Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 10(3): 452-458, 2022
DOI: https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i3.452-458.5119

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology

Available online, ISSN: 2148-127X | www.agrifoodscience.com | Turkish Science and Technology Publishing (TURSTEP)

Silymarin Protects Kidneys from Paclitaxel-Induced Nephrotoxicity

Fatih Mehmet Gür[1,a,*], İbrahim Aktaş

[1]*Department of Histology-Embryology, Faculty of Medicine, Niğde Ömer Halisdemir University, 51280 Niğde, Turkey*
[2]*Department of Pharmacology, Vocational School of Health Services, Adıyaman University, 02040 Adıyaman, Turkey*
[*]*Corresponding author*

ARTICLE INFO

Research Article

Received : 15/02/2022
Accepted : 22/02/2022

Keywords:
Silymarin
Paclitaxel
Kidney
Nephrotoxicity
Histopathology

ABSTRACT

The effects of drugs used in cancer treatment are not only specific to cancer cells but also negatively affect healthy cells. This study, it was aimed to investigate the protective effects of silymarin (SLY), which stands out with its antioxidant effects, against the possible harmful effects of paclitaxel (PAX), an anticancer drug, on kidney tissue. A total of 28 Sprague-Dawley female rats were randomly selected into four groups (n=7): Control, PAX, SLY, and PAX + SLY. PAX was administered 2 mg/kg to the PAX group by intraperitoneally (i.p.); SLY was administered 100 mg/kg to the SLY group by oral gavage. Also, The PAX + SLY group was administered the same dose and route of PAX and SLY as the previous groups. In the biochemical analyzes performed in blood and kidney tissues taken from animals at the end of the experimental procedures, it was determined that PAX increased oxidative stress in kidney tissue and creatinine (Cr) and blood urea nitrogen (BUN) levels in serum. In the histopathological examinations of the kidney tissue, it was observed that PAX caused pathological changes such as renal corpuscle atrophy, damage to the brush border, vacuolar degeneration, and desquamation. The administration of SLY, a pharmacological agent with anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant effects, largely prevented these pathological changes that occurred as a result of PAX use. The results obtained in the current study showed that SLY can be used as a protective agent against harmful effects on kidney tissue in treatments with PAX.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10(3): 452-458, 2022

Silimarin'in Paklitaksel Kaynaklı Nefrotoksisiteye Karşı Koruyucu Etkileri

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 15/02/2022
Kabul : 22/02/2022

Anahtar Kelimeler:
Silimarin
Paklitaksel
Böbrek
Nefrotoksisite
Histopatoloji

ÖZ

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların etkileri yalnızca kanser hücrelerine özgü olmayıp sağlıklı hücreleri de olumsuz etkilemektedir. Bu çalışmada antikanser bir ilaç olan paklitaksel'in (PAX) böbrek dokusundaki olası zararlı etkilerine karşı antioksidan etkileriyle öne çıkan silimarin'in (SLY) olası koruyucu etkilerinin ortaya konulması amaçlandı. Toplam 28 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçandan rastgele bir seçimle: Kontrol, PAX, SLY ve PAX + SLY olmak üzere dört grup (n=7) oluşturuldu. PAX grubuna 2 mg/kg intraperitoneal yolla PAX, SLY grubuna oral gavaj sonda ile 100 mg/kg SLY, PAX + SLY grubuna ise önceki gruplarla aynı doz ve yolla PAX ve SLY uygulandı. Deneysel işlemlerin sonunda hayvanlardan alınan kan ve böbrek dokularında yapılan biyokimyasal analizlerde PAX'ın, böbrek dokusunda oksidatif stresi, serumda ise kreatinin (Cr) ve kan üre azotu (blood urea nitrogen, BUN) seviyelerini artırdığı tespit edildi. Böbrek dokusunda yapılan histopatolojik incelemelerde PAX'ın renal korpüskül atrofisi, fırçamsı kenarda hasar, vakuolar dejenerasyon ve deskuamasyon gibi patolojik değişikliklere yol açtığı gözlendi. Antienflamatuar, antiapoptotik ve antioksidan etkilere sahip bir farmakolojik ajan olan SLY uygulanması ise, PAX kullanımı sonucu meydana bu gelen patolojik değişiklikleri büyük oranda engelledi. Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar PAX ile yapılacak tedavilerde böbrek dokusunda şekillenecek zararlı etkilere karşı koruyucu olarak SLY'nin kullanılabileceğini gösterdi.

[a] fgur@ohu.edu.tr https://orcid.org/0000-0001-7748-3272 | [b] iaktas@adiyaman.edu.tr https://orcid.org/0000-0002-0956-8204

This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Giriş

Kanser dünya genelinde giderek yaygınlaşma eğiliminde olan çağımızın en önemli hastalıklarından biridir. Halihazırda kanser tedavisinde kullanılan çok sayıda kemoterapötik ajan bulunmaktadır. Bu ajanlardan biride *Taxus brevifolia* ağacından elde edilen doğal bir ilaç olan paklitaksel'dır (PAX) (Massey ve ark., 2019). Özellikle meme ve yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan bu ajan, pankreas, yemek borusu, kolon, baş ve boyun kanserleri ile Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AIDS) ile ilişkili Kapoksis sendromu tedavisinde de kullanılmaktadır (Sarosy ve Reed, 1993; Xie QM ve ark., 2002; Guo ve ark., 2005; Stage ve ark., 2018; Zang ve Kagan, 2018). PAX, polimerizasyonu destekleyen ve mikrotübüllerin ayrılmasını engelleyen mikrotübül stabilize edici bir ajandır (Singla ve ark., 2002; Bang ve ark., 2019). PAX mikrotübüller üzerindeki bu etkisi sayesinde hücre çoğalmasını engelleyerek hızla çoğalan tümör hücrelerinin ölümüne neden olur (Zasadil ve ark., 2014). Bunula birlikte PAX'ın sitokrom-c salınımını ve mitokondriyal reaktif oksijen türlerini artırarak apoptozis'i uyardığı da rapor edilmiştir (Varbiro ve ark., 2001). PAX kanser hücreleri yanında sağlıklı hücreleri de olumsuz etkileyebilir (Rowinsky ve ark., 1993). Önceki çalışmalarda, PAX kullanımına bağlı olarak aşırı duyarlılık reaksiyonları, kemik iliği baskılanması, nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite, periferik ve sentral nörotoksisite gibi yan etkilerin şekillendiği bildirilmiştir (Huizing ve ark., 1995; Thornton ve ark., 2008; Xie JD ve ark., 2015; Zang ve Kagan, 2018; da Costa ve ark., 2020; Gür ve ark., 2022). Arany ve ark., (2013) ile Adikwu ve ark., (2021) tarafından PAX'ın böbrek dokularında serbest radikal üretimini artırarak böbrek hasarına yol açtığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda PAX'ın böbrek dokusunda perivasküler ödem, konjesyon, hücresel infiltrasyon, fırçamsı kenarda hasar, renal korpuskül atrofisi ve ayrıca, tubul epitellerinde vakuoler dejenerasyon ve deskuamasyon gibi histopatolojik değişikliklere sebep olduğu bildirilmiştir (Rabah, 2010; Ahmed ve ark., 2018).

Silimarin (SLY), devedikeni bitkisinin *(Silybum marinum)* tohumlarından elde edilen bir flavonoidir (Soto ve ark., 2004). Bu farmakolojik ajan özellikle karaciğer ve safra kesesi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Ding ve ark., 2001; Kocaman and Dabak, 2015). Yapılan çalışmalarda SLY'nin, antienflamatuar, antioksidan, antiapoptotik, antikarsinojenik, antiviral, antifibrotik ve antianjiojenik etkileri olduğu bildirilmiştir (Ramakrishnan ve ark., 2009; Shaker ve ark., 2010; Kocaman ve Dabak, 2015; Federico ve ark., 2017; Kim ve ark., 2020). SLY'nin özellikle antioksidan etkileri sayesinde karaciğer, pankreas ve böbrek dokularında çeşitli kimyasal ajanlar tarafından oluşturulan doku hasarını iyileştirdiği rapor edilmiştir (Soto ve ark., 2004; Dashti-Khavidaki ve ark., 2012; Rafieian-Kopaie ve Nasri, 2012; Ghosh ve ark., 2016; Kim ve ark., 2020). PAX da dahil kanser tedavisinde kullanılmakta olan çok sayıda ilacın normal dokularda da hasara neden olduğu bilinmektedir. Kemoterapötik ilaçların bu yan etkileri kanser tedavi planını olumsuz olarak etkilemektedir (Park ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda antioksidan maddelerin antikanser ilaçlarla birlikte verilmesinin antikanser ilaçların normal dokular üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabileceği rapor edilmiştir (Padmavathi ve ark., 2006; Park ve ark., 2012; Salahshoor ve ark., 2019; Bilgic ve Armagan, 2020; Bilgic ve ark., 2020; Gür ve ark., 2022). Bu nedenle mevcut çalışmada PAX'ın böbrek dokusundaki olası zararlı etkilerine karşı SLY'nin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Yöntem

Kimyasallar

Deneysel çalışmamızda kullandığımız PAX (100 mg/17 ml enjekte edilebilir solüsyon) Actavis (Little Island, Cork, İrlanda) firmasından ve SLY ise Madaus (Madaus, İstanbul, Türkiye) firmasından Legalon fort (100 mg/kg kapsül) olarak temin edildi. Kullandığımız diğer kimyasallar Sigma Kimya A.Ş.'den satın alındı.

Deneysel Uygulamalar

Uygulamalarımızda 230-280 gr ağırlığında ve dokuz haftalık 28 adet Sprague-Dawley tipi dişi sıçan Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Hayvan deneyi etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı (2021/014). Sıçanlara günlük taze içme suyu verildi. Kafes temizliği günlük olarak gerçekleştirildi. Ayrıca hayvanlar; sıcaklığın 21 ± 2°C, nemin %50 ± 5, aydınlatmanın 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olduğu bir ortamda tutuldu. Çalışma boyunca hayvanlar standart pelet yem ile *ad libitum* olarak beslendi.

Çalışmamız rastgele ve her biri yedi sıçandan oluşan dört grup olacak şekilde tasarlandı. Bu gruplar;

- Kontrol grubu: Bu gruptaki sıçanlara dört gün boyunca oral yoldan ve altı gün boyunca intraperitoneal (i.p.) yolla 1 mL serum fizyolojik verildi.
- PAX grubu: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 0., 2., 4. ve 6. günlerinde 2 mg/kg PAX i.p. yolla uygulandı (Bilgic ve Ozgocmen, 2019).
- SLY grubu: Bu gruptaki sıçanlara, altı gün boyunca oral gavaj ile 1 mL distile suda çözdürülen 100 mg/kg SLY verildi (Aktas ve Ozgocmen, 2020).
- PAX + SLY grubu: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 0., 2., 4. ve 6. günlerinde 2 mg/kg PAX i.p. yolla uygulandı. Diğer taraftan altı gün boyunca gavaj yoluyla 1 mL distile suda çözdürülen 100 mg/kg SLY verildi.

Deneysel işlemlerin tamamlanmasından sonra, hayvanların tamamına intramusküler (i.m.) yolla ketamin hidroklorür (45 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) verildi. Alınan kan örneklerinin 5.000 × *g*'de 15 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar daha sonra yapılması planlanan biyokimyasal analizler için -86 °C'de muhafaza altına alındı. Ardından hızlı bir şekilde vücuttan uzaklaştırılan böbrek dokuları iki eşit parçaya bölündükten sonra, bir parçası biyokimyasal analizler için -86 °C'de saklandı diğer parçası ise histopatolojik analizler için tespit solüsyonuna daldırıldı.

Histopatolojik Analizler

Tespit (%10 tamponlu nötr formalin) solüsyonunda 4°C'de 24 saat süreyle tespit edilen böbrek dokuları, alkol ve ksilen serilerinden geçirildikten sonra parafine gömüldü (Gur ve Aktas, 2021). Parafin bloklardan rotary mikrotom

(Leica Biosystems RM 2245) vasıtasıyla 5 µm kalınlığında kesilen doku kesitleri lam üzerine alındıktan sonra hematoksilen-eozin ve PAS yöntemleri ile boyandı (Gür ve Timurkaan, 2014; Balcioglu ve ark., 2021; Aktas ve Gur, 2022). Boyanan doku kesitleri Olympus BX-53 mikroskobu kullanılarak incelendikten sonra aynı mikroskop kamerasıyla (DP 80 Olympus, Tokyo, Japonya) fotoğraflandı.

Biyokimyasal Analizler

Serumda kreatinin (Cr) ve kan üre azotu (BUN) (mg/dL) seviyeleri, Abbott ARCHITECT c16000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) ve özel ticari kitler kullanılarak ölçüldü.

Oksidatif Stres Biyobelirteçleri

Böbrek dokularının homojenizasyonu bir homojenizatör (Turrax T 25, Wilmington, ABD) vasıtasıyla gerçekleştirildi. Homojenatlar örneklerin 10.000 × *g*'de yaklaşık 4°C'de 15 dakikada santrifüj edillmesiyle elde edildi. Yapılan tüm işlemler 4°C'de gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler 0,5-1,0 gr olarak hazırlanan doku homojenatlarında yapıldı. Malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) parametreleri spektrofotometre (UNICO Instruments C., Dayton, ABD) ile belirlendi. Protein konsantrasyonlarının analizi, Lowry ve ark. (1951) tarafından geliştirilen yöntemle gerçekleştirildi (Lowry ve ark., 1951).

MDA Analizi

Draper ve Hadley, (1990) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak yapıldı. MDA'nın TBA ile reaksiyonu pH 3'te, yaklaşık 15 dakika ve 95°C'de gerçekleştirildi. 532 nm'de yapılan ölçümde önce maksimum absorbsiyonda pembe pigment elde edildi. Ölçüm daha sonra bir spektrofotometre (UNICO Instruments C., Dayton, ABD) aracılığıyla gerçekleştirildi.

GSH Analizi

Ellman, (1959) yöntemiyle gerçekleştirildi. Numuneye eklenen kimyasallarla ortamda reaksiyon gözlendi ve ardından sarı-yeşil bir renk oluştu. GSH seviyesinin ölçümü, 410 nm absorbansta spektrofotometre ile gerçekleştirildi.

SOD Analizi

Pirogallolün otooksidasyonunu inhibe ederek Marklund ve Marklund, (1974) yöntemi kullanılarak gösterildi. 440 nm'de enzim aktivitesi 180 s(s)'de tamamlandı. SOD ölçümü U/mg Hb olarak belirlendi.

CAT Analizi

CAT parametresinin belirlenmesi, %10 luk doku homojenatlarının %0,9 NaCl içinde 8.500 × *g*'de yaklaşık 4°C ve 15 dakika santrifüj edilerek gerçekleştirildi. CAT ölçümü, bir fosfat tamponu vasıtasıyla pH 7.0'da hidrojen peroksitin (H_2O_2) hidrolizinin analizi ile yapıldı. CAT düzeyi, 240 nm'de absorbansta nmol/mg protein olarak belirlendi (Aebi, 1984).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 20,0 ile yapıldı. Veriler ortalama ± standart hata (SEM, standard error of the means) olarak verildi. Normallik Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Biyokimyasal parametrelerdeki parametrik değerlerin gruplar arası ve grup içi karşılaştırmaları, tek yönlü ANOVA ve LSD ile yapıldı. Parametrik olmayan değerler ise Kruskal Wallis testi kullanılarak gerçekleştirildi. P≤0,05 için değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Biyokimyasal Serum Parametreleri

Gruplara ait biyokimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Böbrek fonksiyonunu değerlendirmek için serum Cr ve BUN düzeyleri ölçüldü. Kontrol ve SLY grubu sıçanların serum Cr ve BUN düzeyleri benzerlik gösterdi. PAX grubu sıçanlarda bu parametrelerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi (P≤0,05). PAX + SLY grubunda ise PAX grubuna nazaran serum Cr ve BUN seviyelerinde istatistiksel olarak önemli ölçüde düşüş kaydedildi (P<0,05).

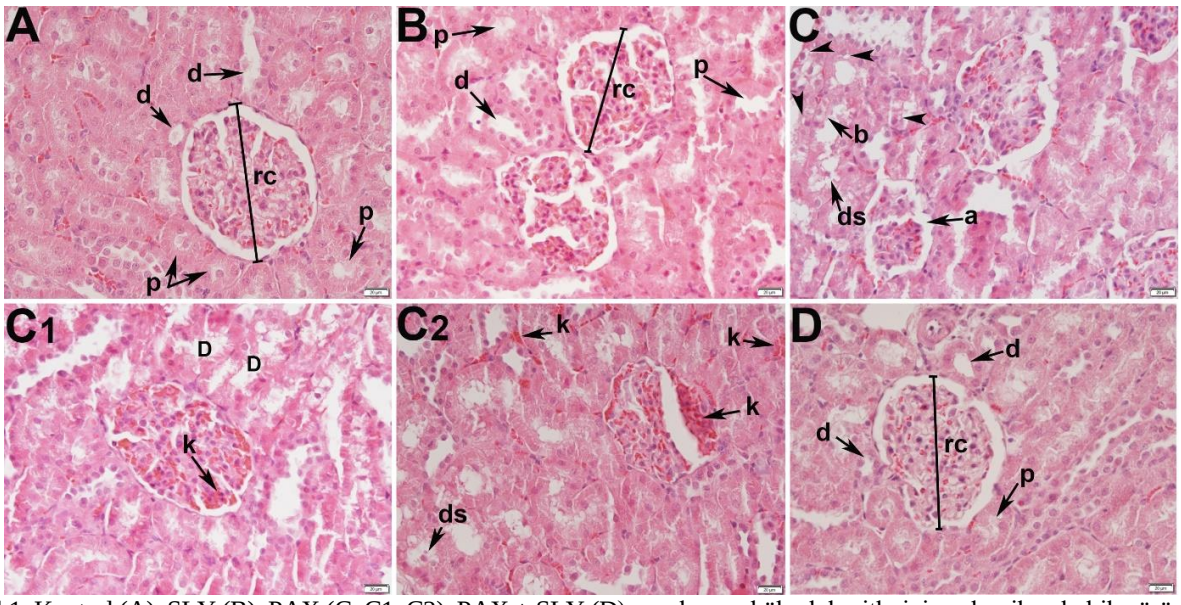
Böbrek Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri

Gruplara ait oksidatif stres parametrelerinin sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol ve SLY gruplarının MDA parametresi sonuçları birbirine benzerlik gösterdi. PAX grubu MDA seviyesinde ise kontrol ve SLY gruplarına göre önemli ölçüde artış kaydedildi (P<0,05). PAX + SLY grubundaki MDA seviyesinde PAX grubuna nazaran istatistiksel olarak önemli ölçüde düşüş tespit edildi (P<0,05) (Tablo 1).

Kontrol ve SLY gruplarının SOD, CAT ve GSH parametrelerinde birbirlerine yakın sonuçlar elde edildi. Diğer taraftan PAX grubu, kontrol ve SLY grupları ile karşılaştırıldığında bu parametrelerde önemli derecede azalma tespit edildi (P≤0,05). PAX + SLY grubu böbrek dokularındaki SOD, CAT ve GSH düzeylerinin ise PAX grubuna kıyasla önemli derecede artış gösterdiği ve kontrol grubuna yaklaştığı görüldü (P≤0,05) (Tablo 1).

Tablo 1. Serum biyokimyasal ve renal doku oksidatif stres biyobelirteçleri
Table 1. Serum biochemical and renal tissue oxidative stress biomarkers

Biyokimyasal analizler	Control	SLY	PAX	PAX + SLY
Serum biyokimyasal biyobelirteçleri				
BUN (mg/dl)	27,89 ± 2,01^{cd}	30,35 ± 0,25^{cd}	54,00 ± 2,45^{abd}	37,05 ± 1,28^{abc}
Cr (mg/dl)	0,41 ± 0,23^{cd}	0,48 ± 0,15^{cd}	0,56 ± 0,04^{abd}	0,50 ± 0,03^{abc}
Renal doku oxidatif stres biyobelirteçleri				
SOD (U/g)	3,52 ± 0,14^{cd}	3,57 ± 0,11^{cd}	2,70 ± 0,17^{abd}	3,20 ± 0,26^{abc}
CAT (K/g)	0,15 ± 0,03^{cd}	0,18 ± 0,02^{cd}	0,09 ± 0,04^{abd}	0,12 ± 0,02^{abc}
GSH (µmol/g)	0,35 ± 0,02^{cd}	0,41 ± 0,03^{cd}	0,23 ± 0,01^{abd}	0,29 ± 0,02^{abc}
MDA (nmol/g doku)	0,22 ± 0,01^{cd}	0,19 ± 0,02^{cd}	0,32 ± 0,03^{abd}	0,25 ± 0,01^{abc}



Şekil 1. Kontrol (A), SLY (B), PAX (C, C1, C2), PAX + SLY (D) gruplarının böbrek kesitlerinin ışık mikroskobik görüntüsü. p, proksimal tübül; d, distal tübül; rc, renal korpuskül; a, renal korpuskül atrofisi; ds, epitelyal deskuamasyon; b, fırçamsı kenarda hasar; k, konjesyon; D, dejenere tübüller; ok başı, vakuolar dejenerasyon. (× 400; H&E).

Figure 1. Light microscopic image of kidney sections of control (A), SLY (B), PAX (C, C1, C2), PAX + SLY (D) groups. p, proximal tubule; d, distal tubule; rc, renal corpuscle; a, renal corpuscle atrophy; ds, epithelial desquamation; b, damage to the brush border; k, congestion; D, degenerated tubules; arrowhead, vacuolar degeneration. (× 400; H&E).

Histopatolojik Sonuçlar

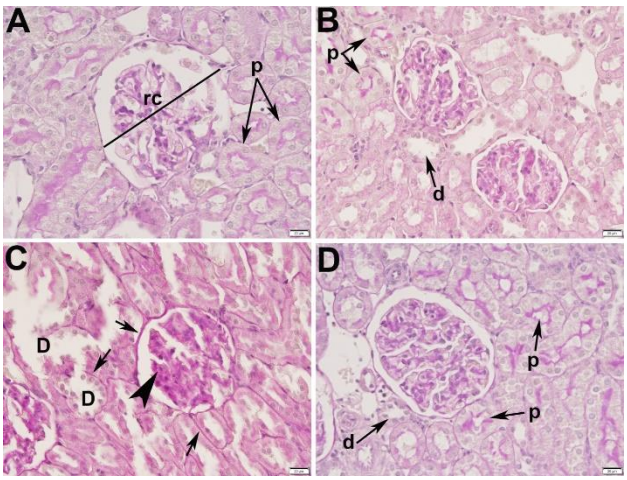
Kontrol ve SLY grubu sıçanların böbrek dokularının histolojik yapılarının normal olduğu görüldü. PAX grubu sıçanların böbrek dokularında tübüler dejenerasyon, tübül epitellerinde; fırçamsı kenarda hasar, vakuoler dejenerasyon ve deskuamasyon gibi patolojik değişiklikler gözlendi (Şekil 1). Bu grupta ayrıca tübüler ve kapsüler bazal membranlar da kalınlaşma, mezangial matrikste artış ve renal korpüskül atrofisi gibi histopatolojik değişiklikler de gözlendi (Şekil 2). PAX + SLY grubu böbrek dokularının histolojik yapısı neredeyse kontrol grubuyla aynıydı (Şekil 1, 2).

Tartışma

Böbrekler, homeostasinin korunmasını sağlayan önemli organlar arasında yer almaktadır. Çok sayıda fonksiyonu olan bu organların görevlerinden en önemlisi vücutta metabolizma sonucu oluşan atık ürünlerin, ilaçların ve toksinlerin idrar vasıtasıyla uzaklaştırılmasıdır. Bu nedenle onkolojide kullanılan ilaçların ve PAX'ın da dahil olduğu çok sayıda maddenin nefrotoksik etkilerine maruz kalmaktadırlar (Perazella, 2009; Jagiela ve ark., 2021).

Kasın artık ürünü olan Cr ile protein metabolizmasının ana son ürünü olan BUN vücuttan böbrekler aracılığı ile atılmaktadır (Khatri ve ark., 2020). Serumdaki Cr ve BUN miktarlarının artması, böbreklerdeki fonksiyon bozukluğunun ve hasarın bir göstergesidir (Omran, 2014; Giribabu ve ark., 2017; Khalilpour ve ark., 2019; Aktaş ve Gür, 2021). Çalışmamızda PAX grubu kontrol ve SLY grupları ile kıyaslandığında bu parametrelerin seviyelerinde önemli oranda artış gözlendi. PAX'ın böbrek hasarına yol açtığını gösteren bu sonuç literatürle de (Baek ve ark., 2015; Choudhury ve ark., 2017; Khatri ve ark., 2020) uyumluluk göstermektedir. Yapılan çalışmalarda antikanser bir ilaç olan sisplatin ve toksik bir ajan olan tiyoasetamidin serum Cr ve BUN seviyelerini yükselttiği, bu ajanların olumsuz etkilerine karşı kullanılan SLY'nin ise antioksidan etkileri sayesinde artan serum Cr ve BUN seviyelerini normale döndürdüğü bildirilmiştir (Karimi ve ark., 2005; Dashti-Khavidaki ve ark., 2012; Ghosh ve ark., 2016). Benzer şekilde çalışmamızda da PAX + SLY grubunun serum Cr ve BUN düzeylerinin PAX grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlendi. Elde edilen bu sonuç diğer biyokimyasal analiz sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde PAX'ın böbrek dokusunda meydana getirdiği hasarın SLY'nin antioksidan ve diğer etkileri sayesinde iyileştirildiği söylenebilir.

Vücutta serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasında özel bir denge bulunmaktadır. Bu dengenin zararlı radikaller lehine kayması oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stres, biyomoleküler hasara neden olan lipit peroksidasyonuna yol açabilir. MDA, oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan lipit peroksidasyon ürünlerinden biridir. Oksidatif stres seviyesi hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan sistemler tarafından düzenlenmektedir. SOD ve CAT enzimatik, GSH ise enzimatik olmayan bir antioksidandır (Ohkawa ve ark., 1979; Shoji ve Koletzko, 2007; Birben ve ark., 2012; Arora ve Singh, 2014). Çalışmamızda PAX grubu MDA düzeyinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığı, SOD, CAT ve GSH seviyelerinin ise azaldığı tespit edildi. PAX kullanımının böbrek dokusunda oksidatif strese neden olduğunu gösteren bu sonuçlar benzer literatürlerle de uyumluluk göstermektedir (Adikwu ve ark., 2021). PAX + SLY grubunun PAX grubuna kıyasla MDA seviyesinde önemli ölçüde düşüş, SOD, CAT ve GSH düzeylerinde ise anlamlı oranda artış kaydedildi. SLY muhtemelen antioksidan ve serbest radikal temizleyici etkileri sayesinde lipit peroksidasyonunu azaltmakta, GSH, SOD ve CAT konsantrasyonlarını arttırmaktadır. Böylece SLY hücresel savunma mekanizmalarına katkıda bulunmaktadır.



Şekil 2. Kontrol (A), SLY (B), PAX (C), PAX + SLY (D) gruplarının böbrek kesitlerinin PAS boyaması. p, proksimal tübül; d, distal tübül; rc, renal korpuskül; D, dejenere tubüller; oklar, kapsüler ve tübüler bazal membranlarda kalınlaşma; ok başı, mezangial matrikste artış (PAS × 400).

Figure 2. PAS staining of kidney sections of control (A), SLY (B), PAX (C), PAX + SLY (D) groups. p, proximal tubule; d, distal tubule; rc, renal corpuscle; D, degenerated tubules; arrows, thickening of capsular and tubular basement membranes; arrowhead, increase in mesangial matrix (PAS × 400).

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre SLY'nin antioksidan etkileriyle çeşitli ilaçlar ve kimyasallardan kaynaklanan böbrek ve diğer organlardaki oksidadif stresi iyileştirdiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar benzer çalışmaların sonuçlarıyla da paralellik göstermektedir (Ghosh ve ark., 2016; Aktaş ve ark., 2020; Stephen Robert ve ark., 2021; Ozer ve ark. 2020; Bilgiç ve ark. 2018).

Mevcut çalışmada kontrol ve SLY grubu böbrek dokularının histolojik yapısının normal olduğu tespit edildi. PAX grubu böbrek dokularında ise tübüler dejenersyon, tübül epitellerinde; fırçamsı kenarda hasar, vakuolar dejenerasyon ve deskuamasyon gibi patolojik değişiklikler şekillendi. Bu grupta ayrıca tübüler ve kapsüler bazal membranlar da kalınlaşma ve renal korpüskül atrofisi gibi histopatolojik değişiklikler de gözlendi. Bu çalışmada PAX kullanımı neticesinde böbrek dokularında şekillenen histopatolojik değişiklikler daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paraleldir (Rabah, 2010; Choudhury ve ark., 2017; Ahmed ve ark., 2018; Adikwu ve ark., 2021). Diğer taraftan PAX + SLY grubunda ise PAX grubunda gözlenen histopatolojik değişikliklerde önemli ölçüde düzelme olduğu fark edildi. Bu çalışmada elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik analiz sonuçları birbirlerini desteklemekte olup, SLY'nin böbrek dokusunu PAX'ın zararlı etkilerine karşı koruduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da SLY'nin, çeşitli ilaçların ve kimyasalların böbrek ve diğer dokularda oluşturduğu histopatolojik değişiklikleri önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Soto ve ark., 2004; Ghosh ve ark., 2016; Kim ve ark., 2020). Çalışmamızda elde edilen veriler bu konudaki literatürle uyumluluk göstermektedir (Soto ve ark., 2004; Ghosh ve ark., 2016; Kim ve ark., 2020)

Sonuç

Mevcut çalışmada elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik bulgular birlikte değerlendirildiğinde, PAX'ın böbrek dokusunda oksidatif stresi artırarak moleküler ve histopatolojik düzeyde hasara yol açtığı belirlendi. SLY'nin ise özellikle antioksidan etkileriyle PAX'ın böbrek dokusundaki olumsuz etkilerini büyük oranda iyileştirdiği tespit edildi. Elde edilen bu sonuçlar; kanser tedavisi sırasında PAX'ın SLY ile kombine kullanımının, böbrek dokusunu, PAX'ın olumsuz etkilerinden koruyabileceğini göstermektedir.

Kaynaklar

Adikwu E, Ebinyo NC, Orakpor DO. 2021. Coenzyme Q10 and resveratrol protect against paclitaxel-induced nephrotoxicity in rats. Trends in Pharmaceutical Sciences, 7(1):49-58. https://doi.org/10.30476/TIPS.2021.90346.1082

Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymology, 105:121-126. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Ahmed S, Mohammed M, Mahmoud A. 2018. The role of gold nanoparticles on taxol-induced renal cortex damage in adult male albino rats. Egyptian Journal of Histology, 41(3):1-13. https://doi.org/10.21608/EJH.2019.25412

Aktas I, Gur FM. 2022. Hepato-protective effects of thymoquinone and beta-aminoisobutyric acid in streptozocin induced diabetic rats. Biotechnic & Histochemistry, 97(1):67-76. https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1949041

Aktas I, Ozgocmen M. 2020. The treatment effect of silymarin on heart damage in rats. Annals of Medical Research, 27(3):948. https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2019.10.643

Aktaş İ, Gür FM. 2021. Investigation of the protective and therapeutic effects of β-aminoisobutyric acid (BAIBA) and Thymoquinone in the diabetic nephropathy. Boletin Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromatica, 20(3):303 - 314

Aktaş İ, Gür FM, Özgöçmen M. 2020. Silymarin Ameliorates Valproic Acid-Induced Pancreas Injury by Decreasing Oxidative Stress. International Journal of Veterinary and Animal Research, 3(2):34-38.

Arany I, Clark JS, Reed D, Szabo I, Ember I, Juncos LA. 2013. The role of p66shc in taxol- and dichloroacetic acid-dependent renal toxicity. Anticancer Research, 33(8):3119-3122.

Arora MK, Singh UK. 2014. Oxidative stress: meeting multiple targets in pathogenesis of diabetic nephropathy. Current Drug Targets, 15(5):531-538. https://doi.org/10.2174/1389450115666140321120635

Baek JS, Kim JH, Park JS, Cho CW. 2015. Modification of paclitaxel-loaded solid lipid nanoparticles with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin enhances absorption and reduces nephrotoxicity associated with intravenous injection. International Journal of Nanomedicine, 10:5397-5405. https://doi.org/10.2147/IJN.S86474

Balcioglu E, Gur FM, Gur HE, Bilgici P, Kankılıç T. 2021. Histological structure of Nannospalax xanthodon cochlea tissue. Biologia, 76, pages2543–2548. https://doi.org/10.1007/s11756-021-00746-5

Bang KH, Na YG, Huh HW, Hwang SJ, Kim MS, Kim M, Lee HK, Cho CW. 2019. The Delivery Strategy of Paclitaxel Nanostructured Lipid Carrier Coated with Platelet Membrane. Cancers (Basel), 11(6). https://doi.org/10.3390/cancers11060807

Bilgic S, Armagan I. 2020. Effects of misoprostol treatment on doxorubicin induced renal injury in rats. Biotechnic & Histochemistry, 95(2):113-120. https://doi.org/10.1080/1052 02952019.1645356

Bilgic S, Korkmaz DT, Azirak S, Güvenc AN, Kocaman N, Ozer MK. 2018. Olanzapine-induced renal damages and metabolic side effects: the protective effects of thymoquinone. Journal of Turgut Ozal Medical Center. 25(1):70-5. https://doi.org/10.5455/jtomc.2017.10.133

Bilgic S, Ozgocmen M. 2019. The protective effect of misoprostol against doxorubicin induced liver injury. Biotechnic & Histochemistry, 94(8):583-591. https://doi.org10. 1080/10520295.2019.1605457

Bilgic S, Ozgocmen M, Ozer MK, Asci H. 2020. Misoprostol ameliorates doxorubicin induced cardiac damage by decreasing oxidative stress and apoptosis in rats. Biotechnic & Histochemistry, 95(7):514-521. https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1727013

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal, 5(1):9-19. https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613

Choudhury H, Gorain B, Tekade RK, Pandey M, Karmakar S, Pal TK. 2017. Safety against nephrotoxicity in paclitaxel treatment: Oral nanocarrier as an effective tool in preclinical evaluation with marked in vivo antitumor activity. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 91:179-189. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.10.023

Da Costa R, Passos GF, Quintao NLM, Fernandes ES, Maia J, Campos MM, Calixto JB. 2020. Taxane-induced neurotoxicity: Pathophysiology and therapeutic perspectives. British Journal of Pharmacology, 177(14):3127-3146. https://doi.org/10.1111/bph.15086

Dashti-Khavidaki S, Shahbazi F, Khalili H, Lessan-Pezeshki M. 2012. Potential renoprotective effects of silymarin against nephrotoxic drugs: a review of literature. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 15(1):112-123. https://doi.org/10.18433/j3f88s

Ding T, Tian S, Zhang Z, Gu D, Chen Y, Shi Y, Sun Z. 2001. Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 26(1):155-161. https://doi.org/10.1016/s0731-7085(01)00364-8

Draper HH, Hadley M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods in Enzymology, 186:421-431. https://doi.org/10.1016/s0731-7085(01)00364-8

Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics, 82(1):70-77.

Federico A, Dallio M, Loguercio C. 2017. Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years. Molecules, 22(2). https://doi.org/10.3390/molecules22020191

Ghosh S, Sarkar A, Bhattacharyya S, Sil PC. 2016. Silymarin Protects Mouse Liver and Kidney from Thioacetamide Induced Toxicity by Scavenging Reactive Oxygen Species and Activating PI3K-Akt Pathway. Frontiers in Pharmacology, 7:481. https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00481

Giribabu N, Karim K, Kilari EK, Salleh N. 2017. Phyllanthus niruri leaves aqueous extract improves kidney functions, ameliorates kidney oxidative stress, inflammation, fibrosis and apoptosis and enhances kidney cell proliferation in adult male rats with diabetes mellitus. Journal of Ethnopharmacology, 205:123-137. https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.002

Guo W, Johnson JL, Khan S, Ahmad A, Ahmad I. 2005. Paclitaxel quantification in mouse plasma and tissues containing liposome-entrapped paclitaxel by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetics study. Analytical Biochemistry, 336(2):213-220. https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.09.046

Gur FM, Aktas I. 2021. The ameliorative effects of thymoquinone and beta-aminoisobutyric acid on streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy. Tissue and Cell, 71:101582. https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101582

Gür FM, Aktaş İ, Bilgic S, Pekince M. 2022. Misoprostol alleviates paclitaxel-induced liver damage through its antioxidant and anti-apoptotic efects. Molecular & Cellular Toxicology, https://doi.org/10.1007/s13273-021-00210-0

Gur FM, Timurkaan S. 2014. The effects of prepubertal epididymal ligation upon the rat testis. Iran Journal of Reproductive Medicine 12 (10): 673-680.

Huizing MT, Misser VH, Pieters RC, ten Bokkel Huinink WW, Veenhof CH, Vermorken JB, Pinedo HM, Beijnen JH. 1995. Taxanes: a new class of antitumor agents. Cancer Investigation, 13(4):381-404. https://doi.org/10.3109/07357909509031919

Jagiela J, Bartnicki P, Rysz J. 2021. Nephrotoxicity as a Complication of Chemotherapy and Immunotherapy in the Treatment of Colorectal Cancer, Melanoma and Non-Small Cell Lung Cancer. International Journal of Molecular Sciences, 22(9). https://doi.org/10.3390/ijms22094618

Karimi G, Ramezani M, Tahoonian Z. 2005. Cisplatin nephrotoxicity and protection by milk thistle extract in rats. Evidence Based Complementary Alternative Medicine, 2(3):383-386. https://doi.org/10.1093/ecam/neh103

Khalilpour J, Roshan-Milani S, Gharalari FH, Fard AA. 2019. Macrophage migration inhibitory factor antagonist (p425) ameliorates kidney histopathological and functional changes in diabetic rats. Brazilian Journal of Nephrology, 41(3):315-322. https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2018-0184

Khatri H, Chokshi N, Rawal S, Patel BM, Badanthadka M, Patel MM. 2020. Fabrication and in vivo evaluation of ligand appended paclitaxel and artemether loaded lipid nanoparticulate systems for the treatment of NSCLC: A nanoparticle assisted combination oncotherapy. International Journal of Pharmaceutics, 583:119386. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119386

Kim MJ, Kim DU, Choi JW, Kim DG, Song HJ, Bae GS, Park SJ. 2020. Silymarin Attenuates the Severity of Cerulein-Induced Acute Pancreatitis. Pancreas, 49(1):89-95. https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001453

Kocaman N, Dabak DÖ. 2015. Hepatoprotektif bir ajan: Silymarin. Fırat Tıp Derg, 20(3):128-132.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193(1):265-275. Journal of Biological Chemistry

Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Journal of Cellular Physiology, 47(3):469-474. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x

Massey AE, Sikander M, Chauhan N, Kumari S, Setua S, Shetty AB, Mandil H, Kashyap VK, Khan S, Jaggi M ve ark., 2019. Next-generation paclitaxel-nanoparticle formulation for pancreatic cancer treatment. Nanomedicine, 20:102027. https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102027

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry, 95(2):351-358. https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3

Omran OM. 2014. Effects of thymoquinone on STZ-induced diabetic nephropathy: an immunohistochemical study. Ultrastructural Pathology, 38(1):26-33. https://doi.org/10.3109/01913123.2013.830166

Ozer MK, Bilgic S, Armagan I, Savran M. 2020. Thymoquinone protection from amikacin induced renal injury in rats. Biotechnic & Histochemistry, 95:(2):129-136. https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1650957

Padmavathi R, Senthilnathan P, Chodon D, Sakthisekaran D. 2006. Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7,12 dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats. Life Sciences, 78(24):2820-2825. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.11.005

Park JH, Davis KR, Lee G, Jung M, Jung Y, Park J, Yi SY, Lee MA, Lee S, Yeom CH ve ark., 2012. Ascorbic acid alleviates toxicity of paclitaxel without interfering with the anticancer efficacy in mice. Nutrition Research, 32(11):873-883. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.09.011

Perazella MA. 2009. Renal vulnerability to drug toxicity. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 4(7):1275-1283. https://doi.org/10.2215/CJN.02050309

Rabah SO. 2010. Acute Taxol nephrotoxicity: Histological and ultrastructural studies of mice kidney parenchyma. Saudi Journal of Biological Sciences, 17(2):105-114. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.02.003

Rafieian-Kopaie M, Nasri H. 2012. Silymarin and diabetic nephropathy. Journal of Renal Injury Prevention, 1(1):3-5. https://doi.org/10.12861/jrip.2012.02.

Ramakrishnan G, Lo Muzio L, Elinos-Baez CM, Jagan S, Augustine TA, Kamaraj S, Anandakumar P, Devaki T. 2009. Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells. Cell Proliferation, 42(2):229-240. https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2008.00581.x

Rowinsky EK, Eisenhauer EA, Chaudhry V, Arbuck SG, Donehower RC. 1993. Clinical toxicities encountered with paclitaxel (Taxol). Seminars in Oncology, 20(4 Suppl 3):1-15.

Salahshoor MR, Roshankhah S, Jalili C. 2019. Antioxidative properties of Thymus vulgaris on liver rats induced by paclitaxel. Pharmacognosy Research, 11:315-320. https://doi.org/10.4103/pr.pr_45_19

Sarosy G, Reed E. 1993. Taxol dose intensification and its clinical implications. Journal of the National Medical Association, 85(6):427-431.

Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. 2010. Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. Food and Chemical Toxicology, 48(3):803-806. https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.011

Shoji H, Koletzko B. 2007. Oxidative stress and antioxidant protection in the perinatal period. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 10(3):324-328. https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3280a94f6d

Singla AK, Garg A, Aggarwal D. 2002. Paclitaxel and its formulations. International Journal of Pharmaceutics, 235(1-2):179-192. https://doi.org/10.1016/s0378-5173(01)00986-3

Soto C, Mena R, Luna J, Cerbon M, Larrieta E, Vital P, Uria E, Sanchez M, Recoba R, Barron H ve ark., 2004. Silymarin induces recovery of pancreatic function after alloxan damage in rats. Life Sciences, 75(18):2167-2180. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.04.019

Stage TB, Bergmann TK, Kroetz DL. 2018. Clinical pharmacokinetics of paclitaxel monotherapy: An updated literature review. Clinical Pharmacokinetics, 57(1):7-19. https://doi.org/10.1007/s40262-017-0563-z

Stephen Robert JM, Peddha MS, Srivastava AK. 2021. Effect of silymarin and quercetin in a miniaturized scaffold in wistar rats against non-alcoholic fatty liver disease. American Chemical Society Omega, 6(32):20735-20745. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00555

Thornton LM, Carson WE, 3rd, Shapiro CL, Farrar WB, Andersen BL. 2008. Delayed emotional recovery after taxane-based chemotherapy. Cancer, 113(3):638-647. https://doi.org/10.1002/cncr.23589

Varbiro G, Veres B, Gallyas F46Jr, Sumegi B. 2001. Direct effect of Taxol on free radical formation and mitochondrial permeability transition. Free Radical Biology and Medicine, 31(4):548-558. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00616-5

Xie JD, Huang Y, Chen DT, Pan JH, Bi BT, Feng KY, Huang W, Zeng WA. 2015. Fentanyl enhances hepatotoxicity of paclitaxel via inhibition of CYP3A4 and ABCB1 transport activity in mice. PLoS One, 10(12):e0143701.

Xie QM, Chen JQ, Shen WH, Bian RL. 2002. Correlative changes of interferon-gamma and interleukin-4 between cortical layer and pulmonary airway of sensitized rats. Acta Pharmacologica Sinica, 23(3):248–252.

Zang X, Kagan L. 2018. Physiologically-based modeling and interspecies prediction of paclitaxel pharmacokinetics. Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, 45(4):577-592. https://doi.org/10.1007/s10928-018-9586-9

Zasadil LM, Andersen KA, Yeum D, Rocque GB, Wilke LG, Tevaarwerk AJ, Raines RT, Burkard ME, Weaver BA. 2014. Cytotoxicity of paclitaxel in breast cancer is due to chromosome missegregation on multipolar spindles. Science Translational Medicine, 6(229):229ra243. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007965