



Sıçanlarda Lambda-Sihalotrin Kaynaklı Gastrointestinal Hasar Üzerine Karvakrol'ün Etkilerinin İncelenmesi: Apoptoz ve Endoplazmik Retikulum Stresi Yolaklarının Düzenlenmesi

İlyas BOZKURT^{1,*} Ömercan ALAT² Tuba KARAARSLAN² Esra AKTAŞ ŞENOCAK³ Mesut Bünyami HALICI²

¹ Ardahan Üniversitesi, Nihat Delibalta Gölü Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, 75700, Ardahan, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240, Erzurum, Türkiye

³ Atatürk Üniversitesi, Horasan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik ve Laborant Bölümü, 25800, Erzurum, Türkiye

Geliş Tarihi: 23.03.2026

Kabul Tarihi: 18.05.2026

ÖZ

Bu çalışmada, sentetik bir Tip II piretroid olan lambda-sihalotrinin (λ-SHL) sıçanlarda oluşturduğu gastrointestinal hasarın oksidatif stres, apoptoz ve endoplazmik retikulum (ER) stresi ile ilişkili mekanizmaları araştırılmış ve karvakrolün (KRV) bu toksisiteye karşı koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. Erkek Sprague-Dawley sıçanlar; sağlıklı kontrol, KRV, λ-SHL, λ-SHL+KRV25 ve λ-SHL+KRV50 olmak üzere beş gruba ayrılarak 21 gün süreyle oral yolla uygulanmıştır. λ-SHL grubunda mide ve bağırsak dokularında malondialdehit (MDA) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı, glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ve glutatyon (GSH) düzeylerinin ise belirgin olarak azaldığı saptanmıştır (p<0.001). Aynı grupta apoptotik sinyal yollarında *Bcl2* ile ilişkili X proteini (*Bax*) / B-hücreli lenfoma 2 (*Bcl2*) oranının pro-apoptotik yönde değiştiği ve *Casp3* aktivasyonunun yükseldiği belirlenmiştir (p<0.001). Ayrıca endoplazmik retikulum (ER) stresi belirteçleri olan aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (*Atf6*), C/EBP homolog proteini (*Chop*) ve protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinazı (*Perk*) gen ekspresyonlarının anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir (p<0.001). KRV uygulanan gruplarda, özellikle yüksek doz KRV verilen λ-SHL+KRV50 grubunda, oksidatif stres parametrelerinin bir göstergesi olan MDA seviyelerinin baskılandığı (p<0.001), antioksidan savunma parametrelerinden olan GPx, SOD aktiviteleri ve GSH seviyelerinin ise arttığı tespit edilmiştir (p<0.001). Apoptoz belirteçlerinden olan *Bcl2* gen ekspresyon düzeyinin arttığı, *Bax* ve *Casp3* gen ekspresyon seviyeleri ile ER stresi belirteçlerinin anlamlı şekilde gerilediği tespit edilmiştir (p<0.001). Sadece KRV verilen gruplarda ise incelenen parametreler kontrol ve tedavi gruplarına paralel şekilde seyretmiştir. Sonuç olarak, λ-SHL'nin gastrointestinal dokuda çoklu moleküler mekanizmalar üzerinden hasara yol açtığı, KRV'nin ise bu toksisiteye karşı belirgin ve doza bağlı koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Endoplazmik retikulum stresi, Gastrointestinal hasar, Karvakrol, Lambda-sihalotrin, Oksidatif stres.

ABSTRACT

Investigation of The Effects of Carvacrol on Lambda-Cyhalothrin-Induced Gastrointestinal Injury in Rats: Modulation of Apoptosis and Endoplasmic Reticulum Stress Pathways

This study investigated the mechanisms associated with oxidative stress, apoptosis, and endoplasmic reticulum (ER) stress in gastrointestinal damage induced by lambda-cyhalothrin (λ-CHL) in rats and evaluated the protective effects of carvacrol (CRV) against this toxicity. Rats were divided into five groups: control, CRV, λ-CHL, λ-CHL+CRV25, and λ-CHL+CRV50, and treatments were administered orally for 21 days. In the λ-CHL group, malondialdehyde (MDA) levels significantly increased, whereas glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and glutathione (GSH) levels decreased (p<0.001). Additionally, apoptotic signaling pathways were activated by a pro-apoptotic shift in the *Bcl2*-associated X protein (*Bax*) / B-cell lymphoma 2 (*Bcl2*) ratio and increased *Casp3* activation (p<0.001). Moreover, endoplasmic reticulum (ER) stress markers, including activating transcription factor 6 (*Atf6*), C/EBP homologous protein (*Chop*), and protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (*Perk*), were significantly elevated (p<0.001). In the CRV-treated groups, particularly in the λ-CHL+CRV50 group, MDA levels were significantly suppressed (p<0.001), while antioxidant defense parameters such as GPx, SOD activity, and GSH levels were significantly increased (p<0.001). Furthermore, *Bcl2* was elevated, whereas *Bax*, *Casp3*, and ER stress markers were significantly reduced (p<0.001). CRV alone showed patterns similar to the control group. In conclusion, λ-CHL induces gastrointestinal damage through multiple molecular mechanisms involving oxidative stress, apoptosis, and ER stress, whereas CRV exhibits a dose-dependent protective effect against this toxicity.

Keywords: Carvacrol, Endoplasmic reticulum stress, Gastrointestinal injury, Lambda-cyhalothrin, Oxidative stress.



GİRİŞ

Pestisitler, ekosistemler üzerinde ciddi toksik etkilere yol açabilen ve çevreye en yaygın biçimde salınan kimyasal maddeler arasında yer almakta olup, kontrolsüz ve yoğun kullanımları çevresel ve biyolojik risklerin artmasına neden olmaktadır (Garud ve ark. 2024). Son yıllarda, organofosforlu insektisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle kullanımının kısıtlanması, alternatif insektisit gruplarına yönelimi artırmış ve bu durum sentetik piretroidlerin kullanımında belirgin bir artışa yol açmıştır (Soderlund ve ark. 2002). Piretroidler, piretrin yapılarına dayalı olarak geliştirilen sentetik insektisitler olup, 1970'lerde *Chrysanthemum cinerariifolium* çiçeği özünden türetilmiş ve günümüzde tarım, hayvancılık ve halk sağlığında zararlı böceklerin kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lopez-Torres ve ark. 2022; Sakr ve Rashad 2023). Günümüzde sentetik piretroidler, dünya genelinde kullanılan insektisitlerin %30'undan fazlasını oluşturmaktadır (Prasanthi ve Rajini 2005), memelilerde görece düşük akut toksisite göstermeleri, çevrede hızlı biyodegradasyona uğramaları ve kalıcı kalıntılar bırakmamaları nedeniyle ekonomik ve çevre açısından avantajlı insektisitler olarak kabul edilmektedir (Kale ve ark. 1999). Bununla birlikte, artan sayıda çalışma piretroidlerin çeşitli metabolik süreçleri etkileyerek insanlarda, evcil hayvanlarda ve balıklarda toksik etkilere neden olduğunu göstermektedir (Adhikari ve ark. 2006). İki tipe ayrılan piretroidlerden Tip I bileşikler akut toksik dozlarda felç, aşırı uyarılabilirlik ve titremeye neden olurken, Tip II piretroidler aşırı duyarlılık, koreoatetoz ve salivasyon ile karakterize toksisiteye yol açmaktadır (Zhang ve ark. 2021). Lambda-sihalotrin (Tip II piretroid insektisit), Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera gibi gruplara karşı etkili geniş bir insektisidal etki spektrumunun yanı sıra, yaprak, pas ve gal akarlarına karşı da akarisidal özellik göstermektedir. Sebzeler, tahıllar ve pamuk gibi tarım ürünlerinde zararlı kontrolünde yaygın olarak kullanılmakta; ayrıca hayvancılıkta, kümes hayvanlarında ve köpeklerde keneler, pireler, bitler ve akarlar gibi dış parazitlerin kontrolünde de tercih edilmektedir (Xu ve ark. 2023). Hedef dışı organizmalar üzerindeki toksisitesinin görece düşük olduğu bildirilse de yaygın kullanımı nedeniyle insan maruziyetinin arttığı vurgulanmaktadır (Fetoui ve ark. 2009). λ-SHL biyolojik zarlarda birikerek oksidatif stres ile enflamatuar yanıtları tetiklediği bildirilmektedir (Turgut ve ark. 2011). Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimiyle antioksidan savunma sistemleri arasında dengenin bozulması ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (Karaarslan ve ark. 2026). Oral λ-SHL maruziyetinin deneysel çalışmalarda gastrointestinal mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebildiği ve bunun da bariyer fonksiyonu ve metabolik süreçlerde olumsuz etkilere yol açabileceği öne sürülmüştür; bu tür etkiler dolaylı olarak gastrointestinal hasarı (GİH) tetikleyebilir (Zheng ve ark. 2024).

Doğal bitki kaynaklı bileşikler, özellikle fenolik bileşenler düşük maliyet, yüksek biyolojik etkinlik ve kolay erişilebilirlik gibi avantajları sayesinde farklı biyolojik mekanizmalar üzerinden toksisiteye karşı koruyucu etkiler gösterebilmekte ve bu nedenle çeşitli patolojik durumların tedavisinde araştırmaların odağı haline gelmektedir (İleritürk ve ark. 2023; Şimşek ve ark. 2023; Bozkurt ve ark. 2024; Kankılıç ve ark. 2024;). Bu kapsamda monoterpenoid yapıda bir fenolik bileşik olan Karvakrol (KRV), genellikle *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerde bulunur ve ayrıca kekik, karabiber ve yabani

bergamot esansiyel yağlarından elde edildiği rapor edilmiştir (Aksu ve ark. 2016; Taslimi ve ark. 2017). KRV yaygın olarak aroma maddesi ile gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Zotti ve ark. 2013) ve anti-inflamatuar, antioksidan, anti-tümör, anti-apoptotik ve anti-mikrobiyal etkiler dâhil olmak üzere çok sayıda farmakolojik ile biyolojik aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir (Xu ve ark. 2008; Suntres ve ark. 2015; Sharifi-Rad ve ark. 2018). KRV bakımından zengin kekik suyunun, geleneksel olarak mide ekşimesi başta olmak üzere çeşitli gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde, kan kolesterolü ve glukoz düzeylerinin düşürülmesinde oral yolla kullanıldığı; ayrıca romatizmal ağrılarda haricen analjezik, halk hekimliğinde ise antiseptik ve lokal analjezik amaçlarla uygulandığı rapor edilmiştir (Oliveira ve ark. 2012). Bunun yanı sıra KRV'nin hepatoprotektif ve nefroprotektif etkiler sergilediği (Nafees ve ark. 2013; ES ve ark. 2015) ve mutlak etanol ile asitlendirilmiş etanol ile indüklenen mide lezyonlarını anlamlı düzeyde baskılayarak belirgin bir gastroprotektif etki ortaya koyduğu bildirilmiştir (Oliveira ve ark. 2012). KRV'nin antioksidan etkisinin aromatik halkaya bağlı hidroksil (OH) grubundan kaynaklandığı, anti-enflamatuar etkisinin ise prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile ilişkili olduğu; siklooksijenaz-2 (COX-2) aktivitesini baskılayarak interlökin-1β (IL-1β) ve prostaglandin E2 (PGE2) düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (Hotta ve ark. 2010; Da Silva Lima ve ark. 2013; Shoorei ve ark. 2019; Somensi ve ark. 2019). OH grubu içeren fenoller ile yapılan bir çalışmada fenol grubunun, hücre içi serbest radikalleri ortadan kaldırarak önemli bir antioksidan görevi görmesi bunu kanıtlayacak nitelikte bir çalışma olduğu belirtilmiştir (Bozkurt ve ark. 2024). Literatürde λ-SHL'nin neden olduğu GİH'e ilişkin çalışmaların sınırlı olduğu, bu hasarın mekanizmasının henüz tam olarak aydınlatılmadığı ve mevcut farmakolojik yaklaşımların yeterli etki göstermediği dikkate alındığında, bu çalışmada λ-SHL'ye bağlı GİH'in biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarının araştırılması ve bu toksisiteye karşı daha önce etkileri incelenmemiş olan KRV'nin potansiyel koruyucu rolünün ortaya konulması amaçlanmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Deney Hayvanları

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneyisel Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde temin edilen 200–250 g ağırlığındaki yaklaşık 12 haftalık 35 tane erkek Sprague-Dawley sıçan çalışma boyunca kullanılmıştır. Standart laboratuvar şartlarında (45±5% nem, 24±1 °C ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü ve sınırsız yiyecek ile su verilerek tutuldu.) barındırılmış ve deney öncesinde 7 gün adaptasyon süresi sağlanmıştır. Bu süre boyunca hayvanlara ad-libitum yem ve su verilmiştir. Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.02.2026 tarih ve 2026/2 sayılı, 8 nolu kararı ile onaylanmış olup, tüm deneysel uygulamalar ulusal ve uluslararası etik kurallar çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

Kimyasallar

Çalışmada kullanılan Lambda-Sihalotrin (λ-SHL; CAS No. 91465-08-6) ve Karvakrol (KRV; CAS No. 499-75-2), Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, ABD)'den temin edilmiştir. Mevcut yapılan analizlerde kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıkta olup aynı firmadan satın alınmıştır.

Deneyisel uygulamalar

Sıçanlar rastgele seçilerek, her biri yedi hayvandan oluşan beş deney grubuna ayrıldı. λ -SHL dozu (6.23 mg/kg/gün), bu bileşik için sıçanlarda bildirilen oral LD50 değerinin (~56–79 mg/kg) yaklaşık 1/10'una karşılık gelecek şekilde, sub-akut toksisite oluşturmak ancak letal etki göstermemek üzere seçilmiş; bu doz aynı zamanda piretroid kaynaklı sistemik toksisite modellerinde yaygın olarak kullanılan sıçanlarda etkili biçimde uygulanmış doz ile uyumludur. KRV için seçilen 25 ve 50 mg/kg/gün dozları ise literatürde KRV'nin antioksidan, anti-enflamatuar ve sitoprotektif etkilerini ortaya koyan çalışmalarda güvenlik aralığı içinde kalan ve doz-yanıt ilişkisinin değerlendirilmesine olanak tanıyan etkin dozlar olarak tercih edilmiştir (İleritürk ve Kandemir 2023). Deneyisel gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

Sağlıklı Kontrol Grubu (Kontrol): Ratlara 21 gün boyunca oral olarak serum fizyolojik çözeltisi uygulandı.

Karvakrol Grubu (KRV): Ratlara 21 gün boyunca gavajla ağızdan 50 mg/kg/vücut ağırlığı olacak şekilde KRV uygulandı.

λ -Sihlotrin Grubu (λ -SHL): Ratlara 21 gün boyunca oral olarak 6.23 mg/kg/vücut ağırlığı λ -SHL uygulandı.

λ -Sihlotrin + Karvakrol25 Grubu (λ -SHL+KRV25): Ratlara 21 gün boyunca oral yolla 25 mg/kg/vücut ağırlığı KRV verildikten 30 dakika sonra 6.23 mg/kg/vücut ağırlığı λ -SHL verildi.

λ -Sihlotrin + Karvakrol50 Grubu (λ -SHL+KRV50): Ratlara 21 gün boyunca gavajla ağızdan 50 mg/kg/vücut ağırlığı olacak şekilde KRV verildikten 30 dakika sonra 6,23 mg/kg/vücut ağırlığı λ -SHL verildi.

Numunelerin Alınması: Son λ -SHL uygulamasından 24 saat sonra (22. gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında sakrifiye edilerek mide ve bağırsakları alındı. Alınan dokular moleküler ve biyokimyasal analizler için -80 °C'de muhafaza edildi.

Oksidatif Stres Parametrelerinin (MDA, GPx, SOD ve GSH) Ölçümü

Malondialdehit (MDA) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ölçümleri Elisa kit ile yapıldı. MDA düzeyleri ve GPx aktivitesi ticari ELISA kitleri kullanılarak üretici firma protokollerine uygun şekilde analiz edildi. Bu amaçla, toz haline getirilmiş mide ve bağırsak örnekleri fosfat tamponlu salin (PBS) içerisinde 1:20 (a/h) oranında seyreltilmiş ve doku homojenizatörü (Qiagen, TissueLyser II) yardımıyla homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar 4 °C'de 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar toplanarak malondialdehit (MDA; Kat No: 201-11-0157), glutatyon Peroksidaz (GPx; Kat No: 201-11-1705), düzeyleri açısından, ilgili ELISA kit üreticilerinin (Sunred Biological Technology, Shanghai, China) protokollerine uygun olarak analiz edilmiştir.

Hazırlanan homojenatta süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, (Sun ve ark. 1988) tarafından tanımlanan yöntem esas alınarak ölçülmüştür. Bu yöntem, ksantin-ksantin oksidaz sistemi aracılığıyla üretilen süperoksit radikalinin nitroblue tetrazolium (NBT)'u indirgemesi sonucu oluşan renk değişimine dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda meydana gelen mavi renkli formazon bileşiği, maksimum absorbanans gösterdiği dalga boyu 560 nm'dir. Formazonun 560 nm'de ölçülen absorbanans değerleri kullanılarak SOD aktivitesi hesaplanmıştır.

Hazırlanacak homojenatta glutatyon (GSH) düzeyinin ölçümü (Sedlak ve Lindsay 1968) bildirdiği metoda göre yapıldı. Bu yöntemle göre DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-

nitrobenzoik) asit], sülfidril grubuna sahip bileşikler tarafından indirgenerek meydana gelen sarı renk spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar, GSH için standart grafik çizildikten sonra ekstrapolasyon yöntemi ile hesaplandı.

Real Time -PCR Analizleri

Aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (*Atf6*), C/EBP homolog proteini (*Chop*) ve protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinazı (*Perk*), *Bcl2* ile ilişkili X proteini (*Bax*), B-hücreli lenfoma 2 (*Bcl2*) ve sistein-aspartik asit proteaz 3 (*Casp3*) genlerine ait primerler, NCBI'de yer alan Primer-BLAST aracı kullanılarak tasarlanmıştır. Dokular homojenize edildikten sonra, toplam RNA izolasyonu üretici firmanın talimatları doğrultusunda QIAzol Lizis Reaktifi (Qiagen, Kat. No. 79306) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RNA'nın konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop spektrofotometresi (BioTek Epoch) ile değerlendirilmiştir. Toplam RNA'dan cDNA sentezi, RT2 First Strand Kiti (Qiagen, Kat. No. 330404) kullanılarak yapılmıştır. Kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi, RT2 SYBR® Green qPCR Mastermix (Qiagen, Kat. No. 330500) ve gene özgü primerler kullanılarak Rotor-Gene Q Serisi Yazılımı 2.3.1 (Qiagen, Almanya) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Göreceli gen ekspresyon düzeylerinin hesaplanmasında, iç kontrol olarak β -aktin kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi uygulanmıştır. Tasarlanan primer dizileri Tablo 1'de sunulmuştur (Livak ve Schmittgen, 2001; Bolat ve ark. 2025).

Tablo 1: İlgili genlere ait primer dizilimleri.

Table 1: Primer sequences of the related genes.

Gen / Gene	Forward Primer (5'→3')	Reverse Primer (5'→3')	Uzunluk (bp)	Accession No.
<i>Atf6</i>	TCAACTCAGCA CGTTCCTGA	GACCAGTGAC AGGCTTCTCT	130	NM_00110 7196.1
<i>Perk</i>	GATGCCGAGAA TCATGGGAA	AGATTCGAGA AGGGACTCCA	198	NM_03159 9.2
<i>Chop</i>	GAAGCCTGGTA TGAGGATCT	GAAGTCTGAC TGGAATCTGG	209	NM_00110 9986.1
<i>Casp3</i>	ACTGGAATGTC AGCTCGCAA	GCACTAGTCG CCTCTGAAGA	270	NM_01292 2.2
<i>Bax</i>	TTTCATCCAGG ATCGAGCAG	AATCATCCTC TGCAGCTCCA	154	NM_01705 9.2
<i>Bcl2</i>	GACTTTGCAGA GATGTCCAG	TCAGGTACTC AGTCATCCAC	214	NM_01699 3.2
<i>Actb</i>	CAGCCTTCCTT CTTGGGTATG	AGCTCAGTAA CAGTCCGCCT	360	NM_03114 4.3

Atf6: Activating Transcription Factor 6; **Perk:** Eukaryotic Translation Initiation Factor 2 Alpha Kinase 3; **Chop:** DNA Damage Inducible Transcript 3; **Casp3:** Caspase-3; **Bax:** Bcl-2-Associated X Protein; **Bcl2:** B-Cell Lymphoma 2; **Actb:** Beta-Actin (β -Aktin, iç kontrol / endogenous reference); **bp:** baz çifti / base pair.

İstatistiksel Analizler

Örneklem büyüklüğü için güç analizi yapıldı; $\alpha=0.05$ ve güç $(1-\beta)=0.80$ hedeflenmiştir; her grupta $n=7$ grupta elde edilen post-hoc güç 0.86 olarak hesaplanmıştır. Güç analizi için Dhouibi ve ark. (2021) çalışması referans olarak alındı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Sürüm 22.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadaki örnek sayısı 50'den az olduğundan, verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Shapiro-Wilk testi

kullanıldı. Test sonucunda, belirteçler için $p > 0.05$ değeri elde edildi. Tüm değişkenler normal dağılım gösterdiği için gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile incelenmiş, gruplar arası karşılaştırmalar için Post Hoc test olarak Tukey testi kullanıldı. Tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma (mean $\pm$ SD) şeklinde sunulmuştur. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ olarak kabul edilmiş ve p değerleri virgülden sonra üç basamaklı olacak şekilde raporlanmıştır.

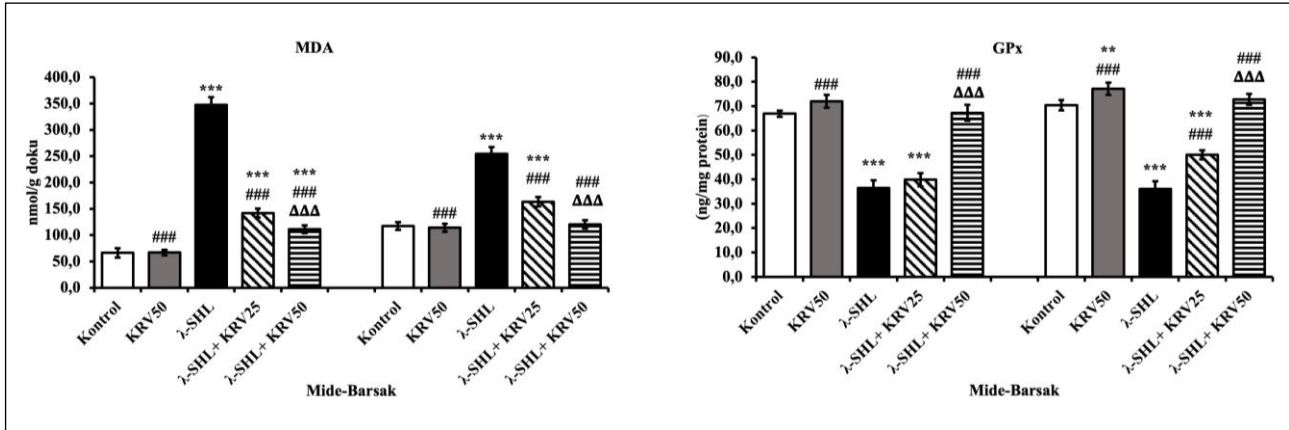
BULGULAR

Oksidatif Stres Parametrelerinin Sonuçları

λ -SHL uygulamasının, lipid peroksidasyonunu artırması sonucu gastrointestinal dokularda MDA düzeyleri istatistiksel açıdan arttığı belirlenmiştir ($p < 0.001$). Kontrol grubu ile λ -SHL+KRV25 ve λ -SHL+KRV50 grupları karşılaştırıldığında mide dokusunda istatistiksel bir fark varken ($p < 0.001$), bağırsak dokusunda sadece λ -SHL+KRV25 grubuyla anlamlı fark olduğu ($p < 0.001$) ve λ -SHL+KRV50 grubuyla anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Mide ve bağırsak dokularında, λ -SHL grubu ile

kıyaslandığında λ -SHL+KRV25, λ -SHL+KRV50 ve KRV50 tedavi gruplarında MDA düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Mide ve bağırsak dokularında her iki tedavi grubunda da MDA düzeyleri düştüğü belirlenmiş ancak λ -SHL+KRV50 tedavi grubundaki düşüş dramatik bir şekilde daha çoktur ($p < 0.001$) (Şekil 1).

λ -SHL uygulaması kontrol grubuna kıyasla GPx seviyelerinde önemli derecede azalmaya sebep olmuştur ($p < 0.001$). Bu düşüş, her iki dokuda da önemli bir oksidatif stres oluştuğunu ve mevcut antioksidan enzimlerin serbest radikalleri nötralize ederken tükendiğini göstermektedir. Mide dokusunda, λ -SHL uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GPx seviyelerinde λ -SHL+KRV25 ile anlamlı bir fark olmadığı ve λ -SHL+KRV50 ($p < 0.001$) ile anlamlı bir değişiklik olduğu tespit edilmiştir. Bağırsak dokusunda, λ -SHL uygulanan grup ile karşılaştırıldığında GPx seviyelerinde hem λ -SHL+KRV25 grubunda hem de λ -SHL+KRV50 grubunda anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.001$). λ -SHL+KRV25 ve λ -SHL+KRV50 tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan her iki dokuda da anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$) (Şekil 1).

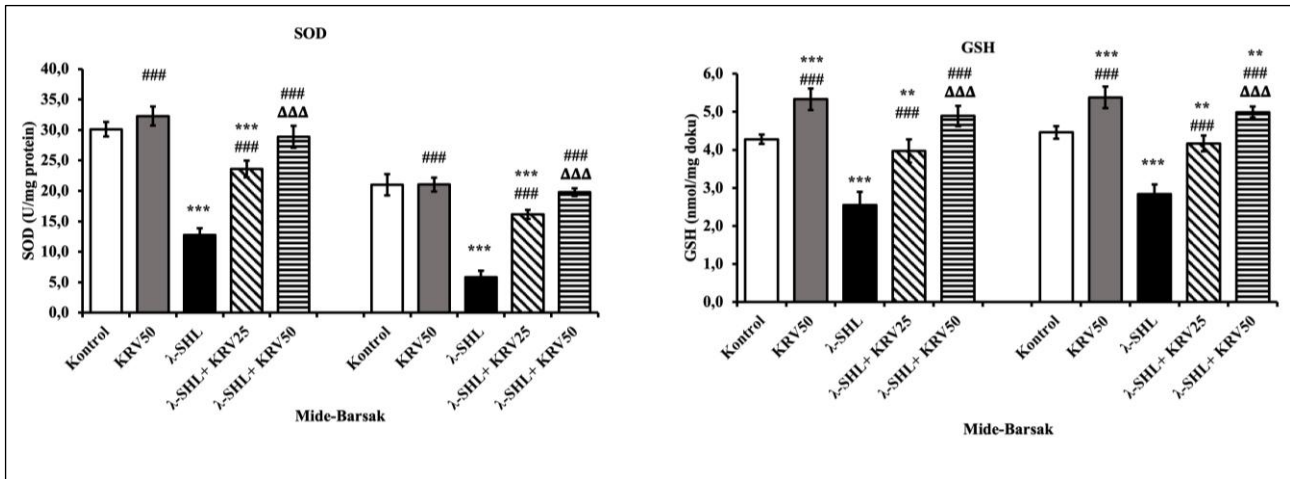


Şekil 1: λ -SHL ile indüklenen GİH üzerine KRV'nin gastrointestinal dokularda oksidatif hasarın göstergesi olan MDA ve GPx üzerine etkisi. Her gruptaki sıçanlara ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ($n = 7$) olarak belirtilmiştir. Tek Yönlü ANOVA ve Tukey Post Hoc testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık (kontrol vs. diğerleri: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; λ -SHL vs. diğerleri: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; λ -SHL+KRV25 ve λ -SHL+KRV50: $\Delta p < 0.05$, $\Delta\Delta p < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta p < 0.001$).

Figure 1: The effect of KRV on MDA and GPx, which are indicators of oxidative damage, in gastrointestinal tissue in the λ -SHL-induced GID. Data for the rats in each group are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD) ($n = 7$). Analysis was performed using One-Way ANOVA and Tukey Post Hoc test. Statistical significance was defined as follows: (control vs. others: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; λ -SHL vs. others: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$; λ -SHL+KRV25 and λ -SHL+KRV50: $\Delta p < 0.05$, $\Delta\Delta p < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta p < 0.001$).

λ -SHL uygulaması kontrol grubuna kıyasla hem mide hem de bağırsak dokularında SOD seviyelerinde belirgin bir düşüş tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Her iki dokuda da λ -SHL uygulanan grup ile karşılaştırıldığında tedavi gruplarında SOD seviyelerinde anlamlı artış olduğu ($p < 0.001$), özellikle mide dokusunda tedavi gruplarında uygulanan KRV ile beraber toksisitenin azaldığı hatta kontrol grubunun seviyesine çıktığı tespit edilmiştir. Bağırsak dokusunda ise yine tedavi gruplarında toksisite azalmış ancak SOD seviyeleri yükselmiş olsa da kontrol grubunun seviyesine çıkmadığı belirlenmiştir (Şekil 2).

GSH seviyeleri incelendiğinde, kontrol grubu değerlerine kıyasla λ -SHL uygulaması ile beraber her iki dokuda da önemli bir düşüş sergilediği saptanmıştır ($p < 0.001$). λ -SHL ile indüklenen gastrointestinal hasar, eş zamanlı KRV tedavisi ile her iki dokuda da geri çevrilmiş özellikle λ -SHL+KRV50 tedavi gruplarında kontrol grubu seviyesine çıktığı ayrıca bağırsakta bu seviye kontrol grubu seviyesini daha çok geçtiği tespit edilmiştir ($p = 0.007$). Tedavi grupları değerlendirildiğinde, her iki dokuda da yüksek doz KRV grubundaki iyileşmenin düşük doz grubuna göre daha belirgin olduğu gözlenmiştir ($p < 0.001$) (Şekil 2).



Şekil 2: λ-SHL ile indüklenen GİH üzerine KRV'nin gastrointestinal dokularda oksidatif hasarın göstergesi olan SOD ve GSH üzerine etkisi. Her gruptaki sıçanlara ait veriler ortalama ± standart sapma (SD) (n=7) olarak belirtilmiştir. Tek Yönlü ANOVA ve Tukey Post Hoc testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık (kontrol vs. diğerleri: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. diğerleri: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 ve λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).

Figure 2: The effect of KRV on SOD, and GSH, which are indicators of oxidative damage, in gastrointestinal tissue in the λ-SHL-induced GID. Data for the rats in each group are expressed as mean ± standard deviation (SD) (n=7). Analysis was performed using One-Way ANOVA and Tukey Post Hoc test. Statistical significance was defined as follows: (control vs. others: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. others: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 and λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).

Apoptotik Sinyal Yolakları Parametreleri Analiz Sonuçları

λ-SHL uygulaması kontrol grubuna kıyasla hem mide hem de bağırsak dokularında *Bax* gen ekspresyon düzeylerinde belirgin bir artışa neden olmuştur (p<0.001). Bu durum, λ-SHL'nin hücrelerde apoptozu güçlü bir şekilde uyardığını göstermektedir. KRV50 tek başına *Bax* gen ekspresyon seviyelerini kontrolün altına düşürmüştür. λ-SHL ile birlikte uygulandığında (λ-SHL + KRV25/50), doza bağlı olarak *Bax* seviyelerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır (p<0.001). Özellikle KRV50 dozu, pro-apoptotik sinyali kontrol seviyelerine yaklaştırmıştır (Şekil 3).

λ-SHL uygulaması kontrol grubuna kıyasla hem mide hem de bağırsak dokularında *Bcl2* gen ekspresyon düzeylerinde ciddi bir azalmaya sebep olmuştur (p<0.001). Bu durum hücrenin savunma mekanizmasının zayıfladığına işaret eder. KRV50 uygulaması, *Bcl2* gen ekspresyon seviyelerini bazal seviyenin üzerine çıkararak hücre koruyucu etkisini göstermiştir. λ-SHL'nin neden olduğu düşüş, KRV ilavesiyle anlamlı şekilde geri döndürülmüştür. λ-SHL + KRV50 grubunda *Bcl2* gen ekspresyon seviyeleri, kontrol grubunun bile üzerine çıkmıştır (p<0.001) (Şekil 3).

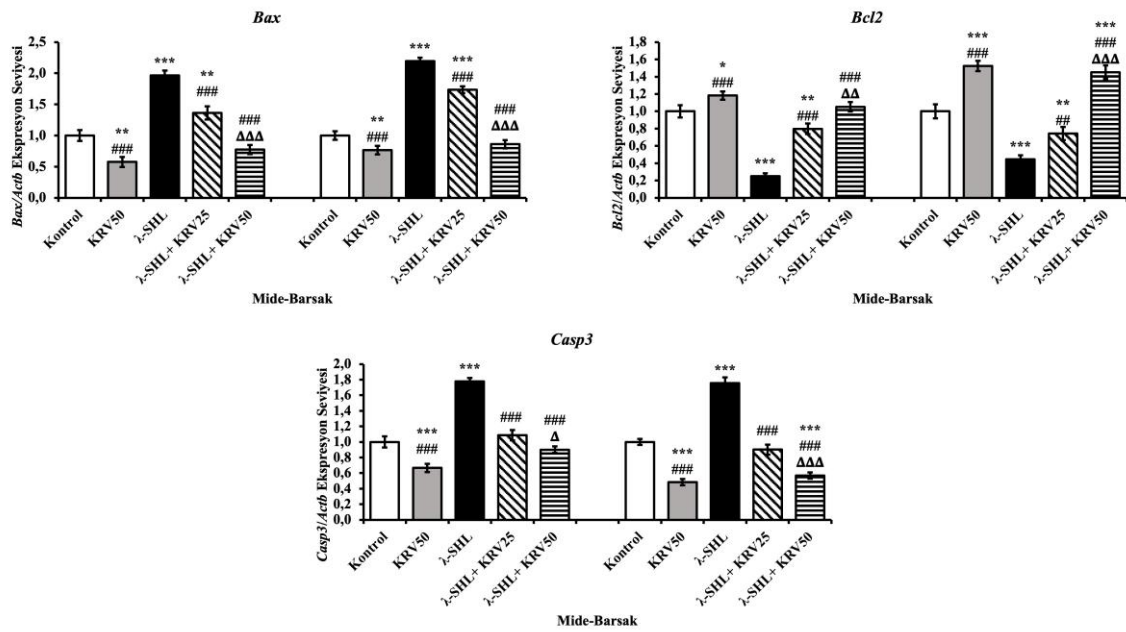
Apoptozun ana yürütücü enzimi olan *Casp3* seviyeleri, λ-SHL uygulanan mide ve bağırsak dokularında en yüksek seviyeye ulaşmıştır (p<0.001). Her iki dokuda KRV uygulaması, λ-SHL tarafından tetiklenen *Casp3* aktivasyonunu doz bağımlı olarak baskılamıştır (p<0.001). Özellikle 50 mg/kg (KRV50) dozunun kombinasyonu, enzimatik aktiviteyi kontrol değerlerine kadar minimize etmiştir. Her iki tedavi grubu birbirleri ile kıyaslandığında midede (p=0.016) ve bağırsakta (p<0.001) anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3).

ER Stresi Parametreleri Analiz Sonuçları

Gastrointestinal dokularda *Atf6* gen ekspresyonu düzeyi, kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak artış meydana gelmiştir (p<0.001). Bu durum, λ-SHL'nin ER lümeninde yanlış katlanmış protein birikimine bağlı olarak katlanmamış protein yanıtı (UPR) yanıtını etkinleştirdiğini kanıtlamaktadır. λ-SHL ile birlikte uygulanan KRV (25 ve 50 mg/kg), *Atf6* gen ekspresyon seviyelerini doza bağlı olarak düşürmüştür. Özellikle λ-SHL + KRV50 grubunda, *Atf6* seviyeleri λ-SHL grubuna göre çok daha düşük seviyelerde saptanmıştır (p<0.001). Her iki tedavi grubu birbirleri ile kıyaslandığında midede (p=0.001) ve bağırsakta (p=0.011) anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4).

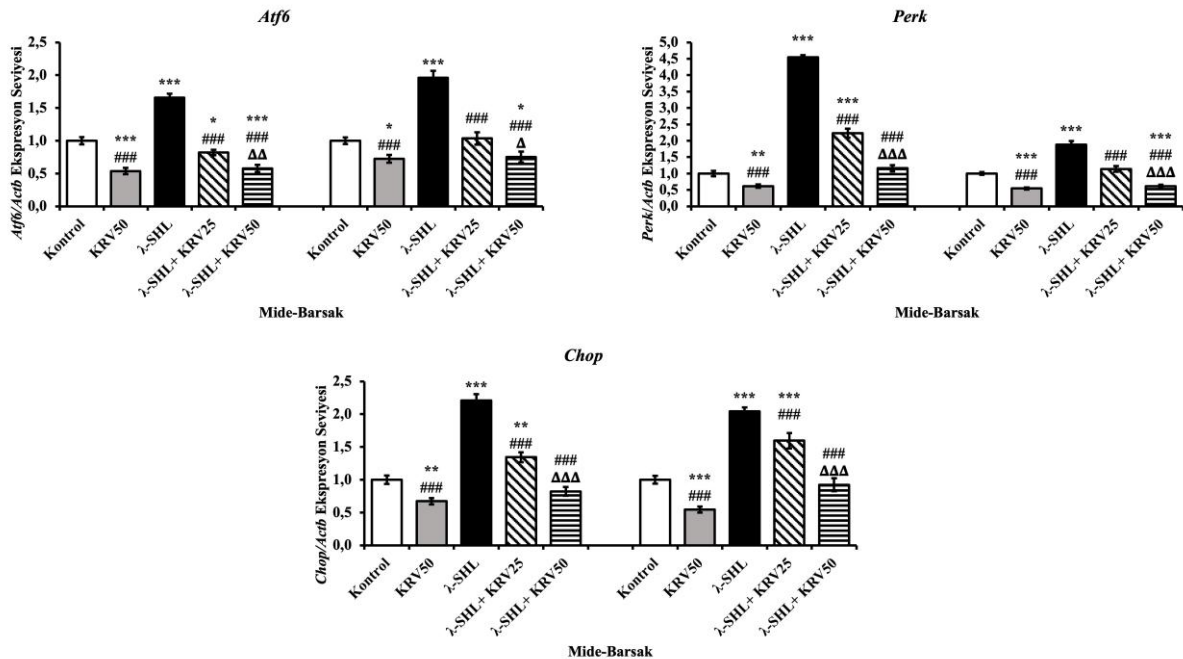
ER stresinin en kritik sensörlerinden biri olan *Perk* gen ekspresyonu seviyeleri, λ-SHL grubunda kontrol grubunun yaklaşık 4.5 katına (mide) ve 2 katına (bağırsak) çıkarak en yüksek değerine ulaşmıştır (p<0.001). KRV ilavesi, *Perk* aktivasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (p<0.001). λ-SHL + KRV50 kombinasyonu uygulanan gruplarda *Perk* ekspresyonu, kontrol değerlerine oldukça yakın seviyelere gerilemiştir (p<0.001) (Şekil 4).

ER stresine bağlı apoptozun ana aracısı olan *Chop* gen ekspresyonu seviyeleri, λ-SHL uygulanan tüm dokularda keskin bir şekilde artmıştır (p<0.001). Bu artış, ER stresinin şiddetli olduğunu ve hücreyi ölüme (apoptoz) sürüklediğini göstermektedir. KRV uygulaması, *Chop* ekspresyonunu önemli ölçüde baskılayarak (p<0.001) λ-SHL'nin neden olduğu pro-apoptotik ER stresi sinyallerini zayıflatmıştır. KRV50 dozunun etkisi, KRV25 dozuna göre daha belirgin bulunmuştur (p<0.001) (Şekil 4).



Şekil 3: λ-SHL ile indüklenen GİH modelinde KRV'nin gastrointestinal dokularda apoptotik sinyal yollarının (*Bax*, *Bcl2* ve *Casp3*) gen ekspresyon düzeyleri üzerine etkisi. Her gruptaki sıçanlara ait veriler ortalama ± standart sapma (SD) (n=7) olarak ifade edilmiştir. Tek Yönlü ANOVA ve Tukey Post Hoc testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık (kontrol vs. diğerleri: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. diğerleri: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 ve λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).

Figure 3: The effect of KRV on the gene expression levels of apoptotic signaling pathways (*Bax*, *Bcl2*, and *Casp3*) in gastrointestinal tissue in the λ-SHL-induced GID model. Data for the rats in each group are expressed as mean ± standard deviation (SD) (n=7). Analysis was performed using One-Way ANOVA and Tukey Post Hoc test. Statistical significance was defined as follows: (control vs. others: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. others: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 and λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).



Şekil 4: λ-SHL ile indüklenen GİH modelinde KRV'nin gastrointestinal dokularda ER stresi belirteçlerinin (*Atf6*, *Perk* ve *Chop*) gen ekspresyon düzeyleri üzerinde etkisi. Her gruptaki sıçanlara ait veriler ortalama ± standart sapma (SD) (n=7) olarak ifade edilmiştir. Tek Yönlü ANOVA ve Tukey Post Hoc testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık (kontrol vs. diğerleri: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. diğerleri: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 ve λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).

Figure 4: The effect of KRV on the gene expression levels of endoplasmic reticulum stress markers (*Atf6*, *Perk*, and *Chop*) in gastrointestinal tissue in the λ-SHL-induced GID model. Data for the rats in each group are expressed as mean ± standard deviation (SD) (n=7). Analysis was performed using One-Way ANOVA and Tukey Post Hoc test. Statistical significance was defined as follows: (control vs. others: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; λ-SHL vs. others: #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001; λ-SHL+KRV25 and λ-SHL+KRV50: Δp<0.05, ΔΔp<0.01, ΔΔΔp<0.001).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada λ -SHL uygulaması, gastrointestinal dokularda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA'nın arttığını ve antioksidan savunma sistemleri olan SOD, GSH ve GPx'in baskılandığını göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, KRV uygulamasının lipid peroksidasyonunu baskılayarak ve antioksidan savunma sistemini güçlendirerek λ -SHL kaynaklı gastrointestinal hasarı azalttığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, sentetik piretroidlerin hedef dışı dokularda ROS üretimini artırarak oksidatif hasara yol açtığını bildiren önceki çalışmalarla uyumludur (Kale ve ark. 1999; Fetoui ve ark. 2009). Mevcut güncel çalışmalar, piretroid maruziyetine bağlı oksidatif stresin yalnızca lipid hasarıyla sınırlı kalmayıp hücrel sinyal ağlarını da derinden etkilediğini göstermektedir (Yang ve ark. 2020).

Oksidatif stresin artışına paralel olarak *Bax/Bcl-2* oranının yükselmesi ve *Casp3* aktivasyonunun artması, mitokondriyal apoptotik yolların aktive olduğunu göstermektedir. Apoptozun, ER stresi ile fonksiyonel olarak bağlantılı olduğu ve özellikle *Perk-Chop* ekseninin apoptotik sinyalleşmeyi güçlendirdiği bildirilmektedir (Dogan ve ark. 2023; Fang ve ark. 2024). Bu çalışmada *Perk*, *Atf6* ve *Chop* gen ekspresyonlarının artması, λ -SHL maruziyetinin gastrointestinal dokuda belirgin bir ER stresi yanıtı oluşturduğunu göstermektedir.

Bu bulgular, λ -sihalotrin kaynaklı GIH'de endoplazmik retikulum stresi ile mitokondriyal apoptotik yolak arasında karmaşık bir etkileşim bulunduğunu düşündürmektedir. *Perk* ve *Atf6* yollarının anlamlı düzeyde yukarı regüle edilmesi, λ -sihalotrinin endoplazmik retikulumda protein katlanma homeostazını bozduğunu ve pro-apoptotik transkripsiyon faktörü *Chop*'un aktivasyonuna yol açtığını göstermektedir. ER stresi aracılı bu apoptotik süreç, *Bax/Bcl2* oranındaki artış ve *Casp-3* aktivasyonu ile desteklenmektedir. Mekanistik olarak *Chop*'un kronik aktivasyonu anti-apoptotik *Bcl2* ekspresyonunu baskılayarak, *Bax*'ın mitokondriye translokasyonunu teşvik ederek sitokrom-c salınımını ve ardından kaspaz kaskadının aktivasyonunu tetiklemektedir. Güncel veriler ayrıca ER stresinin bağırsak bariyer bütünlüğünü bozarak inflamasyon ve hücre ölümünü hızlandırdığını ve GIH'de önemli bir mekanizma haline geldiğini belirtmektedir (Chen ve ark. 2023; Fang ve ark. 2024). Ayrıca λ -SHL'nin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu ve safra asidi metabolizmasını değiştirdiği, bunun da gastrointestinal hasarı dolaylı olarak şiddetlendirebildiği gösterilmiştir (Zheng ve ark. 2024).

KRV uygulaması ise özellikle yüksek dozda oksidatif stres belirteçlerini baskılamış, apoptoz ve ER stresi parametrelerini anlamlı şekilde azaltmıştır. Bu durum, KRV'nin yalnızca antioksidan özellikleriyle değil aynı zamanda UPR sensörlerini modüle ederek sitoprotektif etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Nitekim KRV uygulaması *Perk* ve *Atf6* ekspresyonunu baskılayarak hücrel stres yanıtını sınırlamış ve *Chop* aracılı terminal apoptoza geçişi azaltmış görünmektedir. Son dönem çalışmaları da KRV'nin λ -SHL kaynaklı toksisiteyi antioksidan savunmayı güçlendirmenin yanı sıra apoptoz ve ER stresi yollarını birlikte modüle ederek azalttığını göstermektedir (Kandemir ve ark. 2025). Ayrıca KRV'nin bağırsak epitelinde oksidatif stres koşullarında hücrel dayanıklılığı artırdığı ve bariyer fonksiyonunu koruduğu bildirilmektedir (Hsu ve ark. 2025).

Mevcut çalışmanın güçlü yönlerinin yanı sıra, bulgularının yorumlanmasında göz önünde bulundurulması gereken

bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Birincisi, çalışmamızda endoplazmik retikulum stresi (*Atf-6*, *Perk*, *Chop*) ve apoptotik sinyalleşme (*Bax*, *Bcl2*, *Casp3*) yollarına ait belirteçler yalnızca mRNA düzeyinde değerlendirilmiş, protein düzeyinde Western Blot veya immünohistokimyasal (İHK) yöntemlerle doğrulama yapılmamıştır. Transkripsiyonel düzenlenmenin protein ekspresyonuna her zaman doğrudan yansımayaabileceği ve post-transkripsiyonel mekanizmaların ER stresi ve apoptoz proteinlerinin nihai aktivitesinde belirleyici rol oynayabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, gen ekspresyon profili ile gözlenen değişikliklerin protein düzeyinde de doğrulanması, KRV'nin koruyucu etkisinin moleküler mekanizmasının daha güçlü biçimde ortaya konulabilmesi açısından önem taşımaktadır. İkinci olarak, çalışmamızda gastrointestinal hasar oksidatif stres, ER stresi ve apoptoz parametreleri üzerinden moleküler ve biyokimyasal düzeyde kapsamlı şekilde değerlendirilmiş; ancak doku düzeyindeki mikroskobik hasarın ortaya konulmasını sağlayacak histopatolojik incelemeler yapılmamıştır. Villus boyu kısalması, kript hasarı, mukozal bütünlüğün bozulması ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi yapısal değişikliklerin değerlendirilmemiş olması, λ -SHL kaynaklı doku hasarının ve KRV'nin koruyucu etkinliğinin morfolojik düzeyde objektif olarak skorlanmasına olanak tanımamıştır. Bu durum, biyokimyasal bulguların yorumlanmasında bir kısıtlılık oluşturmaktadır. Sonraki çalışmalarda, mevcut moleküler bulguların Western Blot ve İHK gibi protein düzeyi analizleri ile desteklenmesi, ayrıca rutin histopatolojik değerlendirme ve TUNEL gibi in situ apoptoz tespit yöntemlerinin kullanılması, KRV'nin λ -SHL toksisitesine karşı sergilediği gastroprotektif etkinin bütüncül biçimde ortaya konulmasına önemli katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışma λ -SHL'nin gastrointestinal dokuda oluşturduğu toksisitenin oksidatif stres, ER stresi ve buna bağlı gelişen apoptotik sinyalleşme yolları ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, λ -SHL maruziyetinin özellikle *Perk* ve *Atf6* sinyal yollarını aktive ederek hücre içi protein katlanma homeostazını bozduğunu ve bunun sonucunda pro-apoptotik bir transkripsiyon faktörü olan *Chop* düzeylerinde belirgin artışa yol açtığını göstermiştir. Artan *Chop* ekspresyonu ile birlikte *Bax/Bcl2* dengesinin apoptotik yönde değişmesi ve *Casp3* aktivasyonunun tetiklenmesiyle beraber ER stresinin geri dönüşsüz özellik kazanmasından dolayı hücre ölümünün başlatıldığını doğrulamaktadır. Bununla birlikte, doğal bir fenolik bileşik olan KRV uygulamasının bu patolojik süreçleri doza bağlı olarak anlamlı şekilde baskıladığı belirlenmiş; özellikle 50 mg/kg dozunda KRV'nin pro-apoptotik belirteçleri (*Bax*, *Casp3* ve *Chop*) azaltırken anti-apoptotik *Bcl2* düzeylerini koruduğu ve antioksidan savunma sistemini yeniden dengeleyerek gastrointestinal dokuda belirgin bir sitoprotektif etki oluşturduğu saptanmıştır. Bu bulgular, KRV'nin yalnızca güçlü bir antioksidan değil, aynı zamanda ER stres yanıtını modüle edebilen potansiyel bir farmakolojik ajan olduğunu ve piretroid kaynaklı gastrointestinal hasarın önlenmesinde umut verici bir doğal koruyucu strateji sunabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu koruyucu etkinin moleküler düzeydeki mekanizmalarının daha ayrıntılı biçimde ortaya konabilmesi için gelecekte yapılacak çalışmaların uzun süreli maruziyet modelleri ile desteklenmesi, mekanizmanın klinik düzeyde ne ölçüde aktarılabildiğini netleştirecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na her türlü katkılarından dolayı teşekkürlerimizi sunarız.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: İB, MBH
Denetleme/Danışmanlık: İB, MBH
Veri Toplama ve/veya İşleme: İB, TK, EAŞ
Analiz ve/veya Yorum: İB, ÖA, TK
Makalenin Yazımı: İB, ÖA, TK, EAŞ
Eleştirel İnceleme: MBH

KAYNAKLAR

- Adhikari S, Sarkar B, Chattopadhyay A et al. (2006). Effect of cypermethrin on breeding performance of a freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton). *Chem Ecol*, 22, 211–218.
- Aksu EH, Kandemir FM, Altun S et al. (2016). Ameliorative effect of carvacrol on cisplatin-induced reproductive damage in male rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 30, 513–520.
- Bolat M, Çelebi F, Şengül E et al. (2025). Investigation of the protective effect of beta-caryophyllene against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: In vivo and in vitro study. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1–19.
- Bozkurt I, Halici Z, Zirh EB, Palabiyik-Yucelik SS (2024). EGCG alleviates ochratoxin A-induced pyroptosis in rat's kidney by inhibiting NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway. *Food Chem Toxicol*, 182, 115006.
- Chen X, Shi C, He M, Xiong S, Xia X (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 8, 402.
- Da Silva Lima M, Quintans-Júnior LJ, de Santana WA et al. (2013). Anti-inflammatory effects of carvacrol: evidence for a key role of interleukin-10. *Eur J Pharmacol*, 699, 112–117.
- Dhouibi, R, Affes, H, Salem, MB et al. (2021). Protective effect of *Urtica dioica* in induced neurobehavioral changes, nephrotoxicity and hepatotoxicity after chronic exposure to potassium bromate in rats'. *Environ. Pollut.*, 287, p. 117657.
- Dogan T, Onay E, Yildirim BA (2023). Investigation of the effect of *Polygonum cognatum* Meissn. ethanol extract on Bax, Caspase-3, Bcl-2, NF-κB and NRF-2/HO-1 pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 5(7), 8.
- El-Sayed Em, Abd-Allah Ar, Mansour Am, El-Arabey Aa (2015). Thymol and carvacrol prevent cisplatin-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 29, 165–172.
- Fang T, Tian G, Chen D et al. (2024). Endoplasmic reticulum stress contributes to intestinal injury in intrauterine growth restriction newborn piglets. *Animals*, 14(18), 2677.
- Fetoui H, Garoui EM, Zeghal N (2009). Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*, 61, 189–196.
- Garud A, Pawar S, Patil MS, Kale SR, Patil S (2024). A scientific review of pesticides: Classification, toxicity, health effects, sustainability, and environmental impact. *Cureus*, 16(8), e67945.
- Hotta M, Nakata R, Katsukawa M et al. (2010). Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPARα and γ and suppresses COX-2 expression. *J Lipid Res*, 51, 132–139.
- Hsu MC, Wang HT ve Chen CY (2025). Carvacrol protects intestinal epithelial cells from oxidative stress. *Int J Mol Sci*, 26(8), 3495.
- İleritürk M, Kandemir FM (2023). Carvacrol protects against λ-cyhalothrin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis, endoplasmic reticulum stress, and autophagy. *Environ Toxicol*, 38(7), 1535–1547.
- İleritürk M, Kandemir O, Akaras N et al. (2023). Hesperidin has a protective effect on paclitaxel-induced testicular toxicity through regulating oxidative stress, apoptosis, inflammation and endoplasmic reticulum stress. *Reprod Toxicol*, 108369.
- Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*, 105, 197–205.
- Kandemir Ö, İleritürk M, Gür C et al. (2025). Carvacrol coadministration ameliorates lambda-cyhalothrin-induced toxicity. *J Biochem Mol Toxicol*, e70400.
- Kankılıç NA, Şimşek H, Akaras N et al. (2024). Chrysin ameliorates bortezomib-induced nephrotoxicity in rats by reducing oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, inflammatory injury, apoptotic and autophagic cell death. *Food Chem Toxicol*, 190, 114791.
- Karaarslan T, Alat O, Can I et al. (2026). Protocatechuic acid mitigates diazinon-induced lung injury in rats through modulation of oxidative stress, inflammatory, Keap-1/Nrf-2/HO-1 and ER stress-mediated apoptotic pathways. *Iran J Basic Med Sci*, 29(2), 261–270.
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Lopez-Torres B, Ares I, Martínez M et al. (2022). Lambda-cyhalothrin-induced neurotoxicity: alterations in monoaminergic systems and dopaminergic and serotonergic pathways in rat brain. *Food Chem Toxicol*, 169, 113434.
- Nafees S, Ahmad ST, Arjumand W et al. (2013). Carvacrol ameliorates thioacetamide-induced hepatotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in liver of Wistar rats. *Hum Exp Toxicol*, 32, 1292–1304.
- Oliveira IS, da Silva FV, Viana AFS et al. (2012). Gastroprotective activity of carvacrol on experimentally induced gastric lesions in rodents. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 385(9), 899–908.
- Prasanthi K, Rajini P (2005). Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. *Food Chem Toxicol*, 43, 299–306.
- Sakr S, Rashad WA (2023). Lambda-cyhalothrin-induced pancreatic toxicity in adult albino rats. *Sci Rep*, 13(1), 11562.
- Sedlak J, Lindsay RH (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192–205.
- Sharifi-Rad M, Varoni EM, Iriti M et al. (2018). Carvacrol and human health: a comprehensive review. *Phytother Res*, 32, 1675–1687.
- Shoorei H, Khaki A, Khaki AA et al. (2019). The ameliorative effect of carvacrol on oxidative stress and germ cell apoptosis in testicular tissue of adult diabetic rats. *Biomed Pharmacother*, 111, 568–578.
- Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP et al. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171, 3–59.
- Somensi N, Rabelo TK, Guimaraes AG et al. (2019). Carvacrol suppresses LPS-induced pro-inflammatory activation in RAW 264.7 macrophages through ERK1/2 and NF-κB pathway. *Int Immunopharmacol*, 75, 105743.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, 497–500.
- Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M (2015). The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55, 304–318.
- Şimşek H, Akaras N, Gür C, Küçükler S, Kandemir FM (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*, 979, 147502.
- Taslimi P, Caglayan C, Gulcin İ (2017). The impact of some natural phenolic compounds on carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α-glycosidase enzymes: an antidiabetic, anticholinergic, and antiepileptic study. *J Biochem Mol Toxicol*, 31, e21995.
- Turgut C, Ornek H, Cutright TJ (2011). Determination of pesticide residues in Turkey's table grapes: the effect of integrated pest management, organic farming, and conventional farming. *Environ Monit Assess*, 173, 315–323.
- Xu J, Zhou F, Ji BP, Pei RS, Xu N (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Lett Appl Microbiol*, 47, 174–179.
- Xu X, Yu Y, Ling M et al. (2023). Oxidative stress and mitochondrial damage in lambda-cyhalothrin toxicity: A comprehensive review of antioxidant mechanisms. *Environ Pollut*, 122694.
- Yang C, Lim W, Song G (2020). Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. *Gen Comp Endocrinol*, 296, 113541.
- Zhang X, Zhang T, Ren X et al. (2021). Pyrethroid toxicity to the male reproductive system and offspring mediated by oxidative stress: evidence from rodent studies. *Front Endocrinol*, 12, 656106.
- Zheng W, Xu L, Jin M, Wang J, Rietjens IMCM (2024). Effects of lambda-cyhalothrin on gut microbiota and related bile acid metabolism in mice. *J Hazard Mater*, 480, 136417.
- Zotti M, Colaïanna M, Morgese MG et al. (2013). Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent. *Molecules*, 18, 6161–6172.