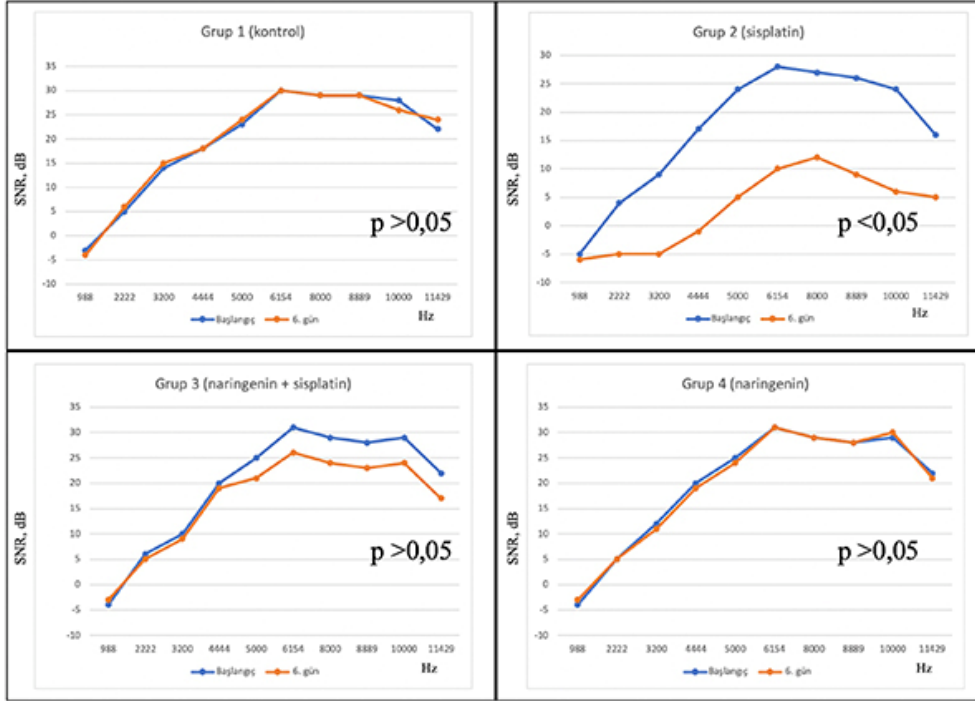
Gruplar arasında ilk ABR eşiklerinde anlamlı bir fark olmamasına rağmen (p> 0.05), 6. günde grup 2'deki ABR eşikleri 1., 3. ve 4. gruptan anlamlı olarak daha yüksekti (p <0.001). 2. grupta ABR eşikleri 6. günde başlangıç değerlerinden anlamlı derecede yüksekti (p <0.001). Grup 1, 3 ve 4'te ilk ABR eşik değerleri ile 6. günde elde edilenler arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p> 0.05) (Tablo 1).

Biyokimyasal parametreler



TOS ve OSI değerleri grup 2'de diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,001$). Grup 1, 3 ve 4'ün TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$).

TAS değeri grup 3 ve 4'te grup 2'ye göre anlamlı olarak yüksekti ($p = 0,001$). (Tablo 2)



Şekil 1: Gruplar arası DPOAE SNR değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 1: ABR eşik değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Başlangıç	6. Gün	Paired T Test
Grup 1 (kontrol)	48,2 ± 4,2	49,1 ± 3,6	p = 0,44
Grup 2 (sisplatin)	48,3 ± 4,4	69,8 ± 7,8 *	p < 0,001
Grup 3 (sisplatin+naringenin)	46,6 ± 5,3	50,2 ± 5,4 **	p = 0,06
Grup 4 (naringenin)	45,7 ± 5,2	47,6 ± 4,9	p = 0,18
Anova	P = 0,1	p = 0,001	
Tukey			* p < 0,001 4 grup 1, 3 ve 4 ile karşılaştırma ** p = 0,4 grup 1 ile karşılaştırma



Tablo 2: Biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

Grup	TAS ($\mu\text{mol Troloxequiv./L}$)	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{equiv./L}$)	OSI (TOS/TASX100)
Grup 1 (kontrol)	1,3 \pm 0,31	5,33 \pm 1,51	0,048 \pm 0,03
Grup 2 (sisplatin)	1,1 \pm 0,34	9,27 \pm 2,12	0,11 \pm 0,05
Grup 3 (sisplatin+naringenin)	1,74 \pm 0,43	4,63 \pm 1,48	0,027 \pm 0,013
Grup 4 (naringenin)	1,84 \pm 0,26	5,66 \pm 1,33	0,034 \pm 0,008
P(ANOVA)	P<0,05	P<0,05	P<0,05

TARTIŞMA

Sisplatin, çeşitli kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Ne yazık ki, nefrotoksiste, nörotoksiste ve ototoksiste gibi ciddi yan etkiler yaratmaktadır. Bu çalışma naringenin'in sisplatin ototoksitesine karşı potansiyel koruyucu etkisini araştırmıştır.

Sisplatin uygulanan grupta DPOAE değerlerinde azalma ve ABR eşiklerinde artış gözlemlenmiştir.

Biyokimyasal bulgular ototoksisteyi doğrulamıştır. Naringenin + cisplatin verilen grupta DPOAE değerleri ve ABR eşiklerinin korunduğunu görülmüştür. Biyokimyasal değerlendirmede, oksidatif parametrelerin naringenin + sisplatin grubunda daha düşük ve antioksidatif parametrelerin sisplatin grubundan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, naringenin'in sisplatin kaynaklı ototoksistede koruyucu etkisi odyolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerle gösterilmiştir.

Sisplatin ototoksitesinin hücrel ve moleküler mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, önceki

çalışmalar ototoksiste patogenezinin altında yatan mekanizmanın oksidatif stres olabileceğini göstermiştir. Sisplatin, Corti'nin organı, stria vaskularis, spiral ligaman ve spiral ganglionik hücrelerde aşırı serbest oksijen radikalleri üretimine ve buna bağlı koklea ve OHC' lerde oksidatif hasara yol açarak apoptoza neden olur¹¹. Sisplatin, aşırı serbest oksijen radikalleri üretimi yoluyla antioksidan enzimlerin seviyesini düşürür. Serbest oksijen radikal üretimi ve antioksidatif savunma mekanizmaları arasındaki stabilite bozulduğunda, oksidatif stres meydana gelebilir ve bu da koklea hücresi hasarına veya ölümüne neden olabilir¹⁹. Sisplatin tedavisinin antioksidan enzimlerde (TAS gibi) bir azalmaya ve oksidatif stres ürünleri (TOS ve OSI gibi) seviyesinde bir artışa neden olabileceği iyi bilinmektedir^{20, 21}. Önceki çalışmalara uygun olarak, TOS ve OSI düzeylerinin grup 2'de diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptanmıştır ki bu da sisplatinin serbest oksijen radikallerini artırarak oksidatif stresi artırdığını göstermektedir (Tablo 2).

Naringenin, turuncgillerden elde edilen başlıca biyoaktif flavonoid bileşiği ve güçlü bir antioksidan ajandır¹. Antioksidan aktivitesini,



serbest oksijen radikallerini süpürme ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme gibi farklı mekanizmalarla gösterir^{3,4}. Daha önce yapılmış olan çalışmalar naringenin, GSH (glutasyon) veya SOD (süperoksit dismutaz) gibi antioksidan enzimlerin artışı nedenli oksidatif hücre hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir²². Çalışmamızda grup 3 (sisplatin + naringenin) ve 4 (naringenin) antioksidan parametre TAS değerini grup 2' ye (sisplatin) göre anlamlı olarak yüksek bulduk (Tablo 2). Bu bulgu, naringenin antioksidan aktiviteyi artırdığına dair önceki çalışmaları desteklemektedir.

Bu çalışmanın güçlü yönleri, odyolojik değerlendirmede DPOAE ve ABR testlerinin ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde biyokimyasal parametrelerin kullanılmasıdır.

Çalışmanın sınırlılıkları içinde, farklı naringenin dozların etkinliğinin değerlendirilmemesi, gruplardaki hayvan sayısının istatistiksel olarak yeterli olsa da küçük olması ve literatürde naringenin etkinliğine ilişkin doz yanıt çalışmaları olmasına rağmen²³, naringenin etkisi için doz karşılaştırması yapılmaması sayılabilir. Çalışmamızda naringenin dozunun daha önce yayınlanmış çalışmalara göre belirlenmiş olması da araştırmamızın bir sınırlaması olabilir^{6, 7, 22}. Ayrıca naringenin sisplatinin antitümöral aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmadık. Farklı dozların etkinliğini ve naringenin sisplatinin antitümöral aktivitesi üzerindeki etkinliğini gelecek çalışmalarda değerlendirmek gerekir.

SONUÇ

Bu çalışma, naringenin kullanımının sisplatin kaynaklı ototoksitede etkisini değerlendiren ilk çalışmadır. Çalışmamız odyolojik (DPOAE ve ABR) ve biyokimyasal değerlendirme ile sisplatinin ototoksik etkilerinin eşzamanlı naringenin kullanımıyla sınırlandırabileceğini göstermiştir. Bulgularımızı doğrulamak için daha fazla deneysel ve prospektif randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Babaei H, Sadeghpour O, Nahar L, Delazar A, Nazemiyeh H, Mansouri MR, Poursaeid N, Asnaashari S, Moghadam SB, Sarker SD. Antioxidant and vasorelaxant activities of flavonoids from *Amygdalus lycioides* var. *horrida*. *Turk J Biol* 2008; 32:203-208.
2. Fang F, Tang Y, Gao Z et al. A novel regulatory mechanism of naringenin through inhibition of T lymphocyte function in contact hypersensitivity suppression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 397:163-169
3. Baumann J, Wurm G, Vonbruchhausen F. Prostaglandin synthetase inhibition by flavonoids and phenolic compounds in relation to their O₂ scavenging properties. *Arch Pharmacol* 1980; 313:330-337.
4. Younes M, Seigers CP. Mechanistic aspects of enhanced lipid peroxidation following glutathione depletion in vivo. *Chem Biol Interact* 1981; 84:257-266.
5. Qin L, Jin L, Lu L, Lu X, Zhang C, Zhang F, Liang W. Naringenin reduces lung metastasis in a breast cancer resection model. *Protein Cell* 2011; 507-516.
6. Renugadevi J, Prabu SM. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Exp Toxicol Pathol* 2010; 62(2):171-181.
7. Renugadevi J, Prabu SM. Naringenin protects against cadmium induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology* 2009; 256:128-134
8. Kuhlmann MK, Burkhardt G, Kohler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(12):2478-2480
9. K. Muraki, R. Koyama, Y. Honma, S. Yagishita, T. Shukuya, R. Ohashi, F. Takahashi, K. Kido, S. Iwakami, S. Sasaki, A. Iwase, K. Takahashi, Hydration with magnesium and mannitol without furosemide prevents the nephrotoxicity induced by cisplatin and pemetrexed in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis* 4 2012; 562-568.
10. Nagy JL, Adelstein DJ, Newman CW, Rybicki LA, Rice TW, Lavertu P. Cisplatin ototoxicity: the importance of baseline audiometry. *Am J Clin Oncol* 1999; 28:305-308
11. Yumusakhuyly AC, Yazici M, Sari M, Binnetoglu A, Kosemihal E, Akdas F, Sirvanci S, Yuksel M, Uneri C, Tutkun A. Protective role of resveratrol against cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012; 76:404-408
12. Mendonca LM, da Silva Machado C, Teixeira CC, et al. Curcumin reduces cisplatin-induced neurotoxicity in NGF-differentiated PC12 cells. *Neurotoxicology* 2013; 34:205-211
13. Ozkul Y, Songu M, Basoglu MS, et al. Evaluation of the protective effect of a-lipoic acid on cisplatin ototoxicity using distortion-product otoacoustic emission measurements: an experimental animal study. *J Craniofac Surg* 2014; 25:1515-1518
14. Huang X, Whitworth CA, Rybak LP. Ginkgo biloba extract (EGb 761) protects against cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Otol Neurotol* 2007; 28:828-833
15. Koyuncu I, Kocyigit A, Gonel A, Arslan E, & Durgun M. The Protective Effect of Naringenin-Oxime on Cisplatin-



- Induced Toxicity in Rats. *Biochemistry research international* 2017; 9478958.
16. Sies H, Oxidative stress: introductory remarks, in: H. Sies (Ed.), *Oxidative Stress*, Academic Press, London, 1985, pp. 1-8.
 17. Erel O, A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical catio. *Clin Biochem* 2004; 37 277-285.
 18. Erel O, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38 1103-1111.
 19. Sagit M, Korkmaz F, Akcadag A, Somdas MA. Protective effect of thymoquinone against cisplatin-induced ototoxicity, *Eur Arc. Otorhinolaryngol* 2013; 270 2231e2237
 20. Toplu Y, Parlakpınar H, Sapmaz E, Karatas E, Polat A, Kizilay A. The protective role of molsidomine on the Cisplatin-induced ototoxicity. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2014; 66(3):314-9.
 21. Kelle I, Akkoc H, Tunik S, Nergiz Y, Erdinc M, Erdinc L. Protective effects of ethyl pyruvate in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2014; 28(4):674-680.
 22. Wang J, Yang Z, Lin L, Zhao Z, Liu Z, Liu X. Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2012; 146(3):354-9.
 23. Li P, Wang S, Guan X, Cen X, Hu C, Peng W, Wang Y, Su W. Six months chronic toxicological evaluation of naringin in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2014; 66:65-75.