

# Ratlarda BPA ile Oluşturulan Böbrek Hasarında Ellajik Asit Uygulamasının DNA Hasarı ve Bazı Böbrek Fonksiyon Parametreleri Üzerine Etkisi

## Ellagic Acid Administration on DNA Damage and Some Kidney Function Parameters in BPA-Induced Kidney Damage in Rats

Feyza BAŞAK<sup>1</sup> , Mehmet DEMİR<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

<sup>2</sup>Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

ORCID ID: Feyza Başak 0000-0002-9335-1103, Mehmet Demir 0000-0001-6990-3337

**Bu makaleye yapılacak atıf:** Başak F ve Demir M. Ratlarda BPA ile oluşturulan böbrek hasarında Ellajik asit uygulamasının DNA hasarı ve bazı böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkisi. Med J West Black Sea. 2024;8 (1):58-66.

### Sorumlu Yazar

Feyza Başak

### E-posta

vetfeyza@gmail.com

### Geliş Tarihi

29.02.2024

### Revizyon Tarihi

26.03.2024-16.04.2024

### Kabul Tarihi

17.04.2024

### ÖZ

**Amaç:** Bisfenoller (BP'ler), genel popülasyonun yaygın olarak kullandığı birçok üründe bulunan potansiyel hormon bozuculardır. Bisfenol A (BPA) ise, vücudun metabolik sistemleri üzerindeki olumsuz etkilerine rağmen, bazı plastik ve reçinelerin üretiminde uzun yıllardır kullanılan endüstriyel bir kimyasaldır. BPA gibi toksik ajanlardan ve dolayısıyla çevresel kirleticilerden etkilenen en önemli organlardan biri böbreklerdir. Ellajik asit (EA) fitokimyasal bir polifenol bileşiğidir ve yapılan birçok çalışmada EA'nın antioksidan, anti-mutajenik, anti-kanser ve anti-apoptotik özellikler sergilediği rapor edilmektedir. Bu çalışmanın amacı BPA ile indüklenen böbrek hasarı üzerine EA'nın etkisini ortaya koymaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada 24 adet erkek rat, Kontrol, BPA (30 gün süreyle 25mg/kg), EA (30 gün süreyle 10 mg/kg) ve BPA+EA (30 gün süreyle sırasıyla 25mg-10mg/kg) olarak dört gruba ayrıldı (n=6). Çalışma sonunda dekapite edilen ratlardan alınan böbreklerin ağırlıkları ile kan serumundan kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin değerleri ölçüldü. Bunun yanında böbreklerin genel histolojik görüntüsünü ortaya koymak amacıyla Pikro Sirius Red boyaması, dokularda meydana gelen DNA hasarının ortaya konulabilmesi amacıyla 8-hidroksideoksiguanozin antikoru kullanılarak immunohistokimyasal boyama yapılmıştır.

**Bulgular:** Yapılan değerlendirme sonucunda sol böbreğe ait mutlak ve nispi ağırlığın BPA grubunda artış gösterdiği, BPA+EA grubunda ise kontrole yaklaşarak düştüğü gözlenmiştir. Kan üre azotu (BUN) ve kreatinin değerlerinde BPA grubunda kontrol grubuna göre ciddi artış olduğu görülmüş, BPA+EA grubunda ise bu değerlerin azaldığı tespit edilmiştir. BPA kullanılan gruptan alınan böbrek dokularında 8-hidroksideoksiguanozin primer antikorunun glomerulus ve tubul yapılarında yoğun pozitif reaksiyon verdiği, glomerulus yapısında dejenerasyon ve vakuolizasyon olduğu, bazı bölgesel nekroz alanları bulunduğu ve tubul yapılarının bozulduğu gözlenmiştir. Buna karşın EA ve kontrol gruplarında birbirine benzer şekilde oldukça az 8-hidroksideoksiguanozin pozitif alana rastlanmıştır. BPA ve EA'nın birlikte kullanıldığı grupta ise gerek glomerulus yapısı gerek tubul yapılarında BPA'nın tek başına kullanıldığı gruba göre düzelmeler görülürken 8- hidroksideoksiguanozin pozitif alanların azaldığı gözlenmiştir.

**Sonuç:** Toplumun her kesiminden bireylerin maruz kalma ihtimali olan BPA'nın böbrek dokusuna vereceği muhtemel zararların, EA içeren gıda katkı maddeleri kullanılarak azaltılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Böbrek, bisfenol A, BUN, ellajik asit, Kreatinin, 8-hidroksideoksiguanozin



Bu eser "Creative Commons Atıf-Gayri Ticari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

**ABSTRACT**

**Aim:** Bisphenols (BPs) are potential hormone disruptors which the general population is exposed in many commonly used products. Bisphenol A (BPA) is an industrial chemical that has been used for many years in the production of some plastics and resins, despite its adverse effects on the body's metabolic systems. One of the most important organs affected by toxic agents such as BPA and also from environmental pollutants is the kidneys. Ellagic acid (EA) is a phytochemical polyphenol compound, and many studies report that EA exhibits antioxidant, anti-mutagenic, anti-cancer and anti-apoptotic properties. The aim of this study is to reveal the effect of EA on BPA-induced kidney damage.

**Material and Methods:** In this study, 24 male rats were divided into four groups as Control, BPA (25mg/kg for 30 days), EA (10/mg/kg for 30 days) and BPA+EA (25mg-10mg/kg for 30 days, respectively) (n=6). At the end of the study, the weights of kidneys taken from decapitated rats and blood urea nitrogen (BUN) and creatinine values were measured from the serum. In addition, Picro Sirius Red staining was performed to reveal the general histological appearance of the kidneys, and immunohistochemical staining was performed using 8-hydroxydeoxyguanosine antibody to reveal the DNA damage occurring in the tissues.

**Results:** It was observed that the absolute and relative weights of the left kidney increased in the groups where BPA was induced, and decreased in the BPA+EA group, similar to the control group. It was determined that blood urea nitrogen (BUN) and creatinine values increased significantly in the BPA group compared to the control group, while the values decreased in the BPA+EA group. As a result of staining with 8-hydroxydeoxyguanosine antibody in the glomerulus and tubule structures of the kidney tissues taken from the BPA-induced group, intense positivity, degeneration and vacuolization in the glomerulus structure, some regional necrosis areas and deterioration of the tubule structures were observed, while very few stained areas were observed in the EA and control groups, similar to each other. In the group where BPA and EA were used together, protection of the tissues was observed in both the glomerulus structure and tubule structures compared to the group where BPA was used alone, and less retention of 8-hydroxydeoxyguanosine was observed.

**Conclusion:** It has been concluded that the possible damage to kidney tissue caused by BPA, which individuals from all segments of society may be exposed to, can be reduced by using EA supplements.

**Keywords:** Kidney, bisphenol A, BUN, ellagic acid, creatinine, 8-hydroxy deoxyguanosine

**GİRİŞ**

Plastik malzemenin her alanda daha fazla kullanımı, tüketim toplumu olmanın önemli sonuçlarından birisidir. Bisfenol A (BPA), çeşitli endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılan ve canlı organizmalara ciddi zararlar verebilen endüstriyel bir kimyasaldır (1,2). BPA'nın yaygın olarak kullanılması, ekosistem ve halk sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır (3). Olumsuz etkilerinden dolayı Avrupa Birliği, insan sağlığını ve çevreyi korumak amacıyla BPA'nın kullanımını kısıtlamıştır (4). BPA yiyecek ve içecek plastik ambalajlarında, epoksi reçinelerde, termal kağıtlarda ve diğer ürünlerde yaygın olarak bulunabilir (5). İnsanlar gıda ürünlerinin ambalajlanmasında ve gıda tüketimi için kullanılan kaplarda bulunan BPA'ya doğrudan, düşük dozda ve uzun süreli maruz kalırken, BPA'lı bu ürünlerin üretiminde çalışan işçiler daha yüksek dozlarda ve daha uzun süreler boyunca maruz kalırlar (6). BPA, dış ambalajdan içeriğe kolayca taşınır. Lipofilik özelliğinden dolayı organizmalarda kolaylıkla birikme eğilimi göstermektedir (7). En yaygın çevresel endokrin bozucu kimyasallardan biri olan BPA; üreme, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemi üzerine toksik etkiler sergilemektedir (8). BPA'ya günlük maruz kalma, psödo-östrojenik ve/veya anti-androjenik etkilerinden dolayı üreme fonksiyonlarını etkileyebilir (9). Ayrıca oksidatif stres, endotel disfonksiyon ve ateroskleroz gibi olumsuz sonuçlara da neden olabilir (10). Bunun yanında BPA'nın potansiyel olarak koroner arter ve miyokarda patolojik değişikliklere

ve oksidatif hasara neden olabileceği ileri sürülmektedir (11). Vücutta BPA bulunmasının, kronik böbrek hastalığı dahil olmak üzere birçok kronik hastalıkla yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (12). Kan-beyin bariyerini kolay bir şekilde geçebilen BPA, oksidatif stresi erken uyararak ve nöromorfolojik değişikliklere sebep olarak nöronal mikro çevre üzerinde negatif etkileri olan bir kimyasaldır (13). Deneysel farelerde yapılan çalışmalar, BPA'ya maruz kalmanın oksidatif strese, yukarı regüle edilmiş gen ekspresyonuna ve lipid ve amino asit metabolizmasının bozulmasına neden olduğunu ortaya koymuştur (14,15). İnsanların BPA'ya maruz kalması, hiperinflamatuvar ve oksidatif stresi tetiklediğinden birçok organ üzerinde zararlı etkilere yol açar (16).

Böbrek için BPA'nın potansiyel hedef organ olduğunu ifade eden çalışmalar bulunmaktadır (17-19). BPA uygulanan ratlarda histopatolojik olarak böbrek dokusunda glomerulus yapılarında kanama, hücresel yapılarda bozulmalar, nekrotik alanlar ve atrofik tubullerin şekillendiği bildirilmiştir (20). Bir başka çalışmada BPA'nın böbrekte kollajen birikimine neden olduğu ve fibrotik alan yüzdesini önemli ölçüde artırdığı ifade edilmiştir (21).

Bir polifenol olan EA (Ellajik asit), ağırlıklı olarak meyvelerde, sebzelerde ve bazı bitkisel gıdalarda bulunan (22) farklı türdeki kronik hastalıklara karşı potansiyel biyoaktivite özelliği taşıyan bir bileşendir (23). EA'nın oksidatif strese karşı belirgin zayıflatıcı etki yarattığı ve enflamasyona karşı önemli önleyici rol oynadığı ve organ toksitesine ilişkin

yüksek biyokimyasal belirteçlere karşı dikkate değer koruma sağladığı bildirilmiştir (24). EA, serbest radikalleri nötralize ettiği ve oksidatif stresi azalttığı için çeşitli hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan etkili bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (25).

Kreatinin (Kr), kas metabolizmasının bir yıkım ürünüdür, toksik bir madde olup belli miktarın üstünde kalan kısmın vücuttan atılması gerekmektedir. Bu atılım, idrar yoluyla olduğu için böbrek hastalıklarında serumda seviyesi yükselebilir. BUN ise kan üre azotudur. Böbrek rahatsızlığı teşhisi konulmasa bile, aşırı protein alımı, hızlanmış katabolizma, tetrasiklin ya da steroid kullanımı ve akut hastalık gibi nedenlerden dolayı serumda BUN düzeyi yükselebilir. Hangi sebeple olursa olsun gelişen nefropatilerin tümünde miktarda artış olduğu bilinmektedir. Serum kreatinin ve üre azotu (BUN) düzeyleri böbrek işlevlerini değerlendirmek için en sık kullanılan testlerdir (26).

Guanin, DNA bileşenleri arasından en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan bileşen olduğundan Reaktif Oksijen Türleri'nin (ROS) ilk hedefidir. 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesidir (27).

Bu çalışmada, oral yolla BPA verilerek böbrek toksisitesi oluşturulmuş ratlarda EA'nın, böbrek ağırlıkları kıyaslanarak böbrek fonksiyon testleri ve immunohistokimyasal olarak belirlenen DNA hasarı üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEMLER

### Etik Onay

Çalışmanın yapılabilmesi için gerekli etik onay Saki Yenilli Deneysel Hayvanları Üretim ve Uygulama Laboratuvarı Etik Kurulu'ndan (2022/05-06-20) alındı.

### Hayvan Materyali

Saki Yenilli Deneysel Hayvanları Üretim ve Uygulama Laboratuvarı'nda üretimi yapılmakta olan 150-200 gr ağırlığındaki 24 adet ergin Wistar erkek rat deney ve kontrol grubu olmak üzere rastgele seçildi. Saki Yenilli Deneysel Hayvanları Üretim Laboratuvarı'nda 22°C ortam sıcaklığında, %55 rölatif nemli ortamda, 12 saatlik karanlık/aydınlık periyot uygulanarak metal kafeslerde ve cam suluklar kullanılarak bitkisel östrojen içermeyen yemlerle 15 gün boyunca ad-libitum beslenen ratlar 16. günden itibaren her birinde 6'şar adet olmak üzere 4 gruba rastgele dağıtıldılar.

### Deneysel gruplarının oluşturulması ve gavaj uygulamaları:

Çalışmadaki gruplar aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

**Grup 1-Kontrol grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 30 gün süreyle gavaj yoluyla intragastrik olarak 0,5 ml serum fizyolojik verildi (n=6).

**Grup 2- BPA grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 30 gün boyunca her gün gavaj yoluyla intragastrik olarak 25mg/kg BPA 0.5 ml zeytinyağı içinde çözülürülerek verildi (n=6) (28-30).

**Grup 3- Ellajik asit grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 30 gün boyunca her gün gavaj yoluyla intragastrik olarak 30 mg/kg dozunda 0,5 ml Ellajik asit verildi (n=6) (31-33).

**Grup 4- BPA+ Ellajik asit grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 30 gün boyunca her gün gavaj yoluyla intragastrik olarak 30 mg/kg dozunda Ellajik asit ve 25mg/kg BPA 0.5 ml zeytinyağı içinde çözülürülerek verildi (n=6).

### Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

30. günün sonunda tartılarak ketamin-ksilazin (sırasıyla 50 mg/kg-5 mg/kg) anestezisi (34) altında böbrek dokuları alınan ratlar dekapite edildiler. Örneklerin standardizasyonunu sağlamak için her bir denekten alınan sol böbrek ağırlığı hassas terazi ile tartıldı. Kalbin sol ventrikülünden alınan kan örneklerinden serum elde edilmesinin ardından serum kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin değerleri spektrofotometrik biyokimya otoanalizatörü kullanılarak tespit edildi.

Böbrek dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat süreyle tespit edildiler. Bu sürenin ardından rutin histolojik işlemlerden geçirilen dokular parafinde bloklandılar.

### Pikro Sirius Kırmızısı Boyaması

Parafin bloklardan adhesivli lamalar üzerine alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler genel histolojik yapıyı ortaya koymak amacıyla Pikro Sirius Kırmızısı yöntemi ile boyandılar (GBL, Rev No: 5002-02). Bu yöntemde kesitler ksilol ve azalan alkol serilerinden geçirildikten sonra 50 dakika Pikro Sirius Red boyasında bekletildiler. Ardından iki kez tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler 5 dakika Mayer'in Hematoksileni ile çekirdek boyasına tabi tutuldular. Akarsu altında yıkanıldıktan sonra artan alkol serileri ve ksilollerden geçirilen kesitler son olarak entellan ile kapatıldılar.

### İmmünohistokimyasal Boyama

BPA kaynaklı hasarın ortaya konulabilmesi amacıyla kesitlerin boyanması streptavidin-biotin-peroksidaz kompleksi (sABC) esasına dayanan prosedürle gerçekleştirildi (35). Bu amaçla anti-8-hidroksideoksiguanozin primer antikoru (ab62623, Abcam®) kullanıldı. Alınan kesitler deparafinizasyonunun ardından, antijenik epitopların açığa çıkarılması (antijen retrieval) amacıyla tampon solüsyonunda (Citrate Buffer 100X- Sigma- Aldrich® C-9999) 15 dakika süreyle 800 Watt mikrodalgı fırında tutuldular. Endojen peroksidazın baskılanması amacıyla metanol içinde hazırlanan %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonunda 15 dakika bekletilen kesitler non-spesifik bağlanma bölgelerinin blokajı amacıyla Protein Blocking solüsyonu ile (Novocastra® Protein Block RE7102) 30 dakika muamele edildiler. Kesitlerin üzerine anti-8-hidroksi deoksiguanozin primer antikoru solüsyonu (ab62623,

Abcam<sup>®</sup>, 1/200 ) damlatılarak bir gece süreyle buzdolabında inkübe edildiler. Yıkama işlemlerinin ardından kesitler Streptavidin-HRP Conjugate (Novocastra<sup>®</sup> GERPN1231) ile 5 dakika inkübe edildiler. Kromojen olarak DAB (3-3'-diaminobenzidine, TA-060-HD, Thermo Fischer<sup>®</sup>) çekirdek boyası olarak da Gill's hematoksilen solüsyonları kullanıldı. Ardından su bazlı olmayan bir kapatıcı (Entellan, Merck Millipore<sup>®</sup>) ile kapatılan kesitlerin değerlendirilmesi Leica<sup>®</sup> DM2500 LED marka araştırma mikroskobu kullanılarak yapılırken, gerekli bölgelerin görüntüleri dijital ortamda kaydedildi.

### İstatistiksel Analizler

İstatistiksel veri analizi, Windows yazılımı için IBM SPSS istatistik sürüm 25.0 üzerinde gerçekleştirildi. Gruplardaki denek sayısı 6 (altı) olduğu için, veriler, parametrik olmayan testlerden biri olan Kruskal-Wallis Testi ile analiz edildi. Farklılıkların hangi gruplar arasında olduğu ise ikili gruplar arasında Mann-Whitney U testi yapılarak belirlendi. Betimsel (Descriptive) istatistikler; ortalama  $\pm$  standart hata (SH), minimum (Min.) ve maksimum (Maks.) değerleri olarak sunuldu. Kruskal-Wallis test sonuçları ise ortalama sıralama (MR-Mean Rank) ve p değerlerini içerecek şekilde verildi ve  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Histopatolojik Bulgular

Böbrekte meydana gelen değişiklikleri izlemek ve genel yapı bozukluklarını ortaya koymak amacıyla doku kesitlerine Pikro-Sirius Kırmızısı ile boyama yapıldı. Kontrol grubundan alınan örneklerle yapılan boyama sonucunda glomerulus ve tubullerin normal yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Bowman aralıkları ve tubul çapları birbirine benzer yapı ve büyüklükteydi (Şekil 1A). BPA grubuna ait örneklerle yapılan boyamada ise; yaygın hemorajik alanlar (Şekil 1B), glomerulus çevresine yerleşmiş lenfosit infiltrasyonları (Şekil 1C), tubuler dilatasyon (Şekil 1C-E), intratubuler hiyalin formasyonu (Şekil 1D), glomerular skleroz (Şekil 1E), genişlemiş Bowman aralığı (Şekil 1E) tespit edildi. Genel olarak tubulleri oluşturan epitel hücrelerinde büyüklük bakımından farklılıklar görülürken, bazı tubullerde tubul lümenine eksfolie olmuş (dökülmüş) hücreler ve küçülen glomerular kapillar ağı gözlemlendi. EA'nın tek başına kullanıldığı gruptan alınan örneklerle yapılan boyama sonucunda ise böbreklerde herhangi bir patolojik olguya rastlanmadı. Glomerul yapısının çok iyi korunduğunun gözlemlendiği preparatlarda tubul morfolojileri hem korteks hem de medullada birbirlerinden kolayca ayırt edildi (Şekil 1F). BPA ve EA'nın birlikte kullanıldığı gruptan alınan örneklerle yapılan boyamalarda ise genel yapının tek başına BPA kullanılan gruba kıyasla oldukça iyi korunduğu (Şekil 1G) tespit edilirken, glomerulus ve ilişkili yapıların aralarında hafif hemoraji alanlarının bulunduğu ve tubuler vakuolizasyon olduğu görünmesine karşın genel

tablonun yalnız başına BPA kullanılan gruba göre çok daha iyi olduğu belirlendi.

### İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubunda doku genelinde 8-hidroksideoksiguanozin ekspresyonunun oldukça zayıf olduğu ve yaygın olmadığı gözlemlendi (Şekil 2A,B). BPA grubunda ise doku genelinde yaygın 8-hidroksideoksiguanozin ekspresyonu olduğu belirlendi (Şekil 2C). Damar duvarında immunreaktivite gözlenmeyen kesitlerde, özellikle glomerulusların Bowman kapsüllerinde yapısal bozulma tespit edildi, hiyalin formasyonu gösteren alanlarda ve lenfositik infiltrasyon alanlarında yoğunlaşan pozitif ekspresyonlar gözlemlendi (Şekil 2D). EA uygulanan grup için yapılan boyama sonucunda, çok az sayıda hücrede zayıf pozitif ekspresyon gözlemlendi (Şekil 2E). Bu durum, kontrol grubu ile kıyaslandığında, 30 mg/kg dozunda kullanılan EA'nın antioksidan etkisinin böbrek için faydalı olduğunu gözler önüne sermiştir. Son olarak BPA ve EA'nın beraber kullanıldığı grupta BPA kullanılan gruba kıyasla böbrek dokularında pozitif ekspresyonun hem yaygınlığının hem de kuvvetinin azaldığı gözlemlendi (Şekil 2F).

### Böbrek Ağırlığına İlişkin Bulgular

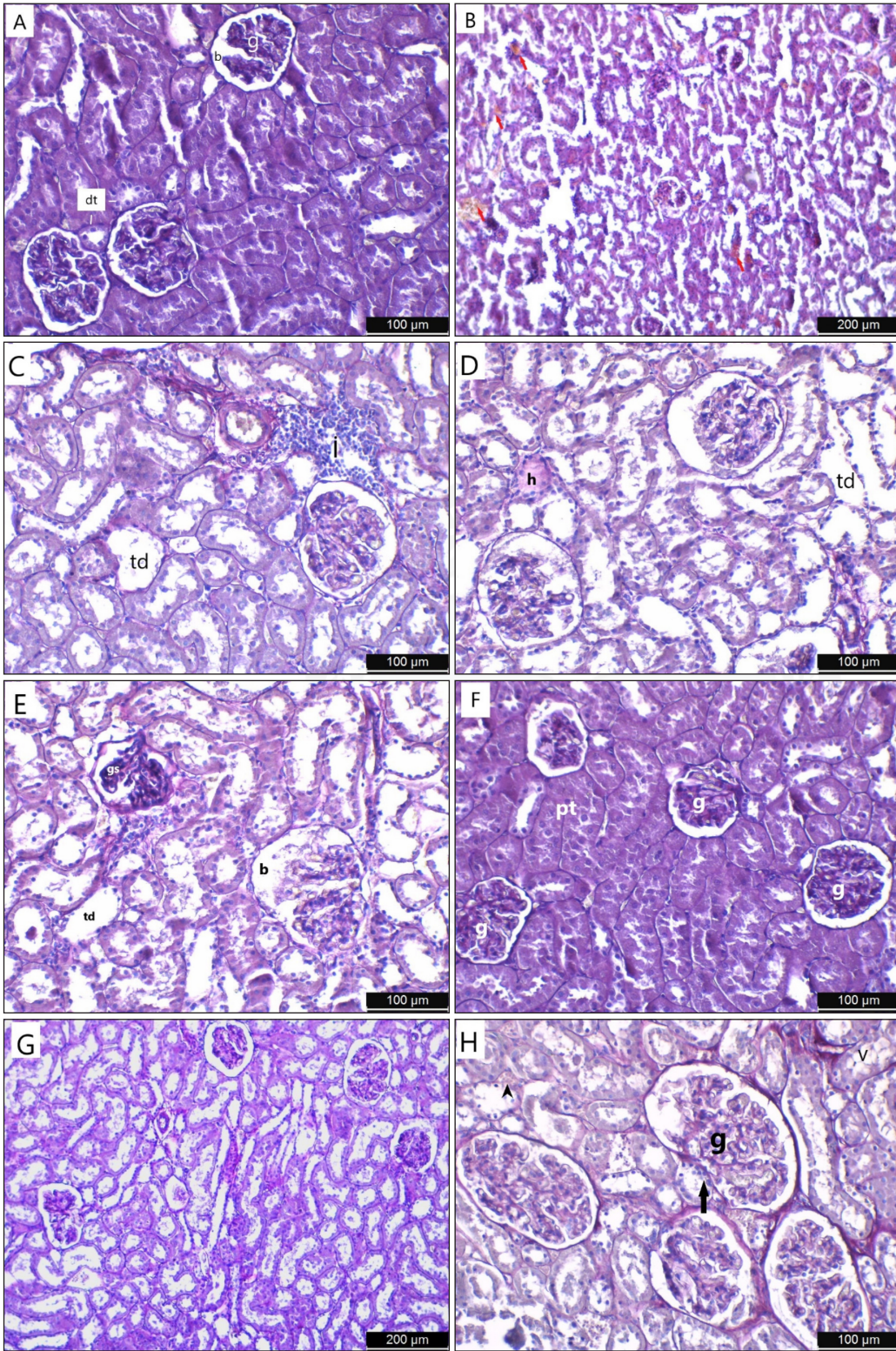
Deney sonucunda örneklemin standardizasyonunu sağlamak amacıyla sol böbrek değerlendirilmeye alınmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda sol böbreğe ait mutlak ve nispi ağırlıkların BPA gruplarda artış gösterdiği, BPA ve EA'nın beraber kullanıldığı grupta ise kontrole yaklaşarak düştüğü gözlemlenmiştir. Deney gruplarının sol böbreklerine ait mutlak ve nispi ağırlık Tablo 1'de sunulmuştur.

### Serum Biyokimya Parametreleri

BPA uygulanan grupta serum BUN (%243) ve Kreatinin (%176) düzeyleri kontrol grubuna oranla artış göstermiştir. Terapötik olarak uygulanan EA, hem BUN hem de Kr değerlerini kontrol grubuna yaklaştırdığı belirlenmiştir. BUN ve Kr'nin plazma seviyeleri Tablo 1'de sunulmuştur.

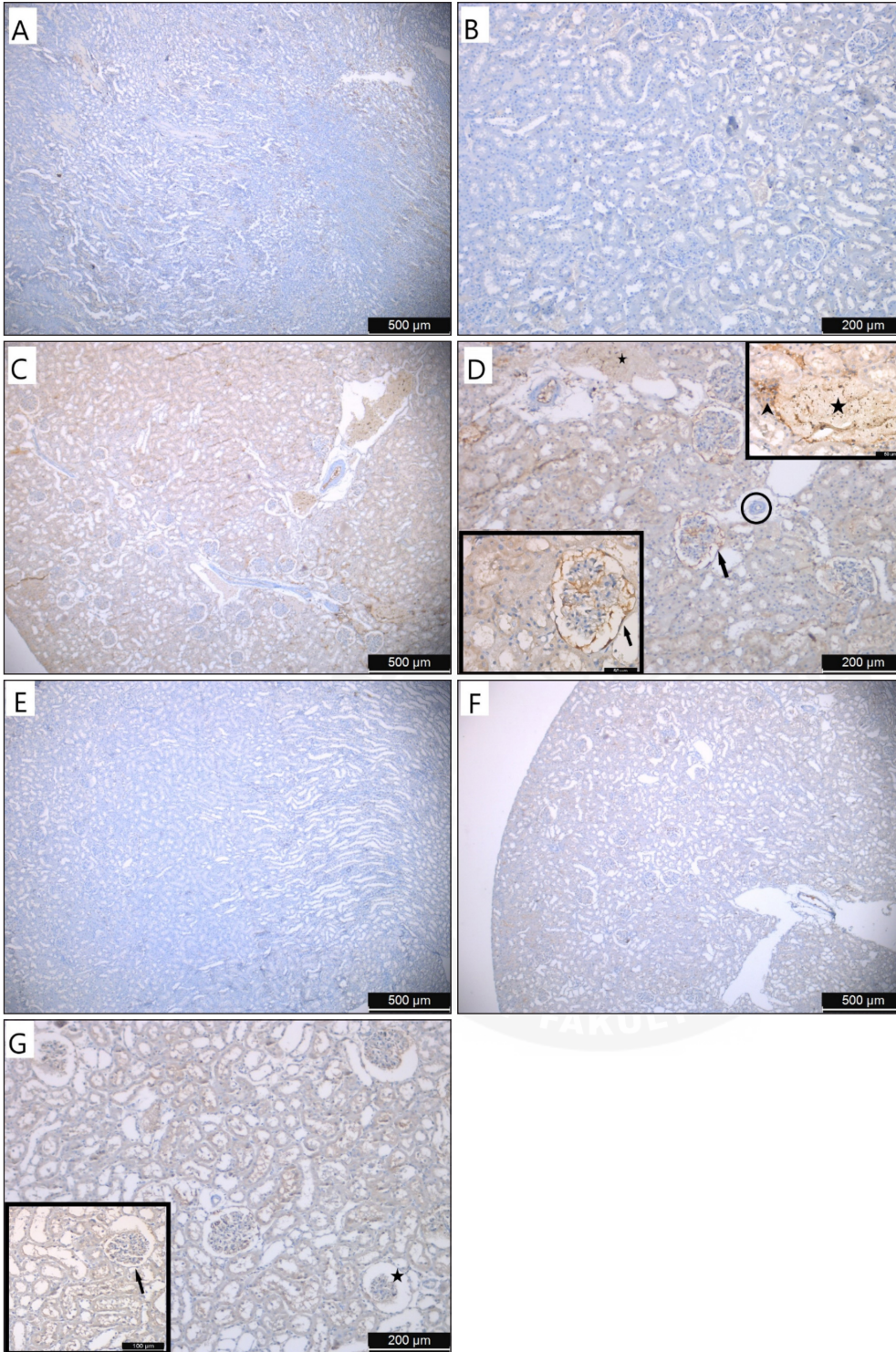
### İstatistiksel Bulgular

İstatistiksel verilerin özetlendiği Tablo 1'de böbrek mutlak ağırlığı, nispi böbrek ağırlığı, kan üre azotu ve kreatinin değerlerine Kruskal-Wallis testi ve sonrasında belirlenen anlamlı farklılığın kaynağı olan grupları belirlemek amacıyla Dunn Bonferroni (Post-Hoc) testi yapılmıştır. Kruskal-Wallis test sonuçlarına göre gruplar arasında böbrek mutlak ağırlığı, nispi böbrek ağırlığı, kan üre azotu ve kreatinin düzeyleri için istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Dunn Bonferroni testi sonuçlarına göre böbrek mutlak ağırlığı, nispi böbrek ağırlığı, kan üre azotu ve kreatinin BPA grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksektir. Ayrıca böbrek mutlak ağırlığı, BPA-EA grubunda EA grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Kreatinin değerleri BPA-EA grubunda kontrole göre istatistiksel anlamda yüksek bulundu.



**Şekil 1:** Kontrol (A), BPA (B,C,D ve E), EA (F) ve BPA+EA (G ve H) gruplarındaki ratlara ait böbrek dokularından elde edilen kesitler. Pikro Sirius kırmızısı.

g: glomerulus; b: Bowman aralığı; td ve dt: distal tubuller; kırmızı oklar: yaygın kanama alanları; i: glomerulus çevresinde lenfosit infiltrasyonu; hiyalin formasyonu; gs: glomerular skleroz; pt: proksimal tubul; v: vakuolizasyon; ok: korunmuş makula yapısı; ok başı: azalmış kanama alanları.



**Şekil 2:** Kontrol (A ve B), BPA (C ve D), EA (E) ve BPA+EA (F ve G) gruplarındaki ratlara ait böbrek dokularından elde edilen kesitler. 8- hidroksideoksiguanozin reaktivitesi gösteren yapıların sadece BPA uygulanan gruplarda yaygın ve orta şiddette olduğu görülürken, BPA+EA grubunda reaksiyonun şiddetinin sadece BPA uygulanan gruba göre zayıfladığı dikkati çekmekte. Kontrol ve sadece EA uygulanan gruplarda immünoaktivitenin bulunmadığı görülmekte. 8- hidroksideoksiguanozin immünohistokimyasal boyaması.

Yıldız: hyalin formasyonunda pozitif reaksiyon; ok başı: infiltrasyon alanında pozitif reaksiyon; ok: Parietal Bowman yaprağında pozitif reaksiyon; siyah halka: perivasküler alanda reaksiyon görülüyor. Ok: (G): parietal Bowman yaprağında reaksiyonun gerçekleşmediği dikkati çekmekte.

**Tablo 1:** Böbreklere ait mutlak ve nispi ağırlıklar ile serum BUN ve kreatinin değerleri.

|   | Grup        | Betimsel İstatistik |       |       | Kruskal-Wallis Testi |       | Post-Hoc |
|---|-------------|---------------------|-------|-------|----------------------|-------|----------|
|   |             | Ort±SH              | Min.  | Max.  | MR                   | P     |          |
| Böbrek mutlak ağırlığı (g)                    | Kontrol (1) | 0,84±0,007          | 0,81  | 0,86  | 10,50                | 0,000 | 2>3      |
|   | BPA (2)     | 0,90±0,007          | 0,87  | 0,92  | 21,17                |       | 4>3      |
|   | EA (3)      | 0,79±0,004          | 0,77  | 0,80  | 3,50                 |       |          |
|   | BPA-EA (4)  | 0,86±0,018          | 0,85  | 0,89  | 14,83                |       |          |
| Nispi böbrek ağırlığı (g/100 g canlı ağırlık) | Kontrol (1) | 0,30±0,005          | 0,28  | 0,32  | 14,33                | 0,006 | 2>3      |
|   | BPA (2)     | 0,32±0,009          | 0,30  | 0,35  | 19,33                |       |          |
|   | EA (3)      | 0,28±0,004          | 0,27  | 0,30  | 5,67                 |       |          |
|   | BPA-EA (4)  | 0,29±0,006          | 0,28  | 0,32  | 10,67                |       |          |
| Kan Üre Azotu (BUN) (mg/dL)                   | Kontrol (1) | 23,26±0,45          | 21,65 | 25,09 | 8,17                 | 0,001 | 2>1      |
|   | BPA (2)     | 56,80±0,44          | 55,83 | 58,80 | 21,50                |       | 2>3      |
|   | EA (3)      | 22,83±0,38          | 22,08 | 24,13 | 6,00                 |       |          |
|   | BPA-EA (4)  | 24,62±0,15          | 23,89 | 24,89 | 14,33                |       |          |
| Kreatinin (Kr) (mg/dL)                        | Kontrol (1) | 0,43±0,004          | 0,42  | 0,45  | 4,33                 | 0,000 | 2>3      |
|   | BPA (2)     | 0,76±0,011          | 0,71  | 0,79  | 21,50                |       | 2>1      |
|   | EA (3)      | 0,45±0,007          | 0,43  | 0,48  | 8,67                 |       | 4>1      |
|   | BPA-EA (4)  | 0,52±0,006          | 0,49  | 0,53  | 11,50                |       |          |

## TARTIŞMA

Böbrekler metabolitleri ve zararlı maddeleri vücuttan atmak, su dengesini, elektrolit dengesini ve asit-baz dengesini korumak, kan basıncını düzenlemek, kırmızı kan hücresi üretimini ve D vitamini aktivasyonunu teşvik etmek gibi önemli fonksiyonları olan bir organdır (36). Böbrek bu işlevleri sayesinde iç ortamın stabilitesini ve metabolizmanın normal şekilde işlenmesini sağlar. Bilinen bir çevre kirleticisi olan BPA, insan sağlığına yönelik önemli bir tehdittir. Gıda örneklerinde, çevre örneklerinde, insan kanında ve serumunda, plasentada, idrarda ve anne sütünde ve hatta kozmetik ürünlerde BPA tespit edilmiştir (37,38). Bir polifenol olan EA, ağırlıklı olarak meyvelerde, sebzelerde ve bazı bitkisel gıdalarda bulunan (22) farklı türdeki kronik hastalıklara karşı potansiyel biyoaktiviteye sahiptir (23). EA'nın oksidatif strese karşı belirgin zayıflatıcı etki yarattığı ve enflamasyona karşı önemli önleyici rol oynadığı ve organ toksisitesine ilişkin yüksek biyokimyasal belirteçlere (ör: kreatinin) karşı dikkate değer koruma sağladığı bildirilmiştir (24). Bu sebepten EA, serbest radikalleri nötralize ettiği ve oksidatif stresi azalttığı için çeşitli hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde uygulamaları olan etkili bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (25).

Yapılan bir çalışmada 250mg/kg/gün olmak üzere 90 gün süre ile BPA uygulanan ratlarda araştırmacılar 8-OHdG seviyelerine bakarak BPA'nın, böbrek tübül epitelindeki oksidatif stresi artırdığını öne sürmüşlerdir. Yine aynı çalışmada yavru ratlar da aynı dozda BPA'ya maruz bırakıldıklarında anormal tubul gelişimleri gösterdikleri görülmüştür. Çalışmada yapılan Hematoksilin-Eozin boyaması sonucunda, glomerulus ve tubul yapılarında bozulmalar tespit edildiği ifade edilmiş, aynı zamanda bu bozulmaların böbrek fonk-

siyonlarını etkilediği ileri sürülmüştür (39). Yaptığımız çalışma her ne kadar sadece yetişkin ratlar üzerinde yapılmış olsa da çalışmamız sonucunda BPA ile oksidatif stres kaynaklı olarak böbrek hasarının indüklendiğini, böbrek fonksiyon testlerinde kullanılan referans değerlerinden sapmalar olduğu gözlenmiş, yine genel yapıda patolojik değişiklikler belirlenmiştir. Çalışmamızda 8-OHdG ile boyanmış alanların BPA ile indüklenmiş grupta yaygın olduğunu, bu alanların Ellajik asit kullanımı ile beraber azaldığını tespit ettik (Şekil 2F). Sunulan çalışmada 30 gün süre ile BPA için günlük güvenli kabul edilen 25mg/kg/gün dozunda yapılmıştır. Buna rağmen çalışmada elde edilen veriler yüksek dozda uzun süreli kullanımın söz konusu çalışma ile benzer etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir. Bir başka deyişle BPA, kısa süreli ve düşük dozda ya da uzun süreli yüksek dozda olması fark etmeksizin DNA hasarına yol açmaktadır.

BPA'nın subkutanöz olarak 50 ve 500 µg/kg/gün dozunda ratlara bir hafta süreyle uygulandığı bir başka çalışmada (40) BPA kullanımının böbrek hasarı biyo-belirteci olarak kabul edildiğini ifade eden bu çalışmada, subkutanöz olarak kullanıldığı durumda bile BPA'nın böbreklerde filtrasyon oranının düşmesine neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada BPA'nın sadece oral değil, farklı bir uygulama şekliyle de (subkutanöz) benzer böbrek hasarı oluşturduğu tespit edilmiştir.

Gallik asidin 40 mg/kg/30 gün dozunda BPA'nın oluşturduğu oksidatif hasara karşı iyileştirici etkisinin değerlendirildiği çalışmada (41), BPA kullanılan grupta çoğu tübül hücrede hidropik dejenerasyon, fırça kenarlarda tahribat, birçok çekerdekte piknoz ve peritübül kılcal damarlarda konjesyon saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da BPA ile indüklenen böbrek hasarında, Şekil 1'de görüleceği üzere benzer şekilde oluşumlar tespit edilmiştir. Adı geçen çalışmada kullanılan BPA dozu 30 gün süreyle 40 mg/kg olmasına karşılık,

tespit edilen patolojik değişiklikler birbirine benzemektedir. Çalışma için seçtiğimiz doz olan 25mg/kg dozu, güvenli olarak kabul edilen düşük doz olmasına karşılık oluşturduğu hasarın 40mg/kg dozuna benzer olması sebebiyle BPA için belirlenen güvenli doz aralığının yeniden değerlendirilmesinin fayda sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Alti hafta süreyle 4mg/kg dozunda BPA'ya maruz bırakılan ratlarda serum üre azotu (BUN) ve kreatinin değerlendirilerek, bu değerlerin kontrol grubuna kıyasla yükselme gösterdiği bildirilmiştir (42). Doz ve uygulama süresindeki farka karşılık böbrek fonksiyon testlerinden ilk aşamada değerlendirilen bu iki parametrede değişiklik bulunması, BPA içeren maddelerin böbrek hasarına neden olabileceğini ortaya koymuştur.

İki farklı dozda ellajik asitin (10 mg/kg ve 30 mg/kg) her iki dozunun da sisplatin ile indüklenen böbrek hasarında bozulan böbrek fonksiyonlarını düzelttiği, serum BUN ve kreatinin düzeylerinde sisplatin grubuna kıyasla görülen düşme ile ifade edilmiştir (43). Çalışmamızda 10 mg/kg olarak belirlediğimiz günlük doz EA kullanımı böbrek fonksiyon testlerini BPA karşısında referans çalışmada gösterilene benzer şekilde iyileştirmiştir. Bu anlamda toksik maddelerin oluşturduğu böbrek hasarına karşı EA'nın antioksidan olarak düşük dozlarda bile oldukça etkili olduğunu söyleyebiliriz. Hücrelerde oluşan DNA hasarı yani DNA molekülünün yapısında meydana gelen herhangi bir değişiklik, şifrelerinde değişikliğe yol açacağından hatalı protein üretilmesine, çeşitli mutasyonların, farklı fenotiplerin veya hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu pencereden bakıldığında güvenli olarak ifade edilen aralıkta bile oral yolla alınan BPA'ya maruz kalma sonucunda oluşması muhtemel akut ya da kronik böbrek rahatsızlıklarına karşı EA'nın bir gıda takviyesi olarak ya da suplement şeklinde kullanılmasının, oluşan ciddi tahribatı önemli ölçüde azaltılabileceği bu çalışma ile gösterilmiştir.

Sonuç olarak; BPA'nın güvenli doz aralıklarında kısa süreli maruz kalma durumunda bile böbrek hasarına neden olabileceği buna karşılık EA'nın bu hasarı önlemede küçük dozlarının bile etkili olabileceği düşünülmektedir. BPA toksitesi sonucunda hücrelerde oluşan DNA hasarının apoptozu tetikleme ihtimalinin değerlendirilmesinin gelecekte yapılacak çalışmalar açısından önem taşıyabilir.

#### Teşekkür

Laboratuvar teknik desteği için Araş. Gör. Tansu Kuşat'a teşekkürlerimizi sunarız.

#### Yazar Katkı Beyanı

Fikir, tasarım, verilerin toplanması, SPSS girişleri, istatistiksel tabloların oluşturulması verilerin incelenmesi, ana metnin yazılması ve son değerlendirmesi: **Feyza Başak**, Tasarım, verilerin toplanması, verilerin incelenmesi, verilerin yorumlanması, literatür incelemesi: **Mehmet Demir**.

#### Çıkar Çatışması

Makalemiz ile ilgili herhangi bir kurum, kuruluş, kişi ile mali çıkar çatışması yoktur ve yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### Finansal Destek

Bu araştırma kamu, ticari veya kâr amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir özel hibe almamıştır.

#### Etik Kurul Onayı

Saki Yenilli Deney Hayvanları Üretim ve Uygulama Laboratuvarı Etik Kurulu'ndan (2022/05-06-20) alınmıştır.

#### Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayına uygun bulunmuştur.

#### KAYNAKLAR

1. Semerjian L, Alawadhi N, Nazer K. Detection of bisphenol A in thermal paper receipts and assessment of human exposure: A case study from Sharjah, United Arab Emirates. *PloS One* 2023;18(3):1-11.
2. Makowska K, Gonkowski S. Changes Caused by Bisphenols in the Chemical Coding of Neurons of the Enteric Nervous System of Mouse Stomach. *Int J of Env Res and Public Health* 2023;20(6):1-14.
3. Fu W, Zheng X, Chen X, Wang W, Liu A, Ji J, Wang G, Guan C. The potential roles of carotenoids in enhancing phytoremediation of bisphenol A contaminated soil by promoting plant physiology and modulating rhizobacterial community of tobacco. *Chemosphere* 2023;316:1-13.
4. Sendra M, Štampar M, Fras K, Novoa B, Figueras A, Žegura B. Adverse (geno)toxic effects of bisphenol A and its analogues in hepatic 3D cell model. *Environ Int* 2023;171:107721.
5. Sturm DC, Virant-Klun I. Negative effects of endocrine disruptor bisphenol A on ovarian granulosa cells and the protective role of folic acid. *Reproduction* 2023;165(5):R117-R134.
6. Yadav SK, Bijalwan V, Yadav S, Sarkar K, Das S, Singh DP. Susceptibility of male reproductive system to bisphenol A, an endocrine disruptor: Updates from epidemiological and experimental evidence. *Jour of Bioch and Mol Tox* 2023;37(4): e23292.
7. Liu J, Kong W, Liu, Y, Ma Q, Shao Q, Zeng L, Chao Y, Song X, Zhang J. Stage-related neurotoxicity of BPA in the development of zebrafish embryos. *Toxics* 2023;11 (2):177-189.
8. Zhu Z, Wang Z, Wang J, Cao Q, Yang H, Zhang Y. Transcriptomic analysis of lipid metabolism in zebrafish offspring of parental long-term exposure to bisphenol A. *Env Sci and Poll Res* 2023;30(18): 51654-51664.
9. Varma S, Molangiri A, Kona SR, Ibrahim A, Duttaroy AK, Basak S. Fetal exposure to endocrine disrupting-bisphenol A (BPA) alters testicular fatty acid metabolism in the adult offspring: relevance to sperm maturation and quality. *Int Jour of Mol Sci* 2023;24(4):3769.
10. Fan X, Wang Y, Zhang J, Lin H, Bai Z, Li S. Bisphenol A Regulates the TNFR1 Pathway and Excessive ROS Mediated by miR-26a-5p/ADAM17 Axis to Aggravate Selenium Deficiency-Induced Necroptosis in Broiler Veins. *Biol Trace Elem Res* 2024;202(4):1722-1740.



11. Badawy MM, Elsherbiny MM, Elshopekey GE, Elsayyad AE, Hamama MG, Aldariweesh, FH, Fehaid A. Potential Effects of Bisphenol A on the Heart and Coronary Artery of Adult Male Rats and the Possible Role of L-Carnitine. *J Toxicol* 2022;7760594.
12. Tang Z, Wang H, Zhang Z, Kong Y, Lei X, Yuan J. Mechanism of nephrotoxicity induced by chronic exposure of bisphenol A in mice based on oxidative stress and cell apoptosis. *Chinese Journal of Biotechnology* 2023;39 (1):372-385.
13. Pradhan LK, Sarangi P, Sahoo PK, Kundu S, Chauhan NR, Das SK. Bisphenol A-induced neurobehavioral transformation is associated with augmented monoamine oxidase activity and neurodegeneration in zebrafish brain. *Env Toxic and Pharma* 2023;97:104027.
14. Alvi M, Rehman K, Akash MSH, Yaqoob A, Shoaib SM. Determination of Metabolomics Profiling in BPA-Induced Impaired Metabolism. *Pharmaceutics* 2022;14(11):2496.
15. He W, Gao Z, Liu S, Tan L, Wu Y, Liu J, Zheng Z, Fan W, Luo Y, Chen Z. G protein-coupled estrogen receptor activation by bisphenol-A disrupts lipid metabolism and induces ferroptosis in the live. *Env Poll* 2023;334:122211.
16. Murugan R, Haridevamuthu B, Kumar RS, Almutairi BO, Arokiyaraj S, Arockiaraj J. Deacetyl epoxызadiration ameliorates BPA-induced neurotoxicity by mitigating ROS and inflammatory markers in N9 cells and zebrafish larvae. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2023;271:109692.
17. Gowder SJ. Nephrotoxicity of bisphenol A (BPA)--an updated review. *Curr Mol Pharmacol* 2013;6(3):163-172.
18. Chen H, Zhang Y, Zou M, Qi X, Xu S. Bisphenol A aggravates renal apoptosis and necroptosis in selenium-deficient chickens via oxidative stress and PI3K/AKT pathway. *J Cell Physiol* 2022;237(8):3292-3304.
19. Pirard C, Sagot C, Deville M, Dubois N, Charlier C. Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. *Environ Int* 2012;48:78-83.
20. Singh D, Khan MA, Akhtar K, Rehman S, Parveen S, Amin KMY, Siddique HR. Protective effects of a polyherbal medicine, Majoon Suranjan against bisphenol-A induced genetic, oxidative and tissue damages. *Drug Chem Toxicol* 2023;46(6):1057-1069.
21. Charaya A, Sahu C, Singla S, Jena G. Zinc Deficiency Exacerbates Bisphenol A-Induced Hepatic and Renal Damage: Delineation of Molecular Mechanisms. *Biol Trace Elem Res* 2023;201(6):2879-2894.
22. Zhao ZJ, Wu DJ, Lv DL, Zhang BD, Chen L, Sun YQ. Ellagic acid inhibits the formation of hypertrophic scars by suppressing TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway activity. *Chem Biol Drug Des* 2023;102(4):773-781.
23. Abd-Elghany AA, Mohamad EA. Chitosan-Coated Niosomes Loaded with Ellagic Acid Present Antiaging Activity in a Skin Cell Line. *ACS Omega* 2023;8(19):16620-16629.
24. Gour A, Kour D, Pandian R, Bhardwaj M, Sawant SD, Kumar A, Nandi U. Ellagic Acid Exerts Dual Action to Curb the Pathophysiological Manifestations of Sickle Cell Disease and Attenuate the Hydroxyurea-Induced Myelosuppression in Berkeley Mice. *ACS Pharmacol Transl Sci* 2023;6(6):868-877.
25. Yu C, Naeem A, Liu Y, Guan Y. Ellagic Acid Inclusion Complex-Loaded Hydrogels as an Efficient Controlled Release System: Design, Fabrication and In Vitro Evaluation. *J Funct Biomater* 2023;14(5):278.
26. Set T, Şahin EM. Birinci basamak hekimi için böbrek fonksiyon testleri. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 2003;12:344.
27. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009;20(2):79-83.
28. Yılmaz HC, Yörük M. The Effects of Bisphenol A on the Distribution and Heterogeneity of Mast Cells in Rat Digestive Tract. *Van Veterinary Journal* 2022;33(3):122-129.
29. Benincasa L, Mandalà M, Paulesu L ve ark. Prenatal Nutrition Containing Bisphenol A Affects Placenta Glucose Transfer: Evidence in Rats and Human Trophoblast. *Nutrients* 2020;12(5):1375.
30. Acaroz U, Ince S, Arslan-Acaroz D, Gurler Z, Demirel HH, Kucukkurt I, Eryavuz A, Kara R, Varol N, Zhu K. Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicol Res (Camb)*. 2019;8(2):262-269.
31. Goudarzi M, Mombeini MA, Fatemi I, Aminzadeh A, Kalantari H, Nesari A, Najafzadehvarzi H, Mehrzadi S. Neuroprotective effects of Ellagic acid against acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *Neurol Res* 2019;41(5):419-428.
32. Bidanchi RM, Lalrindika L, Khushboo M, Bhanushree B, Dinata R, Das M, Nisa N, Lalrinzuali S, Manikandan B, Saeed-Ahmed L, Sanjeev S, Murthy MK, Roy VK, Gurusubramanian G. Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic action of ellagic acid against lead acetate induced testicular and hepato-renal oxidative damages and pathophysiological changes in male Long Evans rats. *Environ Pollut* 2022;302:119048.
33. Naghibi N, Sadeghi A, Movahedinia S, Rahimi Naiini M, Rajizadeh MA, Bahri F, Nazari-Robati M. Ellagic acid ameliorates aging-induced renal oxidative damage through upregulating SIRT1 and NRF2. *BMC Complement Med Ther* 2023;23(1):77.
34. Struck MB, Andrutis KA, Ramirez HE, Battles AH. Effect of a short-term fast on ketamine-xylazine anesthesia in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011;50(3):344-348.
35. Fedirko V, Bostick RM, Long Q, Flanders WD, McCullough ML, Sidelnikov E, Daniel CR, Rutherford RE, Shaukat A. Effects of supplemental vitamin D and calcium on oxidative DNA damage marker in normal colorectal mucosa: a randomized clinical trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19(1):280-291.
36. O'Sullivan ED, Hughes J, Ferenbach DA. Renal Aging: Causes and Consequences. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(2):407-420.
37. Anet A, Olakkaran S, Kizhakke Purayil A, Hunasanahally Puttaswamygowda G. Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *J Hazard Mater* 2019;370:42-53.
38. Beltifa A, Belaid A, Lo Turco V, Machreki M, Ben Mansour H, Di Bella G. Preliminary evaluation of plasticizer and BPA in Tunisian cosmetics and investigation of hazards on human skin cells. *Int J Environ Health Res* 2018;28(5):491-501.
39. Yoo MH, Lee SJ, Kim W, Kim Y, Kim YB, Moon KS, Lee BS. Bisphenol A impairs renal function by reducing Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase and F-actin expression, kidney tubule formation in vitro and in vivo. *Ecotoxicol Environ Saf* 2022;246:114141.
40. Nuñez P, Arguelles J, Perillan C. Effects of short-term exposure to low doses of bisphenol A on cellular senescence in the adult rat kidney. *Histochem Cell Biol* 2023;159(5):453-460.
41. Saleh SMM, Mahmoud AB, Al-Salahy MB, Mohamed Moustafa FA. Morphological, immunohistochemical, and biochemical study on the ameliorative effect of gallic acid against bisphenol A-induced nephrotoxicity in male albino rats. *Sci Rep* 2023;13(1):1732.
42. Koriem KMM. Fertaric acid amends bisphenol A-induced toxicity, DNA breakdown, and histopathological changes in the liver, kidney, and testis. *World J Hepatol* 2022;14(3):535-550.
43. Nasri H. Ellagic acid protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: a dose-dependent study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17(6):849-850.