

Effect of Ecklonia Cava Polyphenol Extract in House Ear Institute-Organ of Corti 1 Cells Against Cisplatin Ototoxicity: A Preliminary Study

Ecklonia Cava Polifenol Ekstresinin Sisplatin Ototoksitesine Karşı House Ear Institute-Organ of Corti 1 Hücrelerindeki Etkisi

Ufuk Düzenli¹, Yüksel Olgun², Safiye Aktaş³, Ayça Pamukoğlu³, Zekiye Altun³

¹İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Original Investigation
Özgün Araştırma

Abstract

Objective: Cisplatin is a widely used agent for the treatment of adult and childhood malignancies. Side effects such as nephrotoxicity, neurotoxicity, and ototoxicity lead to dose limitations. Ecklonia cava polyphenol extract (ECP) is a molecule obtained from algae that live in seawater in the Far East. ECP has recently been shown to have protective effects against oxidative stress. The aim of this study was to evaluate the possible protective effects of ECP on cisplatin ototoxicity.

Methods: In this study, we investigated the protective effects of ECP against cisplatin-induced cell death in mouse-derived House Ear Institute Organ of Corti (HEI-OC1) cochlear cells. Cisplatin (100 µM) and 1, 10, and 25 µM doses of ECP were administered to the cells, and the protective effects of ECP at 24 and

72 hours were investigated. Cell viability was evaluated by the WST-1 (water soluble tetrazolium salt).

Results: Cisplatin (100 µM) reduced cell viability in both the 24th and 72nd hour evaluation. Although the 25 µM dose of ECP showed otoprotective effects in the 24th hour, in the 72nd hour this effect disappeared. Other doses of ECP showed no otoprotective effects in the 24th and 72nd hours.

Conclusion: Although ECP showed some protective effects in the 24th hour against cisplatin ototoxicity, these effects disappeared by the 72nd hour. Further studies using recurrent and higher doses of ECP are required.

Keywords: Cisplatin, ototoxicity, ecklonia cava polyphenol extract (ECP), cochlear cell

Öz

Amaç: Sisplatin çocukluk çağı ve erişkin dönem kanserleri tedavisinde sıkça kullanılan bir ajandır. Nefrotoksisite, nörotoksisite ve ototoksisite gibi yan etkileri doz kısıtlayıcıdır. Ecklonia Cava Polifenol Ekstresi (ECP) Uzak Doğu denizlerindeki alglerden elde edilen bir maddedir. ECP'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı ECP'nin sisplatin ototoksitesine karşı olası koruyucu etkilerinin değerlendirilmesidir.

Yöntemler: Bu çalışmada, fare kaynaklı House Ear Institute Organ of Corti (HEI-OC1) koklear hücrelerinde sisplatin nedenli hücre ölümüne karşı ECP'nin koruyucu etkisini araştırdık. Hücrelere 100 µM sisplatin ve 1, 10 ve 25 µM dozlarında ECP verilip 24 ve 72. saatte ECP'nin koruyucu etkisi araştırıldı.

dı. Hücre canlılığı WST-1 (water soluble tetrazolium salt) yöntemiyle değerlendirildi.

Bulgular: 100 µM sisplatin hem 24. hem de 72. saat analizlerinde hücre canlılığını azalttı. Her ne kadar 24. saatte ECP 25 µM dozunda otoprotektif etki gösterse de, 72. saatte bu etki kayboldu. ECP diğer dozlarda hem 24 hem de 72. saatte koruyucu etki göstermedi.

Sonuç: Her ne kadar 24. saatte ECP 25 µM dozunda otoprotektif etki gösterse de, 72. saatte bu etki kayboldu. Gelecekte rekürren ve yüksek dozda ECP'nin kullanıldığı çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, ototoksisite, Ecklonia cava polifenol ekstresi (ECP), koklear hücreler



This study was presented at the 10th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implants and Related Sciences, 30 April-3 May 2015, Beijing, China.

Bu çalışma, 10. Asya Pasifik Koklear İmplant ve İlgili Bilimler Sempozyumu'nda sunulmuştur, 30 Nisan-3 Mayıs 2015, Pekin, Çin.

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Ufuk Düzenli
E-mail: drufukd35@hotmail.com

Received Date/Geliş Tarihi: 01.11.2016

Accepted Date/Kabul Tarihi: 16.11.2016

© Copyright 2016 by Official Journal of the Turkish Society of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery Available online at www.turkarchotorhinolaryngol.org

© Telif Hakkı 2016 Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği Makale metnine www.turkarchotorhinolaryngol.org web sayfasından ulaşılabilir.

DOI: 10.5152/tao.2016.1974

Giriş

Sisplatin çocukluk çağı ve erişkin dönem kanserlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan anti-neoplastik bir ajandır. Bu molekül serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin oluşumunu indükleyerek

apoptoz ve hücre ölümü sürecini başlatmaktadır. Oksidatif stres bağımlı mekanizmalar sonucu ortaya çıkan ototoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite sisplatin tedavisinin en önemli yan etkileridir (1, 2). Sisplatin ototoksitesisi özellikle yüksek fre-

kansların geri dönüşümsüz olarak etkilendiği bilateral simetrik bir işitme kaybı şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu geri dönüşümsüz yan etkinin ortaya çıkmasını önlemek amacıyla sodyum thiosülfat, N-asetil sistein, asetil-L-karnitin, Korean red ginseng ve resveratrol gibi birçok antioksidan ajan *in vitro* ve *in vivo* olarak denenmiştir (3-6).

Ecklonia cava polifenol ekstresi (ECP), Uzak doğu denizlerinde yaşayan kahverengi alglerden elde edilen bir polifenol bileşimidir. Yapılan birçok çalışmada bu bileşiğin antioksidan özelliklerinin yanı sıra, antidiyabetik, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etkileri olduğu da ortaya konmuştur. Antioksidan etkilerini özellikle reaktif oksijen radikallerini azaltıp; katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin düzeyini artırarak sağladıkları belirtilmiştir (7-9).

Bu çalışmada ECP'nin sislptatin ototoksitesine karşı olası koruyucu etkilerinin House Ear Institute Organ of Corti (HEI-OC1) hücre kültüründe araştırılması planlanmıştır.

Yöntemler

House Ear Institute Organ of Corti (House Ear Institute, Los Angeles, ABD) immortal fare koklear hücrelerinden elde edilmiş bir hücre kültürüdür. Sislptatin (Cisplatin-Ebewe® 50 mg/100 mL, Liba, Unterach, Avusturya) doz belirlenerek hücre kültür ortamı ile dilue edildi. ECP (Seapolyol®; Botamedi Inc., Seul, Kore Cumhuriyeti) 1, 10 ve 25 µM dozlarında taze olarak hazırlandı.

HEI-OC1 hücreleri 33°C, %10 CO₂ ve nem içeren ortamda Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM), %10 fetal bovin serum ve %1 L-glutamin içeren antibiyotiksiz ortamda üretilerek kullanıldı. HEI-OC1 hücreleri 10⁴/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu plaklara ekildi. Hücre canlılık testi için hücrelerin %60-70 karışım haline geldiği 24 saat sonra sislptatin ve ECP ajanları hücre kültürüne uygulandı. Sislptatin dozu 100 µM olacak şekilde belirlendi.

Çalışma grupları şu şekilde oluşturuldu;

- Grup 1: Kontrol grubu
- Grup 2: 1 µM ECP verilen grup
- Grup 3: 10 µM ECP verilen grup
- Grup 4: 25 µM ECP verilen grup
- Grup 5: 100 µM Sislptatin verilen grup
- Grup 6: 100 µM Sislptatin+ 1 µM ECP kombinasyonu verilen grup
- Grup 7: 100 µM Sislptatin+ 10 µM ECP kombinasyonu verilen grup
- Grup 8: 100 µM Sislptatin+ 25 µM ECP kombinasyonu verilen grup

Ajanlar verildikten 24 ve 72 saat sonra her kuyucuğa 10µl WST-1 (water soluble tetrazolium salt) (Roche, Mannheim, Almanya) solüsyonu uygulandı, 2 saatlik inkübasyon için %10

CO₂ ve 33°C olan inkübatörde bekletildi. Daha sonra çıkarılan hücrelerin absorbansları ELISA plak okuyucuda (Thermo) 450 nm/630 nm'de dalga boylarında okutuldu ve hücre canlılığı tespit edildi. Kontrol hücre canlılıkları %100 kabul edilerek ajanların oluşturduğu hücre canlılık değişimleri yüzde ile ifade edildi.

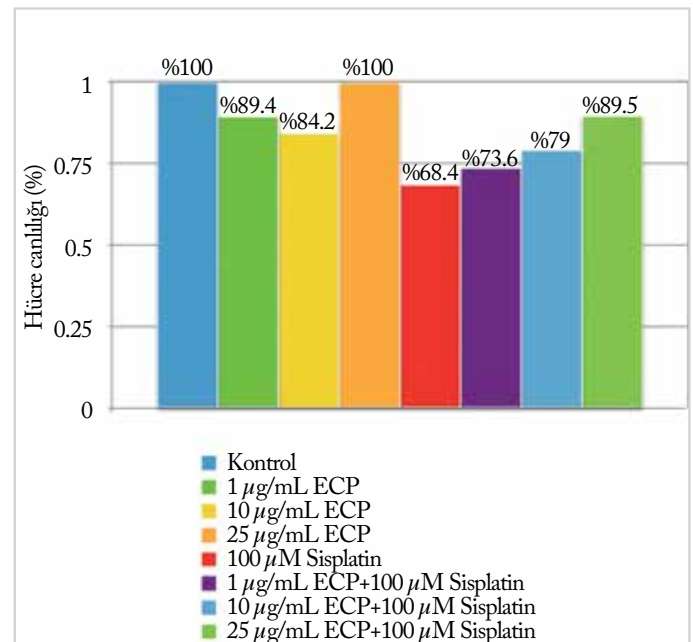
Elde edilen veriler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc.; version 16.0, Chicago, ABD) kullanılarak Mann-Whitney-U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Laboratuvarlarında Helsinki deklarasyonuna uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

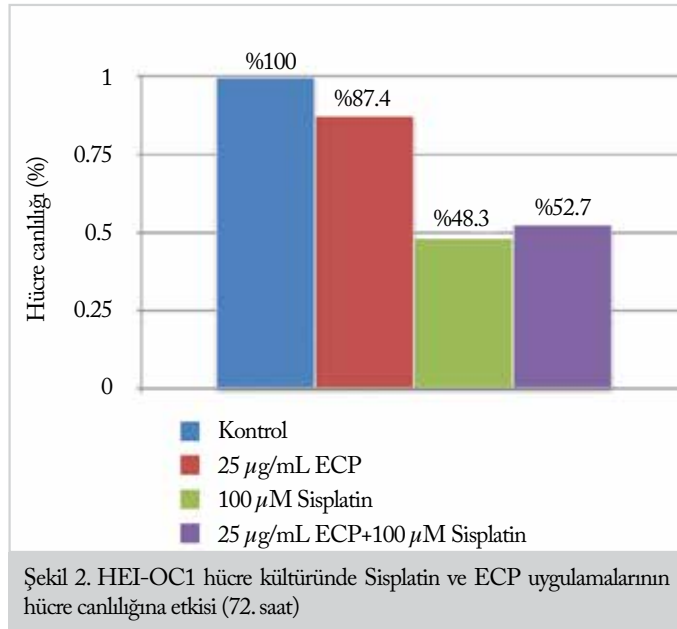
Bulgular

HEI-OC1 hücre kültürüne uygulanan ajanların 24. saat analizinde 1 ve 10 µM ECP'nin hücre canlılığını bir miktar azalttığı gözlenmiş (%89.4 ve %84.2) olup, 25 µM ECP verilen grupta ise hücre canlılığı %100 olarak görülmüştür (Şekil 1). Sislptatin uygulanan grup incelendiğinde hücre canlılığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak (%68.4) azalmıştır (p<0.05). Sislptatin ile birlikte ECP uygulandığında ise; ECP dozuna bağlı olarak hücre canlılığı değişmiş olup hücre canlılığının en iyi korunduğu doz 25 µM (%89.5) olarak saptanmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

Sislptatin verilen hücrelerde canlılık 72. saat sonunda yaklaşık %48.3 olarak saptanmıştır. Ancak 25 µM ECP ve sislptatin verilen grupta hücre canlılığı sadece sislptatin verilen gruba göre daha yüksek gözükse de (%52.7) bu farklılık istatistiksel anlamlılığa yansımamıştır (p>0.05) (Şekil 2).



Şekil 1. HEI-OC1 hücre kültüründe Sislptatin ve ECP uygulamalarının hücre canlılığına etkisi (24. saat)



Tartışma

Sisplatin, birçok erişkin ve çocukluk çağı malignitesinin tedavi protokolünde yer alan nefrotoksik ve nörotoksik yan etkileri yanı sıra ototoksisiteye neden olduğu bilinen bir antineoplastik ajandır. Ototoksisite nedeni ile oluşan işitme azlığı özellikle küçük çocuk hastalarda dil gelişimini de olumsuz yönde etkileyerek hayat kalitesini bozmaktadır. Bu ajanın iç kulakta serbest oksijen radikallerinin aşırı ekspresyonuna neden olması ve koklear antioksidan enzimlerin bu radikalleri nötralize edememesi sonucunda kaspaz bağımlı ve bağımsız apoptoz süreci başlamaktadır. Bu süreç temelde iç tüylü hücreler, stria vaskülaris ve spiral ganglion nöronlarını etkilemektedir. Sisplatinin oluşturduğu ototoksik etkiyi önlemek amacıyla N-asetil sistein, asetil-L-karnitin, resveratrol, Korean red ginseng gibi birçok etken madde üzerinde durulsa da halen American Food and Drug Association (FDA) tarafından kabul gören bir ajan yoktur (3-6, 10, 11).

Ecklonia cava polifenol ekstresinin antioksidan, antiinflamatuvar, antiallerjen özellikleri olan 8.8'-bieckol, 6.6'-bieckol, 7-phloroecol, phlorofurofucoecol A, eckol, 2-phloroecoli phlorotannin A gibi birçok farklı florotanin molekülü taşıdığı belirtilmektedir (12-14). Polifenoller elektron zengin bileşikler olup, elektron verici reaksiyonlara girerek oksidatif radikal oluşumunu engelleyebilmektedir (15). Bu florotanin bileşiklerinin *in vitro* deneylerde myeloperoksidaz ve glutatyon seviyelerini artırdığı gösterilmiştir (13).

Sisplatinin oluşturduğu ototoksisite mekanizmaları gözönünde bulundurularak ECP'nin olası koruyucu etkisini ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışmada, farklı dozlarda ECP kullanılmıştır. Sisplatin ile birlikte uygulanan 1, 10 µM ECP dozu 24. saatte hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmazken, 25 µM ECP dozunda istatistiksel olarak hücre canlılığını artırdığı izlenmiştir. Ancak 72. saatte sisplatin toksisitesine karşı hücre canlılığını koruyucu etki 25 µM ECP dozunda dahi görülmemiştir.

Sisplatinin antikanser ve toksik etkileri göz önünde bulundurularak ECP ile etkileşimini araştıran, *in vivo* ve *in vitro* olarak gerçekleştirilen bir çalışmada ECP'nin sisplatinine bağlı ortaya çıkan nefrotoksisiteyi düzelttiği ve sisplatinin tümörü inhibe edici etkisini kuvvetlendirdiği saptanmıştır. Sağlıklı hücrelerde serbest radikal oluşumunu azalttığı görülürken, kanserli hücrelerde bunun tersi şekilde serbest oksijen radikallerinin arttığı ve apoptozun tetiklendiği görülmüştür (16). Benzer şekilde meme kanseri hücre kültüründe ECP bileşenlerinin antiproliferatif etkisi ortaya koyulmuştur (17).

Chang ve ark. (18) bir çalışmalarında bir ECP bileşeni olan dieckolün koklear hücre kültüründe gentamisin oluşturduğu hücre hasarına karşı koruyucu rolü olduğu ve aynı zamanda antimikrobiyal etkiyi devam ettirdiği ortaya koyulmuştur. Dieckolün süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri indüklerken nitrikoksit sentetaz, siklooksijenaz-2 gibi proinflamatuvar enzimleri inhibe ederek oksijen radikali oluşumunu önlediği gösterilmiştir (19, 20). Chang ve ark. (21) bir diğer çalışmalarında intraperitoneal olarak uygulanan ECP'nin akustik travmaya karşı iç kulağı koruduğunu odyolojik ve histolojik olarak göstermiştir. Bu çalışmada yüksek ses maruziyeti öncesinde 5 gün arka arkaya ECP uygulaması yapılmıştır. Akustik travmanın indüklediği PGF₂α iskemiyeye yol açmakla birlikte iç tüylü hücrelerde glutamat salınımına ve sonucunda nöronlarda fonksiyon kaybına sebep olmaktadır. Bu çalışmada polifenol bileşiğinin bu etkiyi engelleyip nöronal kaybı ve sonucunda işitme kaybını önlediği öne sürülmüştür (21). Çalışmamızda diğerlerinden farklı olarak HEI-OC1 koklea hücrelerinde *in vitro* olarak ECP'nin 24. saatte 25 µM dozunda hücre canlılığını artırırken, 72. saatte bu olası koruyucu etkiyi gösteremediğini saptadık. Bu veriler bize tek doz yerine tekrarlayan yüksek doz ECP uygulamalarının sisplatinin hücre canlılığını bozucu etkilerine karşı faydalı olabileceğini düşündürmüştür.

Murin hipokampus hücre kültüründe yapılan *in vitro* bir çalışmada ECP bileşiğinin hidrojen peroksidin toksik etkisine karşı nöronal yapıları koruduğu öne sürülmüştür (22). Hidrojen peroksidaz etkisiyle oluşan serbest oksijen radikalleri beyindeki hücrelerde hızlı bir şekilde lipid peroksidasyonunu indükleyerek hücre membranının yapısını bozmakta olup, florotanninler lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre stabilizasyonuna fayda sağlamaktadır. Bununla birlikte yine bu bileşikler serbest oksijen radikalleri etkisiyle artan hücre içi Ca²⁺ seviyelerinin normal düzeylerde olmasını sağlayarak proapoptotik süreçlerin başlamasına engel olmaktadır (22). İskemi veya oksidatif stres sonrasında hücre içi mitokondrial fonksiyon azlığı oluşması hücre içi kalsiyum regülasyonunu bozmakta, bu da hücre yıkımını başlatan proteaz aktivitelerini artırmaktadır. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada iske mi veya hidrojen peroksid hasarına karşı ECP'nin hücre kalsiyum seviyelerini dengelediği ve hücre hasarını bu şekilde önlediği belirtilmiştir (23). Özellikle nöronlarda enerji ihtiyacının fazla olması bu hücreleri oksidatif strese karşı daha duyarlı kılmaktadır. ECP bileşiği ise antioksidan sistemleri aktive ederek ve homeostaza katkı sağlayarak nöroprotektif etki sağlamaktadır (22, 23). Bir ECP bileşeni olan dieckolün mikroglial supresyon sağlayarak nöroprotektif etki sağladığı öne sürülmüştür (24).

Ecklonia cava polifenol ekstresi bileşiklerinin antioksidan etkisini ortaya koyan çalışmaların bir çoğu radyoaktiviteye karşı koruyucu rolünü ortaya koymak amaçlı yapılmıştır (25-29). Radyoterapi ile indüklenen oksidatif stres nedeniyle oluşan hücre hasarının önlenmesinde polifenol bileşikleri antioksidan etkilerini direkt olarak oksijen radikalleri ile tepkimeye girerek veya indirekt yolla katalaz, süperoksid dismutaz, myeloperoksidaz gibi enzim sistemlerini aktive ederek göstermekte olduğu belirtilmiştir (15, 28-30). Bir ECP bileşeni olan eckolün proapoptotik p53 ve Bax genlerini baskılayarak ve antiapoptotik Bcl-2 genini indükleyerek radyasyon hasarına karşı hücrede apoptozu engellediği öne sürülmüştür (30).

Bu çalışma ECP'nin sisplatin ototoksitesine karşı olası koruyucu etkilerini araştıran ilk *in vitro* çalışma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamızın kısıtlı yönleri ECP'nin daha yüksek ve tekrarlayan dozlarda test edilmemesi, olası koruyucu mekanizmalar açısından değerlendirilmemesidir. İleride gerçekleştirilecek farklı tasarımlı çalışmalar bu sorulara yanıt verebilir.

Sonuç

HEI-OC1 hücre kültüründe yapılan bu çalışmada, sisplatin uygulamasına bağlı olarak hücre canlılığı azalmasına karşın çalışılan dozlarda ECP uygulaması ile otoprotektif bir etki ortaya çıkmamıştır. ECP'nin sisplatin ototoksitesine karşı olası otoprotektif etkilerinin başka *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla daha yüksek ve tekrarlayan doz uygulamalarıyla incelenmesi gerekmektedir.

Ethics Committee Approval: Authors declared that the research was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013).

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author contributions: Concept - U.D., Z.A.; Design - Y.O.; Supervision - Z.A., S.A.; Resource - Z.A., S.A.; Materials - A.P.; Data Collection and/or Processing - U.D., A.P.; Analysis and/or Interpretation - U.D., Z.A.; Literature Search - U.D.; Writing - U.D., Z.A.; Critical Reviews - Y.O.

Acknowledgements: We thank Prof. Federico Kalinec (House Ear Institute, Los Angeles, CA, USA) for kindly providing the HEI-OC1 cells.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013) prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - U.D., Z.A.; Tasarım - Y.O.; Denetleme - Z.A., S.A.; Kaynaklar - Z.A., S.A.; Gereçler - A.P.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - U.D., A.P.; Analiz ve/veya Yorum - U.D., Z.A.; Literatür taraması - U.D.; Yazıyı Yazan - U.D., Z.A.; Eleştirel İnceleme - Y.O.

Teşekkür: HEI-OC1 hücrelerini sağlayan Prof. Federico Kalinec' (House Ear Institute, Los Angeles, CA, ABD) teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

- Gunes D, Kırkım G, Demiral P, Mutafoglu K, Serbetcioğlu B, Olgun N. Platinum-induced ototoxicity in children and adolescents with cancer. *J Int Adv Otol* 2009; 5: 345-55.
- Rybak LP. Mechanisms of cisplatin ototoxicity and progress in otoprotection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 15: 364-9. [CrossRef]
- Olgun Y. Cisplatin Ototoxicity: Where we are? *J Int Adv Otol* 2013; 9: 403-16.
- Altun Z, Olgun Y, Ercetin P, Aktaş S, Kırkım G, Şerbetcioğlu B, et al. Protective effect of acetyl-L carnitine against cisplatin ototoxicity: role of apoptosis-related genes and pro-inflammatory cytokines. *Cell Prolif* 2014; 47: 72-80. [CrossRef]
- Olgun Y, Kırkım G, Altun Z, Aktaş S, Kolatan E, Kiray M, et al. Protective effect of Korean red ginseng on cisplatin ototoxicity: Is it effective enough? *J Int Adv Otol* 2016; 12: 177-83. [CrossRef]
- Im GJ, Chang JW, Choi J, Chae SW, Ko EJ, Jung HH. Protective effect of Korean red ginseng extract on cisplatin ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells. *Phytother Res* 2010; 24: 614-21.
- Kang K, Park Y, Hwang HJ, Kim SH, Lee JG, Shin HC. Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. *Arch Pharm Res* 2003; 26: 286-93. [CrossRef]
- Li Y, Qian ZJ, Ryu BM, Lee SH, Kim MM, Kim SK. Chemical components and its antioxidant properties *in vitro*: An edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *Bioorg Med Chem* 2009; 17: 1963-73. [CrossRef]
- Kim SK, Lee DY, Jung WK, Kim JH, Choi I, Park SG, et al. Effects of *Ecklonia cava* ethanolic extracts on airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine asthma model: role of suppressor of cytokine signaling. *Biomed Pharmacother* 2008; 62: 289-96. [CrossRef]
- Mukherjee D, Rybak LP. Pharmacogenomics of cisplatin-induced ototoxicity. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 1039-50. [CrossRef]
- Olgun Y, Kırkım G, Kolatan E, Kiray M, Bağrıyanık A, Olgun A, et al. Friend or Foe? Oral resveratrol on cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 2014; 124: 760-6. [CrossRef]
- Kang MC, Cha SH, Wijesinghe WA, Kang SM, Lee SH, Kim EA, et al. Protective effect of marine algae phlorotannins against AAPH-induced oxidative stress in zebrafish embryo. *Food Chem* 2013; 138: 950-5. [CrossRef]
- Li Y, Lee SH, Le QJ, Kim MM, Kim SK. Anti-allergic effects of phlorotannins on histamine release via binding inhibition between IgE and Fc epsilonRI. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 12073-80. [CrossRef]
- Singh IP, Bharate SB. Phloroglucinol compounds of natural origin. *Nat Prod Rep* 2006; 23: 558-91. [CrossRef]
- Kang KA, Lee KH, Chae S, Zhang R, Jung MS, Lee Y, et al. Eckol isolated from *Ecklonia cava* attenuates oxidative stress induced cell damage in lung fibroblast cells. *FEBS Lett* 2005; 579: 6295-304. [CrossRef]

16. Yang YI, Ahn JH, Choi YS, Choi JH. Brown algae phlorotannins enhance the tumoricidal effect of cisplatin and ameliorate cisplatin nephrotoxicity. *Gynecol Oncol* 2015; 136: 355-64. [\[CrossRef\]](#)
17. Kong CS, Kim JA, Yoon NY, Kim SK. Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia Cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1653-8. [\[CrossRef\]](#)
18. Chang MY, Byon SH, Shin HC, Han SE, Kim JY, Byun JY, et al. Protective effects of the seaweed phlorotannin polyphenolic compound dieckol on gentamicin-induced damage in auditory hair cells. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2016; 83: 31-6. [\[CrossRef\]](#)
19. Kang MC, Kang SM, Ahn G, Kim KN, Kang N, Samarakoon KW, et al. Protective effect of a marine polyphenol, dieckol against carbon tetrachloride induced acute liver damage in mouse. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013; 35: 517-23. [\[CrossRef\]](#)
20. Lee SH, Han JS, Heo SJ, Hwang JY, Jeon YJ. Protective effects of dieckol isolated from *Ecklonia cava* against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 375-81. [\[CrossRef\]](#)
21. Chang MY, Han SY, Shin HC, Byun JY, Rah YC, Park MK. Protective effect of a purified polyphenolic extract from *Ecklonia cava* against noise-induced hearing loss: Prevention of temporary threshold shift. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2016; 87: 178-84. [\[CrossRef\]](#)
22. Kang SM, Cha SH, Ko JY, Kang MC, Kim D, Heo SJ, et al. Neuroprotective effects of phlorotannins isolated from a brown alga, *Ecklonia cava*, against H₂O₂-induced oxidative stress in murine hippocampal HT22 cells. *Environ Toxicol Pharmacol* 2012; 34: 96-105. [\[CrossRef\]](#)
23. Kim JH, Lee NS, Jeong YG, Lee JH, Kim EJ, Han SY. Protective efficacy of an *Ecklonia cava* extract used to treat transient focal ischemia of the rat brain. *Anat Cell Biol* 2012; 45: 103-13. [\[CrossRef\]](#)
24. Cui Y, Park JY, Wu J, Lee JH, Yang YS, Kang MS, et al. Dieckol attenuates microglia-mediated neuronal cell death via ERK, Akt and NADPH Oxidase-mediated pathways. *Korean J Physiol Pharmacol* 2015; 19: 219-28. [\[CrossRef\]](#)
25. Park SJ, Ahn G, Lee NH, Park JW, Jeon YJ, Jee Y. Phloroglucinol (PG) purified from *Ecklonia cava* attenuates radiation-induced apoptosis in blood lymphocytes and splenocytes. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 2236-42. [\[CrossRef\]](#)
26. Zhang R, Kang KA, Piao MJ, Ko DO, Wang ZH, Lee IK, et al. Eckol protects V79-4 lung fibroblast cells against γ -ray radiation-induced apoptosis via the scavenging of reactive oxygen species and inhibiting of the c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway. *Eur J Pharmacol* 2008; 591: 114-23. [\[CrossRef\]](#)
27. Moon C, Kim SH, Kim JC, Hyun JW, Lee NH, Park JW, et al. Protective effect of phlorotannin components phloroglucinol and eckol on radiation-induced intestinal injury in mice. *Phytother Res* 2008; 22: 238-42. [\[CrossRef\]](#)
28. Park E, Ahn GN, Lee NH, Kim JM, Yun JS, Hyun JW, et al. Radioprotective properties of eckol against ionizing radiation in mice. *FEBS Lett* 2008; 582: 925-30. [\[CrossRef\]](#)
29. Jang J, Ye BR, Heo SJ, Oh C, Kang DH, Kim JH, et al. Photo-oxidative stress by ultraviolet-B radiation and antioxidative defense of eckstolonol in human keratinocytes. *Environ Toxicol Pharmacol* 2012; 34: 926-34. [\[CrossRef\]](#)
30. Park E, Lee NH, Joo HG, Jee Y. Modulation of apoptosis of eckol against ionizing radiation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372: 792-7. [\[CrossRef\]](#)