

# KRONİK STRESİN ADOLESAN SIÇANLARDA NÖTROFİL LENFOSİT ORANI VE ERİTROSİT DAĞILIM GENİŞLİĞİNE OLAN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF THE EFFECT OF CHRONIC STRESS ON NEUTROPHIL LYMPHOCYTE RATIO AND RED CELL DISTRIBUTION WIDTH IN ADOLESCENT RATS

İD MERVE DENİZ DEĞİRMENCİ<sup>1</sup> İD HASAN ÇALIŞKAN<sup>2</sup> İD EMEL GÜNEŞ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Eskisehir Şehir Hastanesi, Fizyoloji Bölümü, Eskisehir, Türkiye

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

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

## ÖZET

**Giriş:** Kronik stres maruziyeti homeostaz durumunu bozmakta ve immün değişikliklere yol açmaktadır. Eritrosit dağılım genişliği ve nötrofil lenfosit oranı, sistemik inflamasyonu değerlendirmede kullanılabilir. Bu çalışmada kronik stres modelinin, adolesan dönem siçanlarda hematolojik parametreleri nasıl etkilediği incelenmiştir.

**Yöntemler:** 16 adet adolesan Wistar albino erkek siçan, kontrol grubu ve stres grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Stres grubuna modifiye edilmiş kronik aralıklı soğuk stres modeli 28 gün boyunca uygulanmıştır. Hematolojik parametreler değerlendirilmiş olup elde edilen sonuçlarda, gruplar arasındaki farkın anlamlılık düzeyi student t-testi ile ölçülmüştür.

**Bulgular:** Kronik stres grubunda eritrosit dağılım genişliği değeri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Nötrofil lenfosit oranı düzeyleri açısından kronik stres grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Hemoglobin düzeyleri, lökosit sayısı ve lökosit alt grupları dağılımı açısından iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Adolesan dönemde stresli olaylara maruz kalma yetişkin dönemde uyumsuz tepkilere yol açabilir. Eritrosit dağılım genişliği artışı, stresin etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılabilecek hızlı ve kolay bir ölçümdür. Nötrofil lenfosit oranının strese maruziyetle değişip değişmediğinin incelenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ek olarak, bu sonuçlar, kronik aralıklı soğuk strese farklı maruziyet süresi veya farklı stres modelleri ile kıyaslanabilir.

**Anahtar kelimeler:** eritrosit dağılım genişliği, kronik stres, nötrofil lenfosit oranı

## ABSTRACT

**Introduction:** Chronic stress exposure impairs homeostasis and causes immune changes. Red cell distribution width (RDW) and neutrophil lymphocyte ratio (NLR) can be used as the two markers of systemic inflammation. In the present study, we have examined the effects of chronic stress on hematological parameters in adolescent rats.

**Methods:** 16 adolescent Wistar albino male rats were divided into 2 groups as control group and the chronic stress group. A modified chronic intermittent cold stress model was applied to the chronic stress group for 28 days. Hematological parameters were evaluated and the level of the significance of the difference between the two groups was measured with the student's t-test.

**Results:** The mean red cell distribution width value was significantly higher in the chronic stress group compared to the control group ( $p<0,05$ ). However, no difference was found between the chronic stress group and the control group regarding the neutrophil lymphocyte ratio ( $p>0,05$ ). There was no significant difference between the two groups in terms of hemoglobin values, leukocyte count and distribution of leukocyte subgroups ( $p>0,05$ ).

**Conclusion:** Exposure to stressful events in adolescence may lead to maladaptive responses in adulthood. The red cell distribution width is a quick and easy test that can be used to evaluate the effects of stress. More research is needed to examine whether the neutrophil lymphocyte ratio changes with the different duration or types of stress. In addition, these results can be compared with different exposure times of chronic intermittent cold stress or with different types of stress.

**Keywords:** red cell distribution width, chronic stress, neutrophil lymphocyte ratio

## GİRİŞ

Stres, fizyolojik ve davranışsal değişikliklere yol açan, çeşitli adaptif süreçlerin aktive edildiği bozulmuş homeostaz durumudur. Preklinik hayvan modelleri, strese yanıt olarak insan vücudundaki fizyolojik veya patofizyolojik değişiklikleri anlamak için önem taşımaktadır (1). Deney hayvanlarında stresi modellemek için pek çok farklı deney düzeneği oluşturulmaktadır. Soğuk maruziyeti, immobilizasyon, sosyal izolasyon, elektrik şoku bunlara örnektir. Stres türünün yanı sıra deneğin yaşı da strese yanıtı etkileyen önemli bir faktördür. Adolesan dönem

stresin etkilerine duyarlı olan bir gelişimsel dönemdir (2). Kortikosteroidler stres değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılır. Ancak kortikosteroid seviyeleri örnek toplama yöntemi, cinsiyet, bağıışıklık durumu, sirkadiyen ritim ve beslenme durumu gibi birçok faktörden etkilenebildiği için, kronik stres maruziyetinde stresin ortaya çıkardığı etkilerle ilişkilendirmenin zor olabileceği bildirilmiştir (3).

Periferik kandaki nötrofil sayısının lenfosit sayısına bölünmesiyle hesaplanan nötrofil lenfosit oranı, sistemik inflamasyon ve stres için yeni bir hematolojik parametre olarak kabul edilmektedir (4). Periferik kandaki nötrofil

**Sorumlu yazar:** Merve Deniz Değirmenci, Uzman Doktor, Eskisehir Şehir Hastanesi, 71 Evler, Çevre Yolu, 26080 Odunpazarı, Eskisehir, Türkiye

**E-posta:** mervedeniz93@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9549-8029>

**Gönderim tarihi:** 08.12.2022 **Kabul tarihi:** 26.02.2023

**Atf:** Değirmenci MD, Çalışkan H, Güneş E. Kronik Stresin Adolesan Siçanlarda Nötrofil Lenfosit Oranı ve Eritrosit Dağılım Genişliğine Olan Etkisinin Değerlendirilmesi. Eskisehir Med J. 2023; 4(2): 85-88. doi: 10.48176/esmj.2023.111.

lenfosit oranı, sistemik inflamasyon ve bağışıklık arasındaki dengeyi yansıtmaktadır. Otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kanser gibi birçok hastalıkta nötrofil lenfosit oranı prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (5). Farelerde yapılan bir çalışmanın bulguları, nötrofil lenfosit oranının kronik stresin göstergesi olabileceğini doğrulamaktadır (6).

Uzun bir süre boyunca stresöre maruz kalma, immünmodülasyona yol açmaktadır. Özellikle glukokortikoid maruziyetine yanıt olarak lökosit alt gruplarının dağılımının değişmesine ve sekonder olarak belirgin immünsüpresyona neden olmaktadır (7). Sıçanlarda akut yüksek doz kortikosteron maruziyetinde lenfopeniyle birlikte olabilen nötrofil gösterilmiştir (8). Nötrofil lenfosit oranı, dolaşımdaki lökosit alt gruplarındaki değişimin bir ölçütüdür (7).

Eritrosit dağılım genişliği (RDW), eritrosit hacminin heterojenlik derecesini göstermektedir ve hematolojik hastalıklarda tanısall kullanımının yanı sıra inflamasyonun göstergesi olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (9). Artmış RDW; telomer uzunluğunun kısalması, oksidatif stres, inflamasyon, malnütrisyona, dislipidemi gibi altta yatan çeşitli durumlarla ilişkili homeostazdaki bozuklukları yansıtmaktadır (10). Major depresif bozukluğu olan hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek RDW sonuçları bildirilmiştir (11).

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda kronik stres maruziyeti ile nötrofil lenfosit oranının ve RDW değerlerinin gruplar arasında nasıl değişiklik gösterdiğini incelemektir. Ek olarak, kontrol grubu sıçanlara kıyasla, kronik olarak stres altındaki sıçanlarda lökosit alt grupları dağılımının değişiklik gösterip göstermediği değerlendirilmiştir. Adolesan grup deney hayvanları seçilerek hassas gelişimsel dönemde stresin etkilerinin bu yaş grubunda incelenmesi amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

### Deney Hayvanları

Bu çalışmada 28 günlük 16 adet Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları kontrol grubu ve stres modeli uygulanacak grup olarak iki gruba ayrılmıştır. Her gruptaki deney hayvanı sayısı 8 olacak şekilde düzenlenmiştir. Deney hayvanları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda 23±2 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde tutulmuş olup hayvanların su ve standart pellet yemlerine erişiminde herhangi bir kısıtlama yapılmamıştır. Çalışma, Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu prensipleri doğrultusunda yapılmış olup etik kurul onayı Ankara Üniversitesi 22.07.2020 tarihli ve 2020-13-116 sayılı karar numarası ile alınmıştır.

### Kronik Stres Modeli

Sıçanların 1 hafta süresince ortama adaptasyonu sağlandıktan sonra, stres grubuna kronik aralıklı soğuk stres modeli uygulanmıştır (12). Bu model 28 günlük

sıçanlara göre modifiye edilmiştir (13). Stres maruziyeti 25 gün sürmüştür. Soğuk uygulaması kademeli olarak, ilk gün 7 dakika olmak üzere takip eden günlerde 15 dakika, 30 dakika, 45 dakika ve 21 gün boyunca günde 1 saat olarak yapılmıştır. Stres grubundaki sıçanlar sıcaklığı kontrol edilen haznede günde 1 saat boyunca 4 °C'de kafeslerinde yiyecek ve su ile beraber tutulmuştur.

### Kan Örneği Toplama

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına sahip, hayvan deneyleri konusunda tecrübeli araştırmacı tarafından 50 mg/kg sodyum tiyopental anestezi uygulaması ve parmak kısırtma testinden cevap alınamaması sonrası sıçanların toraks bölgesi açılmıştır. Kalpten 10 ml'lik enjektörle 2 ml kan örneği alınarak K3 EDTA'lı tüpe aktarılmıştır. Hematolojik ölçümler, Exigo (Boule Diagnostics) tam kan sayım cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hemoglobün düzeyi, lökosit sayısı, lökosit alt grupları yüzdesi, RDW değerleri ölçülmüştür. Periferik kanda ölçülen nötrofil ve lenfosit sayıları birbirine oranlanarak nötrofil lenfosit oranı hesaplanmıştır.

### İstatistik

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism programı kullanılmıştır. Grupların normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testi ile ölçülmüştür. Parametreler normal dağılım göstermiş olduğundan farkın istatistiksel anlamlılığını ölçmede student t-testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama ± SEM (ortalamanın standart hatası) olarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin 0,05'ten küçük olması kabul edilmiştir.

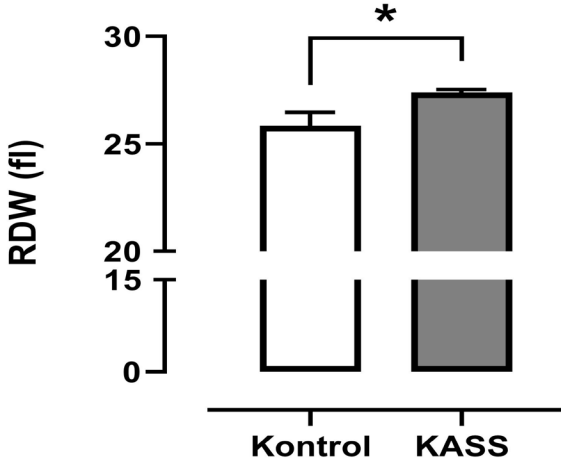
### BULGULAR

Kontrol ve soğuk stres grubu sıçanların RDW değerleri değerlendirildiğinde kontrol grubu RDW 25,84 ± 0,63 fl, soğuk stres grubu RDW 27,39 ± 0,15 fl olarak bulunmuştur (Şekil 1). Soğuk stres grubunda RDW kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır (p<0,05).

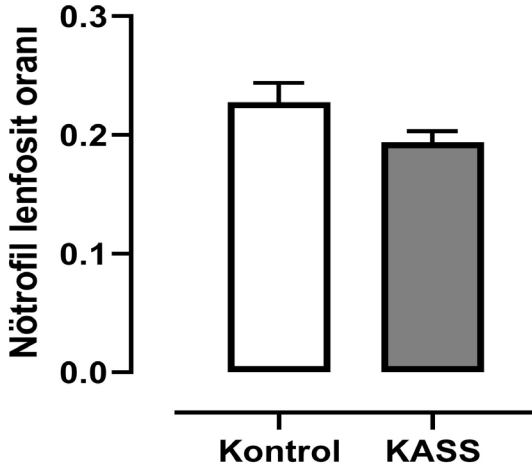
Kontrol ve soğuk stres grubu sıçanların nötrofil lenfosit oranları değerlendirildiğinde kontrol grubu nötrofil lenfosit oranı 0,227 ± 0,01, soğuk stres grubu nötrofil lenfosit oranı 0,193 ± 0,02 olarak bulunmuştur (Şekil 2). Soğuk stres ve kontrol gruplarında nötrofil lenfosit oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,1). Hematolojik parametreler Tablo 1'de gösterilmiştir.

### TARTIŞMA

Nötrofil lenfosit oranının kronik strese maruziyetin etkilerini değerlendirmede, hem kolay ölçülebilir olması hem de cinsiyet, sirkadiyen ritim, akut stres gibi faktörlerden daha az etkileniyor olması sebebiyle avantajlı olabileceği ortaya atılmıştır (6). Daha önce yapılan bir çalışmada kronik kısıtlama stresine maruz bırakılan erişkin sıçanlarda nötrofil lenfosit oranı, kontrol grubu sıçanlardan farklı çıkmamıştır. Kronik öngörülemez strese maruz bırakılan



**Şekil 1.** Kontrol ve soğuk stres gruplarında sıçanların eritrosit dağılım genişliği (RDW), grafik değerleri ortalama  $\pm$  SEM \* $p<0,05$  şeklinde verilmiştir. KASS: Kronik aralıklı soğuk stres.



**Şekil 2.** Kontrol ve soğuk stres gruplarında nötrofil lenfosit oranları, grafik değerleri ortalama  $\pm$  SEM şeklinde verilmiştir. KASS: Kronik aralıklı soğuk stres.

sıçanlarda ise, nötrofil lenfosit oranı kontrol grubu sıçanlara göre önemli ölçüde artmıştır (7). Kronik öngörülemez stres maruziyetinde bu oranın arttığı bildirilmiş olmasına rağmen, bu çalışmada kronik aralıklı soğuk stres uygulamasında gruplar arasında fark gözlenmemiş olması, deney protokolünde kullanılan stresin türüne bağlı olarak açıklanabilir. Aynı stres etkenine tekrar tekrar maruz kalmak stres yolaklarında adaptasyona neden olabilirken yeni, öngörülemez stres etkenine maruz kalma sonucunda, hipotalamus hipofiz adrenal aksında uzun süreli düzensizliğe neden olabildiği gösterilmiştir (14). Bu sebeple öngörülemez stresin etkileri daha belirgin olması beklenebilir. Daha önce 5 gün boyunca kronik aralıklı soğuk strese maruz bırakılan sıçanlarda yapılan bir araştırmada, kronik aralıklı soğuk stres modelinin etkili bir stres kaynağı olmayabileceğine dair kanıtlar sunulmuştur (15). Kronik aralıklı soğuk stres modelinde nötrofil lenfosit oranının etkilenmesi için daha uzun bir süre maruziyet gerekebilir.

RDW artışının kronik inflamasyonla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (16). Stres, inflamasyonun önemli bir tetikleyicisi olmakla beraber bu çalışmada, kronik stres maruziyetinin

**Tablo 1.** Kronik aralıklı soğuk stres grubundaki sıçanların ve kontrol grubundaki sıçanların ortalama hematolojik parametreleri.

	Kontrol	Kronik Aralıklı Soğuk Stres	P değeri <sup>y</sup>
Lökosit ( $\times 10^9/L$ )	4,5 $\pm$ 0,77	4,88 $\pm$ 1,07	0,77
Lenfosit (%)	79,3 $\pm$ 1,2	81,98 $\pm$ 0,67	0,16
Granülosit (%)	18,02 $\pm$ 1,12	15,72 $\pm$ 0,58	0,16
Monosit (%)	2,62 $\pm$ 0,12	2,22 $\pm$ 0,09	0,07
Hemoglobin (g/dL)	11,05 $\pm$ 0,9	12,16 $\pm$ 1,02	0,43

\*Tablo değerleri ortalama  $\pm$  SEM (ortalamanın standart hatası) şeklinde verilmiştir.

<sup>y</sup>  $p<0,05$  anlamlı kabul edilmiştir, student t-testi kullanılmıştır.

kontrol grubuna kıyasla RDW değerinde artışa yol açabildiği gösterilmiştir. Bu bulgu ile uyumlu olarak literatürde sıcak stresine maruz bırakılan erkek sıçanlarda ortalama RDW değerinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (17). Ek olarak, majör depresyon hastalarıyla yapılan klinik çalışmalarda RDW artışının hemoglobin değerlerinden bağımsız olarak depresyon ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (18).

Bu çalışmada ölçülen hematolojik değerler, sıçanların yaş grubuna göre normal değerler aralığında bulunmaktadır. Adolesan sıçanlarda ölçülen hemoglobin değeri sonuçlarının, literatürdeki erişkin sıçanlarda ölçülen normal değerlere göre daha düşük olduğu görülmektedir. Sıçanlarda yaşamın ilk ayında hemoglobin düzeyinde artış olmakta, yaşamın ikinci ayından itibaren hemoglobin düzeyleri stabilizasyon göstermektedir (19). Lökosit sayısı sıçanlarda yaşamın ilk bir ayında en düşük değerlere sahip olmakla beraber 2 ile 24 ay arasında ortalama olarak çok az değişkenlik göstermektedir (19). Çalışmamızda sıçan kan örnekleri, kalpten alınmıştır. Literatürdeki sonuçlar, kuyruktan alınan kan örneklerinde lökosit sayısının, inferior vena kavadan alınan örneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu göstermiştir (20). Gözlemlenen farklılıkların, kan örneklerinin toplandığı çeşitli yerlerde (kuyruk, göz ve kalp) bağışıklık yanıtının farklı olmasına atfedilebileceği ortaya konulmuştur (21). Gelecek çalışmalarda kuyruktan alınan kan örneklerinde nötrofil lenfosit oranının değerlendirilmesi gerekebilir.

## SONUÇ

Stres indüksiyonu ve stresin etkilerinin değerlendirilmesi, patofizyolojik mekanizmayı anlamak ve terapötik yaklaşım geliştirmek için büyük önem taşımaktadır. Stresin etkileri; deneğin yaşına ve türüne, maruz bırakılan stresörün çeşidine ve süresine bağlıdır. Adolesan dönemde hipotalamus hipofiz adrenal aksının ve diğer beyin bölgelerinin gelişiminin devam ediyor olması, bu dönemi stresin etkilerine hassas hale getirmektedir.

Hayvanlarda stres düzeyinin belirlenmesinde çeşitli biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal ölçümlerin bütünsel olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Kolaylıkla ölçülebilen

nötrofil lenfosit oranı ve eritrosit dağılım genişliği, stresin etkilerini değerlendirmede önemli bir araç olabilir ve bu bütüncül değerlendirmenin bir parçası olarak kullanılabilir.

**Ek bilgi:** Bu çalışma, Emel Güneş danışmanlığında Merve Deniz Değirmenci tarafından yazılan "Kronik aralıklı soğuk stresin peripubertal dönemdeki sıçanların beyinde kortizol aracılı oksidatif stres, inflamasyon ve anksiyodepresif benzeri davranışlara etkisi" başlıklı tıpta uzmanlık tezinden türetilmiştir.

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma, Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu prensipleri doğrultusunda yapılmış olup etik kurul onayı Ankara Üniversitesi 22.07.2020 tarihli ve 2020-13-116 sayılı karar numarası ile alınmıştır.

**Yazarlık Katkısı:** Fikir/Kavram: MDD, Tasarım/Dizayn: HÇ, Denetleme/Danışmanlık: EG, Veri Toplama ve/veya işleme: MDD, HÇ, Analiz ve/veya Yorum: EŞ, Literatür Taraması: MDD, HÇ, Makalenin Yazımı: MDD, Eleştirel İnceleme: EG, Kaynaklar ve Fon Sağlama: EG, Malzemeler: MDD.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemiştir.

**Finansal Kaynaklar:** Bu araştırma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 21L0230005 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Bali A, Jaggi AS. Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. *Eur J Pharmacol* 2015;746:282-92.
- Xu B, Lian S, Guo JR, et al. Activation of the MAPK signaling pathway induces upregulation of pro-apoptotic proteins in the hippocampi of cold stressed adolescent mice. *Neurosci Lett* 2019;699:97-102.
- Broom DM, Fraser AF. Domestic animal behaviour and welfare. 5th ed. Wallingford, CABI Publishing; 2015.
- Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Lek Listy* 2021;122:474-88.
- Song M, Graubard BI, Rabkin CS, Engels EA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population. *Sci Rep* 2021;11:464-73.
- Hickman DL. Evaluation of the neutrophil:lymphocyte ratio as an indicator of chronic distress in the laboratory mouse. *Lab Anim (NY)* 2017;46:303-7.
- Swan MP, Hickman DL. Evaluation of the neutrophil-lymphocyte ratio as a measure of distress in rats. *Lab Anim (NY)* 2014;43:276-82.
- Davis AK, Maney DL, Maerz JC. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 2008;22:760-72.
- Karagülle M. Covid-19 Hastalarında D-dimer ve Eritrosit

Dağılım Genişliği Arasındaki İlişkinin Klinik Önemi. *Eskisehir Medical Journal* 2022;3:123-9.

10.Lippi G, Turcato G, Cervellin G, Sanchis-Gomar F. Red blood cell distribution width in heart failure: A narrative review. *World J Cardiol* 2018;10:6-14.

11.Demircan F, Gozel N, Kilinc F, Ulu R, Atmaca M. The Impact of Red Blood Cell Distribution Width and Neutrophil/Lymphocyte Ratio on the Diagnosis of Major Depressive Disorder. *Neurol Ther* 2016;5:27-33.

12.Ige AO, Iwaloye OI, Adewoye EO. Metformin Effects are Augmented by Chronic Intermittent Cold Stress in High Fat Diet Fed Male Wistar Rats. *Niger J Physiol Sci* 2017;32:47-54.

13.Edwards E, King JA, Fray JC. Increased basal activity of the HPA axis and renin-angiotensin system in congenital learned helpless rats exposed to stress early in development. *Int J Dev Neurosci* 1999;17:805-12.

14.Gray JD, Rubin TG, Hunter RG, McEwen BS. Hippocampal gene expression changes underlying stress sensitization and recovery. *Mol Psychiatry* 2014;19:1171-8.

15.El Marzouki H, Aboussaleh Y, Najimi M, Chigr F, Ahami A. Effect of Cold Stress on Neurobehavioral and Physiological Parameters in Rats. *Front Physiol* 2021;12:1-20.

16.Kalay N, Aytekin M, Kaya MG, et al. The relationship between inflammation and slow coronary flow: increased red cell distribution width and serum uric acid levels. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2011;39:463-8.

17.Zamanian Z, Yousefinejad S, Dehghan SF, Rahmani A. Hemato-biochemical responses of rats co-exposed to heat stress and trichloroethylene vapors. *Russian Open Medical Journal* 2021;10:405-14.

18.Peng Y-F, Zhong S-M, Luo B, Qin Y-h, Wei Y. Evaluation of red blood cell distribution width and neutrophil to lymphocyte ratio in patients with major depressive disorder. *Neurol Ther* 2016;5:27-33.

19.Jacob Filho W, Lima CC, Paunksnis MRR, et al. Reference database of hematological parameters for growing and aging rats. *Aging Male* 2018;21:145-8.

20.Nemzek JA, Bolgos GL, Williams BA, Remick DG. Differences in normal values for murine white blood cell counts and other hematological parameters based on sampling site. *Inflamm Res* 2001;50:523-7.

21.Northern AL, Rutter SM, Peterson CM. Cyclic changes in the concentrations of peripheral blood immune cells during the normal menstrual cycle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994;207:81-8.



Bu eser [Creative Commons Atıncı-GayriTicari-Türetilemez 4.0 Uluslararası Lisansı](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) ile lisanslanmıştır.