



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2021; 35 (3): 158 - 165
http://www.fusabil.org

Mustafa İLERİTÜRK ^{1, a}
Tuba DOĞAN ^{1, b}
Emine SATICI ^{1, c}

¹ Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-4581-4492

^b ORCID: 0000-0003-4039-3497

^c ORCID: 0000-0002-7174-3448

Rutin'in Deltamethrin ile Mide Toksikitesi Geliştirilen Ratlarda Oksidatif Stres, Apoptoz ve İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması

Deltamethrin (DLM) böceklerle ve çeşitli haşerelerle mücadelede yaygın olarak kullanılan oldukça etkili bir insektisittir. DLM böceklerin kontrolünde kullanılırken, bilinçsiz kullanım sonucu ciddi toksik etkilere de sebep olabilmektedir. Rutin (RUT), turunçgillerden elde edilen ve düşük toksik etkilere ve oksitlenmeye özelliğine sahip kuvvetli bir doğal antioksidan moleküldür. Bu çalışma ratlarda DLM kaynaklı oluşan mide toksisitesine karşı RUT'un etkilerinin araştırılması amacı ile planlandı. Deneysel işlem 28 gün olarak planlandı ve 5 grup oluşturuldu. Ratlara 28 gün boyunca oral yolla, DLM (1.28 mg/kg) veya RUT (25 ve 50 mg/kg) uygulandı. Mide dokusunda indirgenmiş glutatyon (GSH), lipid peroksidasyon ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) seviyeleri ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri belirlendi. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), nükleer faktör (eritroid kaynaklı 2)-related factor 2 (Nrf-2) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi inflamasyon belirteçleri ile sistein aspartat spesifik proteaz kaspaz-3 (kaspaz-3) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3 (STAT3) apoptotik belirteçlerinin mRNA transkript seviyeleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda RUT uygulamasının DLM'nin neden olduğu oksidatif hasarı azalttığı, apoptoz ve inflamasyon belirteçleri üzerine düzenleyici etkileri olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, deltamethrin, inflamasyon, oksidatif stres, rutin

Investigation of the Effect of Rutin on Oxidative Stress, Apoptosis and Inflammation Parameters in Rats with Deltamethrin Induced Gastric Toxicity

Deltamethrin (DLM) is a highly effective insecticide widely used to control insects and various pests. While DLM is used to control insects, it can also cause serious toxic effects as a result of unconscious use. Rutin (RUT) is a powerful natural antioxidant molecule obtained from citrus fruits and has low toxic effects and non-oxidation properties. This study was designed to determine the protective effects of RUT against gastric toxicity caused by DLM in rats. Rats were divided into 5 groups and experimental procedure carried out for 28 days. DLM (1.28 mg/kg) and RUT (25 and 50 mg/kg) were administered orally to animals. The levels of reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), one of the lipid peroxidation products, and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) activities were determined in the gastric tissue. mRNA transcript levels of inflammation markers such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), nuclear factor (erythroid-derived 2)-related factor 2 (Nrf-2) and nuclear factor kappa B (NF- κ B) and apoptotic markers such as cysteine aspartate-specific protease caspase-3 (caspase-3) and of signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3) were measured. According to our results it was determined that RUT administration reduced the oxidative damage caused by DLM and had regulatory effects on apoptosis and inflammation markers.

Key Words: Apoptosis, deltamethrin, inflammation, oxidative stress, rutin

Giriş

Deltamethrin (DLM), dünya genelinde haşerelerle mücadelede sıklıkla kullanılan uzun ömürlü bir piretroid ester insektisittir (1). İşlevlerine göre çeşitli türevleri bulunan insektisitlerin, her ne kadar kontrollü bir şekilde kullanımına özen gösterilse de, bu bileşikler çevreye yayılarak suyu, toprağı, gıdaları kirletmekte ve oluşturduğu patofizyolojik bozukluklar sonucunda insan ve hayvan sağlığı açısından ciddi zarar oluşturmaktadırlar (2). İnsektisitlerin etkileri sinir uyarılarının iletilmesine zarar verme ve kanın pıhtılaşmasının engellenmesinden, solunum ve dolaşım merkezlerinin felç edilmesine kadar çeşitlilik göstermektedir (3). Böcekler, sinekler veya diğer haşereler gibi hedef organizmaların yanı sıra, kontrolsüz kullanımı sonucu hedef olmayan canlılar da insektisit kullanımından etkilenmektedir. İnsanlarda ve hayvanlarda pestisitlere maruz kalma, çeşitli doku ve organ hasarlarına sebep olmaktadır (4, 5). DLM'ye maruziyet sonucu nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi ciddi hastalıkların şekillendiği daha önce yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (6, 7). DLM birikimi doku ve organlarda reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu artırır ve artan ROS sonucunda proteinler, nükleik asit ve lipitler zarar görmektedir (8). DLM'nin toksisitesinin, sodyum kanalı voltaj kapılarının (VGSC) gecikmeli açılmasıyla birlikte γ -aminobütirik asit inhibisyonu tarafından tetiklenen kalsiyum aşırı yüklenmesi sonucu geliştiği bildirilmiştir (9). Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda, DLM'ye benzer toksik etkilere sahip ajanların neden olduğu ROS

Geliş Tarihi : 20.08.2021
Kabul Tarihi : 08.10.2021

Yazışma Adresi Correspondence

Mustafa İLERİTÜRK
Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Erzurum – TÜRKİYE

m.ileriturk@atauni.edu.tr

üretimini ve doku hasarını doğal antioksidanların azalttığı ve bu nedenle antioksidanların toksik ajanlara karşı kullanımının yaygınlaştığı görülmektedir (10, 11).

Flavonoidler, yüksek antioksidan özellikler taşıyan, çok sayıda hidroksil/fenolik gruba sahip olan doğal kökenli polifenolik sekonder metabolitlerdir (12). Uzun yıllardır çalışılmasına rağmen, biyolojik aktivitelerindeki hücresel mekanizmalar halen tam anlamıyla bilinmemektedir. Flavonoidlerin biyoaktiviteleri ve araştırmalarla ortaya çıkan etki mekanizmaları yapılan çalışmalar incelenerek ele alındığında; ROS oluşumunu engellediği, lipofilik antioksidanları koruyarak hücrelerin antioksidan enzimlerini artırdığı, metal şelasyonu yaparak redoks reaksiyonları önlediği, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz enzimlerinin inhibitörü gibi önemli etkilere sahip olduğu anlaşılmaktadır (13, 14). Turunçgillerden elde edilen önemli bir flavonoid olan Rutin (RUT) (kuersetin-3-Orutinosit) antioksidan, anti-inflamatuar, anti-ülser, anti-alerjik, anti-kanserijen, anti-mutajenik özellikler taşıyan güçlü bir süperoksit radikali temizleyicisidir (15, 16).

Bu çalışma, RUT'un olası yararlı etkileri göz önüne alınarak tasarlanmış ve DLM kaynaklı oluşabilecek mide hasarına karşı RUT'in etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Deneyde; Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen yaşları 10-12 hafta ve ağırlıkları 220-250 g olan 35 adet erkek Sprague Dawley ratlar kullanıldı. Çalışmanın etik kurul onayı Atatürk Üniversitesinin Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alındı (Protokol Numarası: 2020-05-79). Hayvanların beslenmelerinde çeşme suyu ve standart laboratuvar yemleri kullanıldı. Yeme ve içme *ad libitum* olarak sağlandı. Hayvanlar 24 ± 1 °C sıcaklığa, 45 ± 5 nem oranına ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüye sahip ortamda barındırıldılar.

Kimyasallar: RUT, DLM ve analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)'dan temin edildi.

Deney Protokolü: Deneyde her biri 7 hayvandan oluşan 5 farklı grup oluşturuldu ve uygulamalardan önce 1 hafta boyunca hayvanların ortama adaptasyonları sağlandı. Gruplar aşağıdaki şekilde dizayn edildi;

- 1. Grup (Kontrol Grubu):** 28 gün boyunca serum fizyolojik oral 0.5 mL olarak verildi.
- 2. Grup (RUT Grubu):** 28 gün boyunca 50 mg/kg RUT oral verildi (17).
- 3. Grup (DLM Grubu):** 28 gün boyunca 1.28 mg/kg DLM oral verildi (18).
- 4. Grup (DLM + RUT 25 Grubu):** 28 gün boyunca oral 25 mg/kg RUT verildi. RUT uygulamasından 30 dakika sonra oral 1.28 mg/kg DLM verildi.
- 5. Grup (DLM + RUT 50 Grubu):** 28 gün boyunca oral 50 mg/kg RUT verildi. RUT uygulamasından 30 dakika sonra oral 1.28 mg/kg DLM verildi.

Son DLM uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra (29. gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek mide dokuları alındı. Dokular serum fizyolojik solüsyonuyla yıkandıktan sonra filtre kağıdı ile kurutuldu ve biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 °C'de saklandı.

Mide Dokusunda Lipid Peroksidasyon ve İndirgenmiş Glutasyon Analizi: Mide dokuları 1.15%'lik potasyum klorür içerisinde homojenize edildikten sonra malondialdehit (MDA) ölçümü için 3500 rpm'de 15 dakika, indirgenmiş glutasyon (GSH) tayini için ise 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantta MDA seviyesi MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucu oluşturduğu pembe rengin 532 nm'deki absorbanasının ölçümü esasına dayanan Placer ve ark.'ın (19)'nın geliştirdiği metot ile tespit edildi. GSH seviyesi DTNB'nin [5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)] sülfhidril gruplu bileşikler tarafından indirgenmesi ve meydana gelen sarı rengin spektrofotometrede 412 nm'de ölçülmesi prensibine dayanan Sedlak ve Lindsay (20)'in geliştirdiği metot ile saptandı.

Mide Dokusunda Total RNA İzolasyonu, cDNA Sentezi ve Real-Time PCR Analizleri: Mide dokularında total RNA izolasyonu QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, Cat: 79306, Almanya) ile yapıldı. İzolasyonda üretici firmanın belirlediği talimatlara göre yapıldı. Elde edilen total RNA'ların konsantrasyonları NanoDrop spektrofotometre (BioTek Instruments Epoch, ABD) cihazında belirlendi ve alınan sonuçlara göre total RNA eşitlenmesi yapıldı. Total RNA'lardan cDNA sentezi ise yine üretici firmanın (BIO-RAD, ABD) vermiş olduğu protokole göre gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA'lar nükleer faktör (eritroid kaynaklı 2)-related factor 2 (Nrf-2), nükleer faktör kappa B (NF-κB), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α), sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3), kaspaz-3, SOD, KAT, GPx enzimlerin mRNA transkript seviyelerinin belirlenmesinde kullanıldı. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. İnternal kontrol olarak β-actin kullanıldı ve elde edilen CT değerlerinden Livak ve ark. (21)'nin $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile fold change hesaplamaları yapıldı. RT-PCR'de kullanılan ilgili genlerin primer dizileri Tablo 1'de sunuldu.

İstatistiksel Analiz: Mide dokusunda gerçekleştirilen analizlerin istatistiksel değerlendirilmesinde IBM SPSS programı (version 20.0; IBM Co, North Castle, NY) kullanıldı. Örnek sayısı 50'den az olduğu için verilerin dağılımı Shapiro-wilk testi ile analiz edildi. Veriler normal dağılıma sahip ve grup sayısı 2'den fazla olduğundan dolayı deney grupları arasında istatistiksel farklar tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arası farklılıklar ise Tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi (4). RT-PCR analizlerinde her örnek 3 tekrarlı çalışıldı ve sonuçlar mean±SD olarak sunuldu. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. QRT-PCR'de kullanılan ilgili genlerin primer dizileri (R: Reverse; F: Forward)

Gen Adı	Diziler (5'-3')	Uzunluk (bp)	Referans No
SOD	F: AATGTGGCTGCTGGAAAGGA R: GCTTCCAGCATTCCAGTCT	171	NM_017050.1
KAT	F: CTGAGAGAGTGGTACATGCA R: AATCGGACGCAATAGGAGT	130	NM_012520.2
Gpx	F: CAAGGTGCTGCTCATTGAGA R: ATGTCCGAAGTATTGCACG	139	NM_030826.4
NF-κB	F: AGTCCCGCCCTTCTAAAAC R: CAATGGCCTCTGTGTAGCCC	106	NM_0012767 11.1
TNF-α	F: CTCGAGTGACAAGCCCGTAG R: ATCTGCTGGTACCACAGTT	139	NM_012675.3
Nrf-2	F: TTTGTAGATGACCATGAGTCCG R: TCCTGCCAACTTGTCTCCAT	161	NM_031789.2
Kas paz-3	F: ACTGGAATGTGAGCTCGCAA R: GCAGTAGTCGCTCTGAAGA	270	NM_012922.2
STA T3	F: TACCTGGAGCAGCTTCATCA R: GATCTCGCCAAGAGTTAT	153	NM_012747.2
B-Actin	F: CAGCCTTCCTTCTGGGTATG R: AGCTCAGTAACAGTCCGCCT	360	NM_007393.5

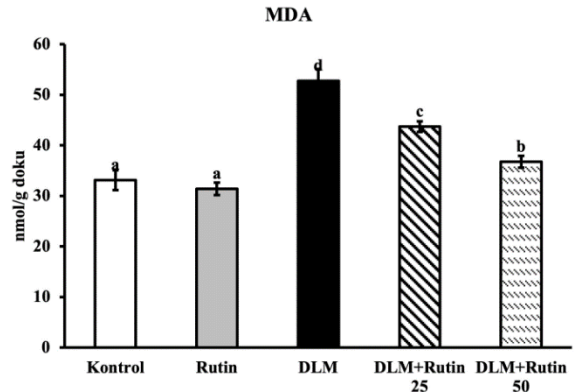
Bulgular

Mide Dokusunda MDA ve GSH Seviyeleri ile Antioksidan Enzimlerin Değerlendirilmesi: Mide dokusunda oksidatif stres belirteçleri değerlendirildiğinde DLM uygulamasının lipid peroksidasyona sebep olarak MDA seviyelerini artırdığı belirlendi ($P<0.001$). Bununla beraber RUT uygulaması ile doza bağlı bir azalma olduğu ve lipid peroksidasyonunun hafifletildiği tespit edildi ($P<0.001$). DLM uygulaması ile azalan GSH seviyelerinin RUT uygulaması tarafından artırılarak GSH depolarının korunduğu saptandı ($P<0.001$). MDA ve GSH seviyeleri sırasıyla şekil 1 ve şekil 2'de sunuldu. Mide dokusunda SOD, KAT ve GPx aktivite ile MDA seviyeleri arasında ters korelasyon olduğu belirlendi. DLM ile birlikte RUT uygulanan grubunun mide dokusundaki hasarın DLM uygulanan gruba göre azaldığı, SOD, KAT ve GPx aktivitelerinde artış olduğu ve ROS oluşumunda azalma eğilimi olduğu saptandı. Yalnızca RUT uygulanan grup ile kontrol grubu arasında enzim aktiviteleri ve MDA, GSH seviyeleri değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. SOD, KAT ve GPx aktivitelerine ait mRNA transkript seviyeleri sırasıyla şekil 3, 4 ve 5'de sunuldu.

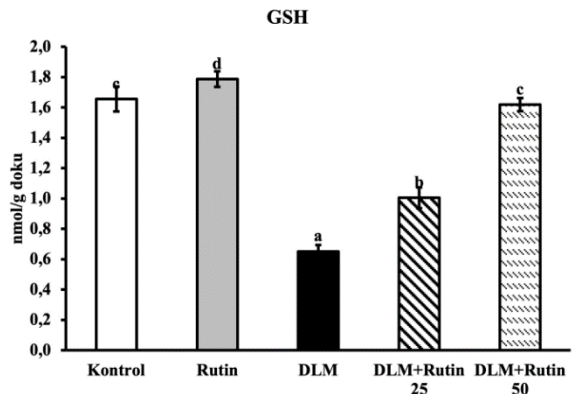
Mide Dokusunda İnflamasyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi: NF-κB, Nrf-2 ve TNF-α inflamasyonda rol oynayan önemli sitokinlerdir. Bu sitokinlere ait mRNA transkript seviyeleri değerlendirildiğinde DLM'nin mide dokularında NF-κB, Nrf-2 ve TNF-α ekspresyon seviyelerini kontrol grubuna göre önemli derecede artırdığı tespit edildi ($P<0.001$). DLM ile birlikte RUT uygulanan ratların mide dokularındaki transkript seviyeleri incelendiğinde, bu belirteçlerde yalnızca DLM grubuna göre dikkate değer bir azalma meydana geldiği belirlendi ($P<0.001$). Sadece

RUT uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$). Nrf-2, NF-κB ve TNF-α yolaklarına ait mRNA transkript seviyeleri sırasıyla şekil 6, 7 ve 8'de sunuldu.

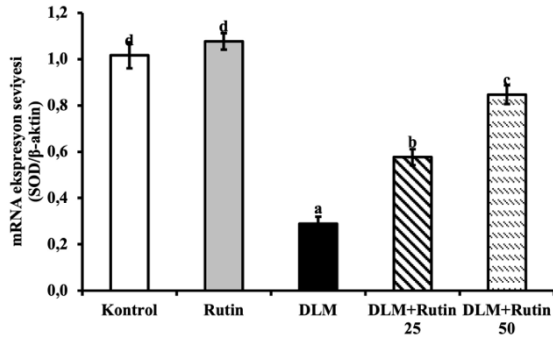
Mide Dokusunda Apoptoz Parametrelerinin Değerlendirilmesi: STAT3 ve kaspaz-3 apoptozda önemli rol oynayan transkripsiyon faktörleridir. Bu yolların aktivasyon düzeylerine ait mRNA transkript seviyeleri değerlendirildiğinde, DLM uygulamasının mide dokularında STAT3 ve kaspaz-3 ekspresyonunu tetikleyerek, apoptozu artırdığı tespit edildi. Bununla birlikte RUT uygulanan ratların mide dokularında STAT3 ve Kaspaz-3 ekspresyonunun ise baskılandığı belirlendi ($P<0.001$). RUT'in farklı dozları karşılaştırıldığında yüksek dozun daha etkili olduğu görüldü (STAT3 ve kaspaz-3; $P<0.001$). STAT3 ve kaspaz-3 apoptotik yolların elde ettiğimiz veriler doğrultusunda mRNA transkript seviyeleri sırasıyla şekil 9 ve 10'da sunuldu.



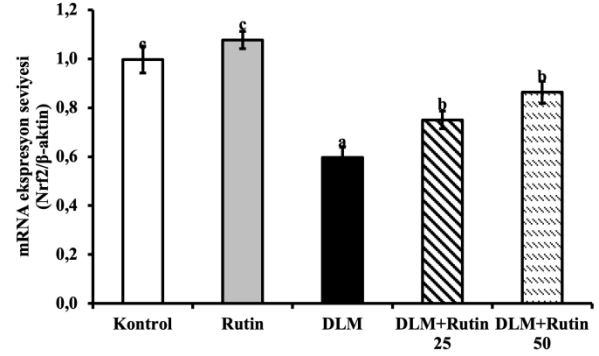
Şekil 1. Mide dokusu MDA seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



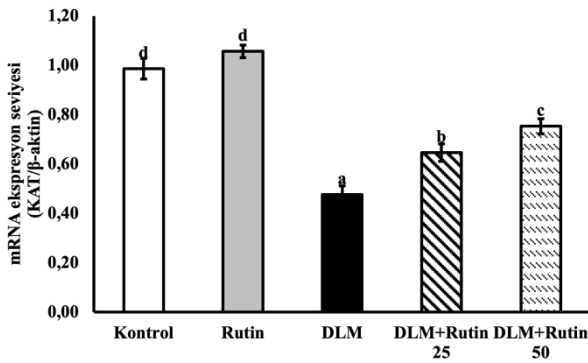
Şekil 2. Mide dokusu GSH seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



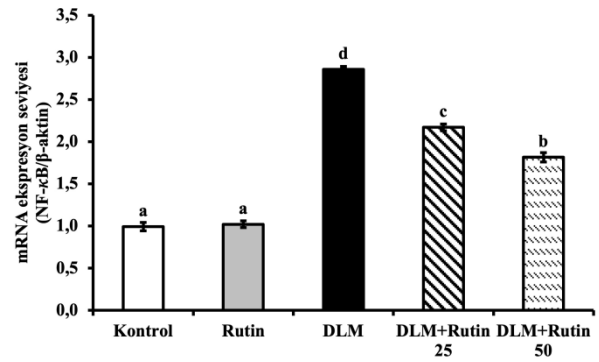
Şekil 3. Mide dokusu SOD aktivitesi mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



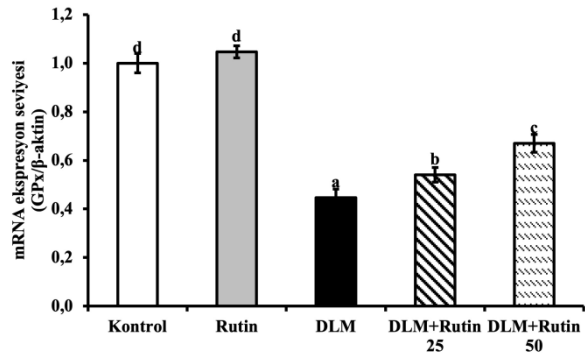
Şekil 6. Mide dokusu Nrf-2 mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



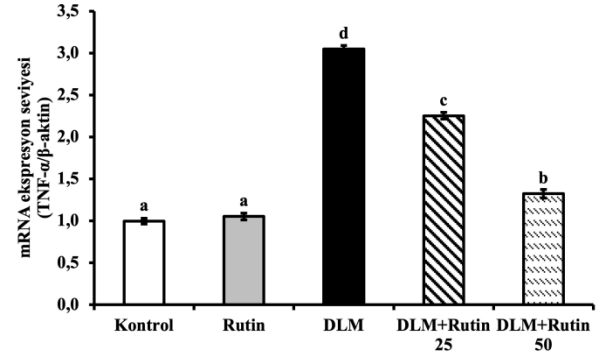
Şekil 4. Mide dokusu KAT aktivitesi mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



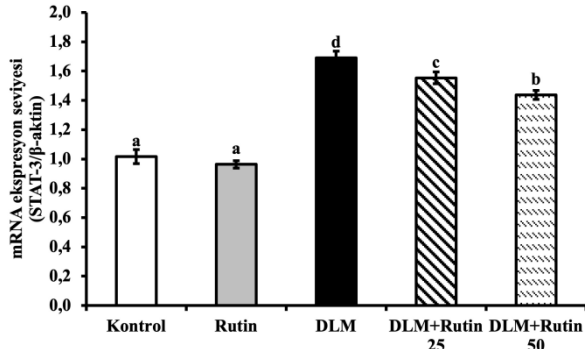
Şekil 7. Mide dokusu NF-κB mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



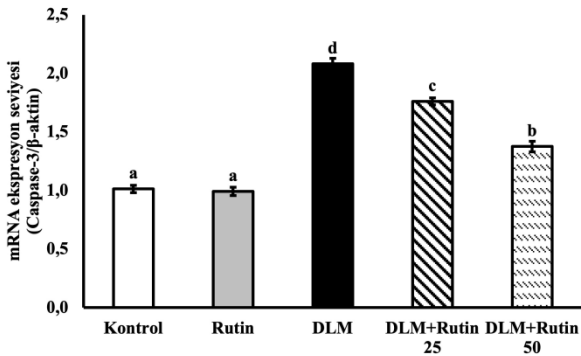
Şekil 5. Mide dokusu GPx aktivitesi mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 8. Mide dokusu TNF-α mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 9. Mide dokusu STAT3 mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05).



Şekil 10. Mide dokusu kaspaz-3 mRNA transkript seviyesi. Farklı harfler (a–d) gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05).

Tartışma

İnsektisitler, dünya genelinde tarım ve hayvancılıkta genellikle haşerelerden kurtulmak, istenmeyen böceklerin çoğalmasını engellemek ya da kontrol altına almak için kullanılan, yüksek dozları solunum ve sinir hasarları gibi ciddi ölümcül rahatsızlıklara yol açabilecek maddelerdir (22). Bu maddeler böceklerle ve sineklerle mücadelede kullanımının birçok yararlı etkilerinin yanı sıra, bilinçsiz kullanımı sonucu çevreye yayılmakta ve aşırı maruziyeti sonucu insan ve hayvan sağlığı adına ciddi toksik etkilere de sebep olabilmektedirler (23). Diğer yandan doğal ürünlerden elde edilen bileşiklerin günümüzde birçok toksik etkenlere karşı faydalı etkileri araştırılmakta ve elde edilen sonuçlar bu bileşiklerin anti-inflamatuvar, anti-otofajik, anti-apoptotik gibi önemli yararlarının olduğunu göstermektedir. Sunulan çalışma DLM kaynaklı oluşan mide hasarı ve toksisitesine karşı RUT'un etkilerini incelemek amacıyla gerçekleştirildi.

Reaktif oksijen türleri birçok eksojen ilaç, toksik etkenler ve ksenobiyotiklere maruz kalma sonucu oluşan serbest radikallerdir (24-26). Oksidatif stres, ROS'ların seviyelerinde artış veya antioksidan seviyelerinde bir azalmanın sonucu olarak meydana gelir (27). Oksidan türlerin seviyesi antioksidan seviyelerini aştığında, bir diğer deyişle antioksidan-oksidan dengenin bozulup

dengeyi oksidan tarafa kaymasıyla redoks homeostazı bozulmakta ve bu da oksidatif strese neden olmaktadır (28). Normal sinyal iletim süreçleri için düşük konsantrasyonlarda oksidan türleri ihtiyaç duyulsa da bu maddelerin yüksek seviyelerinin birçok patolojik duruma yol açtığı bildirilmiştir (29).

Reaktif oksijen türlerine karşı oluşabilecek hasarı önlemede ilk savunma hattını SOD, KAT ve GPx gibi enzimler oluştururlar. SOD, süperoksit radikalının normal moleküler oksijen ve hidrojen peroksit dönüşürülmesinin katalize edilmesinde görev alırken, hücreler için oldukça toksik ve geri dönüşümsüz hasarlara sebep olabilen bir bileşik olan hidrojen peroksit KAT ve GPx tarafından su ve moleküler oksijene parçalanmaktadır (30). GSH, ROS'lara karşı ikinci savunma hattını oluşturan, hücreleri serbest radikaller, peroksitler ve ağır metaller gibi ROS'ların toksik etkilerinden koruyan nonenzimatik yapıda bir antioksidandır (31). GSH, serbest radikalleri bağlayarak oksitlenmiş (GSSG) forma dönüşebilmektedir ve GSSG-GSH oranı oksidatif stresin önemli bir ölçüsüdür (32). MDA önemli bir hücre hasarı belirtici olmasının yanı sıra membrandaki lipidlerin başlıca oksidatif hasar göstergesidir (33, 34). Küçükler ve ark. (11), DLM toksisitesinin en önemli nedeninin oksidatif stres artışı olduğunu ifade etmiş, ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada DLM'nin lipid peroksidasyonu artırırken antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da DLM'nin mide dokularında SOD, KAT ve GPx enzim aktiviteleri ile MDA seviyeleri arasında ters korelasyona neden olduğu ve oksidatif hasarı artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte RUT'un serbest radikalleri süpürücü özellik göstererek oksidan-antioksidan dengenin bozulmasını önlediği, antioksidan enzim aktivitelerinin artmasını ve GSH depolarının yenilenmesini sağlayarak MDA seviyelerinde azalmaya neden olduğu belirlendi.

Nükleer faktör (eritroid kaynaklı 2)-related factor 2, inflamasyon durumunda aktive olan, oksidatif hasara karşı korumada, oksidan-antioksidan dengesini düzenlemede önemli role sahip temel bir lösin fermuar (bZIP) proteindir (32, 35). Sitoplazmada bir hücre iskeleti proteini olan Keap1 tarafından bastırılır ve serbest radikaller tarafından uyarıldığında Keap1'den ayrılarak aktive olur (36). Aktive olmuş Nrf-2 çekirdeğe girer ve HO-1 ve NQO1 gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu faz II savunma enzimleri ile birlikte düzenler (37). Celik ve ark. (38) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, RUT'un Nrf-2 yolunu aktive ederek oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada da, DLM kaynaklı artan inflamasyon sonucu Nrf-2 ekspresyonunda düşüş meydana geldiği, RUT'un Nrf-2 ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir.

Bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB, proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunda önemli bir rol oynamaktadır ve birçok dokuda immün yanıtın aktive edilmesinden sorumludur (4, 16). Ayrıca NF-κB'nin, Nrf-2 ekspresyonunu baskıladığı ve antioksidan özelliklerini azalttığı bildirilmiştir (39). Farklı bir çalışmada, DLM'nin NF-κB aktivasyonuna neden olarak dokularda

inflamasyona sebep olduğu rapor edilmiştir (40). Caglayan ve ark. (41) da RUT'un antioksidan özelliklerinden dolayı ROS'u temizlediği ve böylece NF- κ B transkript seviyelerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Sunulan çalışmada da DLM'in mide dokularında NF- κ B transkript seviyelerini artırdığı ve bunun sonucunda Nrf-2 supresyonu yoluyla hem oksidatif strese hem de mide hasarına neden olduğu, DLM ile birlikte uygulanan RUT tedavisinin ise NF- κ B transkript düzeylerini ve mide toksisitesini azalttığı belirlendi. Nükleer faktör kappa B'nin aktivasyonunu sağladığı TNF- α , inflamasyonda görevli önemli bir pro-inflamatuar sitokindir (40). Mide toksisitesi durumunda TNF- α seviyelerinin yükseldiği daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (42, 43). Saklani ve ark. (44) tarafından yapılan çalışmada artan TNF- α seviyelerinin RUT uygulaması sonucunda azaldığı bildirilmiştir. Sunulan çalışmada TNF- α transkript seviyelerinde artış tespit edilmiş ve bunun muhtemel sebebinin DLM kaynaklı oluşabilecek ROS üretimine bağlı NF- κ B aktivasyonunun TNF- α gen ekspresyonlarını upregüle etmesi sonucu olduğu düşünülmüştür.

Apoptoz, çeşitli patolojik ve fizyolojik uyarılar tarafından yönlendirilen, normal ve programlı bir hücre ölümü sürecidir (45). Kaspaz-3 adı verilen proteolitik enzim, apoptoz sürecinin önemli faktörlerindedir ve kaspaz-3 ekspresyonunun aktivasyonu dokularda

hasarın önemli bir kanıtıdır. STAT3 sinyal yolu, kaspaz-3 gibi apoptozda görev alan, doku hasarı ve toksisite hakkında önemli bir belirteç olan transkripsiyon faktörüdür (25). Tamamen aktive olan STAT3, anti-apoptotik (Bcl-XL) (46, 47) ve proliferasyon düzenleyici proteinlerin (cyclin D1 and Myc) (48, 49) gen transkripsiyonunu düzenlemektedir. Yapılan bir çalışmada (1) DLM uygulanan ratlarda kaspaz-3 ve STAT3 ekspresyonunun artarak ratlarda apoptozun ciddi anlamda şekillendiği gösterilmiştir. RUT uygulamasının ise apoptotik genlerin ekspresyonlarını suprese ederek hücrelerin apoptoza karşı önemli derecede bir savunma kazanmasını sağladığı bildirilmiştir (30, 50). Sunulan çalışmada mide dokularında kaspaz-3 ve STAT3 mRNA transkript seviyeleri değerlendirildiğinde, apoptozu tetiklediği tespit edildi. Bununla beraber RUT'un antioksidan özelliğine bağlı olarak kaspaz-3 ve STAT3 ekspresyonlarını baskıladığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, RUT'un DLM kaynaklı oluşan mide toksisitesinde antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etki göstererek ROS oluşumunu azalttığı ve mide dokusunda meydana gelen hasarı hafiflettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle sunulan çalışmada elde edilen veriler, DLM kaynaklı mide toksisitesinde RUT'un kullanılabilirliği ve alternatif tedavi yöntemleri arasında yer almasına yönelik yapılacak diğer çalışmalara destek olacak niteliktedir.

Kaynaklar

- Kumar A, Sasmal D, Sharma N. Deltamethrin induced an apoptogenic signalling pathway in murine thymocytes: Exploring the molecular mechanism. *J Appl Toxicol* 2014; 34: 1303-1310.
- Sharma P, Singh R, Jan M. Dose-dependent effect of deltamethrin in testis, liver, and kidney of wistar rats. *Toxicol Int* 2014; 21:131-139.
- Rose R, Dively GP. Effects of insecticide-treated and lepidopteran-active Bt transgenic sweet corn on the abundance and diversity of arthropods. *Environ Entomol* 2007; 36: 1254-1268.
- Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioglu E, et al. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. *J Trace Elem Med Biol* 2019; 56: 60-68.
- Abdou RH, Abdel-Daim MM. Alpha-lipoic acid improves acute deltamethrin-induced toxicity in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2014; 92: 773-779.
- Maalej A, Mahmoudi A, Bouallagui Z, et al. Olive phenolic compounds attenuate deltamethrin-induced liver and kidney toxicity through regulating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Food and Chemical Toxicology* 2017; 106: 455-465.
- Rjeibi I, Ben Saad A, Hfaiedh N. Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats: The protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract. *Biomed Pharmacother* 2016; 84: 853-860.
- Khalatbary AR, Ahmadvand H, Ghabaee DNZ, et al. Virgin olive oil ameliorates deltamethrin-induced nephrotoxicity in mice: A biochemical and immunohistochemical assessment. *Toxicol Rep* 2016; 3: 584-590.
- Hossain MM, Richardson JR. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: Role of calpain and the ER stress pathway. *Toxicol Sci* 2011; 122: 512-525.
- Aksu EH, Kandemir FM, Ozkaraca M, et al. Rutin ameliorates cisplatin-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in adult male rats. *Andrologia* 2017; 49: e12593.
- Kucukler S, Kandemir FM, Ozdemir S, et al. Protective effects of rutin against deltamethrin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats via regulation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Environ Sci Pollut Res* 2021; DOI: 10.1007/s11356-021-15190-w.
- İleritürk M, Doğan T, Kandemir Ö. Investigation of the effect of berberine with arginase activity and oxidant-antioxidant parameters on bortezomib-induced spleen injury in rats. *Kocatepe Veterinary Journal* 2021; 14: 6-15.
- Birman H. Bitkisel flavonoid bileşiklerinin biyoaktiviteleri ve muhtemel etki mekanizmaları. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* 2012; 75:46-49.
- İleritürk M, Benzer F, Aksu EH, et al. Chrysin protects against testicular toxicity caused by lead acetate in rats with its antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic properties. *J Food Biochem* 2021; 45: e13593.
- Aktas MS, Kandemir FM, Ozkaraca M, et al. Protective effects of rutin on acute lung injury induced by oleic acid in rats. *Kafkas Univ Vet Fak* 2017; 23:445-451.
- Kandemir FM, Hanedan B, Aktaş MS, et al. Ratlarda sisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerine rutin iyileştirici etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2020; 34: 147-151.
- Manzoni AG, Passos DF, da Silva JLG, et al. Rutin and curcumin reduce inflammation, triglyceride levels and

- ADA activity in serum and immune cells in a model of hyperlipidemia. *Blood Cells Mol Dis* 2019; 76: 13-21.
18. Yousef MI, Awad TI, Mohamed EH. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology* 2006; 227: 240-247.
 19. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
 20. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
 21. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T)^{-ΔΔC_T} method. *Methods* 2001; 25: 402-408.
 22. Temel Y, Kucukler S, Yildirim S, et al. Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *N-S Arch Pharmacol* 2020; 393: 325-337.
 23. Amin KA, Hashem KS. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *Bmc Veterinary Research* 2012; 8: 45.
 24. Celik H, Kucukler S, Comakli S, et al. Neuroprotective effect of chrysin on isoniazid-induced neurotoxicity via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Neurotoxicology* 2020; 81: 197-208.
 25. Yardim A, Kucukler S, Ozdemir S, et al. Silymarin alleviates docetaxel-induced central and peripheral neurotoxicity by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Gene* 2021; 769: 145239.
 26. Yardim A, Kandemir FM, Comakli S, et al. Protective effects of curcumin against paclitaxel-induced spinal cord and sciatic nerve injuries in rats. *Neurochem Res* 2021; 46: 379-395.
 27. Gür C, Kandemir FM, Genç A. Bortezomib ile kalp hasarı oluşturulan ratlarda berberinin oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi* 2020; 9: 118-126.
 28. Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S. Naringin'in erkek ratlarda methotreaxte indüklü testis apoptosisi ve otofajisi üzerine oksidatif stresi azaltılmak yoluyla koruyucu etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2018; 32: 179-183.
 29. Ozdemir S, Kucukler S, Comakli S, et al. The protective effect of morin against ifosfamide-induced acute liver injury in rats associated with the inhibition of DNA damage and apoptosis. *Drug Chem Toxicol* 2020; DOI: 10.1080/01480545.2020.1822390.
 30. Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, et al. Protective effect of rutin on mercuric chloride-induced reproductive damage in male rats. *Andrologia* 2020; 52: e13524.
 31. Benzer F, Kandemir FM, Kucukler S, et al. Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: By modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Arch Physiol Biochem* 2018; 124: 448-457.
 32. Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioglu E, et al. Hesperidin protects liver and kidney against sodium fluoride-induced toxicity through anti-apoptotic and anti-autophagic mechanisms. *Life Sciences* 2021; 281: 119730.
 33. Aggul AG, Kuzu M, Kandemir FM, et al. Alterations in enzyme activity of carbonic anhydrase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and thioredoxin reductase in rats exposed to doxorubicin and morin. *Clin Exp Health Sci* 2020; 10: 228-234.
 34. Genc M, Kandemir FM, Coban O. Effects of in-ovo rutin injection to fertile Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) egg on hatchability, embryonic death, hatchling weight, and hatchling liver oxidative and nitrosative stress. *Braz J Poultry Sci* 2019; 21: DOI:10.1590/1806-9061-2018-0786.
 35. Küçükler S, Özdemir S, Çomaklı S, et al. Effects of chrysin against isoniazid-induced lung injury in rats. *Kocatepe Veterinary Journal* 2020; 13:161-171.
 36. Yardim A, Kandemir FM, Ozdemir S, et al. Quercetin provides protection against the peripheral nerve damage caused by vincristine in rats by suppressing caspase 3, NF-kappaB, ATF-6 pathways and activating Nrf2, Akt pathways. *Neurotoxicology* 2020; 81: 137-146.
 37. Zhou L, Zhou M, Tan H, et al. Cypermethrin-induced cortical neurons apoptosis via the Nrf2/ARE signaling pathway. *Pestic Biochem Physiol* 2020; 165: 104547.
 38. Celik H, Kandemir FM, Caglayan C, et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. *Molecular Biology Reports* 2020; 47: 2023-2034.
 39. Yehia R, Saleh S, El Abhar H, et al. L-Carnosine protects against oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in colorectal cancer patients: A perspective on targeting Nrf-2 and NF-kappaB pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 2019; 365: 41-50.
 40. Kong Y, Li M, Guo G, et al. Effects of dietary curcumin inhibit deltamethrin-induced oxidative stress, inflammation and cell apoptosis in *Channa argus* via Nrf2 and NF-κB signaling pathways. *Aquaculture* 2021; 540:736744
 41. Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, et al. Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. *J Trace Elem Med Bio* 2019; 54: 69-78.
 42. El-Maraghy SA, Rizk SM, Shahin NN. Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. *Chem-Biol Interact* 2015; 229: 26-35.
 43. Yang Y, Yin B, Lv L, et al. Gastroprotective effect of aucubin against ethanol-induced gastric mucosal injury in mice. *Life Sciences* 2017; 189: 44-51.
 44. Saklani R, Gupta SK, Mohanty IR, et al. Cardioprotective effects of rutin via alteration in TNF-alpha, CRP, and BNP levels coupled with antioxidant effect in STZ-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 2016; 420: 65-72.
 45. Gur C, Kandemir FM, Darendelioglu E, et al. Morin protects against acrylamide-induced neurotoxicity in rats: An investigation into different signal pathways. *Environ Sci Pollut Res Int* 2021; 28: 49808-49819.
 46. Epling-Burnette PK, Liu JH, Catlett-Falcone R, et al. Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression. *Journal of Clinical Investigation* 2001; 107: 351-361.

47. Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, et al. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999; 10: 105-115.
48. Niu G, Bowman T, Huang M, et al. Roles of activated Src and Stat3 signaling in melanoma tumor cell growth. *Oncogene* 2002; 21: 7001-7010.
49. Bowman T, Broome MA, Sinibaldi D, et al. Stat3-mediated Myc expression is required for Src transformation and PDGF-induced mitogenesis. *P Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 7319-7324.
50. Hafez MM, Al-Harbi NO, Al-Hoshani AR, et al. Hepato-protective effect of rutin via IL-6/STAT3 pathway in CCl4-induced hepatotoxicity in rats. *Biol Res* 2015; 48: 30.