

## Sıçanlarda Sodyum Arsenit ile Oluşturulan Kalp Toksisitesi Üzerine Karvakrol'un Kardiyoprotektif Etkileri

Cardioprotective Effects of Carvacrol on Sodium Arsenite-Induced Cardiac Toxicity in Rats

Sibel Çiğdem TUNCER<sup>1</sup>, Özge KANDEMİR<sup>2</sup>, Cihan GÜR<sup>3</sup>

### ÖZ

**Giriş:** Sodyum arsenit, toksik bir bileşik olup milyonlarca insanın sağlığını etkilemektedir. Uzun süreli arsenit maruziyeti sonucunda kalp, böbrek ve karaciğer başta olmak üzere vücutta birçok doku etkilenmektedir. Karvakrol (KRV), kekik, karabiber gibi bitkilerde bulunan anti-inflamatuvar ve antioksidan etkilere sahip doğal bir flavanoiddir. Bu çalışmada sodyum arsenit kaynaklı kalp hasarı üzerine doğal bir antioksidan olan KRV'nin kullanımı ve muhtemel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal-Metot:** 14 gün boyunca 10 mg/kg dozda sodyum arsenit uygulaması yapıldıktan 30 dakika sonra 25 veya 50 mg/kg KRV uygulaması yapıldı. 15. günde 35 adet hayvan dekapite edilerek kalp dokuları alındı ve biyokimyasal analizler yapıldı.

**Bulgular:** Sodyum arsenit kalp dokusunda inflamasyon, oksidatif stres, otofaji, apoptoz ve ER stres markörlerinin düzeylerini kontrol grubuna göre arttırdı ( $P<0,05$ ). KRV uygulamasıyla birlikte tüm bu artış miktarlarında azalmalar meydana gelmiştir ( $P<0,05$ ).

**Tartışma:** Sodyum arsenit kaynaklı kardiyotoksisitede KRV'nin potansiyel koruyucu özelliklere sahip olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamasyon, Karvakrol, Sodyum Arsenit, Toksikite, Oksidatif Stres

### ABSTRACT

**Introduction:** Sodium arsenite is a toxic compound affecting millions of people's health. As a result of long-term arsenite exposure, many tissues in the body are affected, especially the heart, kidney, and liver. Carvacrol (KRV) is a natural flavonoid with anti-inflammatory and antioxidant effects found in plants such as thyme and black pepper. This study aimed to investigate the use and possible consequences of KRV, a natural antioxidant, on sodium arsenite-induced heart damage.

**Material-Methods:** 25 or 50 mg/kg KRV was administered 30 minutes after sodium arsenite was administered at a dose of 10 mg/kg for 14 days. On the 15th day, 35 animals were decapitated and their heart tissues were taken and biochemical analyzes were performed.

**Results:** Sodium arsenite increased the levels of inflammation, oxidative stress, autophagy, apoptosis, and ER stress markers in heart tissue compared to the control group ( $P<0.05$ ). With the application of KRV, decreases occurred in all these increases ( $P<0.05$ ).

**Discussion:** It was concluded that KRV has potential protective properties in sodium arsenite-induced cardiotoxicity.

**Keywords:** Carvacrol, Inflammation, Sodium Arsenite, Toxicity, Oxidative Stress

<sup>1</sup> Dr.Öğr.Üyesi, Sibel Çiğdem TUNCER, Tıbbi Biyokimya, Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya, cigdemtuncer@aksaray.edu.tr, ORCID: 0000-0002-6250-5093

<sup>2</sup> Öğr.Gör., Özge KANDEMİR, Gıda İşleme, Aksaray Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme, kandemirozge23@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8884-4168

<sup>3</sup> Doç. Dr., Cihan GÜR, Veterinerlik Biyokimyası, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Biyokimyası, cihan.gur@atauni.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6775-7858

## GİRİŞ

Toksik bileşenler, hem doğal hem de insan kaynaklı olarak çevre kirlenmesine neden olmaktadır. Ağır metaller, çevresel kirleticilerden olup toksik etkileri nedeniyle genel bir halk sorunu haline gelmiştir.<sup>1</sup> Arsenik bileşenleri, insanlar için kanserojen olarak kabul edilen ağır metal toksik maddelerdir. Bu bileşiklerden insan ve hayvan sağlığı için en tehlikeli olanı sodyum arsenittir (SA).<sup>2</sup>

Arsenik bileşikleri, özel cam türleri, ahşap koruyucular, herbisitler, böcek öldürücüler ve ayrıca kan kanseri tedavisi için ilaçlar yapmak için kullanılır. Arsenik maruziyetinin ana kaynağı, sağlığı tehlikeye atan arsenikle kontamine gıdaların ve suların kullanılmasıdır.<sup>3</sup> Dünya çapında yaklaşık 200 milyon insanın, kontamine olmuş yiyecek ve su veya mesleki nedenlerle arsenik zehirlenmesinden etkilendiği tahmin edilmektedir.<sup>4</sup>

Epidemiyolojik çalışmalara göre uzun süreli arsenik maruziyeti, kanserler, karaciğer ve böbrek hastalıkları, nörolojik bozukluklar, diyabetes mellitus, anemi, hipertansiyon, kardiyovasküler bozukluklar, erkek ve kadın üreme anormallikleri gibi çok çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir.<sup>5</sup> Arsenik maruziyeti sonucunda antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı miyokardiyal hasar, kardiyak aritmiler ve kardiyomiyopati meydana gelmektedir.<sup>6</sup>

Arsenik, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin aşırı üretimi, hücrelerin antioksidan kapasitesinin zayıflatılması ve DNA onarım mekanizmalarının baskılanması yoluyla oksidatif strese neden olur. Bununla birlikte, hücrede hem enzimatik hem de enzimatik olmayan moleküllerin konsantrasyonlarını düşürür.<sup>7</sup>

Arsenit gibi toksik maddelerin neden olduğu oksidan lehine bozulmuş, bu nedenle oksidan/antioksidan homeostazını korumak için antioksidanların kullanılmasının gerekli olabileceği bildirilmiştir.<sup>8</sup>

Karvakrol (KRV), kekik, karabiber ve yabani bergamot esansiyel yağlarında doğal olarak bulunan baskın bir monoterpen fenolik bileşendir.<sup>9</sup> KRV, sadece antioksidan aktiviteyi arttırmakla kalmayıp inflamasyonda da etkili genleri düzenleyerek inflamasyona karşı etki göstererek anti-inflamatuvar, anti-oksidan, anti-spazmodik, immünomodülatör, anti-kanser ve kemoprotektif etkilere sahiptir.<sup>10</sup>

Bu çalışmada amaç, SA'nın neden olduğu kalp toksisitesine karşı KRV'nin potansiyel koruyucu etkisini araştırmaktır. Bu etkiyi gösterebilmek için oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz ve oksidatif DNA hasarı belirteçlerinin aktiviteleri analiz edildi.

## MATERYAL VE METOT

### Deney Grupları

Çalışmada kullanılan 35 adet erkek *Sprague dawley* sıçan (10-12 haftalık, 230-250 gr) Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (Erzurum, Türkiye) temin edildi. Deney hayvanları standart koşullar altında ( $24 \pm 1$  °C ve  $\%45 \pm 5$  nem, 12 saat karanlık ve 12 saat ışık döngüsüne tabi) barındırıldı. Diyetlerinde, standart sıçan yemi ve musluk suyu ad libitum olarak verildi.

Çalışma, her bir grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 farklı gruptan oluşturuldu ve dozlar literatürden faydalanılarak belirlendi;<sup>11</sup>

1- Kontrol Grubu: Hayvanlara 14 gün boyunca oral yolla serum fizyolojik ve mısır yağı verildi.

2- Karvakrol Grubu (KRV): Hayvanlara 14 gün boyunca mısır yağında 50 mg/kg dozunda çözödürülen karvakrol oral yolla verildi.

3- Sodyum Arsenit Grubu (SA): Hayvanlara 14 gün boyunca serum fizyolojik

içerisinde 10 mg/kg dozunda çözdürülen sodyum arsenit oral yolla verildi.

4- Sodyum Arsenit + Karvakrol 25 Grubu (SA+KRV25): Hayvanlara 14 gün boyunca serum fizyolojik içerisinde 10 mg/kg dozunda çözdürülen sodyum arsenit oral yolla verildikten 30 dakika sonra mısır yağında 25 mg/kg dozunda çözdürülen karvakrol oral yolla verildi.

5- Sodyum Arsenit + Karvakrol 50 Grubu (SA+KRV50): Hayvanlara 14 gün boyunca serum fizyolojik içerisinde 10 mg/kg dozunda çözdürülen sodyum arsenit oral yolla verildikten 30 dakika sonra mısır yağında 50 mg/kg dozunda çözdürülen karvakrol oral yolla verildi.

Tüm kimyasallar analitik saflıklarda olup Sigma (A.B.D.) firmasından temin edilmiştir.

#### Dokuların Alınması

Son SA uygulamasından 24 saat sonra (15.gün) sıçanlar, hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek kalp dokuları alındı. Kalp dokuları biyokimyasal ve moleküler analizlerde kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

#### Oksidatif Stres Belirteçlerinin Analizi

Kalp dokuları sıvı nitrojen içerisinde öğütüldü. Öğütülen dokular %1,15 KCl içerisinde 1:10 oranında homojenleştirici cihazda homojenleştirildi. Ardından homojenatlar santrifüj edilerek elde edilen süpernatantlardan, oksidatif stres parametreleri ve lipid peroksidasyon analizleri yapıldı. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Sun ve vd.<sup>12</sup>; Katalaz (KAT) aktivitesi Aebi<sup>13</sup> yöntemine göre hesaplandı ve sonuçlar katal/g protein olarak ifade edildi. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi Lawrence ve Burk'un<sup>14</sup> yöntemine göre belirlendi. SOD ve GPx, U/g protein olarak ifade edildi. Glutasyon (GSH) konsantrasyonu testi Sedlak ve Lindsay'in<sup>15</sup> yöntemine göre ölçüldü. Dokudaki malondialdehit (MDA) düzeyi nmol/g doku olarak ifade edilirken, kolorimetrik olarak Placer, Cushman ve Johnson'in<sup>16</sup> yöntemlerine göre belirlendi.

#### RT-PCR

Kalp dokuları sıvı nitrojen içerisinde toz hale getirildikten sonra total RNA izolasyonu için 70 mg doku tartılarak üzerine hibrizol reagent (HibriGen) eklendi. Dokular Tissue Lyser II cihazında parçalandı ve ardından üzerlerine kloroform eklenerek santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki faz alınarak yeni ependorf tüplere aktarıldı ve üzerlerine propanol eklenerek yeniden santrifüj edildi. Santrifüj sonrası izopropanol tüplerden uzaklaştırıldı ve pelletin üzerine %75'lik etanol eklendi. Etanol ile hafifçe karıştırıldıktan sonra tekrar santrifüj edildi ve sonrasında etanol dökülerek sediment DNaz/RNaz içermeyen su ile çözdürüldü. Tüm işlemler üreticinin talimatlarına göre yapıldı. Oluşturulan RNA çözeltisinin konsantrasyonu NanoDrop (BioTek Epoch) cihazında ölçüldü. Tüm grupların konsantrasyonları belirtilen konsantrasyona eşitlendikten sonra cDNA sentez aşamasına geçildi. Bu aşamada total RNA'lerden sonra iScript cDNA Synthesis Kit'i (Bio-Rad) kullanılarak üreticinin talimatları ile cDNA'lar sentez edildi. Daha sonra cDNA'lar ile nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2 (Nrf-2), Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB), apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf-1), Kaspaz-3, aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF-6) ve Beclin-1 genlerinin (sekansları Tablo 1'de sunuldu) forward ve reverse primerleri ve QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix (204143; Qiagen) total hacim 20 µl olacak şekilde karıştırıldı. Daha sonra Rotor-Gene Q (Qiagen) cihazında üreticinin talimatları ile reaksiyon başlatıldı. Sürecin sonunda 2<sup>-ΔΔCT</sup> metodu<sup>17</sup> ile β-aktin'e göre genler normalize edildi.

#### İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm değerler, ortalama ± standart hata (SD) olarak ifade edildi. One-way ANOVA ve ardından Tukey post hoc testi kullanılarak çoklu karşılaştırmalar yapıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Araştırmanın Etik Yönü**  
Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleleri

Etik Kurulu tarafından etik kurul onayı  
(Onay No: 2022/12/267) alındı.

**Tablo 1. Primer Dizileri**

Gen	Dizilim (5'-3')	Uzunluk (bp)	NCBI ID
Nrf2	F: TTTGTAGATGACCATGAGTCGC R: TCCTGCCAAACTTGCTCCAT	161	NM_031789.2
NF-κB	F: AGTCCCGCCCCTTCTAAAAC R: CAATGGCCTCTGTGTAGCCC	106	NM_001276711.1
Apaf-1	F: ACCTGAGGTGTCAGGACC R: CCGTCGAGCATGAGCCAA	192	NM_023979.2
Kaspaz-3	F: ACTGGAATGTCAGCTCGCAA R: GCAGTAGTCGCCTCTGAAGA	270	NM_012922.2
ATF-6	F: TCAACTCAGCACGTTCTGA R: GACCAGTGACAGGCTTCTCT	130	NM_001107196.1
Beclin-1	F: TCTCGTCAAGGCGTCACTTC R: CCATTCTTTAGGCCCGACG	198	NM_053739.2
β-Actin	F: CAGCCTCCTTCTGGGTATG R: AGCTCAGTAACAGTCCGCCT	360	NM_031144.3

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### İnflamasyon Bulguları

Kalp dokusunda inflamasyon ile ilişkili NF-κB transkript düzeyleri RT-PCR metoduyla incelenmiştir. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubu ile kıyasla SA grubunda artış olmuştur. KRV uygulamasıyla birlikte bu artışta azalma tespit edilmiştir (Şekil 1).

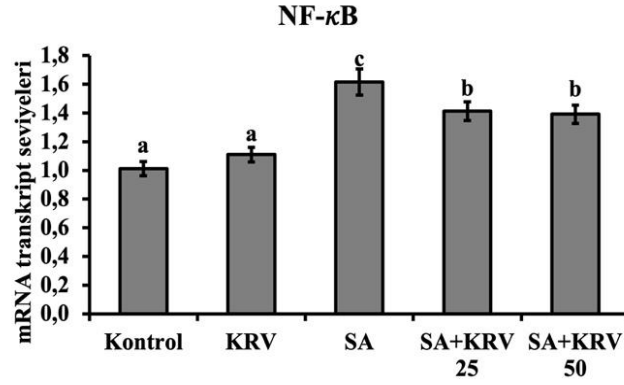
NF-κB'nin aktive olmasıyla proinflamatuvar sitokin genlerinde aktivasyon başlayarak inflamatuvar yanıt meydana gelir.<sup>18</sup> SA ile yapılan çalışmalarda, SA'nın NF-κB yolağını daha da aktifleyerek oksidatif stres ve inflamasyonu tetiklediği tespit edilmiştir.<sup>19</sup> Mevcut çalışmada, SA'nın, NF-κB yolağını tetikleyerek inflamasyonu arttırdığı tespit edilmiştir. SA ile birlikte KRV uygulandığında, SA'ye bağlı gelişen bu inflamasyonun tersi yönde hareket ederek azaldığı tespit edilmiştir. SA kaynaklı inflamasyonun neden olduğu kardiyotoksitede KRV etkili bir tedavi seçeneği olabilir.

### Oksidatif Stres Bulguları

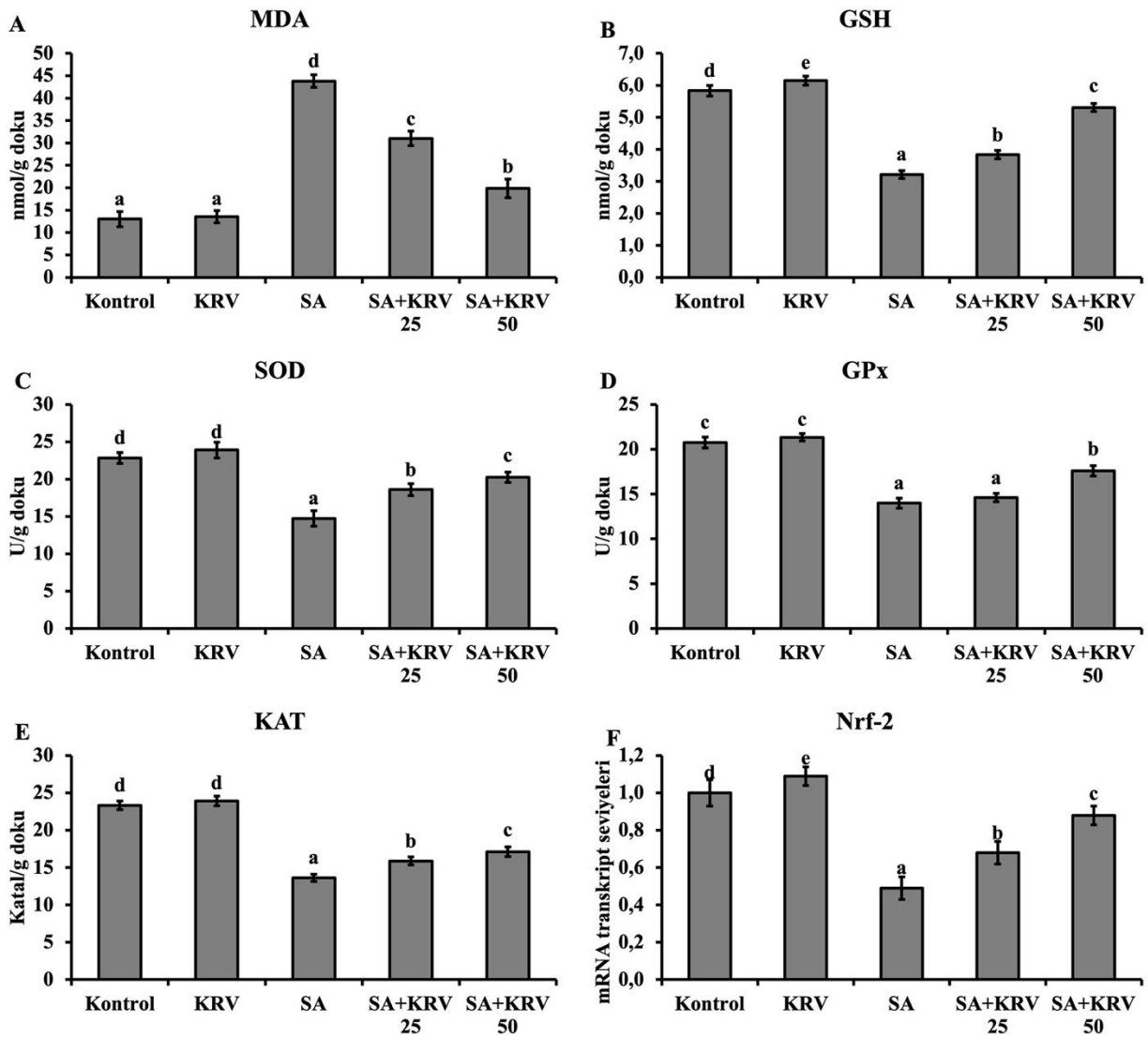
Çalışmada SA ve KRV uygulamaları sonrasında kalp dokularında oksidatif stresin düzeyini belirlemede MDA ve GSH düzeyleri, SOD, KAT ve GPx aktiviteleri ile Nrf-2 mRNA transkript düzeyleri analiz edildi. SA uygulamasıyla lipid peroksidasyon

göstergesi MDA düzeyinde artış, antioksidan özellikteki GSH düzeyi ve SOD, KAT, GPx aktivitelerinde ve Nrf-2 mRNA transkript düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Doz kıyaslaması yapıldığında KRV'nin 50mg/kg dozunda bu etkiyi daha iyi göstermiştir (Şekil 2).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) gibi oksidanlar ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ile ortaya çıkan ve inflamasyon, endoplazmik retikulum stresi, apoptoz ve otofaji yollarını tetikleyerek dokularda hasara yol açarak organların fonksiyonlarını bozan kritik bir durumdur.<sup>20</sup> ROS oluşumu, pro-inflamatuvar yolların ve stres sinyallerinin aktive edilmesiyle ilişkilendirilmiştir.<sup>21</sup> Nrf-2 ise NF-κB inhibisyonu yoluyla antioksidan ve sitoprotektif genlerin transkripsiyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür.<sup>22</sup> SA uygulamasıyla birlikte antioksidan kapasitenin azaldığı ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyon düzeyinde artış meydana geldiği tespit edilmiştir. KRV tedavisi ile birlikte SA kaynaklı bu oksidatif stres durumunda tersine dönüş meydana gelmiştir. SA'nın antioksidan enzimler üzerindeki baskılayıcı etkisini KRV'nin doza bağlı olarak hafiflettiği ve GSH depolarının yenilenmesini sağladığı tespit edilmiştir.



Şekil 1. KRV ve SA Uygulamalarının Kalp Dokularında İnflamasyon Parametresi NF-κB Üzerine Etkileri. Sütunlar üzerindeki harfler grupların birbirleriyle arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. P<0,05.



Şekil 2. KRV ve SA Uygulamalarının Kalp Dokularında Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkileri. Sütunlar üzerindeki harfler grupların birbirleriyle arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. P<0,05.

### Apoptoz Bulguları

Kalp dokusunda apoptozla ilgili ilişkili APAF-1 ve Kaspaz-3 transkript düzeyleri

RT-PCR metoduyla incelenmiştir. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubu ile kıyasla SA grubunda artış olmuştur. KRV uygulamasıyla birlikte bu artışta azalma



tespit edilmiştir. Doz kıyaslaması yapıldığında KRV'nin 50mg/kg dozunda bu azalma daha etkilidir (Şekil 3).

ROS, büyük oranda mitokondride üretilir ve programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptoz gelişiminde önemli etkiye sahiptir.<sup>23,24</sup> Apoptoz, vücuttaki hasar görmüş veya tehlikeli hücreleri ortadan kaldıran koruyucu bir mekanizma iken diğer taraftan sağlıklı hücrelerde ise hücrel stres veya hasar oluşturmaktadır.<sup>25</sup> Kaspaz-3, apoptoz sürecinde önemli bir rol oynar ve apoptoz sinyal iletimi ile ilişkili ortak bir yoldur.<sup>26</sup> Kaspaz-3 aktive olduktan sonra, çoğu hücrel hedefin proteolitik bozulmasına ve sonunda hücre ölümüne neden olmaktadır.<sup>27</sup> Çalışmamızda kalp dokularında SA uygulamasıyla birlikte apoptotik faktörler olan APAF-1 ve Kaspaz-3 mRNA transkript düzeyleri artış göstermiştir. KRV uygulamasıyla birlikte bu durum tersi yönde hareket etmiştir ve azalma eğilimine girmiştir. Dolayısıyla SA'ye bağlı apoptoz hasar artışı sonucu meydana gelen kardiyotoksistide KRV apoptoza karşı koruyucu etki göstererek dokularda iyileşme sağlamıştır.

### Endoplazmik Retikulum Stres Bulguları

Kalp dokusunda endoplazmik retikulum (ER) stresi ile ilişkili ATF-6 mRNA transkript düzeyleri RT-PCR metoduyla incelenmiştir. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubu ile kıyasla SA grubunda artış olmuştur. KRV uygulamasıyla birlikte bu artışta azalma tespit edilmiştir. Doz kıyaslaması yapıldığında KRV'nin 50mg/kg dozunda bu azalma daha etkilidir (Şekil 4).

ER, proteinlere üç boyutlu yapılarının kazandırılması, kalsiyum metabolizması, transmembran proteinlerin biyosentezi, streoid ile lipidlerin biyosentezi gibi birçok hayati fonksiyonlara sahip hücre

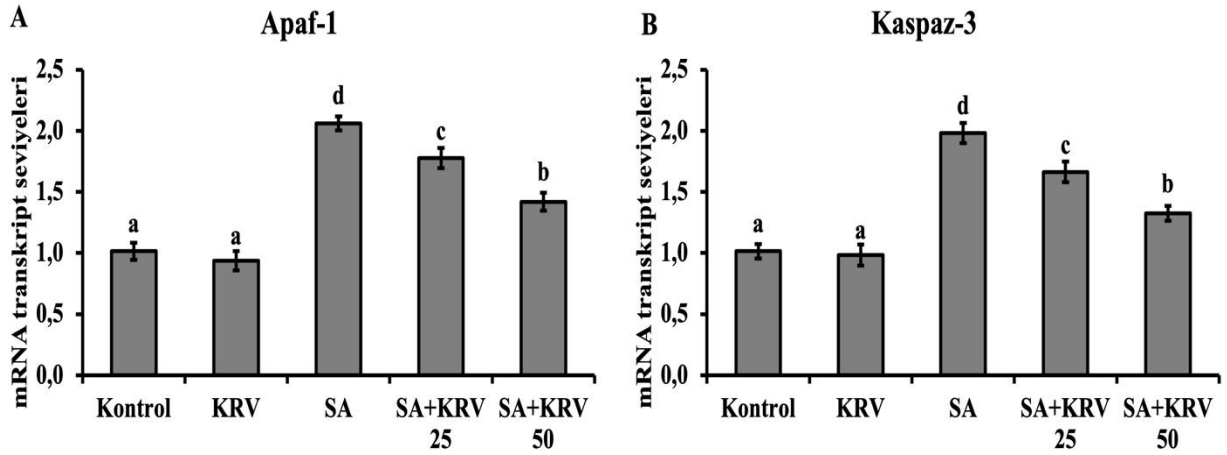
organelidir.<sup>28</sup> ER stres durumunun uzamasına bağlı olarak apoptoz hasar yolları tetiklenebilmektedir.<sup>29</sup> Mevcut çalışmada, kalp dokuları ER stres bulguları değerlendirildiğinde, SA uygulamasına bağlı olarak ATF-6 mRNA transkript düzeyinde artış meydana gelerek uzamış ER stres durumunun oluştuğu, diğer taraftan KRV uygulamasıyla birlikte SA'ye bağlı meydana gelen bu artış düzeylerini azaltarak uzamış ER stres durumunu azaltma eğilimi gösterilmiştir. SA'in ER stres uzamasına bağlı olarak kalp dokusunda hasara neden olduğu, KRV'un ise bu hasara karşı iyileştirici etki gösterdiği söylenebilir.

### Otofaji Bulguları

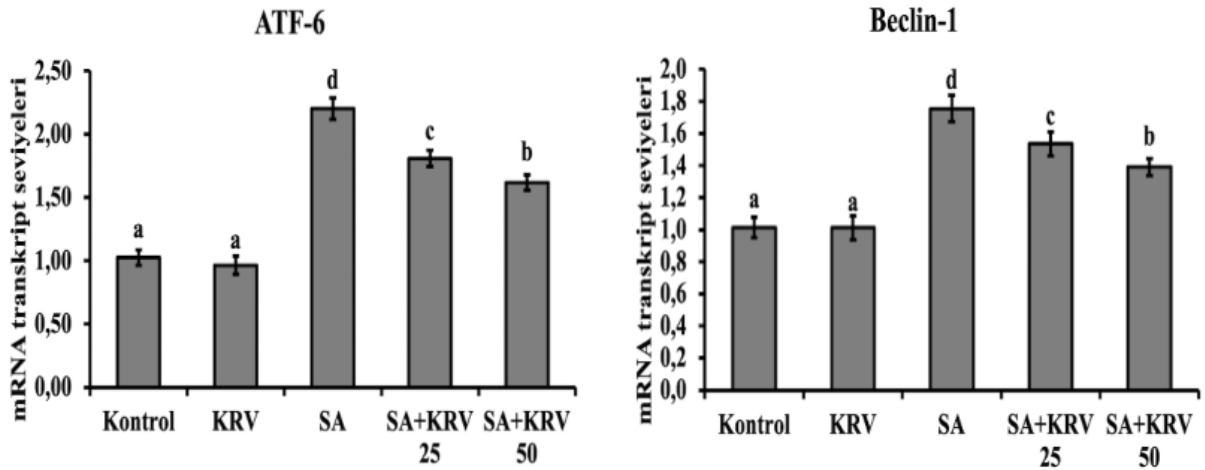
Kalp dokusunda otofaji ile ilişkili Beclin-1 mRNA transkript düzeyleri RT-PCR metoduyla incelenmiştir. mRNA transkript bulgularına göre, kontrol grubu ile kıyasla SA grubunda artış olmuştur. KRV uygulamasıyla birlikte bu artışta azalma tespit edilmiştir. Doz kıyaslaması yapıldığında KRV'nin 50mg/kg dozunda bu azalma daha etkilidir (Şekil 4).

Otofaji, oksidatif stres tarafından tetiklenen ve hücre homeostazını kontrol etmede temel bir mekanizmadır. Otofaji durumunda sitoplazmanın bir kısmı lizozomlara aktarılır ve böylelikle hasra görmüş organeller ve yanlış katlanmış proteinler ortamdan uzaklaştırılır.<sup>28</sup>

Otofajinin çeşitli faktörler tarafından aşırı uyarılması hücrelere zarar verir ve dokularda fonksiyon kaybına neden olur.<sup>30</sup> Beclin-1, otofajinin başlatılmasını sağlayan kilit faktördür.<sup>31</sup> Çalışmamızda SA'in Beclin-1 mRNA transkripsiyonunu tetikleyerek otofajiye neden olduğu, KRV'nin ise anti-otofajik etki göstererek Beclin-1 transkripsiyonunu baskıladığı tespit edilmiştir.



Şekil 3. KRV ve SA Uygulamalarının Kalp Dokularında Apoptotik Faktörler Üzerine Etkileri. Sütunlar üzerindeki harfler grupların birbirleriyle arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.  $P < 0,05$ .



Şekil 4. KRV ve SA Uygulamalarının Kalp Dokularında ER Stres ve Otofaji Parametreleri Üzerine Etkileri. Sütunlar üzerindeki harfler grupların birbirleriyle arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.  $P < 0,05$ .

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışmada SA'nın kalp dokularında oksidatif stresi arttırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, ER stresi, inflamasyon, apoptoz ve otofaji mekanizmalarının da SA tarafından tetiklenerek kalp dokularında hasara neden olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan KRV'nin kalp dokularında, antioksidan özellikler göstererek SA'in neden olduğu

oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir. Ayrıca, oksidatif stres tarafından tetiklendiği bilinen ER stresi, inflamasyon, apoptoz ve otofaji mekanizmalarını da yavaşlatmıştır. Böylece SA kaynaklı kardiyotoksistelerde KRV'in potansiyel koruyucu özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Turk, E, Kandemir, F.M, Yildirim, S, Caglayan, C, Kucukler, S. and Kuzu, M. (2019). "Protective Effect of Hesperidin on Sodium Arsenite-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats". *Biological Trace Element Research*, 189 (1), 95-108.
2. Akanda, M.R, Tae, H.-J, Kim, I.-S, Ahn, D, Tian, W, Islam, A, Nam, H.-H, Choo, B.-K. ve Park, B.-Y. (2017). "Hepatoprotective Role of Hydrangea Macrophylla Against Sodium Arsenite-Induced Mitochondrial-Dependent Oxidative Stress via the Inhibition of MAPK/Caspase-3 Pathways". *Int. J. Mol. Sci*, 18, 1482. <https://doi.org/10.3390/ijms18071482>

3. Momeni, H.R. and Eskandari, N. (2017). "Effect of Curcumin on Kidney Histopathological Changes, Lipid Peroxidation and Total Antioxidant Capacity of Serum in Sodium Arsenite-Treated Mice". <https://doi.org/10.1016/j.etp.2016.08.006>
4. Dkhil, M.A, Abdel Moneim, A.E, Bauomy, A.A, Khalil, M, Al-Shaebi, E.M. and Al-Quraishy, S. (2020). "Chlorogenic Acid Prevents Hepatotoxicity in Arsenic-Treated Mice: Role of Oxidative Stress and Apoptosis". *Molecular Biology Reports*, 47 (2), 1161-1171.
5. Çağlayan, C, Demir, Y, Kucukler, S, Taslimi, P, Kandemir, F.M. and Gulçin, İ. (2019). "The Effects of Hesperidin on Sodium Arsenite-Induced Different Organ Toxicity in Rats on Metabolic Enzymes as Antidiabetic and Anticholinergics Potentials: A Biochemical Approach". *Journal of Food Biochemistry*, 43 (2), e12720. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12720>
6. Hosseinzadeh, A, Houshmand, G, Goudarzi, M, Sezavar, S.H, Mehrzadi, S, Mansouri, E. and Kalantar, M. (2019). "Ameliorative Effect of Gallic Acid on Sodium Arsenite-Induced Spleno-, Cardio-and Hemato-Toxicity in Rats". *Life Sciences*, 217, 91-100.
7. AL-Megrin, W.A, Metwally, D.M, Habotta, O.A, Amin, H.K, Abdel Moneim, A.E. and El-khadragy, M. (2020). "Nephroprotective Effects of Chlorogenic Acid Against Sodium Arsenite-Induced Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis". *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 100 (14), 5162-5170.
8. Kuzu, M, Kandemir, F.M, Yıldırım, S, Çağlayan, C. and Küçükler, S. (2021). "Attenuation of Sodium Arsenite-Induced Cardiotoxicity and Neurotoxicity With the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antiapoptotic Effects of Hesperidin". *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (9), 10818-10831.
9. Kandemir, F.M, Çağlayan, C, Darendelioglu, E, Küçükler, S, İzol, E. and Kandemir, Ö. (2021). "Modulatory Effects of Carvacrol Against Cadmium-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity by Molecular Targeting Regulation". *Life Sciences*, 277, 119610.
10. Yesildag, K, Gur, C, Ileriturk, M. and Kandemir, F.M. (2022). "Evaluation of Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, Oxidative DNA Damage and Metalloproteinases in The Lungs of Rats Treated With Cadmium and Carvacrol". *Molecular Biology Reports*, 49 (2), 1201-1211.
11. Gur, C, Akarsu, S.A, Akaras, N, Tuncer, S.C. and Kandemir, F.M. (2023). "Carvacrol Reduces Abnormal and Dead Sperm Counts by Attenuating Sodium Arsenite-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and Autophagy in the Testicular Tissues of Rats". *Environmental Toxicology*, 38 (6), 1265-1276.
12. Sun, Y, Oberley, L.W. and Li, Y. (1988). "A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase". *Clinical Chemistry*, 34, 497-500. <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>
13. Aebi, H. (1984). [13] "Catalase in vitro". *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
14. Lawrence, R.A. and Burk, R.F. (1976). "Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-Deficient Rat Liver". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71, 952-958. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(76)90747-6)
15. Sedlak, J. and Lindsay, R.H. (1968). "Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue With Ellman's Reagent". *Analytical Biochemistry*, 25, 192-205. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)
16. Placer, Z.A, Cushman, L.L. and Johnson, B.C. (1966). "Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in Biochemical Systems". *Analytical Biochemistry*, 16, 359-364. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90167-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90167-9)
17. Livak K.J. and Schmittgen T.D. (2001). "Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method". *Methods*, 25 (4), 402-8.
18. Kandemir, F.M, Yıldırım, S, Kucukler, S, Çağlayan, C, Darendelioglu, E. and Dortbudak, M.B. (2020). "Protective Effects of Morin Against Acrylamide-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity: A Multi-Biomarker Approach". *Food and Chemical Toxicology*, 138, 111190.
19. Akaras, N, Gur, C, Kucukler, S. and Kandemir, F.M. (2023). "Zingerone Reduces Sodium Arsenite-Induced Nephrotoxicity by Regulating Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis and Histopathological Changes". *Chemico-Biological Interactions*, 374, 110410.
20. Gur, C. and Kandemir, F.M. (2022). "Molecular and Biochemical Investigation of the Protective Effects of Rutin Against Liver and Kidney Toxicity Caused by Malathion Administration in a Rat Model". *Environmental Toxicology*, 38 (3), 555-565.
21. Çağlayan, C, Kandemir, F.M, Ayna, A, Gür, C, Küçükler, S. and Darendelioglu, E. (2022). "Neuroprotective Effects of 18 $\beta$ -Glycyrrhetic Acid Against Bisphenol A-Induced Neurotoxicity in Rats: Involvement of Neuronal Apoptosis, Endoplasmic Reticulum Stress and JAK1/STAT1 Signaling Pathway". *Metabolic Brain Disease*, 37 (6), 1931-1940.
22. Kocak, C, Kocak, F.E, Akcilar, R, Bayat, Z, Aras, B, Metineren, M.H, Yucel, M. and Simsek, H. (2016). "Effects Of Captopril, Telmisartan And Bardoxolone Methyl (CDDO-Me) in Ischemia-Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury in Rats: An Experimental Comparative Study". *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(2), 230-241.
23. Çağlayan, C, Kandemir, F.M, Darendelioglu, E, Yıldırım, S, Kucukler, S. and Dortbudak, M.B. (2019). "Rutin Ameliorates Mercuric Chloride-Induced Hepatotoxicity in Rats via Interfering with Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 56, 60-68.
24. Simsek, H. and Akaras, N. (2023). "Acacetin Ameliorates Acetylsalicylic Acid-Induced Gastric Ulcer in Rats by Interfering with Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis". *Int J Med Biochem*, 6 (2), 96-103.
25. Şimşek, H, Akaras, N, Gür, C, Küçükler, S. and Kandemir, F.M. (2023). "Beneficial Effects of Chrysin on Cadmium-Induced Nephrotoxicity in Rats: Modulating the Levels of Nrf2/HO-1, RAGE/NLRP3, and Caspase-3/Bax/Bcl-2 Signaling Pathways". *Gene*, 875, 147502.
26. Akcilar, R, Akcilar, A, Koçak, C, Koçak, F.E, Bayat, Z, Şimşek, H, Şahin, S. and Savran, B. (2015). "Effects of Ukrain on Intestinal Apoptosis Caused by Ischemia-Reperfusion Injury in Rats". *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8 (12), 22158.
27. Kuzu, M, Kandemir, F.M, Yıldırım, S, Kucukler, S, Çağlayan, C. and Turk, E. (2018). "Morin Attenuates Doxorubicin-Induced Heart and Brain Damage by Reducing Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis". *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 443-453.
28. Gur, C, Kandemir, O. and Kandemir, F.M. (2022). "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". *Environmental Toxicology*, 37 (3), 401-412. <https://doi.org/10.1002/tox.23406>
29. Ileriturk, M, Kandemir, O, Akaras, N, Simsek, H, Genc, A. and Kandemir, F.M. (2023). "Hesperidin Has a Protective Effect on Paclitaxel-Induced Testicular Toxicity Through Regulating Oxidative Stress, Apoptosis, Inflammation and Endoplasmic Reticulum Stress". *Reproductive Toxicology*, 118, 108369.



30. Wang, J, Zhu, H, Wang, K, Yang, Z. and Liu, Z. (2020). "Protective Effect of Quercetin on Rat Testes Against Cadmium Toxicity by Alleviating Oxidative Stress and Autophagy". *Environmental Science and Pollution Research*, 27 (20), 25278-25286.
31. Gur, C, Kandemir, F.M, Darendelioglu, E, Caglayan, C, Kucukler, S, Kandemir, O. and Ileriturk, M. (2021). "Morin Protects Against Acrylamide-Induced Neurotoxicity in Rats: An Investigation into Different Signal Pathways". *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (36), 49808-49819.