



## Ratlarda Siklofosfamid ile Deneysel Olarak Oluşturulan Anemi Modelinde *Smilax excelsa* L. Etanol Ekstresinin Etkisi

Mustafa CELLAT<sup>1,\*</sup> Tuba AYDIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, 31060, Hatay, Turkey

<sup>2</sup> Ağrı İbrahim Çeçen University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 04100, Ağrı, Turkey

Received: 26.07.2021

Accepted: 15.10.2021

### ÖZ

Bu çalışmada, ratlarda siklofosfamid (CP) ile deneysel olarak oluşturulan anemi modelinde *Smilax excelsa* L. etanol ekstresinin etkisi araştırıldı. Çalışma toplam 4 gruptan oluştu. Grup 1 ve 2'deki ratlara oral gavaj yöntemi kullanılarak 28 gün süre ile günlük 1 ml serum fizyolojik, grup 3 ve 4'deki ratlara ise 400 mg/kg dozda *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi uygulandı. Ayrıca grup 2 ve 4'deki ratlara haftada bir kez olmak üzere toplam dört doz 50 mg/kg CP uygulaması intramusküler olarak yapıldı. Çalışmanın 28. günü bütün ratlardan anestezi altında kan örnekleri alındı ve daha sonra ötanazi işlemi uygulandı. Kan örneklerinde eritrosit sayısı (RBC), lökosit sayısı (WBC), hemoglobin konsantrasyonu (HGB), hematokrit değeri (Hct), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit dağılım genişliği (RDW) gibi hematolojik parametreler incelendi. Serum malondialdehit (MDA) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri ile katalaz (CAT) ve glutatyonperoksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerine spektrofotometrik olarak bakıldı. Grup 4'de *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin serum MDA düzeyini düşürdüğü, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerini ise artırdığı belirlendi. Ayrıca bu tedavinin RBC, HGB ve Hct gibi hematolojik parametrelerde iyileşmelere sebep olduğu, RDW değerlerini ise azalttığı gözlemlendi. Sonuç olarak *Smilax excelsa*'nın sahip olduğu güçlü antioksidan etki ile CP'nin kemik iliğindeki baskılayıcı etkisini azalttığı ve anemi şekillenmesini önlediği görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Aplastik anemi, Oksidatif stres, Siklofosfamid, Smilasagiller.

### ABSTRACT

## The Effect of *Smilax excelsa* L. Ethanol Extract in an Experimentally Anemia Model Induced by Cyclophosphamide in Rats

In this study, the effect of *Smilax excelsa* L. ethanol extract on anemia model experimentally induced by Cyclophosphamide (CP) in rats was investigated. The study consisted of 4 groups, The rats in groups 1 and 2 were administered 1 ml of physiological saline for 28 days using the oral gavage method, and the rats in groups 3 and 4 were administered *Smilax excelsa* L. ethanol extract at a dose of 400 mg/kg. In addition, four doses of 50 mg/kg CP were administered intramuscularly once a week to the rats in groups 2 and 4. On the 28th day of the experiment, blood samples were taken from all rats under anesthesia and then euthanasia was performed. Hematological parameters such as red blood cell count (RBC), leukocyte count (WBC), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit value (Hct), mean erythrocyte hemoglobin (MCH), mean erythrocyte volume (MCV), and mean erythrocyte distribution width (RDW) were examined in blood samples. Serum malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH) levels and catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activities were measured spectrophotometrically. In group 4, it was determined that *Smilax excelsa* L. ethanol extract treatment decreased the serum MDA level and increased the CAT and GSH-Px enzyme activities. In addition, it was observed that this treatment caused improvements in hematological parameters such as RBC, HGB and Hct, and decreased RDW values. As a result, it was observed that *Smilax excelsa*, with its strong antioxidant effect, reduced the suppressive effect of CP in the bone marrow and prevented the formation of anemia.

**Keywords:** Aplastic anemia, Cyclophosphamide, Oxidative stress, Smilacaceae.



## GİRİŞ

Aplastik anemi (AA), kemik iliği hematopoietik hücrelerinin hipoplazisi ve periferik kan hücrelerinin hematoopenisi ile karakterizedir (Jia ve ark. 2020). Kemoterapi, AA'nin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Chen ve ark. 2014). Radyoterapi veya kemoterapinin en önemli yan etkileri miyelosupresyondur ve kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapinin klinik etkinliğini geliştirmek için miyelosupresyonun hafifletilmesi büyük önem taşımaktadır (He ve ark. 2021). Kemik iliği baskılanması veya miyelotoksisite olarak da bilinen miyelosupresyonda kemik iliği aktivitesi, RBC, WBC ve PLT sayılarında azalma olur (Brigle ve ark. 2017). Siklofosamid (CP) hepatokarsinom, akciğer kanseri, beyin tümörü, akut miyeloid lösemi ve otoimmün hastalıklara karşı güçlü etki gösteren antikanser ve immünosupresan bir ilaçtır (Ashry ve ark. 2013). Klinik uygulamada CP, oksidatif stres, kemik iliği supresyonu, anemi ve sitotoksisite dahil olmak üzere birçok yan etkiye sebep olur (Woo ve ark. 2008). Kemik iliğinin toksisitesi daha sonra anemi, lökopeni ve trombositopeni gibi hematopoietik işlev bozukluğuna yol açar (Raj 2009). Kemoterapötik bir ajan olan CP tedavisi, kemik iliğindeki kök hücreleri ve dolaşan periferik kan hücrelerini tüketerek anemi ve immünodensite ile sonuçlanabilir (Xu ve ark. 2014). CP, karaciğerde fosforamid mustard ve akroleine metabolize olan bir ön ilaçtır. Fosforamid mustard, CP'nin terapötik etkisinden, akrolein ise toksik etkisinden sorumludur (Khan ve ark. 2014; Khorwal ve ark. 2017). Bu toksik metabolitler, metabolizma sırasında oksidatif stresle sonuçlanan reaktif türleri oluşturur (Goudarzi ve ark. 2017). Bu reaktif türler normal sıçan hücrelerinde mitokondriyal membran geçirgenliği geçişini indükleyerek apoptoza sebep olur (Anyasor ve ark. 2012). CP, oksidatif strese sebep olarak sitotoksik etkiler göstermektedir (El-Sebaey ve ark. 2019). Tıbbi bitkilerin toksik maddelere karşı kemoprotektif aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Kalantar ve ark. 2016). İngilizce'de "greenbrier" veya "sarsaparilla" olarak adlandırılan *Smilax*, çok yıllık ve tırmanıcı bir bitkidir (Yıldız ve ark. 2018). *S. excelsa* L. yaprak ekstrelerinin fenolik ve flavonoid maddeler bakımından zengin olduğu ve bu maddelerin lipid peroksidasyonunu inhibe etme, radikalleri temizleme ve demir şelatlama gibi aktiviteleri sayesinde güçlü bir antioksidan etki gösterebileceği ifade edilmektedir (Özsoy ve ark. 2008).

Bu çalışmada, ratlarda CP ile deneysel olarak oluşturulan anemi modelinde *Smilax excelsa* L. bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin anemiye karşı koruyucu etkisi araştırıldı.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan 18.03.2021 tarihinde 2021/02-15 sayılı izin alınarak yapılmıştır.

### Bitki Temini

Bu çalışmada kullanılan *Smilax excelsa* L. bitkisinin yaprakları 2020 yılı haziran ayında Hatay il merkezinden toplandı. Bitkinin tür teşhisi HMKÜ Ziraat Fakültesi'nde yapıldıktan sonra bitki oda sıcaklığında gölgede kurutuldu ve Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı'nda muhafaza edildi.

### Ekstraksiyon

*Smilax excelsa* L. bitkisinin kurutulmuş yaprakları, öğütücü yardımıyla toz haline getirildi. Etanol ekstresini

hazırlamak için 50 g bitki tozu ve %96'lık etanol (1 L) kullanıldı. Bitki, soxhlet ekstraktöründe 50 C°'de ısıtılarak dört saat boyunca ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra süzünü ayırdı ve bir evaporatör yardımıyla etanol uzaklaştırıldı. Elde edilen etanol ekstresi miktarı 7.27 gram, verim %14.5 olarak belirlendi. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresinin miktarını artırmak amacıyla aynı işlemler tekrarlandı.

### Hayvan Materyali

Çalışmada; HMKÜ Deneysel Hayvanları Merkezi'nden temin edilen 180-250 g ağırlığında 28 adet wistar albino ırkı dişi rat kullanıldı. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım şartlarına (12 saat aydınlık-12 saat karanlık ve 21±1 °C) uygun olarak yürütüldü. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari yem (pelet yem) ve musluk suyu ad-libitum olarak sağlandı.

### Deneysel Grupları

Ratlarda CP ile oluşturulan deneysel anemi modeli El-Sebaey ve ark.'nın (El-Sebaey ve ark. 2019), *Smilax excelsa* L. etanol ekstresinin kullanım dozu ise Özsoy ve ark.'nın (Özsoy ve ark. 2016) makaleleri esas alınarak planlandı. Çalışmada grup 1 (Kontrol grubu), grup 2 (CP), grup 3 (*Smilax*) ve grup 4 (CP + *Smilax*) olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Her grupta 7 rat olmak üzere 4 grupta toplam 28 adet wistar albino ırkı dişi rat kullanıldı.

**Grup 1 (Kontrol Grubu):** Bu gruptaki ratlara günde bir defa ve oral gavaj yöntemi kullanılarak 28 gün boyunca 1 ml serum fizyolojik uygulaması yapıldı.

**Grup 2 (CP):** Bu gruptaki ratlara 50 mg/kg dozda, haftada bir kez ve 4 hafta süre ile kas içi CP uygulaması yapıldı.

**Grup 3 (Smilax):** Bu gruptaki ratlara 28 gün süre ile günde bir defa, 1 ml serum fizyolojik içerisinde ve 400 mg/kg dozda oral gavaj yöntemi kullanılarak *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi uygulandı.

**Grup 4 (CP + Smilax):** Bu gruptaki ratlara 4 hafta süre ile haftada bir kez ve 50 mg/kg dozda kas içi CP uygulaması yapıldı. Ayrıca bu gruba 28 gün süre ile günde bir defa, 1 ml serum fizyolojik içerisinde ve 400 mg/kg dozda oral gavaj yöntemi kullanılarak *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi uygulandı.

Çalışmanın 28. gününde ratlar ketamin (60 mg/kg İM) + ksilazin (10 mg/kg İM) kullanılarak anesteziye alındı. Kuyruk veninden usulüne uygun olarak antikoagulanlı (Etilendiamin tetraasetik asit) ve antikoagulanlı (serum) kan tüplerine kan örnekleri alındı. Serum tüplerine alınan kan örnekleri 3000 rpm ve 15 dakika santrifüj edilerek kan serumları hazırlandı. Hazırlanan serum örnekleri epondorftüplere konuldu ve biyokimyasal analizler yapıncaya kadar -80 °C 'de derin dondurucuda saklandı. Anestezi altında kan örnekleri alınan bütün ratlara dekapitasyon yöntemi kullanılarak ötonazi işlemi uygulandı.

### Hematolojik Analizler

Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Mindray BC2800 marka otomatik kan sayım cihazı ile taze kan örneklerinden hematolojik analizler yapıldı. Hematolojik analizlerde WBC, RBC, HGB, Hct, MCV, MCH ve RDW gibi parametreler incelendi.

### Biyokimyasal Analizler

Derin dondurucudan (-80°C) çıkarılan serum örneklerinde oksidatif hasar ve antioksidan aktivite durumunu ortaya koyabilmek için spektrofotometrik olarak MDA ve GSH düzeyleri ile CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri analiz edildi. Lipit peroksidasyonu ve antioksidan etkinlik için

alınan serum örnekleri homojenize edildikten sonra analizler spektrofotometre yardımıyla gerçekleştirildi. Lipid peroksidasyonu seviyesi, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler konsantrasyonuna göre ölçüldü ve elde edilen MDA miktarı, lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kullanıldı. 532 nm'de MDA seviyesi protein gramı başına nanomol cinsinden ifade edildi (Placer ve ark. 1966). GSH düzeyi, Sedlak ve Lindsay tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak ölçüldü (Sedlak ve Lindsay 1968). 412 nm'de GSH seviyesi protein gramı başına nanomol olarak ifade edildi. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9) aktivitesi, Lawrence ve Burk tarafından tanımlanan metoda göre belirlendi (Lawrence ve Burk 1976). 340 nm'de GSH-Px enzim aktivitesi, gram protein başına uluslararası birimler olarak ifade edildi. Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitesi, 240 nm'de hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ayrışımının ölçülmesi ile belirlendi ve kg/protein olarak ifade edildi (Aebi 1983). Protein analizleri için Lowry (Lowry ve ark. 1951) metodu kullanıldı.

### İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Shapiro-Wilk normallik analizi yapıldı ve analiz tüm parametrelerin normal bir dağılım izlediğini gösterdi. Grup ortalamalarını karşılaştırmak için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey testi kullanıldı. İstatistiksel analiz, IBM SPSS sürüm 23.0

yazılımı kullanılarak yapıldı ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Hematolojik Bulgular

CP uygulanan gruptaki ratların periferik kan RBC (P:0.001), WBC (P:0.001), HGB (P:0.005) ve Hct (P:0.003) seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı düşüşlerin meydana geldiği belirlendi. CP'nin MCV (P:0.239) ve MCH (P:0.061) değerleri üzerine istatistiki açıdan önemli bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. Ayrıca CP grubunun RDW değerleri (P:0.001) kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli düzeyde artışlar görüldü. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin periferik kan RBC (P:0.001), HGB (P:0.005) ve Hct (P:0.003) değerlerindeki düşüşleri önlediği ve bu parametrelerin kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi. Ayrıca bu tedavinin artmış olan RDW değerlerini (P:0.001) kontrol grubuna yakın seviyelere indirdiği, MCV (P:0.239) ve MCH (P:0.061) seviyeleri üzerinde ise anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. WBC değerleri açısından diğer gruplarla kontrol grubu kıyaslandığında diğer grupların WBC değerlerinin (P:0.001) kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düştüğü tespit edildi. WBC değerleri açısından kontrol grubu dışındaki gruplar arasında istatistiki açıdan önemli farklılıklar saptanmadı. Hematolojik bulgular Tablo 1'de verildi.

**Tablo 1.** CP ve *Smilax excelsa*'nın Kan Parametreleri Üzerine Etkileri.

**Table 1.** Effects of CP and *Smilax excelsa* on Blood Parameters.

Grup / Parametre	Kontrol	CP	Smilax	CP + Smilax	Önemlilik
RBC (1X10 <sup>6</sup> )	7.885±0.19 <sup>a</sup>	5.448±0.34 <sup>b</sup>	8.456±0.59 <sup>a</sup>	7.554±0.40 <sup>a</sup>	0.001
HGB (gr/dl)	14.625±0.73 <sup>a</sup>	10.240±0.41 <sup>b</sup>	14.560±1.25 <sup>a</sup>	12.980±0.53 <sup>a</sup>	0.005
Hct (%)	43.875±0.87 <sup>a</sup>	33.280±1.11 <sup>b</sup>	48.320±3.88 <sup>a</sup>	42.200±1.91 <sup>a</sup>	0.003
MCV (fL)	55.775±0.97	55.020±0.74	59.940±1.98	58.260±2.61	0.239
MCH (%)	17.550±0.24	16.960±0.36	16.080±0.19	17.840±0.71	0.061
RDW (%)	11.175±0.27 <sup>a</sup>	15.780±1.16 <sup>b</sup>	10.960±0.20 <sup>a</sup>	13.260±0.81 <sup>a</sup>	0.001
WBC (1x10 <sup>3</sup> )	8.875±1.14 <sup>a</sup>	3.980±0.72 <sup>b</sup>	4.240±0.26 <sup>b</sup>	4.660±0.62 <sup>b</sup>	0.001

1 mm<sup>3</sup> kanda; Eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), retikülosit dağılım genişliği (RDW) lökosit sayısı (WBC). (Veriler Ort ± SE şeklinde verilmiştir). Sütunlardaki farklı harflendirme istatistiksel olarak anlamlı farklılık ifade etmektedir.

### Biyokimyasal Bulgular

Ratlarda CP uygulamasının serum MDA düzeylerini (P:0.00) arttırdığı, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerini (P:0.01) ise düşürdüğü ve oksidatif strese sebep olduğu tespit edildi. Serum GSH düzeyi üzerine de inhibe edici etkisinin olduğu fakat bu etkinin istatistiki açıdan (P:0.076) önemli olmadığı belirlendi. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin, serum MDA düzeylerini (P:0.00) düşürerek oksidatif hasarı azalttığı belirlendi. GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerini ise istatistiki açıdan (P:0.01) anlamlı derecede yükselttiği gözlemlendi. Serum GSH düzeyinde artışa neden olduğu fakat bu etkinin istatistiki açıdan (P:0.076) anlamlı olmadığı görüldü. Serum MDA ve GSH düzeyleri ile CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri seviyeleri Tablo 2'de verildi.

**Tablo 2.** CP ve *Smilax excelsa*'nın Serum MDA ve GSH düzeyleri ile CAT ve GSH-Px Enzim Aktivite Düzeyleri Üzerine Etkileri.

**Table 2.** Effects of CP and *Smilax excelsa* on Serum MDA and GSH levels and CAT and GSH-Px Enzyme Activity Levels.

Grup / Parametre	Kontrol	CP	Smilax	CP + Smilax	Önemlilik
MDA (nmol/mL)	18.286±0.47 <sup>a</sup>	23.516±1.06 <sup>b</sup>	17.576±0.63 <sup>a</sup>	19.725±0.42 <sup>a</sup>	0.00
GSH (nmol/mL)	3.265±0.16	2.856±0.12	3.520±0.05	3.275±0.25	0.076
GSH-Px (IU/gr prot)	46.910±2.15 <sup>a</sup>	30.497±3.31 <sup>b</sup>	52.418±3.79 <sup>a</sup>	44.749±3.01 <sup>a</sup>	0.01
CAT (U/ml)	75.498±1.70 <sup>a</sup>	65.385±1.28 <sup>b</sup>	80.510±3.78 <sup>a</sup>	78.961±1.12 <sup>a</sup>	0.01

Serum, malondialdehit (MDA), redukte glutatyon (GSH) seviyeleri ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri (Veriler Ort ± SE şeklinde verilmiştir). Sütunlardaki farklı harflendirme istatistiksel olarak anlamlı farklılık ifade etmektedir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

CP ve ilişkili nitrojen mustard türevi alkilleyici ajanlar, meme kanseri, akciğer karsinomu, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit ve multipl skleroz gibi çeşitli maligniteler ve bozuklukların tedavisinde (Zhang ve ark. 2006; Perini ve ark. 2007) ve kemik iliği nakli sırasında bağışıklık sistemini baskılamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Khorwal ve ark. 2017). Sıçanlarda CP tedavisinin kemik iliğini baskıladığı, hematokrit değeri düşürdüğü ve aplastik anemiye sebep olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca immüno-supresif etki gösterdiği ve WBC seviyesini önemli oranda azalttığı vurgulanmaktadır (Anokwuru ve ark. 2019). Kanser tedavisinde CP'nin kullanımı, hastalarda anemi riskini artırır ve tedavi sırasında immüno-supresyonu önleyebilmek için tedbirlerin alınması gerekir (Ikumawoyi ve ark. 2016). CP uygulamasının karaciğerde ve böbreklerde eritropoietinin mRNA sentezini azalttığı bildirilmektedir (Dame ve ark. 2006). Sıçan ve farelerde yapılan araştırmalarda değişik doz ve sürelerde uygulanan CP tedavisinin kan WBC, RBC ve Platelet sayıları ile HGB konsantrasyonunda (Chukwuemeka ve ark. 2015; Elhalim ve ark. 2017; Li ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2017; Eltantawy ve ark. 2018; Ayhancı ve ark. 2019; Kulshrestha ve ark. 2019; Han ve ark. 2020; Iqbal ve ark. 2020), kemik iliği çekirdekli hücre sayılarında (Ayhancı ve ark. 2019) ve Hct (Elhalim ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2017; Kim ve ark. 2018) seviyelerinde istatistiki açıdan anlamlı derecede azalmalara sebep olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada CP uygulamasının WBC, RBC, HGB ve Hct seviyelerinde önemli düzeylerde azalmalara sebep olduğu ve anemi şekillendiği görüldü. CP grubunun RDW değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı artışlar gözlemlendi. Fakat MCV ve MCH parametreleri üzerinde istatistiki açıdan önemli etkisinin olmadığı belirlendi. Sonuçlarımız yukarıda verilen literatür bilgileriyle uyumluluk göstermektedir. CP + *Smilax* grubunun hematolojik bulguları incelendiğinde *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin CP'nin sebep olduğu anemiye karşı koruyucu etki gösterdiği, RBC, HGB ve Hct seviyelerindeki azalmaları engellediği ve bu değerlerin kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi. Ayrıca RDW değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı düşümlere sebep olduğu saptandı. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin WBC değerlerinde hafif düzeyde artışlara sebep olduğu fakat bu etkinin istatistiki açıdan anlamlı olmadığı görüldü. MCV ve MCH seviyeleri açısından gruplar arasında bir fark bulunamadı. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin hemopoetik sistemi uyardığı, sahip olduğu güçlü antioksidan etki ile CP'nin kemik iliği üzerindeki baskılayıcı etkisini engellediği ve anemiyi azalttığı tespit edildi.

Oksidatif stres CP toksisitesinin patofizyolojisinde rol oynar. Akrolein, dokuların antioksidan sistemine müdahale eder ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretir (Mythili ve ark. 2004). CP tedavisinin serum MDA seviyesinde artışa (Ramadan ve ark. 2012; Zhang ve ark. 2017; Eltantawy ve ark. 2018), GSH düzeyi (Ramadan ve ark. 2012; Eltantawy ve ark. 2018) ile GSH-Px (Ramadan ve ark. 2012) ve CAT (Ramadan ve ark. 2012; Rostampur ve ark. 2018) enzim aktivitelerinde ise azalmaya sebep olduğu ifade edilmektedir. CP tedavisi plazma GSH düzeyi ile CAT enzim aktivitelerinde önemli düzeyde azalmalara sebep olmaktadır (Anokwuru ve ark. 2019). Bu çalışmada CP uygulamasının serum MDA düzeyini arttırdığı, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerini ise azalttığı ve oksidatif strese sebep olduğu belirlendi. Serum GSH düzeyini azalttığı fakat bu azalmanın istatistiki açıdan önemli olmadığı gözlemlendi.

GSH sonuçlarındaki uyumsuzluğun CP'nin kullanım dozundan kaynaklanabileceği değerlendirildi. CP'nin kemik iliğini baskılayıcı etkisinin oksidatif stres artışından kaynaklandığı görüldü.

Zararlı etkileri olmayan ve kimyasal ilaçların yan etkilerini ciddi anlamda ortadan kaldıran şifalı bitkiler dünyanın pek çok ülkesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Murthy ve ark. 2015). Doğal ürünlerin, zarar görmüş bağışıklık sistemini ve CP'nin sebep olduğu bağışıklık yetmezliğini onarma kabiliyetine sahip olduğu bildirilmektedir (Bai ve ark. 2018). Antioksidanlar, kemoterapötik ajanların toksik yan etkilerini en aza indirebilir ve daha yüksek dozlarda antikanser ilaç kullanımına izin verebilir (Süzek ve ark. 2017). Antikanser özelliklerine müdahale etmeden bu ilaçların yan etkilerini azaltabilen spesifik adjuvan tedavilere ihtiyaç vardır. Günümüzde, önemli ölçüde antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik potansiyele sahip oldukları için doğal olarak oluşan biyoaktif moleküllere daha fazla önem verilmektedir (Wang ve ark. 2018). Karbontetraklorür ile deneysel olarak karaciğer ve böbrek hasarı oluşturulan ratlarda *S. excelsa* L. yapraklarından elde edilen su ekstresinin yükselmiş olan MDA düzeyi ve miyeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesini düşürdüğü, düşmüş olan CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri ile GSH düzeyini ise artırdığı ifade edilmektedir. Aynı çalışmada *S. excelsa* L. yapraklarının güçlü bir antioksidan etki göstermek suretiyle karaciğer ve böbrek hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu vurgulanmaktadır (Özsoy ve ark. 2016; Özsoy ve ark. 2013). CP + *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi grubu ratların serum MDA düzeylerinde istatistiki açıdan anlamlı düzeyde düşüşlerin görüldüğü, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinde ise önemli artışların olduğu belirlendi. Serum GSH düzeylerinde hafif düzeyde artışların olduğu fakat bu artışın istatistiki açıdan önemli olmadığı saptandı. *Smilax excelsa* L.'nin sahip olduğu güçlü antioksidan etki ile CP'nin neden olduğu kemik iliği baskılayıcı etkisini azalttığı ve anemik durum gelişimine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu görüldü.

Bu çalışmada özellikle çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan ve alkilleyici bir antikanser ilaç olan CP uygulamasının serum MDA düzeyini arttırmak ve GSH-Px ve CAT enzim aktivitesini azaltmak suretiyle oksidatif etki gösterdiği ve bu etkinin kemik iliğini baskıladığı ve periferik kan WBC, RBC, HGB ve Hct değerlerinde önemli düzeylerde azalmalara sebep olduğu tespit edildi. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresi tedavisinin güçlü antioksidan etki gösterdiği ve CP'nin kemik iliği üzerindeki oksidatif stres kaynaklı inhibe edici etkisini azalttığı ve böylece periferik kan RBC, HGB ve Hct değerlerindeki azalmaları önleyerek anemi gelişimini engellediği görüldü. *Smilax excelsa* L. etanol ekstresinin etkinliğine yönelik değişik doz ve sürelerde daha ileri çalışmaların yapılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: MC, TA  
Denetleme/Danışmanlık: MC, TA  
Veri Toplama ve/veya İşleme: MC, TA  
Analiz ve/veya Yorum: MC, TA  
Makalenin Yazımı: MC, TA  
Eleştirel İnceleme: MC, TA

## KAYNAKLAR

- Aebi H (1983).** Catalase. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie. pp. 273-286, Weinheim, Germany.
- Anokwuru CP, Anyasor GN, Shokunbi OS et al. (2019).** Chemoprotective activity of aqueous leaf extract of *Acalypha wilkesiana* against cyclophosphamide-induced toxicity in rats. *Asian Pac J Trop Med*, 12 (9), 409-415.
- Anyasor GN, Oyewole IO, Ogunwenmo KO, Ayomide A. (2012).** Coartemether induced oxidative and hepatic damage in Plasmodium berghei strain Anka infected mice. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1, 108-111.
- Ashry NA, Gameil NM, Suddek GM (2013).** Modulation of cyclophosphamide- induced early lung injury by allicin. *Pharm Biol*, 51, 806-811.
- Ayhancı A, Heybeli N, Kulcanay Şahin İ, Cengiz M (2019).** Myelosuppression and oxidative stress induced by cyclophosphamide in rats: The protective role of selenium. *Adiyaman Univ J of Sci*, 9 (2), 252-265.
- Bai Y, Jiang Y, Liu T et al. (2018).** Xinjiang herbal tea exerts immunomodulatory activity via TLR2/4-mediated MAPK signaling pathways in RAW264.7 cells and prevents cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice. *J Ethnopharmacol*, 228,179-187.
- Brigle K, Pierre A, Finley-Oliver E et al. (2017).** Myelosuppression, bone disease, and acute renal failure: evidence-based recommendations for oncologic emergencies. *Clin J Oncol Nurs*, 21 (5 Suppl. 1), 60-76.
- Chen YF, Zhao ZQ, Wu ZM et al. (2014).** The role of RIP1 and RIP3 in the development of aplastic anemia induced by cyclophosphamide and busulphan in mice. *Int J Clin Exp Pathol*, 7 (12), 8411-8420.
- Chukwuemeka I, Utuk GS, Ugwu Okechukwu PC et al. (2015).** The effect of ethanol leaf extract of *Jatropha curcas* on some haematological parameters of cyclophosphamide induced anaemia in wister albino rats. *EJAS*, 7 (1), 17-20.
- Dame C, Kirschner KM, Bartz KV et al. (2006).** Wilms tumor suppressor, Wt1, is a transcriptional activator of the erythropoietin gene. *Blood*, 107, 4282-4290.
- Elhalim SAA, Sharada HM, Abulyazid I, Aboulthana WM, Elhalim STA (2017).** Ameliorative effect of carob pods extract (*Ceratonia siliqua* L.) against cyclophosphamide induced alterations in bone marrow and spleen of rats. *J Appl Pharm Sci*, 7 (10), 168-181.
- El-Sebaey AM, Abdelhamid FM, Abdalla OA (2019).** Protective effects of garlic extract against hematological alterations, immunosuppression, hepatic oxidative stress, and renal damage induced by cyclophosphamide in rats. *Environ Sci Pollut Res*, 26, 15559-15572.
- Eltantawy FM, Sobh MAA, EL-Waseef AM, Ibrahim RAA, Saad MAA (2018).** Protective effect of Spirulina against cyclophosphamide-induced urotoxicity in mice. *Egypt J basic appl sci*, 5, 191-196.
- Goudarzi M, Khodayar MJ, Mohammad S et al. (2017).** Pretreatment with melatonin protects against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in mice. *Fundam Clin Pharmacol*, 31, 625-635.
- Han J, Dai M, Zhao Y et al. (2020).** Compatibility effects of ginseng and *Ligustrum lucidum* Ait herb pair on hematopoietic recovery in mice with cyclophosphamide-induced myelosuppression and its material basis. *J Ginseng Res*, 44, 291-299.
- He M, Wang N, Zheng W et al. (2021).** Ameliorative effects of ginsenosides on myelosuppression induced by chemotherapy or radiotherapy. *J Ethnopharmacol*, 268, 113581.
- Ikumawoyi VO, Awodele O, Rotimi K, Fashina AY (2016).** Evaluation of The Effects of the hydro-ethanolic root extract of *Zanthoxylum zanthoxyloides* on hematological parameters and oxidative stress in cyclophosphamide treated rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 13 (5), 153-159.
- Iqbal A, Syed MA, Haque MM et al. (2020).** Effect of nerolidol on cyclophosphamide-induced bone marrow and hematologic toxicity in swiss albino mice. *Exp Hematol*, 82, 24-32.
- Jia W, Zhen M, Li L et al. (2020).** Gadofullerene nanoparticles for robust treatment of aplastic anemia induced by chemotherapy drugs. *Theranostics*, 10 (15), 6886-6897.
- Kalantar M, Goudarzi M, Khodayar MJ et al. (2016).** Protective effect of the hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* L. against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in mice. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 11 (4), 37240.
- Khan JA, Shahdad S, Makhdoomi MA et al. (2014).** Effect of cyclophosphamide on the microanatomy of liver of albino rats. *Int J Res Med Sci*, 2 (4), 1466-1469.
- Khorwal G, Chauhan R, Nagar M (2017).** Effect of cyclophosphamide on liver in albino rats: A comparative dose dependent histomorphological study. *Int J Biomed Adv Res*, 8 (3), 102-107.
- Kim JW, Choi JS, Seol DJ, Choung JJ, Kwang Ku SK (2018).** Immunomodulatory effects of Kuseonwangdoga-based mixed herbal formula extracts on a cyclophosphamide-induced immunosuppression mouse model. *eCAM*, Article ID 6017412, 14.
- Kulshrestha MK, Mahapatra KB, Das AK (2019).** Haematopoietic activity of Mandoor parpati on cyclophosphamide induced anaemia in wistar strain albino rats. *Bull Env Pharmacol Life Sci*, 8 (3), 98-102.
- Lawrence RA, Raymond FB (1976).** Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res*, 71 (4), 952-958.
- Li F, Tang R, Chen LB et al. (2017).** Effects of Astragalus combined with angelica on bone marrow hematopoiesis suppression induced by cyclophosphamide in mice. *Biol Pharm Bull*, 40, 598-609.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951).** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275.
- Murthy HN, Park SY, Lee EJ, Paek KY (2015).** Biosafety and toxicological evaluation of tissue-cultured Echinacea purpurea adventitious roots. *Korean J Horticult Sci Technol*, 33 (1), 124-132.
- Mythili Y, Sudharsan PT, Selvakumar E, Varalakshmi P (2004).** Protective effect of DL-alpha-lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem Biol Interact*, 151 (1), 13-19.
- Özsoy N, Okyar A, Arda Pirinççi P et al. (2016).** The Protective effect of an aqueous extract from *Smilax excelsa* L. against carbon tetrachloride-induced liver in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 13 (3), 203-208.
- Özsoy N, Okyar A, Arda Pirinççi P et al. (2013).** Evaluation of *Smilax excelsa* L. use in experimentally induced nephrotoxicity. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19 (5), 807-814.
- Özsoy N, Can A, Yanardag R, Akev N (2008).** Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chem*, 110 (3), 571-583.
- Perini P, Calabrese M, Rinaldi L, Gallo P (2007).** The safety profile of cyclophosphamide in multiple sclerosis therapy. *Expert Opin Drug Safety*, 6, 183-90.
- Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC (1966).** Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16 (2), 359-364
- Raj SV (2009).** Management of chemotherapy-induced thrombocytopenia: current status of thrombopoietic agents. *Semin Hematol*, 46 (2), 26-32.
- Ramadan G, El-Beih NM, Zahra MM (2012).** Egyptian sweet marjoram leaves protect against genotoxicity, immunosuppression and other complications induced by cyclophosphamide in albino rats. *Br J Nutr*, 108, 1059-1068.
- Rostampur S, Feizi MAH, Khojasteh SMB, Daluchi F (2018).** Heracleum persicum extract improves cyclophosphamide-induced liver toxicity and oxidative stress in male rats. *Adv Herb Med*, 4 (3), 34-44.
- Sedlak J, Lindsay RH (1968).** Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
- Süzek H, Çelik I, Doğan A (2017).** Nephroprotective hepatoprotective potential and antioxidant role of carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) against carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Indian J Pharm Educ Res*, 51 (2), 312-320.
- Wang Z, Qi F, Cui Y et al. (2018).** An update on Chinese herbal medicines as adjuvant treatment of anticancer therapeutics. *Biosci Trends*, 12, 220-239.
- Woo S, Krzyzanski W, Jusko WJ (2008).** Pharmacodynamic model for chemotherapy-induced anemia in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*, 62, 123-133.
- Xu M, He RR, Zhai YJ, Abe K, Kurihara H (2014).** Effects of carnosine on cyclophosphamide-induced hematinic suppression in mice. *Am J Chin Med*, 42, 131-142.
- Yıldız ÖŞ, Ayanoğlu F, Bahadır NP (2018).** Saparna (*Smilax aspera* L., *Smilax excelsa* L.) Türlerinin Bazı Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23 (2), 254-261.
- Zhang J, Tian Q, Zhou S (2006).** Clinical pharmacology of cyclophosphamide and ifosfamide. *Curr Drug Ther*, 1, 55-84.
- Zhang L, Gong AGW, Riaz K et al. (2017).** A novel combination of four flavonoids derived from Astragalus Radix relieves the symptoms of cyclophosphamide-induced anemic rats. *FEBS Open Bio*, 7, 318-32