



Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektiv Etkileri

Yusuf DAĞ¹, Emin ŞENGÜL¹, Muzaffer SELÇUK², Serkan YILDIRIM³, Fikret ÇELEBİ¹, Ali ÇINAR¹✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Yüzüncüyıl Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, Van, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
26.01.2018	09.03.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Dağ Y, Şengül E, Selçuk M, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A: Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektiv Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 219-228, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.384225

Öz: Bu çalışmada cyclophosphamide (CYP) ile indüklenen nefrotoksisitede Naringin'in protektiv etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu. Hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin ölçümü Abocus Junior Vet5 hemogram cihazında rat modunda ve Modüler PP otoanalizöründe yapıldı. CYP'li gruplarda alyuvar sayısı, akuyuvar sayısı, hematokrit değeri, trombosit sayısı ve lenfosit (%) düşmesine rağmen, nötrofil (%) ve monosit (%) miktarı arttı ($P<0.05$). CYP gruplarında potasyum (K) ve sodyum (Na) düzeyinde istatistiksel anlamda ($P<0.05$) düşüş görülürken, fosfor (P), magnezyum (Mg), klor (Cl) ve kalsiyum (Ca)'da düşüş görülmedi. Böbrek fonksiyon testlerinden glikoz, kreatin ve ürik asit seviyeleri istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde yükselirken ($P<0.05$), üre, BUN ve laktat dehidrojenaz (LDH) değerlerindeki yükseliş ise anlamsız bulundu. Histopatolojik incelemede; CYP'nin etkisiyle böbrek dokusu tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, Bowman kapsülünde dilatasyon, intersitisyel damarlarda ve glomeruluslarda hiperemi belirlendi. Böbrekte oluşan bu hasarların Naringin'in sitoprotektiv etkisiyle doza bağlı olarak azaldığı saptandı. Naringin'in farklı dozlarının, CYP'nin olumsuz etkilerini ve nefrotoksisiteyi baskılama etkisine sahip olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: CYP, Kan Parametreleri, Naringin, Nefrotoksisite, Rat.

The Protective Effects of Naringin on Some Blood Parameters and Kidney Histopathology in Cyclophosphamide Induced Nephrotoxicity in Rats

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the protective effects of Naringin on nephrotoxicity by Cyclophosphamide (CYP)-induced rats. In our study, forty male adult Sprague Dawley rat weighing approximately 200-250 g were used and 5 groups formed. Measurement of hematologic and biochemical parameters were done in the rat mode on the Abocus Junior Vet 5 hemogram and on Modular PP autoanalyzer instruments. In the CYP groups, Neutrophil (%) and monocyte (%) increase despite red blood cell count, white blood cell count, hematocrit value, thrombocyte count and lymphocyte (%) decrease ($P<0.05$). While there were a decrease in potassium and sodium levels ($P<0.05$), but no decrease in other parameters such as phosphorus, magnesium, chlorine and calcium. Although glucose, creatinine and uric acid levels from renal function tests were statistically significantly increased at ($P<0.05$), the increase in urea, BUN and lactate dehydrogenase (LDH) values were not significant. In the histopathological examination; It was determined that severely hydropic degeneration and coagulation necrosis in tubule epithelia, dilatation in Bowman capsule, hyperemia in interstitial vein and glomerulus of kidney tissue by the effects of CYP. These damages in the kidney were found to be reduced as dose-dependent due to cytoprotective effects of Naringin. It was determined that different doses of Naringin suppress nephrotoxicity and the negative effect of CYP.

Keywords: CYP, Hematological Parameters, Naringin, Nephrotoxicity, Rat.

GİRİŞ

Antineoplastik bir ajan olan cyclophosphamide (CYP) kemoterapide sıkça kullanılmaktadır. CYP bağışıklık sistemini baskılamakta ve tedavide bazı yan etkileri bulunmaktadır (1). CYP'den akut ve kronik lösemi, lenfoma, multipl miyeloma, meme kanseri, yumurtalık kanseri, göğüs kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, nöroblastom ve sarkom, romatoid artriti tedavi etmek için, bağışıklık bastırıcı olarak, nefrotik sendrom, kemik iliği ve organ nakli gibi pekçok durumda yararlanılmaktadır. Antineoplastik kemoterapik ajanlar genelde bir ya da daha fazla hedef dokuda sitotoksik etki oluştururlar (2-5). Bu kemoterapotik ajanlardan birisi olan CYP'nin başlıca yan etkileri ise akyuvar sayısında azalma (lököpeni), iştahsızlık, kusma, saç dökülmesi, mesanede kanama, infertilite, alerjik reaksiyonlar ve pulmoner fibrozis riskinin artmasıdır. CYP gonadal toksisiteye ve karaciğerde oksidatif stresin artmasına da neden olmaktadır (6,7).

Son zamanlarda antikanser ilaçların sitotoksit ve yan etkilerini en az düzeye indirmek ve oluşabilecek oksidatif stresi azaltmak amacıyla bitkisel kökenli flavonoid bileşiklerden yararlanılmaktadır. Bunlar arasında en önemli olanlarından birisi de turunçgillerde yaygın olarak bulunan Naringin, Hesperidin ve Naringenin'dir (8). Naringin vücutta antioksidan (9), kemik büyümesini uyarıcı (10), plazma kolesterol seviyesini düşürücü (11), anti-aterosklerotik (12), antitümör (13) ve antifungal (14) etkileri içeren çeşitli farmakolojik ve terapötik özellikler sergileyen bir flavonoiddir.

Antikanser ajanların sebep olduğu organ toksisiteleri ve bu toksisitelerde bitkilerin yapısında bulunan bileşiklerin koruyucu veya tedavi edici etkileri üzerine çalışmalar yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Yapılan literatür taramalarında ratlarda CYP ile böbrek toksisitesi üzerine Naringin'in protektif etkilerini araştıran yeterli düzeyde bilimsel bilgiye de rastlanılamamıştır. Bu çalışmada; CYP uygulaması ile oluşturulan nefrotoksitede, böbrek fonksiyonlarının bir göstergesi olan hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile böbreğin

histopatolojisi üzerine Naringin'in protektif etkilerinin araştırılması ve literatüre katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2016/122). Araştırmada deney hayvanı olarak yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldu. Gruplarda yeterli örneğin sağlanabilmesi için her bir grupta 8 ratın bulunduğu 5 grup oluşturuldu.

Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1ml), Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik (1ml) ve 10. gün tek doz intra peritoneal (i.p.) CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve Naringin uygulamasının 10. günü tek doz CYP (200 mg/kg, i.p.) enjekte edildi (15,16). Grup 5'e ise 10 gün boyunca yalnızca 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde ratlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alındı. İntra kardiyak kan örnekleri alındıktan sonra servikal dislokasyon metodu ile kurban edildi.

Hematolojik parametrelerin ölçümü Abocus Junior Vet5 hemogram cihazında ve Modüler PP otoanalizöründe yapıldı. Histopatolojik inceleme için alınan böbrek dokusu örneklerinde rutin doku takibi prosedürü uygulandı ve hazırlanan preparatlar hematoksilen-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu (Leica DM 1000, Germany) ile incelendi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20 istatistik programında yapıldı. Veriler One Way ANOVA'da Tukey testi ile değerlendirildi ve değerler, ortalama±SD olarak verildi. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda; CYP ile oluşturulmuş nefrotoksisite ve Naringin'in protektif etkilerinin araştırıldığı gruplardaki hematolojik değerler, elektrolit denge ve böbrek fonksiyon parametreleri ve histopatolojik bulgular Tablo 1, 2, 3, 4 ve Şekil 1' de verildi.

Deney gruplarının hematolojik değerleri Tablo 1'de verildi. CYP'li gruplarda alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, HCT değeri, PLT sayısı ve lenfosit yüzdesi düşmesine rağmen nötrofil ve monosit yüzdesinin istatistiki bağlamda $P<0.05$ düzeyinde arttığı görüldü.

Tablo 1. CYP ve protektif Naringin uygulamasının ratlarda bazı hematolojik parametreler üzerine etkileri ($X\pm SD$).
Table 1. Effects on some hematological parameters in rats of CYP and protective naringin administration ($X\pm SD$).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Alyuvar ($10^6/mm^3$)	6.44±0.51 ^a	4.72±0.48 ^b	4.98±0.54 ^b	5.23±0.44 ^b	6.82±0.55 ^a
Akyuvar ($10^4/mm^3$)	10.3±0.83 ^a	7.11±0.92 ^b	8.4±0.55 ^b	8.6±0.52 ^b	10.9±0.56 ^a
Hemoglobin (HGB)(mg/dl)	13.4±0.45 ^a	12.7±0.31 ^a	12.8±0.26 ^a	12.8±0.54 ^a	13.9±0.47 ^a
Hematokrit (HCT) (%)	38±2.1 ^{ac}	33±0.42 ^b	33±0.61 ^b	37±0.34 ^c	40±0.36 ^a
Trombosit (PLT) ($10^5/mm^3$)	5.4±0.5 ^a	3.9±0.6 ^b	4.0±0.4 ^b	5.2±0.3 ^a	5.3±0.2 ^a
Lenfosit (%)	66±4.3 ^a	48±5.6 ^b	48±5.5 ^b	58±6.2 ^{ab}	67±6.3 ^a
Nötrofil (%)	28±2.1 ^a	57±7.4 ^b	55±5.2 ^b	48±4.9 ^b	30±4.6 ^a
Monosit (%)	3±0.4 ^a	8±0.8 ^b	8±0.7 ^b	5±0.3 ^c	4±0.4 ^d

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab, ac} : ($P<0.05$)

Elektrolitlerin grup içi ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2'de verildi. Tablo 2'de görüldüğü gibi CYP ve Naringin50+CYP gruplarında Na^+ ve K

miktarları $P<0.05$ düzeyinde düşerken; Ca, P, Mg ve Cl seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmedi.

Tablo 2. CYP ve protektif naringin uygulamasının ratlarda elektrolit düzeyler üzerine etkileri ($X\pm SD$).
Table 2. Effects on electrolit levels in rats of CYP and protective naringin administration ($X\pm SD$).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Ca (mg/dl)	9.0±0.7 ^a	10.4±0.9 ^a	10.4±0.9 ^a	9.5±0.8 ^a	8.9±0.7 ^a
P (mg/dl)	11.4±0.7 ^a	11.9±0.9 ^a	12±1.1 ^a	11.7±1.1 ^a	11.5±0.7 ^a
Mg (mg/dl)	3.2±0.39 ^a	3.0±0.40 ^a	3.0±0.40 ^a	3.0±0.50 ^a	3.2±0.40 ^a
Na^+ (mmol/L)	135±2.1 ^a	128±2.2 ^b	129±2.2 ^b	133±2.0 ^{ab}	135±2.0 ^a
Cl (mmol/L)	104±1.1 ^a	101±1.2 ^a	102±2.1 ^a	102±2.0 ^a	104±1.9 ^a
K (mmol/L)	9.8±0.3 ^a	8.5±0.6 ^b	8.8±0.6 ^b	9.2±0.7 ^{ab}	9.4±0.6 ^{ab}

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab}: ($P<0.05$).

Böbrek fonksiyon parametreleri Tablo 3'te sunuldu. Tablo 3'ten de anlaşıldığı gibi CYP, Naringin50+CYP ve Naringin100+CYP gruplarında glikoz, kreatin ve ürik asit seviyesi istatistiksel açıdan

P<0.05 düzeyinde anlamlı bir şekilde yükselirken; üre, BUN ve LDH değerlerinde anlamlı düzeyde bir değişim olmadı.

Tablo 3. CYP ve protektif naringin uygulamasının ratlarda böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkileri (X±SD).
Table 3. Effects on kidney function parameters in rats of CYP and protective naringin administration (X±SD).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Glukoz (mg/dl)	112±16 ^a	230±30 ^b	230±43 ^b	182±24 ^b	110±14 ^a
Kreatin (mg/dl)	0.66±0.05 ^a	0.94±0.06 ^b	0.89±0.06 ^b	0.77±0.05 ^c	0.71±0.06 ^{ac}
Üre (mg/dl)	50±5 ^a	61±8 ^a	59±8 ^a	55±6 ^a	48±7 ^a
Ürik Asit (mg/dl)	2.0±0.04 ^a	2.33±0.05 ^b	2.33±0.04 ^b	2.22±0.05 ^b	2.1±0.05 ^c
BUN (mg/dl)	24±2.3 ^{ab}	28±2.6 ^a	27±2.5 ^a	26±2.5 ^{ab}	23±1.9 ^b
LDH (U/L)	1500±230 ^a	1850±370 ^a	1830±255 ^a	1800±210 ^a	1550±215 ^a

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab}: (P<0.05).

Histopatolojik Bulgular

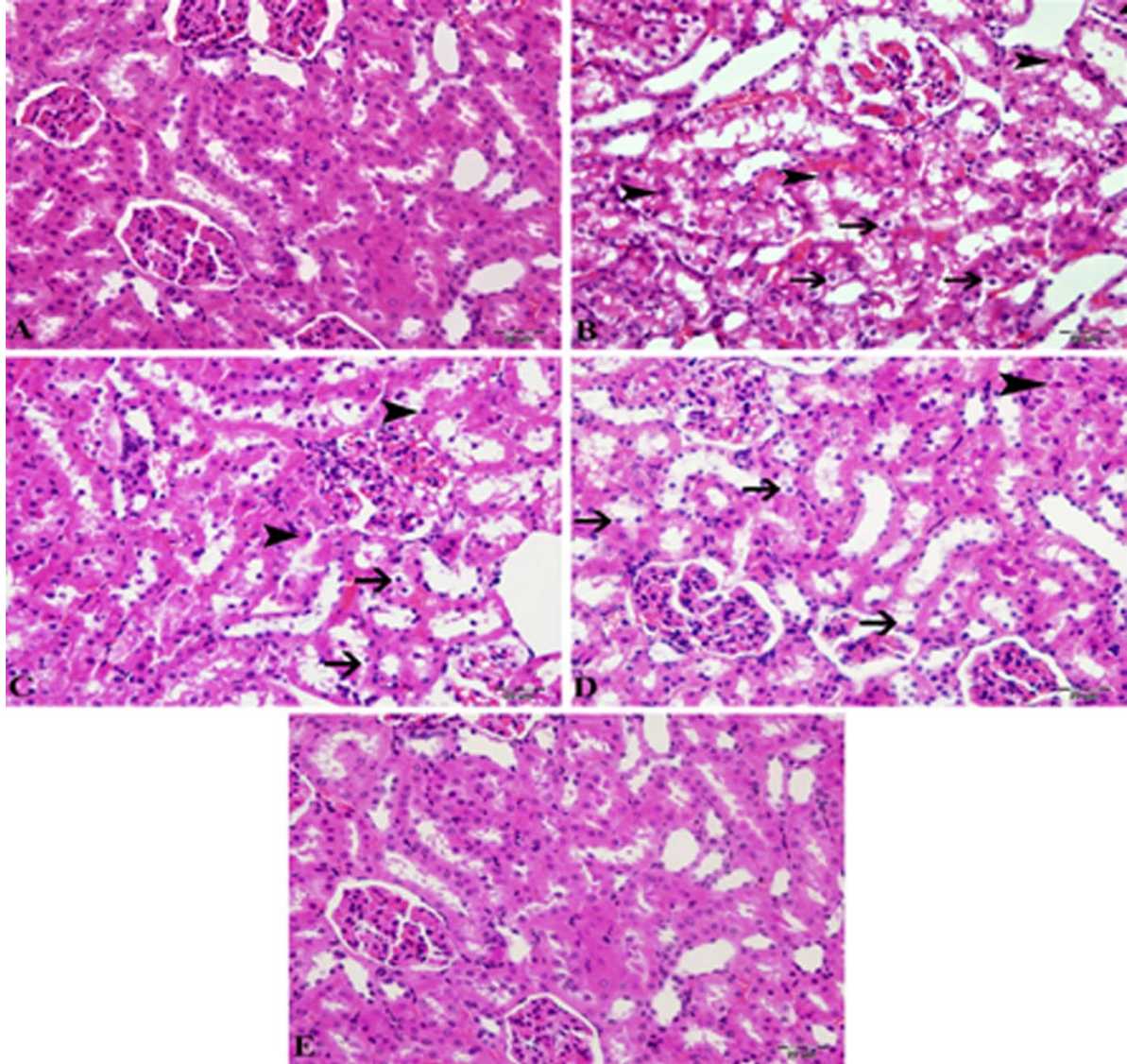
Böbrek dokuları incelendiğinde Kontrol ve Naringin100 gruplarında, böbreğin serozası ve paraneşim dokusunun korteks ve medullasının normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 1 A-E). CYP grubunda, tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, Bowman kapsülünde dilatasyon, intersitisyel damarlarda ve glomeruluslarda hiperemi görüldü (Şekil 1-B). Naringin50+CYP grubunda, tubul epitellerinde orta

şiddette hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, intersitisyel damarlarda hiperemi belirlendi (Şekil 1-C, Tablo 4) ve CYP grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (P<0.05). Naringin100+CYP grubunda ise, tubul epitellerinde hafif hidropik dejenerasyon, çok az sayıda tubul epitelinde koagülasyon nekrozu tespit edildi (Şekil 1-D). CYP grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (P<0.05).

Tablo 4. Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirme.
Table 4. Histopathological evaluation in kidney tissue.

Gruplar	Tubul epitellerinde dejenerasyon	Tubul epitellerinde nekroz	İntersitisyel damarlarda hiperemi
Kontrol	-	-	-
CYP	+++	+++	+++
Naringin50+CYP	+++	++	+++
Naringin100+CYP	++	+	+
Naringin100	-	-	-

Histopatolojik bulgulara göre: - (negatif), + (hafif), ++ (orta), +++ (şiddetli)



Şekil 1. Böbrek dokusu, Kontrol ve Naringin100: Normal histolojik görünümü (A-E), CYP: Tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon (oklar), koagülasyon nekrozu (okbaşları), interstisyel damarlarda hiperemi (B), Naringin50+CYP: Tubul epitellerinde orta düzeyde hidropik dejenerasyon (oklar), koagülasyon nekrozu (okbaşları) (C), Naringin100+CYP: Tubul epitellerinde hafif düzeyde hidropik dejenerasyon (oklar), az sayıda koagülasyon nekrozu (okbaşı) (D), H&E, Bar: 20µm.

Figure 1. Kidney tissue, Control and Naringin100: Normal histological appearance (A-E), CYP: Severe hydropic degeneration in tubul epithelia (arrows), coagulation necrosis (arrowheads), hyperemia in interstitial vessels (B), Naringin50+CYP: Moderate hydropic degeneration in tubul epithelium (arrows), coagulation necrosis (arrowheads) (C), Naringin100+CYP: Slightly hydropic degeneration in tubul epithelium (arrows), a small number coagulation necrosis (arrowheads) (D), H&E, Bar: 20µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser, DNA'da meydana gelen mutasyon sonucu, hücrelerin kontrolsüz ve anormal bir biçimde büyümesi ve bölünerek çoğalmasıdır. Kanserli hücrelerin çoğalma ve büyümesini immün sistem

baskılayarak önlemeye çalışmaktadır (17). Kemoterapi, kanser tedavisinde kullanılan ve en etkili yöntemlerden bir tanesidir. Kemoterapik ilaçların sağlıklı hücreler üzerine de çok fazla yan etkileri bulunmaktadır. Bu antineoplastik kemoterapötik

ilaçlardan birisi de CYP'dir. Kanser vücudumuzda pek çok organda fonksiyon bozukluğuna yol açmanın yanında böbrek ve böbrek fonksiyonları üzerine de önemli sorunlar oluşturmaktadır (18).

CYP azotlu hardal sınıfı alkilleyici (nitrojen mustard) bir ilaçtır. Aktif olabilmesi için karaciğerde fosforamid mustarda dönüşmesi gerekmektedir. Ayrıca DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu bozmak için DNA'nın bağları arasına girerek alkilleşmektedir. CYP toksikasyonunda böbrek hasarına bağlı nefronların tüm yapıları ve fonksiyonları etkilenmektedir. Elektrolit denge bozukluğu CYP'nin yan etkilerinden birisi olup, en önemlisi ise hemorajik sistitdir (18). CYP toksikasyonu kan tablosunda da değişimlere neden olur. CYP toksikasyonu neticesinde anemi ve nötropeni tablosu görülmektedir (5,19). CYP'nin kusma, bulantı, deride lezyonlar, ağız yaraları, sistit, adet siklusunun olmaması gibi yan etkileri bulunmaktadır. CYP ayrıca gonadal toksisiteye neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde CYP ile tedavi edilen hastalarda oligospermi ve azospermi insidensinde artma olduğu görülmüştür (20,21). Ayrıca CYP uygulaması sonrasında glikoz, fosfat, HCO₃ ve amino asitlerin aşırı üriner sekresyonunun olduğu da belirlenmiştir. Akut kardiyotoksisite durumunda ise kalbin sistolik fonksiyonlarında azalma meydana geldiği belirlenmiştir (22,23).

Çeşitli çalışmalarda CYP ile indüklenen hasar üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir. Çelebi ve ark. (24) idrar kesesi üzerine CYP'nin etkilerini araştırmışlardır. Şengül ve ark. (25) ise CYP ile akciğer toksisitesi oluşturmuş ve Quercetin'in protektif etkilerini incelemişlerdir. Benzer bir çalışmada Gelen ve ark. (26) da CYP ile oluşturulan kardiyotoksisite üzerine Quercetin'in koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Tüm bu literatür bilgileri ışığında ratlarda CYP uygulaması ile böbrek fonksiyonları üzerine Naringin'in etkileri ile alakalı yeterince literatür bilgiye de rastlanılmamıştır. Bu bağlamda, alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan, anti- apoptotik, anti-osteoporosis, anti-ülser, anti-oksidadan, anti- inflamatuvar ve anti-karsinojenik

etkilere sahip Naringin'in (10-14) protektif etkilerininin araştırılması ve literatüre katkıda bulunulması önemlilik arz etmektedir.

Canlılarda hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine ırk, yaş, cinsiyet, gebelik, laktasyon, kas faaliyetleri, bölge, mevsim, çevre ısı, bakım, besleme ve hastalıklar gibi faktörler etkilidir (27,28). Comba ve ark. (29) sildenafil sitratın yara iyileşmesinin ilk dönemi olan yangısal dönemi kısaltarak, iyileşme sürecine olumlu etki yaptığını belirtmektedirler. Gencer ve ark. (30) Adrenokortikotropik Hormon (ACTH) uygulamasıyla oluşturulan stres sonucunda, karaciğer enzim değerlerinin önemli ölçüde yükseldiğini, stresin türü ne olursa olsun vücutta karaciğer gibi hayati organlar üzerine olumsuz etkilerinin kaçınılmaz olduğunu ve stres zamanında ortadan kaldırılmadığı takdirde vücutta geriye dönüşümsüz hasarlar meydana getirebildiğini ifade etmektedirler. Yıldırım ve ark. (31) ratlarda kronik floroziste resveratrolün protektif etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bazı hematolojik ve histopatolojik parametreleri incelemişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, CYP ile indüklenen ratlarda alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, HCT değer, PLT sayısı ve lenfosit yüzdesi düşmesine rağmen nötrofil ve monosit yüzdesi yükselmiştir. Bu parametrelerde değişim CYP'nin kemik iliğinde baskılama meydana getirdiğinin bir göstergesidir. Alyuvarlar fonksiyonlarını içerdikleri HGB sayesinde yaparlar. Ayrıca aneminin türünün tespitinde de HGB miktarı önemlilik arz etmektedir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, PLT sayısı, HGB miktarı, HTC değer, Nötrofil, lenfosit, monosit gibi hematolojik parametreler sağlıklı ratlar için bildirilen değerlerle aynı değişim sınırları içerisinde yer alarak benzerlik göstermektedir (27-33). Bu parametrelerin değerlerin CYP grubunda düşmesi, CYP'nin kemik iliğini baskılamasının bir göstergesi olarak literatürleri destekler niteliktedir (27-29,32,34). CYP toksikasyonunda kan tablosunda anemi ve nötropenin görüldüğü bildirilmektedir (5,19). Bu araştırmada anemi tablosunun görülmesi literatürle

(5,19) uygunluk göstermektedir. Naringin verilen gruplarda kan parametrelerinin fizyolojik sınırlara yaklaşması ve değişim sınırları içinde yer alması Naringin'in protektif etkilerinden kaynaklanmış olduğunu göstermektedir.

Canlılarda iç ortamın değişmez tutulmasında (homeostasis) diğer organlar gibi böbreklerde büyük önemlilik arz etmektedir. Kan plazması ve elektrolitler üzerine başta aldosteron olmak üzere, atrial natriüretik peptit (ANP), ADH gibi bazı hormonlar önemli etki yaparak kandaki seviyelerinin değişmez tutulması sağlanmaktadır. Ayrıca çeşitli stres faktörlerinin homeostazisi bozan bir uyarıcı olduğu Belge ve ark. (35) ile Comba ve ark. (34) tarafından bildirilmektedir. Comba ve ark. (34) sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testlerine, elektrolitlere ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kan örneklerinde; glukoz, amilaz, kreatinin, kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz MB (CK-MB), üre, ürik asit, BUN, LDH, Ca, P, Mg, Na⁺, Cl, K analizleri, tam kanda ise total WBC, RBC, HGB, HCT, PLT ölçümlerini yapmışlardır. Stres grubunda glukoz, WBC, % monosit ve % granülosit düzeyleri ile CK, CK-MB, üre, BUN değerleri control grubuna göre yüksek bulunurken; % lenfosit, Na, Cl, ve K seviyeleri ise düşük bulunmuştur. Stresin böbrek fonksiyon testleri, elektrolit dengesi ve hematolojik parametreler üzerine etkilerinin dikkate değer olduğunu belirtmektedirler. Stres durumunda elektrolit dengesinin değiştiğini bildiren başka çalışmalar da mevcuttur. Yüksek çevre sıcaklığının oluşturduğu stres durumlarının hayvanlar da Ca, K, P ve Na konsantrasyonlarının azalmasına, Cl konsantrasyonlarının artmasına yol açtığı Schneider ve ark. (36) tarafından belirtilmektedir. Yıldırım ve ark. (37) bir başka çalışmalarında akut kadmiyum (Cd) toksisitesine maruz kalmış ratlarda lityum boratın kan parametreleri ve histopatolojik bulgular üzerine olumlu etkilerinin olduğunu ifade etmektedirler. Araştırmamızda CYP gruplarında K ve Na⁺ konsantrasyonlarında düşüş görülürken, P, Mg, Cl ve Ca'da düşüş görülmemektedir ve fizyolojik değerler içerisinde yer alarak literatürü destekler niteliktedir (34,36,37).

Proteinler 20 tür aminoasitten kurulur. Aminoasitlerin protein sentezi için gerekli olandan fazlası depo edilemez ve ekskre edilemezler. Aminoasidin parçalanması en çok karaciğerde olur. İhtiyaç fazlası aminoasitlerinin amin grubu üreye dönüştürülür, karbon iskeletinden ise karaciğerde glukoz, yağ asitleri ve keton cisimcikleri sentezlenir (38). Böbrek fonksiyon testlerinden glikoz, kreatin ve ürik asit düzeyi CYP'nin etkisiyle yükselirken, üre, BUN ve LDH değerlerindeki yükseliş ise anlamsız bulunmuştur. Hochster ve ark. (22) ile Braverman ve ark. (23) tarafından yapılan çalışmalarda CYP uygulaması sonrasında üriner sekresyonda glikoz, H₂PO₄, HCO₃ ve amino asitlerin miktarının çok yükseldiği belirtilmektedir. Yine aynı araştırmacılar tarafından akut kardiyotoksisite durumunda ise kalbin sistolik fonksiyonlarında bir azalmanın meydana geldiği ifade edilmektedir (22,23). Naringin50+CYP ve Naringin100+CYP verilen 2 grupta ki değerlerden bazıları yalnızca CYP verilen değerlere göre istatistiki bağlamda anlamlı olmak üzere azalmıştır. Naringin100 grubundan elde edilen veriler Kontrol grubu değerleri ile birbirine çok yakın ve istatistiki bağlamda da anlamsızdır. Elde edilen bu veriler literatürle paralellik göstermektedir (27-29, 33,34,37).

Rehman ve ark. (39) CYP ile oluşturdukları nefrotoksisitede tubul epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, glomeruler ve intersitisyel damarlarda konjesyon görüldüğü bildirilmiştir. CYP ile böbrek hasarı oluşturulmuş ratların böbrek histopatolojisinin incelendiği bir başka çalışmada ise Amien ve ark (40) glomeruluslarda atrofi, tubul epitellerinde vakuoler dejenerasyon ve nekroz, damarlarda konjesyon görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu çalışmada CYP grubunda yukarıdaki çalışmalara benzer bulgular görülürken Naringin uygulanan gruplarda nefrotoksisitenin oluşmadığı veya azaldığı görülmektedir. Bu durum Naringin'in, CYP'nin yan etkilerinin azaltılmasında alternatif bir flavonid olarak düşünülebileceğini hatıra getirmektedir.

Sonuç olarak, ratlarda CYP ile indüklenen nefrotoksisitede protektif amaçlı Naringin

uygulamasının hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile böbrek histopatolojisi üzerine koruyucu etkili olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Nasrin S., Masuda E., Kugaya H., Ito Y., Yamada S., 2013. Improvement by phytotherapeutic agent of detrusor overactivity, down-regulation of pharmacological receptors and urinary cytokines in rats with cyclophosphamide induced cystitis. *J Urol*, 189, 1123-1129.
2. Miller CR., Ruppert AS., Fobare S., Chen TL., Liu C., Lehman A., Blachly JS., Zhang X., Lucas DM., Grever MR., Tallman MS., Flinn IW., Rassenti LZ., Kipps TJ., Sampath D., Coombes KR., Hertlein EK., 2017. The long noncoding RNA, *treRNA*, decreases DNA damage and is associated with poor response to chemotherapy in chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*, 8, 25942-25954.
3. Cerulla N., Arcusa A., Navarro JB., Garolera M., Enero C., Chico G., Fernandez Morales L., 2017. Role of taxanes in chemotherapy-related cognitive impairment: A prospective longitudinal study. *Breast Cancer Res Treat*, 162, 1-9.
4. Clowse ME., Harward L., Criscione Schreiber L., Pisetsky D., Copland S., 2012. Anti Müllerian hormone: A better marker of ovarian damage from cyclophosphamide. *Arthritis Rheum*, 64, 1305-1310.
5. Anderson D., Bishop JB., Garner RC., Ostrosky Wegman P., Selby PB., 1995. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Res*, 330, 115-181.
6. Atalay F., Gülmez Ö., Özsancağ AU., 2014. Cardiotoxicity following cyclophosphamide therapy: a case report. *J Med Case Rep*, 8, 252.
7. Kanno TYN., Sensiate LA., Paula NA., Salles MJS., 2009. Toxic effects of different doses of cyclophosphamide on the reproductive parameters of male mice. *Braz J Pharm Sci*, 45, 313-319.
8. Nizamlioğlu NM., Nas S., 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *EJFT*, 2010, 5, 25-35.
9. Jagetia GC., Reddy TK., Venkatesha VA., Kedlaya R., 2004. Influence of naringin on ferric iron induced oxidative damage in vitro. *Clin Chim Acta*, 347, 189-197.
10. Zhou X., Zhang P., Zhang C., Zhu Z., 2010. Promotion of bone formation by naringin in a titanium particle induced diabetic murine calvarial osteolysis model. *J Orthop Res*, 28, 451-456.
11. Kim SY., Kim HJ., Lee MK., Jeon SM., Do GM., Kwon EY., Cho YY., Kim DJ., Jeong KS., Park YB., 2006. Naringin time dependently lowers hepatic cholesterol biosynthesis and plasma cholesterol in rats fed high fat and high cholesterol diet. *J Med Food*, 9, 582-586.
12. Choe SC., Kim HS., Jeong TS., Bok SH., Park YB., 2001. Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of inter cellular adhesion molecule 1 in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*, 38, 947-955.
13. Camargo CA., Gomes Marcondes MC., Wutzki NC., Aoyama H., 2012. Naringin inhibits tumor growth and reduces interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha levels in rats with Walker 256 carcinosarcoma. *Anticancer Res*, 32, 129-133.
14. Liu Q., Lu L., Xiao M., 2012. Cell surface engineering of α l-rhamnosidase for naringin hydrolysis. *Bioresour Technol*, 123, 144-149.
15. Sinanoglu O., Yener AN., Ekici S., Midi A., Benli Aksungar F., 2012. The protective effects of spirulina in cyclophosphamide induced nephrotoxicity and urotoxicity in rats. *Basic Transl Sci*, 80, 1392-1392.
16. Abraham P., Isaac B., 2010. The effects of oral glutamine on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*, 30, 616-623.
17. Besse A., Clapp GD., Bernard S., Nicolini FE., Levy D., Lepoutre T., 2018. Stability analysis of a model of interaction between the immune system and

- cancer cells in chronic myelogenous leukemia. *Bull Math Biol*, 80, 1084-1110.
18. Erkurt MA., Kuku İ., Kaya E., Aydoğdu İ., 2009. Kanser kemoterapisi ve böbrek. *İnönü Univ Tıp Fak Derg*, 16, 63-68.
19. Ernest E., Girndt M., Pliquett RU., 2014. A case of granulomatosis with polyangiitis complicated by cyclophosphamide toxicity and opportunistic infections: choosing between Scylla and Charybdis. *BMC Nephrol*, 15, 28.
20. Ghosh S., Misro M., Das UB., Maiti R., Debnath JM., Ghosh D., 2001. Effect of human chorionic gonadotrophin co administration on ovarian steroidogenic and folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. *Reprod Toxicol*, 15, 221-225.
21. Kenney LB., Laufer MR., Grant FD., Grier H., Diller L., 2001. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer*, 91, 613-621.
22. Hochster H., Wasserheit C., Speyer J., 1995. Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. *Curr Opin Oncol*, 7, 304-309.
23. Braverman AC., Antin JH., Plappert MT., Cook EF., Lee RT., 1991. Cyclophosphamide cardiotoxicity in bone marrow transplantation: a prospective evaluation of new dosing regimens. *J Clin Oncol*, 9, 1215-1223.
24. Çelebi F., Gelen V., Çınar A., Şengül E., 2014. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *The FASEB Journal*, 28, 690-15.
25. Şengül E., Gelen V., Gedikli S., Özkanlar S., Gür C., Çelebi F., Çınar A. 2017. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 92, 303-307.
26. Gelen V., Şengül E., Gedikli S., Çelebi F., Çınar A., Kara A., Özkanlar S., Gür C., 2016. The effects of quercetin on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Acta Physiol*, 218, 14-15.
27. Yılmaz B., 2000. Fiziyojji. 2. baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara.
28. Konuk T., 1981. Pratik Fiziyojji I. 2. baskı, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
29. Comba B., Mis L., Comba A., Çınar A., Tas A., 2014. Deneysel olarak diabet oluşturulmuş ratlarda yara iyileşmesinde sildenafil sitratin bazı hematolojik parametrelere ve mineral maddelere etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 9, 180-186.
30. Gencer GY., Çınar A., Comba B., 2015. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri AST, ALT, ALP üzerine etkilerinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 10, 21-26.
31. Yıldırım S., Oto G., Comba B., Ekin S., Çınar A., 2017. An investigation of the protective effects of resveratrol on some biochemical parameters and histopathological findings in experimentally-induced chronic flurosis in rats. *Fluoroide*, 50, 367-375.
32. Maaroufi K., Chekir L., Creppy EE., Ellouz F., Bacha H., 1996. Zearalenone induces modifications of haematological and biochemical parameters in rats. *Toxicon*, 34, 535-540.
33. He ML., Wang YZ., Xu ZR., Chen ML., Rambeck WA., 2013. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 87, 229-235.
34. Comba B., Çınar A., Comba A., Gencer GY., 2016. Sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testleri, elektrolitler ve hematolojik parametreler üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63, 229-233.
35. Belge F., Çınar A., Selçuk M., 2003. Effects of stress produced by adrenocorticotropin (ACTH) on the lipid peroxidation and some antioxidants in vitamin C treated and nontreated chickens. *S Afr J Anim Sci*, 33, 201-205.
36. Schneider PL., Beede DK., Wilcox CJ., 1988. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J Anim Sci*, 66, 112-125.

37. Yıldırım S., Çelikezen FC., Oto G., Sengül E., Bulduk M., Cinar A., 2017. An investigation of protective effects of litium borate on blood and histopathological parameters in acute cadmium-induced rats. *Biol Trace Elem Res*, 1-6.
38. Noyan A., 2011. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, 10. Baskı., 606-620, Palme Yayıncılık, Ankara.
39. Rehman MU., Tahir M., Ali F., Qamar W., Lateef A., Khan R., Quaiyoom A., Oday-O-Hamiza., Sultana S., 2012. Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. *Mol Cell Biochem*, 365, 119-127.
40. Amien Al., Fahmy SR., Abd-Elgleel FM., Elaskalany SM., 2015. Renoprotective effect of *Mangifera indica* polysaccharides and silymarin against cyclophosphamide toxicity in rats. *JOBAS*, 72, 154-162.