

ABAMEKTİN KAYNAKLI MİDE TOKSİSİTESİNDE HESPERİDİNİN OKSİDATİF STRES, İNFLAMASYON VE APOPTOZ ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

PROTECTIVE EFFECT OF HESPERIDIN ON OXIDATIVE STRESS, INFLAMMATION AND APOPTOSIS IN ABAMECTIN-INDUCED GASTRIC TOXICITY

Sibel Çiğdem TUNCER¹, Cihan GÜR², Hasan ŞİMŞEK³, Fatih Mehmet KANDEMİR¹

¹Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

²Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

³Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı

ÖZET

AMAÇ: Abamectin günümüzde tarım endüstrisinde çok fazla kullanılan bir pestisit türü olup uzun süreli maruziyet sonucunda toksik etkilere sahiptir. Uzun süreli abamectin maruziyeti sonucunda özellikle oksidatif stres ilişkili inflamasyon ve apoptoz artışına neden olmaktadır. Hesperidin, narenciyelerde doğal olarak bulunan antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilere sahip bir flavanoiddir. Bu çalışmada, abamectin kaynaklı mide doku hasarı üzerine doğal bir antioksidan olan hesperidin kullanımı ve muhtemel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 28 gün boyunca 1 mg/kg dozda abamectin uygulamasından 30 dakika önce grubuna göre 100 ve 200 mg/kg hesperidin uygulaması yapıldı. 29. günde 35 adet hayvan dekapite edilerek mide dokuları alındı ve biyokimyasal yöntemler ile oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik parametrelerin analizi yapıldı.

BULGULAR: Abamectin mide dokularında oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz parametrelerinin düzeylerini kontrol grubuna göre arttırdı ($p<0,001$). Hesperidin uygulamasıyla birlikte abamectine bağlı tüm bu artış miktarlarında azalmalar meydana gelmiştir ($p<0,001$).

SONUÇ: Abamectin maruziyetinin neden olduğu mide dokularındaki toksik etkiye karşı hesperidin potansiyel koruyucu özelliklere sahip olduğu sonucuna varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: Abamectin, Hesperidin, Oksidatif stres, inflamasyon, Apoptoz.

ABSTRACT

OBJECTIVE: Abamectin is a pesticide type that is widely used in the agricultural industry today and has toxic effects because of long-term exposure. As a result of long-term exposure to abamectin, it causes an increase in oxidative stress-related inflammation and apoptosis. Hesperidin is a flavonoid found naturally in citrus fruits with antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects. In this study, it was aimed to investigate the use and possible effects of hesperidin, a natural antioxidant, on abamectin-induced gastric tissue damage.

MATERIAL AND METHODS: 100 or 200 mg/kg (according to the group) hesperidin was administered 30 min before the 1 mg/kg dose of abamectin for 28 days. On the 29th day, 35 animals were decapitated and their stomach tissues were removed and oxidative stress, inflammation, and apoptotic parameters were analyzed by biochemical methods.

RESULTS: Abamectin increased the levels of oxidative stress, inflammation, and apoptosis parameters in gastric tissues compared to the control group ($p<0,001$). With the administration of hesperidin, all these abamectin-induced increases decreased ($p<0,001$).

CONCLUSIONS: It was concluded that hesperidin has potential protective properties against the toxic effect on gastric tissues caused by abamectin exposure.

KEYWORDS: Abamectin, Hesperidine, Oxidative stress, Inflammation, Apoptosis.

Geliş Tarihi / Received: 13.01.2023

Kabul Tarihi / Accepted: 13.03.2023

Yazışma Adresi / Correspondence: Dr. Öğr. Üyesi Sibel Çiğdem TUNCER

Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

E-mail: cigdemtuncer@aksaray.edu.tr

Orcid No (sırasıyla): 0000-0002-6250-5093, 0000-0001-6775-7858, 0000-0001-5573-4923, 0000-0002-8490-2479

Etik Kurul / Ethical Committee: Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (11.11.2022/266).

GİRİŞ

Tarım endüstrisinde farklı amaçlar doğrultusunda kullanılan kimyasalların kontrolsüz kullanımı, tüm dünyada yaygın olarak artmakta ve insanlarla birlikte ekolojik çevre için tehdit haline gelmektedir (1). Güçlü böcek öldürücü ve antihelmintik aktivitesi nedeniyle tüm dünyada yaygın olarak kullanılan pestisitlerden avermektin ailesinin bir üyesi olan Abamektin (ABM), makrosiklik lakton bir disakkarit olup, toprakta bulunan *Streptomyces avermitilis* bakterisi tarafından doğal olarak fermente edilerek elde edilmektedir (2). ABM, tarımda özellikle pamuk, narenciye, mısır, patates, fasulye gibi ürünlerin verimliliğinin artmasında ve hayvancılıkta besi hayvanlarının mide-bağırsak nematodları ve akciğer kurtlarıyla mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır (3, 4). ABM'nin lipofilik özelliği yüksek olup, toprağa hızlıca nüfuz ederek hızlı fotolize olur. Bu nedenle ABM, uygulandığı tarım topraklarındaki uzun süreler kalabilmektedir (5). ABM, insan vücudunda toksik etkileri nedeniyle Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından "T+, R48/25 Toksik" sınıfında kategorilendirilmiştir (6). ABM etkisini gama-aminobütirik asit (GABA) reseptörleri üzerinde göstermektedir (7). ABM maruziyetinin süresine bağlı olarak insan vücudunda farklı komplikasyon meydana gelmektedir. Hafif maruziyet sonrası bulantı, kusma, ishal ve halsizlik; orta derecede maruziyet sonrası dilate pupiller, mide bulantısı, konfüzyon, koma; uzun süreli maruziyet sonrası ise koma, solunum yetmezliği, asidoz ve nadiren ölüm görülebilmektedir (8). Toksik maddelere maruziyet sonucunda oksidanların artmasıyla bozulacak dengiyi korumak için antioksidanların kullanılması gerekebilmektedir (9). Antioksidanlar doğal bitkilerde yaygın olarak bulunmakla birlikte çeşitli ilaçlara karşı doku ve organ toksisitelerini azaltmadaki etkinlikleri açısından ön plana çıkmaktadır. Endojen ve eksojen antioksidanlar, "serbest radikal temizleyiciler" olarak adlandırılıp reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlı hasarı önleyebilir ve onarabilmektedir (10).

Araştırmalarda son zamanlarda doğal bitkiler ilgi çekmektedir. Doğal bitkiler, alkaloidler, glikozitler, flavonoidler, fenolik bileşikler ve kannabinoidler gibi farmakolojik etkilere sahiptirler.

Anti-inflamatuvar, antialerjik, antiviral, antibakteriyel, antitümör ve antioksidan özelliklerinden dolayı flavonoidler ön plana çıkmaktadır (11, 12). Flavonoidler, değişken fenolik yapılarla sahip doğal maddelerdir. Neredeyse tüm flavonoid gruplarının en çok araştırılan özelliği, antioksidan olarak hareket etme yetenekleridir (13). Antioksidan özellikleri, başta lipit peroksidasyonunu inhibe ederek gerçekleşmektedir (14).

Hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$ - HES), ilk olarak Fransız kimyager Lebreton tarafından tanımlanan ve turunçgil kabuğundan izole edilen bir flavonoid glikozittir (15). HES, insanlarda ve sıçanlarda hesperetin olarak bilinen aktif aglikonlara metabolize edilmektedir (16). HES, anti-inflamatuvar, anti-oksitatif, anti-obezite ve anti-kanser aktivitelerine sahip olmakla birlikte kolesterol seviyelerini ve kan basıncını düşürebilmektedir (15). Daha önce yapılan çalışmalar, HES'in sıçanlarda Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve Kaspaz-3 dahil olmak üzere inflamatuvar ve apoptotik mediyatörlerin inhibisyonu yoluyla sıçanda bazı dokularda hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur (17).

Mevcut çalışmada, sıçanlarda ABM kaynaklı mide toksisitesinde HES'in oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz yolaklarının kilit parametreleri üzerine etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel Prosedür

Sıçanlar rastgele, her grupta 7 hayvan olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır ve gruplar literatüre göre belirlenmiştir (2).

1) Kontrol Grubu: 28 gün boyunca serum fizyolojik çözeltisi oral olarak verildi.

2) Hesperidin Grubu (HES): 28 gün boyunca iki günde bir 200 mg/ kg dozda HES oral olarak gavajla verildi.

3) Abamektin Grubu (ABM): 28 gün boyunca iki günde bir ABM 1 mg/kg dozunda oral olarak gavajla verildi.

4) Abamektin + Hesperidin 100 mg/kg (ABM+HES100) Grubu: 28 gün boyunca iki günde bir ABM 1 mg/

kg dozunda oral olarak gavajla verildi. ABM uygulamasından 30 dk. önce HES 100 mg/kg dozunda oral olarak gavajla verildi.

5) Abamektin + Hesperidin 200 mg/kg (ABM+HES200 mg) Grubu: 28 gün boyunca iki günde bir ABM 1 mg/kg dozunda oral olarak gavajla verildi. ABM uygulamasından 30 dk. önce HES 200 mg/kg dozunda oral olarak gavajla verildi.

Doku Alımı

Son ABM uygulamasından 24 saat sonra (29. gün) sıçanlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek mide dokuları alındı. Alınan dokular biyokimyasal analizler yapılmaya kadar -20°C'de saklandı.

Lipit Peroksidasyon Analizi

Sıçanların mide dokularından malondialdehit (MDA) analizi yapılarak lipit peroksidasyon düzeyi belirlendi. Analiz için mide dokuları %1,15 potasyum klorür (KCl) solüsyonu içerisinde homojenize edildikten sonra homojenizatlar 15 dk. boyunca 3,500 RPM'de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı analizlerde kullanılmak üzere alındı. MDA düzeyleri, Placer et al. tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak belirlendi (18).

Antioksidan Analizi

Sıçanların mide dokularında antioksidan durumunun analizi için katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri ve glutatyon (GSH) seviyeleri ölçüldü. SOD ve KAT düzeylerinin ölçümü için süpernatantlar, lipit peroksidasyondaki gibi elde edildi. GPx aktivitesinin ve GSH seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan süpernatantlar ise 10,000 RPM'de 20dk. santrifüj sonucu elde edildi. SOD aktivitesi Sun et al. yöntemine göre (19); KAT aktivitesi, Aebi yöntemine göre (20); GPx aktivitesi, Lawrence ve Burk tarafından geliştirilen yöntemine göre (21); GSH seviyeleri ise Sedlak ve Lindsay'ın belirlediği yöntemine göre ölçüldü (22). Enzim aktivitelerini hesaplamak için mide dokularının toplam protein içeriği gerekiyordu. Bunu belirlemek için Lowry et al. yöntemi kullanıldı (23).

Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Sıçanların mide dokularından total RNA izolasyonu hibrizol reagent (HibriGen) ile yapıldı. RNA izolasyonu aşamasında tüm işlemler üre-

ticinin talimatlarına bire bir uyularak yapıldı. İşlemlerin sonunda elde edilen RNA'lar RNaz içermeyen su ile çözdürüldü ve NanoDrop (Bio-Tek Instruments Epoch, USA) cihazında konsantrasyonları ölçülerek 1000 ng//µl'ye eşitlendi. Daha sonra bu RNA'lar cDNA sentez kiti (Bio-Rad, USA) ile çift zincirli cDNA'ya dönüştürüldü. Bu işlemler de üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi.

RT-PCR Analizi

cDNA'lar, **Tablo 1**'de dizilimleri verilen genlerin görelî mRNA transkript seviyelerinin belirlenmesinde kullanıldı. Bunun için cDNA'lar ilgili genlerin primerleri ve iTaq Universal SYBR® Green Supermix ile reaksiyona sokuldu. Reaksiyon üreticinin talimatları ile ROTOR-GENE Q (Qiagen, Almanya) cihazında gerçekleştirildi. Sürecin sonunda cihazdan alınan CT değerleri ile $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu (24) kullanılarak genlerin kat değişimleri hesaplandı. β -aktin housekeeping gen olarak kullanıldı.

Tablo 1: Primerlerin dizilimleri

Gen	Dizilim (5'-3')	Uzunluk (bp)	ID no
NF- κ B	F: AGTCCGCGCCCTTCTAAAC R: CAATGGCCTCTGTAGGCC	106	NM_001276711.1
IL-1 β	F: ATGGCAACTGTCCCTGAACCT R: AGTGACACTGCCTTCTGAA	197	NM_031512.2
TNF- α	F: CTCGAGTGACAAGCCGCTAG R: ATCTGCTGGTAGCACCAGTT	139	NM_012675.3
iNOS	F: AGATCAATGCAGCTGTGCTC R: GGCCTGATCTGGTAGTAGTAGA	235	NM_012611.3
COX-2	F: AGCTTCTCTGAGGAGAGAG R: CTCGACCGGATGACCTGATAT	240	NM_017232.3
Kaspaz-3	F: ACTGGAATGTCAGCTGCGAA R: GCAGTAGTCCGCTCTGAAGA	270	NM_012922.2
β -Actin	F: GAGCCTTCTCTTGGGTATG R: AGCTCAGTAACAGTCGGCCT	360	NM_031144.3

Etik Kurul

Deneylerde 35 adet erkek Sprague dawley sıçan (220-250gr, 12-14 haftalık) kullanıldı. Deney hayvanları, Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden (Erzurum, Türkiye) temin edildi. Sıçanlar, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı (23±2°C) standart şartlar altındaki barındırıldı. Beslenmeleri için standart sıçan yemi ve içme suyu, ad libitum uygulandı. Etik onay Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alındı (11.11.2022, 2022-22/266).

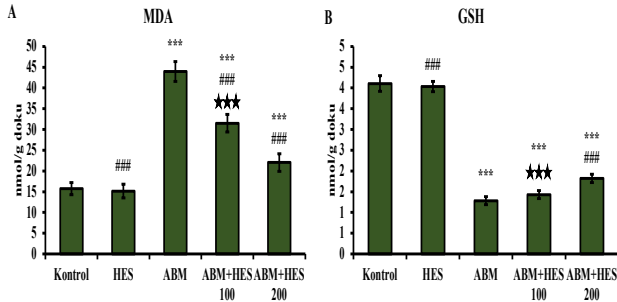
İstatistiksel Analiz

GraphPad Prism 5.0 yazılımından yararlanılarak edilen bulgular, ortalama ± standart sapma olarak verildi. Veriler, çoklu karşılaştırmalar için Tukey'nin post hoc testleri ile tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edildi. p < 0,05, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

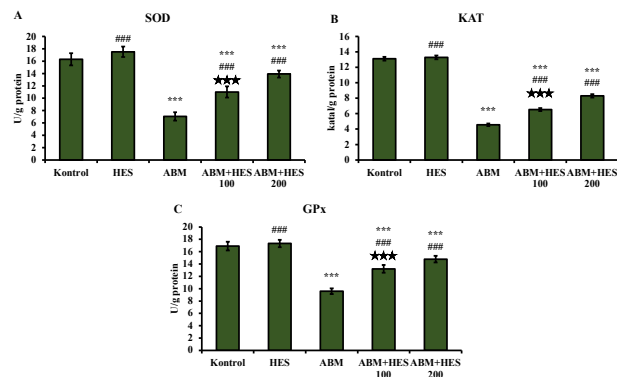
BULGULAR

Oksidan/Antioksidan Bulguları

Mide dokularında oksidan düzeyi için MDA (Şekil 1A) ve antioksidan düzeyi için ise GSH (Şekil 1B) düzeyleri ile SOD (Şekil 2A), KAT (Şekil 2B), GPx (Şekil 2C) aktiviteleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgulara göre, kontrol grubuyla kıyaslandığında ABM grubunda MDA düzeyinde artış, GSH düzeyinde ise azalma meydana gelmiştir ($p < 0,001$). ABM grubuna göre ABM+HES200 gruplarında MDA düzeyinde azalma, GSH düzeyinde ise artış meydana gelmiştir ($p < 0,001$) Enzim aktivitelerine bakıldığında, kontrol grubuna göre ABM grubunda SOD, KAT ve GPx aktivitelerinde azalma ($p < 0,001$), ABM grubuna göre ABM+HES100 ve ABM+HES200 gruplarında artış meydana gelmiştir ($p < 0,001$) (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 1: ABM ve HES uygulamalarının mide dokularında A: MDA ve B: GSH düzeyleri üzerine etkileri. MDA: malondialdehit, GSH: glutatyon. İstatistiksel farklılık (kontrol grubuna kıyasla: *** $p < 0,001$; ABM grubuna kıyasla: ### $p < 0,001$; ABM+HES100 ile ABM+HES200: ** $p < 0,001$) One-Way Anova testi ile belirlendi.

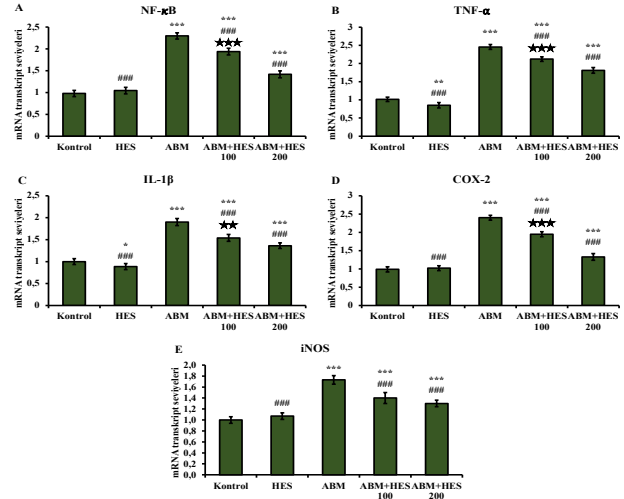


Şekil 2: ABM ve HES uygulamalarının mide dokularında A: SOD, B: KAT ve C: GPx aktiviteleri üzerine etkileri. SOD: süperoksit dismutaz, KAT: katalaz, GPx: glutatyon peroksidaz. İstatistiksel farklılık (kontrol grubuna kıyasla: *** $p < 0,001$; ABM grubuna kıyasla: ### $p < 0,001$; ABM+HES100 ile ABM+HES200: ** $p < 0,001$) One-Way Anova testi ile belirlendi.

İnflamasyon Bulguları

Mide dokularında inflamasyon ile ilişkili NF- κ B (Şekil 3A), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) (Şekil 3B), interlökin-1 β (IL-1 β) (Şekil 3C),

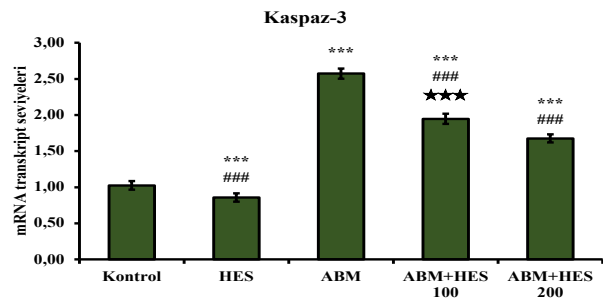
Siklooksijenaz-2 (COX-2) (Şekil 3D) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) (Şekil 3E) transkript düzeyleri RT-PCR metoduyla incelenmiştir. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubu ile kıyasla ABM grubunda tüm parametrelerde anlamlı artış olmuştur ($p < 0,001$). ABM grubuna göre ABM+HES100 ve ABM+HES200 gruplarında bu parametrelerin anlamlı azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,001$) (Şekil 3).



Şekil 3: ABM ve HES uygulamalarının mide dokularında A: NF- κ B, B: TNF- α , C: IL-1 β , D: COX-2, E: iNOS mRNA transkripsiyon seviyeleri üzerine etkileri. NF- κ B: nükleer faktör kappa B, TNF- α : tümör nekroz faktör-alfa, IL-1 β : interlökin-1 β , COX-2: siklooksijenaz-2, iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentaz. İstatistiksel farklılık (kontrol grubuna kıyasla: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; ABM grubuna kıyasla: ### $p < 0,001$, ABM+HES100 ile ABM+HES200: $p < 0,001$, *** $p < 0,001$) One-Way Anova testi ile belirlendi.

Apoptoz Bulguları

Mide dokularında apoptoz düzeyini belirlemek amacıyla, Kaspaz-3 (Şekil 4) mRNA transkript düzeyleri RT-PCR metoduyla ölçülmüştür. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubuyla kıyaslandığında ABM grubunda apoptotik faktörler olan Kaspaz-3 düzeylerinde artış ($p < 0,001$) tespit edilmiştir. ABM grubuna göre ABM+HES100 ve ABM+HES200 gruplarında Kaspaz-3 düzeylerinde azalma ($p < 0,001$) tespit edilmiştir.



Şekil 4: ABM ve HES uygulamalarının mide dokularında apoptotik Kaspaz-3 mRNA transkripsiyon düzeyi üzerine etkileri. İstatistiksel farklılık (kontrol grubuna kıyasla: *** $p < 0,001$; ABM grubuna kıyasla: ### $p < 0,001$; ABM+HES100 ile ABM+HES200: ** $p < 0,001$) One-Way Anova testi ile belirlendi.

TARTIŞMA

Gelişen tarım endüstrisinde, tarımsal ürünleri hastalıklardan ve haşerelerden korumak için pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır (25) Yaygın kullanılan bir pestisit türü olan ABM'nin günümüzde giderek artan kullanımına bağlı olarak, hedef dışı organizmalarda da toksik etkisi olması nedeniyle endişeler artırmıştır (26). Bitkilerde doğal olarak bulunan flavanoidler, vücuttaki sağlık sorunlarına karşı etkili oldukları için umut verici ajanlardır (27). HES, narenciyelerde bulunan flavonoid bir bileşik olup antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik gibi özelliklere sahiptir (28). Bu çalışmada, ABM kaynaklı sıçan mide toksisitesinde HES'in oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik aktiviteler üzerindeki etkileri biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırıldı.

Hücre zarındaki en önemli bileşenlerden birinin lipitler olması nedeniyle ROS düzeylerindeki artış lipid peroksidasyonunu tetiklemektedir. Çoklu yağ asitlerinin metabolizmasında son ürün olan MDA (29), oksidatif stres düzeyinin göstergesi olup, KAT, SOD ve GPx gibi enzimler, oksidatif stresi azaltarak antioksidan özellik göstermektedir (30). Koruyucu mekanizmalardan bir diğeri ise GSH olup, oluşan ROS ürünlerini bağlayarak dokuyu oksidatif hasara karşı korumaktadır (2). ABM maruziyeti, ROS arttırarak oksidatif strese neden olmaktadır (26). Çalışmamızda, oksidatif stres bulguları beraber değerlendirildiğinde, ABM maruziyetine bağlı olarak mide dokularında MDA düzeylerinde artış ve antioksidan enzim aktiviteleri ile GSH düzeyinde azalma meydana gelmiş ve sonuç olarak oksidatif stres düzeyi artmıştır. Diğer taraftan HES uygulamasıyla birlikte özellikle artış gösteren MDA düzeylerinde azalma görülürken, azalan antioksidan enzim ve GSH düzeylerinde artışlar meydana gelerek antioksidan aktivitede artış tespit edilmiştir. Özellikle HES'in 200mg/kg dozunda bu aktivitesi daha belirgin görülmüştür. Dolayısıyla mide dokusunda ABM maruziyetinin oksidatif stresi arttırarak dokuda hasara neden olduğu, HES tedavisinin ise bu etkiyi azaltarak mide dokularında oksidatif strese karşı iyileştirici etki göstermiştir.

Apoptoz, oksidatif stres durumunun dokuda uzamasıyla başlamaktadır (31). ROS büyük oranda mitokondride üretilir ve programlan-

mış hücre ölümü olarak bilinen apoptoz gelişiminde önemli etkiye sahiptir (32). Apoptoz, vücuttaki hasar görmüş veya tehlikeli hücreleri ortadan kaldıran koruyucu mekanizma iken diğer taraftan sağlıklı hücrelerde, hücresel stres veya hasar oluşturmaktadır (33). Kaspaz-3 apoptozda kilit konumdaki bir faktör olup (34) aktive olduktan sonra çoğu hücresel hedefin proteolitik bozulmasına ve sonunda hücre ölümüne neden olmaktadır (35). Çalışmamızda mide dokularında ABM maruziyetine bağlı olarak apoptotik faktörlerden Kaspaz-3 mRNA transkript düzeyleri artmıştır. ABM ile birlikte HES uygulandığında bu durum tersi etki göstermiştir ve Kaspaz-3 mRNA transkripsiyon düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Dolayısıyla ABM maruziyetinin apoptozu tetiklediği ve HES uygulamasının apoptozu karşı mide dokusunda koruyucu etkili olduğu söylenebilir.

Oksidatif stresin uzamasına bağlı oluşan olaylardan diğeri de inflamasyondur ve NF- κ B'nin ekspresyonu tetiklenir (36). NF- κ B'nin aktive olmasıyla TNF- α , IL-1 β , ve COX-2 gibi proinflamatuar sitokin genlerinde aktivasyon başlayarak inflamatuvar yanıt meydana gelir (37). İnflamasyonun oluşmasında proinflamatuar sitokinlerin rol oynadığı ve TNF- α ve IL-1 β 'nin bunda aktif rol aldığı bilinmektedir (38). COX-2, inflamatuvar bir etken olup NF- κ B geni tarafından eksprese edilerek normal dokularda ROS üretimi ile ilişkilidir (39). İnflamasyon, stres gibi akut durumlarda salınan iNOS'un ekspresyonunda TNF- α yönlendirici etkiye sahiptir (40). Mevcut çalışmada, ABM maruziyetinin NF- κ B ve uyardığı TNF- α , IL-1 β , COX-2 ve iNOS transkript düzeylerinde artışa neden olarak mide dokularında inflamasyon meydana gelmiştir. ABM ile birlikte HES uygulandığında, ABM maruziyetine bağlı gelişen inflamasyon hasarına karşı HES'in tersi yönde etki göstererek bu parametreleri azalttığı tespit edilmiştir. ABM maruziyetine bağlı inflamasyonun neden olduğu mide doku hasarında HES etkili bir iyileştirici ajan olarak ön plana çıkabilir.

Tüm bulgularımız birlikte değerlendirildiğinde, ABM maruziyetinin, mide dokularında oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz düzeylerini arttırarak hasara neden olduğu, HES'in ise tüm bu yolaklar üzerinde meydana gelen hasarı azaltarak iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir. HES'in özellikle 200mg/kg dozunda

uygulanmasının, tüm bu yolaklar birlikte değerlendirildiğinde mide dokularında ABM maruziyetine bağlı meydana gelebilecek hasarı engellemede daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Mahmoud HK, Reda FM, Alagawany M, et al. The Stress of Abamectin Toxicity Reduced Water Quality, Growth Performance, Immunity and Antioxidant Capacity of Oreochromis Niloticus Fish: Modulatory Role of Simmondsia Chinensis Extract as a Dietary Supplement. *Aquaculture*. 2021;534:736247.
2. Gur C, Kandemir O, Kandemir FM. Investigation of the Effects of Hesperidin Administration on Abamectin-Induced Testicular Toxicity in Rats Through Oxidative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress, Inflammation, Apoptosis, Autophagy, and JAK2/STAT3 Pathways. *Environ Toxicol*. 2022;37(3):401-12.
3. de Faria DBG, Montalvão MF, de Souza JM, et al. Analysis of Various Effects of Abamectin on Erythrocyte Morphology in Japanese Quails (*Coturnix japonica*). *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(3):2450-6.
4. El-Shenawy NS. Effects of Insecticides Fenitrothion, Endosulfan and Abamectin on Antioxidant Parameters of Isolated Rat Hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(4):1148-57.
5. Raftery TD, Volz DC. Abamectin Induces Rapid and Reversible Hypoactivity Within Early Zebrafish Embryos. *Neurotoxicol Teratol*. 2015;49:10-8.
6. Kalefetoğlu Macar T. Investigation of cytotoxicity and genotoxicity of abamectin pesticide in *Allium cepa* L. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(2):2391-9.
7. de Figueiredo LP, Daam MA, Mainardi G, et al. The Use of Gene Expression to Unravel the Single and Mixture Toxicity of Abamectin and Difenconazole on Survival and Reproduction of the Springtail *Folsomia candida*. *Environmental Pollution*. 2019;244:342-50.
8. Pirasath S, Nageswaran B, Vasana Karunasena RP, et al. Acute Abamectin Toxicity: a Case Report. *Toxicol Commun*. 2021;5(1):66-8.
9. Kuzu M, Kandemir FM, Yıldırım S, et al. Attenuation of Sodium Arsenite-Induced Cardiotoxicity and Neurotoxicity with the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antiapoptotic Effects of Hesperidin. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(9):10818-31.
10. Kucukler S, Darendelioğlu E, Caglayan C, et al. Zingerone Attenuates Vancomycin-Induced Hepatotoxicity in Rats Through Regulation of Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis. *Life sciences*. 2020;259:118382.
11. Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, et al. Protective Effect of Rutin on Mercuric Chloride-Induced Reproductive Damage in Male Rats. *Andrologia*. 2020;52(3):e13524.
12. Semis HS, Kandemir FM, Caglayan C, et al. Protective Effect of Naringin Against Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy in Rats: a Behavioral and Molecular Study. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020;36(9):e23121.
13. Varışlı B, Darendelioğlu E, Caglayan C, et al. Hesperidin Attenuates Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and Cardiac Dysfunction in Sodium Fluoride-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Cardiovasc Toxicol*. 2022;1-9.
14. Gür C, Kandemir FM. Evaluation of The Levels of Metalloproteinases As Well As Markers of Oxidative Stress and Apoptosis in Lung Tissues After Malathion and Rutin Administrations to Rats. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. 2020;11(3):51-7.
15. Xiong H, Wang J, Ran Q, et al. Hesperidin: a Therapeutic Agent for Obesity. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:3855-66.
16. Abd-Elhakim YM, Ghoneim MH, Ebraheim L, et al. Taurine and Hesperidin Rescues Carbon Tetrachloride-Triggered Testicular and Kidney Damage in Rats via Modulating Oxidative Stress and Inflammation. *Life Sciences*. 2020;254:117782.
17. Li X, Hu X, Wang J, et al. Short-Term Hesperidin Pretreatment Attenuates Rat Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Inhibiting High Mobility Group Box 1 Protein Expression via the PI3K/Akt Pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(5):1850-62.
18. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in Biochemical Systems. *Anal Biochem*. 1966;16(2):359-64.
19. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem*. 1988;34(3):497-500.
20. Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
21. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-Deficient Rat Liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 1976;71(4):952-8.
22. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. *Anal Biochem*. 1968;25(1):192-205.
23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75.
24. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
25. da Rocha AG, Pitombo LM, Bresolin JD, et al. Single and Combined Toxicity of the Pesticides Abamectin and Difenconazole on Soil Microbial Activity And *Enchytraeus Crypticus* Population. *SN Applied Sciences*. 2020;2(8):1-10.

- 26.** Liang Y, Dong B, Pang N, et al. ROS Generation and DNA Damage Contribute to Abamectin-Induced Cytotoxicity in Mouse Macrophage Cells. *Chemosphere*. 2019;234:328-37.
- 27.** Temel Y, Çağlayan C, Ahmed BM, et al. The Effects of Chrysin and Naringin on Cyclophosphamide-Induced Erythrocyte Damage in Rats: Biochemical Evaluation of Some Enzyme Activities in Vivo And in Vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2021;394(4):645-54.
- 28.** Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S. Ameliorative Effect of Hesperidin on Streptozotocin-Diabetes Mellitus-Induced Testicular DNA Damage and Sperm Quality Degradation in Sprague–Dawley Rats. *J Food Biochem*. 2021;45(10): e13938.
- 29.** Aksu EH, Kandemir FM, Özkaraca M, et al. Rutin Ameliorates Cisplatin-Induced Reproductive Damage via Suppression of Oxidative Stress and Apoptosis in Adult Male Rats. *Andrologia*. 2017;49(1):1-8.
- 30.** Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, et al. Morin Attenuates Ifosfamide-Induced Neurotoxicity in Rats via Suppression of Oxidative Stress, Neuroinflammation and Neuronal Apoptosis. *Neurotoxicology*. 2020;76:126-37.
- 31.** Ekinci-Akdemir FN, Bingöl Ç, Yıldırım S, ve et al. The Investigation of the Effect of Fraxin on Hepatotoxicity Induced by Cisplatin in Rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2020;23(11):1382.
- 32.** Çağlayan C, Kandemir FM, Darendelioğlu 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;56:60-8.
- 33.** Akcılar R, Akcılar A, Koçak C, et al. Effects of Ukrain on Intestinal Apoptosis Caused by Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(12):22158–66.
- 34.** Şimşek H, Demiryürek Ş, Demir T, et al. Assessment of Expressions of Bcl-XI, B-FGF, Bmp-2, Caspase-3, PDGFR-A, Smad1 and TGF-B1 Genes in a Rat Model of Lung Ischemia/Reperfusion. *Iran J Basic Med Sci*. 2016;19(2):209-14.
- 35.** Kuzu M, Kandemir FM, Yildirim S, et al. Morin Attenuates Doxorubicin-Induced Heart and Brain Damage by Reducing Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;106:443-53.
- 36.** Kandemir FM, Ileriturk M, Gur C. Rutin Protects Rat Liver and Kidney From Sodium Valproate-Induce Damage by Attenuating Oxidative Stress, ER Stress, Inflammation, Apoptosis and Autophagy. *Mol Biol Rep*. 2022;(7):1-12.
- 37.** Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, et al. Protective Effects of Morin Against Acrylamide-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity: a Multi-Biomarker Approach. *Food Chem Toxicol*. 2020;(4): 138:111190.
- 38.** Öz M, Şimşek H. The Antinociceptive Effect Of Adalimumab, a TNF-Alpha Inhibitor, in a Mice Model of Inflammatory Pain. *Türk Doğa ve Fen Dergisi* 2020;11(3):89-93.
- 39.** Elshawi OE, Nabeel AI. Modulatory Effect of a New Benzopyran Derivative via COX-2 Blocking and Down Regulation of NF-Kb Against T-Radiation Induced-Intestinal Inflammation. *J Photochem Photobiol B*. 2019;192:90-6.
- 40.** Akcılar R, Akcılar A, Şimşek H, et al. Hyperbaric Oxygen Treatment Ameliorates Lung Injury in Paraquat Intoxicated Rats. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(10):13034–42.