



## Ratlarda Kadmiyum Kaynaklı Mide Toksisitesine Karşı Karvakrol'un Etkileri

Sefa KÜÇÜKLER<sup>1\*</sup>, Selçuk ÖZDEMİR<sup>2</sup>, Fatih Mehmet KANDEMİR<sup>1</sup>, Cüneyt ÇAĞLAYAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

<sup>3</sup> Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bingöl, Türkiye

Sefa KÜÇÜKLER ORCID No: 0000-0002-8222-5515

Selçuk ÖZDEMİR ORCID No: 0000-0001-7539-0523

Fatih Mehmet KANDEMİR ORCID No: 0000-0002-8490-2479

Cüneyt ÇAĞLAYAN ORCID No: 0000-0001-5608-554X

\*Sorumlu Yazar: sefa.kucukler@atauni.edu.tr

(Alınış: 10.04.2020, Kabul: 14.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

**Anahtar Kelimeler**  
 Kadmiyum,  
 Karvakrol,  
 Mide,  
 Oksidatif  
 Stres

**Öz:** Sunulan çalışmanın amacı; ağır metallere olan kadmiyumun (Cd) neden olduğu mide toksisitesine karşı karvakrol (Krv)'nin etkilerinin araştırılmasıdır. Çalışmada Spraque Dawley cinsi 35 adet erkek rat rastgele 5 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, Cd uygulanan grup, Krv 50 mg kg<sup>-1</sup> uygulanan grup, Cd + Krv 25 mg kg<sup>-1</sup> uygulanan grup ve Cd + Krv 50 mg kg<sup>-1</sup> uygulanan grup. Cd'nin glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi antioksidan enzim aktivitelerini ve glutatyon (GSH) düzeylerini azaltıp, lipid peroksidasyonunu (LPO) artırarak oksidatif hasara neden olduğu belirlendi. Ayrıca Cd ile kombine uygulanan Krv uygulamasının GSH seviyesini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı, lipid peroksidasyonunu ise azalttığı tespit edildi. Çalışmada incelenen glikoz düzenleyici protein 78 (GRP78) mRNA transkript seviyesinin Cd grubunda önemli şekilde arttığı, Krv uygulamasının ise bu gene ait ekspresyon seviyesini azalttığı belirlendi. Mide dokusunda Cd toksikasyonu aktive edici transkripsiyon faktör 6 (ATF6) ekspresyonunu arttırdığı, Krv uygulaması ile bu gene ait ekspresyonda düşüş meydana geldiği saptandı.

Sonuç olarak; Cd kaynaklı mide toksisitesinde Krv'nin yararlı etkilerinin olduğu oksidan-antioksidan denge ile GRP78 ve ATF6 ekspresyonları incelenerek tespit edildi.

12

## Effects of Carvacrol Against Cadmium-Induced Stomach Toxicity in Rats

**Keywords**  
 Cadmium,  
 Carvacrol,  
 Stomach,  
 Oxidative  
 Stress

**Abstract:** The aim of this study is investigation of the effects of carvacrol (Crv) against stomach toxicity caused by cadmium (Cd), which is a heavy metal. In the study, 35 male rats of Spraque Dawley were randomly divided into 5 groups: the control group, the group that received Cd, the group received Crv 50 mg kg<sup>-1</sup>, the group that received Cd + Crv 25 mg kg<sup>-1</sup>, and the group that received Cd + Crv 50 mg kg<sup>-1</sup>. It has been determined that Cd causes oxidative damage by decreasing antioxidant enzyme activities such as glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and increasing lipid peroxidation (LPO). In addition, it was found that Crv administration combined with Cd increased GSH level and antioxidant enzyme activities and decreased lipid peroxidation. It was determined that the level of glucose regulated protein 78 (GRP78) mRNA transcript examined in the study increased significantly in the Cd group, while Crv application decreased the expression level of this gene. It was determined that Cd toxicity in the stomach tissue increased activating transcription factor 6 (ATF6) expression and that the expression of this gene decreased with the received of Crv.

As a result, it has been determined by examining the oxidant-antioxidant balance with GRP78 and ATF6 expressions that Crv has beneficial effects on Cd-induced stomach toxicity.

## 1. GİRİŞ

Kadmiyum (Cd), endüstriyel ve ekolojik sistemdeki en yaygın toksik ağır metallere biridir [1]. Dünya çapında her yıl kadmiyum üretimindeki artış beraberinde kadmiyuma maruz kalma oranını artırmaktadır. Ekolojik sistemde Cd, metalik halde ve farklı elementlerle birleşmiş yapıda bulunur. Cd kirliliği esas olarak gübre endüstrisi, batarya, elektro kaplama, pigment ve plastik üretiminden kaynaklanmaktadır. Havadaki Cd'nin en önemli kaynakları, madencilik, sigara içme, elektronik atıkların geri dönüşümü ve nikel-kadmiyum pillerin yakılmasıdır [2-4]. Cd, düşük dozajlarda bile meydana getirdiği toksisite, uzun biyolojik yarılanma ömrü, vücuttan düşük atılım hızı ve dokularda birikme kabiliyetine sahip en tehlikeli mesleki ve çevresel toksinlerden biridir [5]. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından kategori 1 kanserojen madde olarak tanımlanmıştır [6]. Cd'ye maruz kalmak hem akut hem de kronik doku yaralanmasına neden olabilir. Cd zehirlenmesi maruz kalma yoluna ve maruz kalma süresine göre değişebilmektedir [7]. Cd vücutta kolayca girebilir ve esas olarak oksidatif stres indüksiyonu yoluyla çoklu organ hasarlarına ve hastalıklara neden olur. Cd emildikten sonra kanda dolaşır, kan hücrelerine ve albümine bağlanarak diğer dokulara yayılır [5]. Cd'un toksik etkisinden dolayı hayvanlarda ve insanlarda kardiyovasküler sistem, böbrek, karaciğer, üreme sistemi ve gastrointestinal sistem bozuklukları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açarak bu organ ve sistemlerde fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir [8].

Gastrointestinal sisteme Cd girişinin başlıca kaynakları içme suyu, sigara (yaklaşık 16 µg/paket) ve diyet ile alımdır. Cd'un bir başka kaynağı da Cd ile kontamine havanın solunmasıdır [6]. Cd kaynaklı gastrik toksisitenin mekanizmasının oksidatif stress olduğu ve antioksidanların temizleme kapasitesi ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) veya süperoksit iyonu (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>) ve azot oksit (NO) gibi serbest radikallerin kadmiyum kaynaklı gastrik toksisitede önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir [8]. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin hücre içi birikimi, endoplazmik retikulum (ER) stresi olarak bilinen durumun ortaya çıkmasına neden olur. ATF6, ER lümenindeki C-terminali ve sitosole doğru N-terminali ile ER membranına bağlanan üç sensörden biridir [9,10].

Karvakrol (Crv), kekik, karabiber, ve yabani bergamotun uçucu yağında bulunan monoterpenik bir fenoldür. Son zamanlarda özellikle gıda endüstrisinde kullanımı giderek artan karvakrolun antienflamatuar, antioksidan, antitümör, antibakteriyel, antifungal, spazmolitik, hepatoprotektif, vazorelaksant, analjezik, antiparaziter ve antijenotoksik etkileri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda ortaya konmuştur [8,11].

Sunulan çalışmada ratlarda Cd kaynaklı mide toksisitesi üzerine doğal bir antioksidan olan Crv'nin muhtemel etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırılarak ortaya konması amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 220-250 gr, yaşları 10-12 haftalık olan erkek Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Kafeslerde bulunan hayvanlar, 24±1 ° C sabit sıcaklıkta ve on ikişer (12 h) saatlik karanlık/aydınlık siklüsü sağlanarak kontrollü bir odada tutuldu. Çalışmaya başlanmadan 7 gün önce kafeslerde gruplara ayrılan ratların buldukları ortama adaptasyon sağlamaları için herhangi bir uygulama yapılmaksızın beklendi. Sprague Dawley ratlara yem (pelet) ve su *ad libitum* olarak verildi. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Karar No: 217/2018).

### 2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kadmiyum klorür ve karvakrol sigma- aldrich firmasından temin edildi. Doz seçiminde önceki literatürlerden yararlanıldı [12,13]. Deneylerde kullanılan diğer kimyasallar analitik saflıkta olup sigma- aldrich firmasından alınmıştır.

### 2.3. Deneysel Uygulamalar

Deneyde kullanılacak ratlar, her grupta yedi hayvan olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Deney tasarımı aşağıdaki gibi bir kontrol ve dört deney grubunu içermiştir;

**1- Kontrol Grubu:** 7 gün oral olarak serum fizyolojik verildi.

**2- Cd Grubu:** Mide toksisitesi sağlamak üzere 25 mg kg gün<sup>-1</sup> Cd oral olarak 7 gün verildi [12].

**3- Krv Grubu:** 50 mg kg vücut ağırlığı gün<sup>-1</sup> dozunda Krv 7 gün oral olarak verildi [13].

**4- Cd + Krv 25 Grubu:** 25 mg kg gün<sup>-1</sup> Cd uygulamasından 30 dk. sonra 25 mg kg<sup>-1</sup> Krv 7 gün verildi [12,13].

**5- Cd + Krv 50 Grubu:** 25 mg kg gün<sup>-1</sup> Cd uygulamasından 30 dk. sonra 50 mg kg<sup>-1</sup> Krv 7 gün verildi [12,13].

### 2.4. Numunelerin Alınması

Son Cd ve Krv uygulamasından 24 saat sonra (8.gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edildi. Ratlardan mide dokuları alınarak serum fizyolojik ile kurutularak alınan dokular gen ekspresyonu ile biyokimyasal analizler yapılmaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Analizlere başlamadan önce mide dokularından gerekli olan miktarlarda tartıldı. Yapılacak analizlerin metodların da belirtilen tamponlarla belirtilen oranda sulandırılarak TissueLyser II (Qiagen) ile homojenizasyon işlemi yapıldı.

## 2.5. Biyokimyasal Analizler

Mide dokuları homojenatlarında LPO (Lipidperoksidasyon) ürünü olan MDA ölçümü Placer ve ark.'nın [14], GSH düzeyleri Sedlak ve Lindsay'ın [15], GPx aktivitesinin ölçümü Matkovics'in [16], SOD aktivitesinin ölçümü Sun ve ark.'nın [17], KAT aktivitesi Aebi'nin [18] metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Homojenattaki protein konsantrasyonu, Lowry ve ark.'nın [19] metoduna göre belirlendi.

## 2.6. Moleküler Analiz

### 2.6.1. RT-PCR

Öncelikle deneysel gruplardaki ratlardan elde edilen mide dokularından Trizol kullanılarak total RNA

izolasyonu yapıldı. Bu işlem kitin prosedürüne uygun olarak yapıldı. Endoplazmik Retikulum (ER) stresi ile ilişkili olan GRP78 ve ATF6 genlerine ait ekspresyon seviyelerinin Real Time PCR ile ölçülebilmesi için gerekli primer dizileri <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> ilgili linkindeki Primer Design-3 programı kullanılarak tasarlandı. Daha sonra total RNA'lardan 2-5 µg alındı ve miScript Reverse Transcription Kiti (Qiagen) verilen protokole uygun şekilde kullanılarak cDNA sentezlendi. Real time PCR deneyinde oluşturulan master mix içeriği; Syber Green 2X Rox Dye Master mix (Qiagen), genler için tasarlanmış forward ve reverse primerler, template olarak cDNA'lar ve nükleaz free su. Master mixler hazırlandıktan sonra örnekler Real Time cihazında analiz edildi ve elde edilen Ct değerleri 2<sup>-ΔΔCT</sup> metoduna uygun olarak hesaplanarak ilgili genlerin ekspresyon seviyeleri belirlendi [20]. Genlerin reaksiyon koşulları ve primer dizileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** GAPDH, GRP78 ve ATF6 genlerine ait qRT-PCR Primer Dizileri

Primer Adı	(5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Reaksiyon koşulları (40 cycles)
<b>GAPDH</b>	F: AGTGCCAGCCTCGTCTCATA R: GATGGTGATGGGTTTCCCGT	56	94°C 15 s / 56°C 30 s / 72°C 30 s
<b>GRP78</b>	F: CGCCTGACCCCTGAAGAAAT R: TGGCTTTCCAGCCATTCGAT	57	94°C 15 s / 57°C 30 s / 72°C 30 s
<b>ATF6</b>	F: TCCTCATGGACCCAGGTGAAGAC R: AGTCCAACCTCCTCAGGAACG	57	94°C 15 s / 57°C 30 s / 72°C 30 s

## 2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Biyokimyasal veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile belirlenmiş olup çoklu karşılaştırmalar için Duncan testi uygulandı. p<0.05 seviyesindeki sonuçlar anlamlı kabul edildi. Genlere ait ekspresyon seviyeleri analiz etmede GrapPad 7.2 (California, USA) programı kullanıldı.

## 3. BULGULAR

### 3.1. Biyokimyasal Değerlendirme

Mide dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde (Şekil 1A) kontrol ve Krv grupları arasında istatistiksel fark olmadığı (p>0.05), Cd grubunda ise bu iki gruba göre önemli derecede artış olduğu (p<0.05) tespit edildi. Cd grubunda yükselen MDA düzeylerinin Cd ile Krv'nin birlikte verildiği gruplarda azaldığı (p<0.05) belirlendi. Ratlara Cd uygulamasının GSH düzeylerine etkisi Şekil 1B'de verilmiş olup, kontrol ile Krv gruplarına göre Cd grubunda glutatyon depolarının azaldığı (p<0.05), Cd ile kombine verilen Krv'nin 25 mg kg<sup>-1</sup> ve 50 mg kg<sup>-1</sup>lık gruplarında ise GSH düzeylerinin yükseldiği (p<0.05) görüldü.

Enzimatik antioksidanlardan olan SOD aktivitesi incelendiğinde; (Şekil 2A) kontrol grubuna göre Cd uygulanan gruptaki ratların mide dokularında aktivitenin azaldığı (p<0.05), Cd ile birlikte uygulanan Krv' un her iki dozunda azalan SOD aktivitesinin artırmada etkili

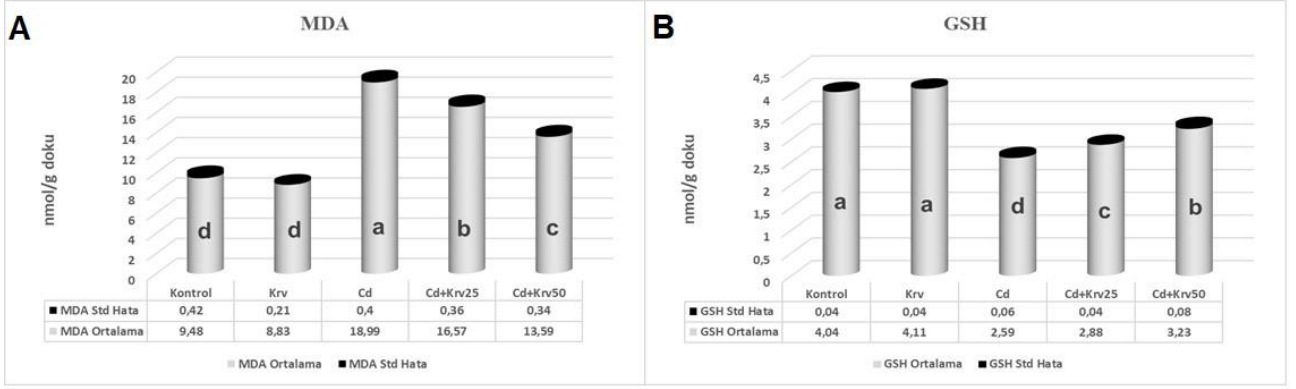
olduğu (p<0.05) tespit edildi. Şekil 2B'de verilen KAT aktiviteleri incelendiğinde, kontrol ve Krv grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı

(p>0.05), Cd uygulanan grupta ise kontrol ve Krv gruplarına göre aktivitede önemli derecede azalma (p<0.05) olduğu gözlemlendi. Cd uygulanan grupta azalan KAT aktivitesinin Cd ile birlikte uygulanan Krv ile yükseldiği (p<0.05) belirlendi.

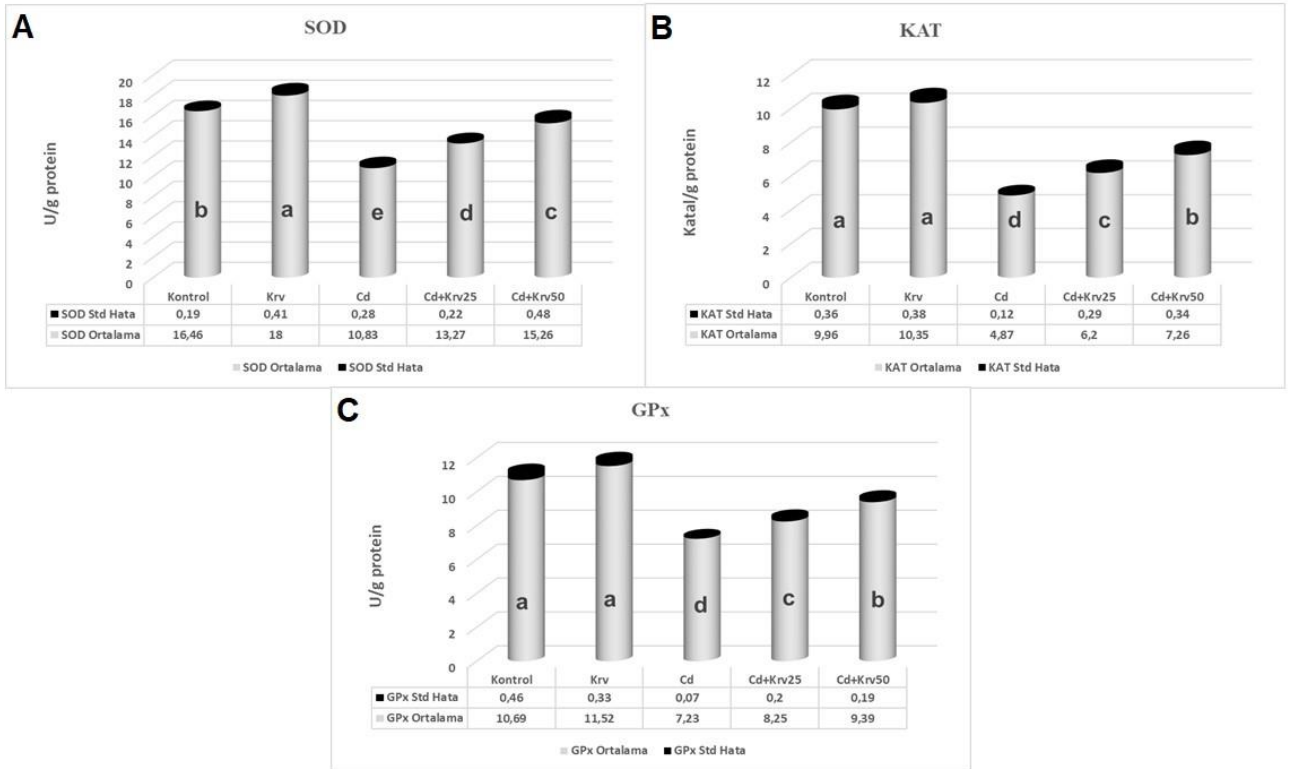
GPx enzim aktiviteleri incelendiğinde (Şekil 2C); Cd uygulanan grupta, kontrol ile Krv gruplarına göre antioksidan enzim aktivitesinde önemli derecede azalma (p<0.05) olduğu, Cd grubunda azalan GPx aktivitesinin 25 ve 50 mg kg<sup>-1</sup>lık doz uygulamasıyla arttığı ve her iki doz arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu (p<0.05) tespit edildi.

### 3.2. GRP78 ve ATF6 Genlerinin Ekspresyon Değerleri

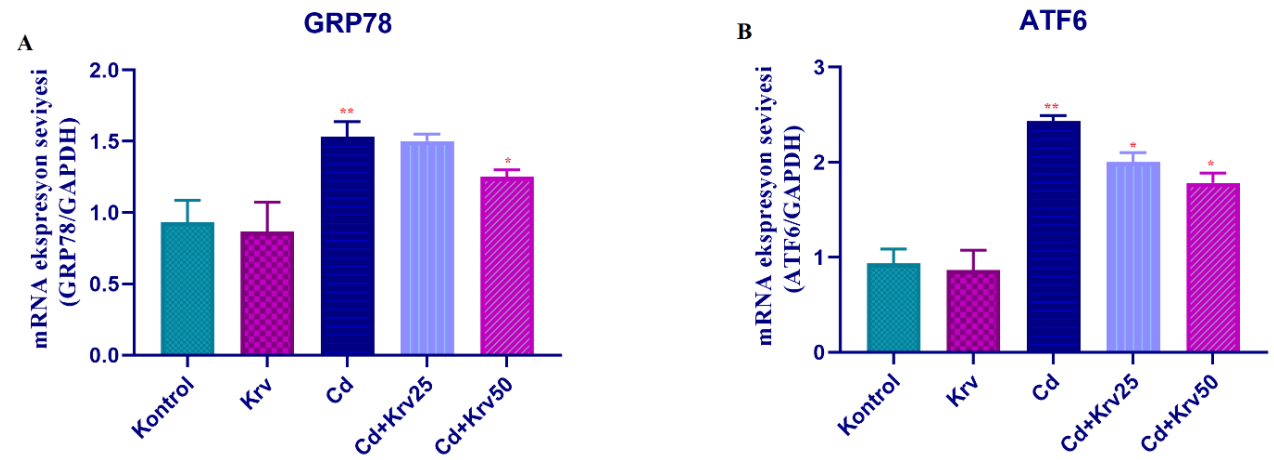
Çalışma sonucunda elde edilen qRT-PCR verileri incelendiğinde (Şekil 3), kontrol ve Krv gruplarında GRP78 (Şekil 3A) ve ATF6'nın (Şekil 3B) ekspresyon profilinde herhangi bir değişimin olmadığı (p>0.05) ancak sadece Cd uygulanan ratların mide dokularında GRP78 ve ATF6'nın mRNA transkript seviyesinin arttığı gözlemlendi (p<0.01). Bunun yanında özellikle Cd + Krv 50 grubunda bu genlere ait ekspresyon seviyesinin sadece Cd uygulanan gruba göre önemli derecede azaldığı belirlendi (p<0.05) (Şekil 3A ve Şekil 3B).



Şekil 1. Mide dokusu MDA (A) ve GSH (B) düzeyleri. Farklı harfler (a, b, c, d), gruplar arası farklılığı ifade eder ( $p < 0.05$ )



Şekil 2. Mide dokusu SOD (A), KAT (B) ve GPx (C) aktiviteleri. Farklı harfler (a, b, c, d), gruplar arası farklılığı ifade eder ( $p < 0.05$ )



Şekil 3. Deneysel gruplardaki ratların mide dokularında GRP78 ve ATF6 genlerine ait mRNA transkript seviyeleri

#### 4. TARTIŞMA

Ağır metaller arasında önemli bir yere sahip olan Cd esas olarak yer kabuğunda bulunur ve her zaman çinko ile birlikte ortaya çıkar. Çinko, kurşun ve bakır ekstraksiyonunun kaçınılmaz bir yan ürünü olarak oluşan kadmiyumun üretim miktarı, gelişen endüstri ile birlikte her geçen gün artmaktadır. Diğer metallerle kıyasla yüksek çözünürlüğü nedeniyle Cd bitkiler tarafından kolayca alınır, gıda ve yem ürünlerinde depolanarak bunları tüketen insan ve hayvanlara geçişi sağlanmış olur [21]. Mevcut çalışmada Cd'un neden olduğu mide hasarı üzerine Krv'nin etkileri araştırılmıştır.

Doku hasarının temelinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimindeki artışın yattığı yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur [22-25]. ROS'un aşırı üretimi nedeniyle oksidan/antioksidan denge bozulmakta, denge oksidan lehine dönerek oksidatif stress tetiklenmektedir [26-28]. ROS üretimindeki artışın şiddetine bağlı olarak oluşan hasar çoğu zaman geri dönüşümsüz olmaktadır [29,30].

Cd deneysel koşullar altında bazı türlerde çeşitli toksisite mekanizmaları sergiler. Cd, oksidatif stres sonucunu, membran lipitlerinin oksidatif bozulmasına, protein hasarına ve alternatif gen ekspresyonu ile DNA hasarına neden olur. Ayrıca, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) dahil olmak üzere önemli antioksidan sistem üyelerinin tükenmesine neden olur [31,32]. MDA hücre zarı hasarının en önemli göstergesidir [33,34]. Gastrik MDA düzeylerindeki artış ile birlikte antioksidan savunma sisteminin reaktif oksijen türlerini inhibe etme ve serbest radikallerin oluşumunu önlemedeki yetersizliği gastrik toksisiteye neden olan lipit peroksidasyonunun artmasına neden olmaktadır [35,36]. Cd proteinler ve protein olmayan sülfhidril grupları, makromoleküller ve metalotiyonin ile etkileşime girmektedir [37,38].

Cd'un metabolizması ve atılımı, Cd maruziyetinden sonra metallothionein oluşturan antioksidanların ve tiyollerin varlığına bağlıdır ve bu da GSH seviyeleri ile yakından ilişkilidir. GSH depolarındaki yeterlilik Cd toksisitesini azaltmada önemli bir faktördür [39].

GPx, GSH'ı substrat olarak kullanan ve hidrojen peroksidin detoksifikasyonundan sorumlu olan enzimatik antioksidanlardan biridir. GSH depolarının tükenmesi bu antioksidanı substrat olarak kullanan GPx aktivitesinde azalmaya ve sonuç olarak antioksidan kapasitede düşmeye neden olur. Canlı organizmada sitozol (CuZn-SOD), mitokondri (Mn-SOD) ve plazma (EC-SOD) gibi çeşitli hücre kompartmanlarında bulunan SOD, süperoksitin hidrojen peroksitine dönüşmesini hızlandırabilir ve oluşan hidrojen peroksit KAT tarafından su ve moleküler oksijene parçalanır [40-42]. Cd'nin SOD molekülündeki çinko veya mangan ile yer değiştirebildiği ve bunda SOD aktivitesinde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. SOD aktivitesindeki bu değişim hidrojen peroksidin üretiminin

yetersiz kalmasına ve buna bağlı KAT aktivitesinin kaybına neden olmaktadır [5].

Mevcut bilgiler ışığında, sunulan çalışmada Cd'un mide dokusunda lipid peroksidasyona neden olarak MDA seviyesini artırdığı ve hücrelerin membran bütünlüğünü bozduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte GSH seviyelerindeki azalmanın Cd kaynaklı glutatyon depolarının azalmasından kaynaklandığı saptanmıştır. Cd'un SOD, KAT ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinde de azalmaya neden olduğu ve antioksidan savunma sistemini baskılayarak mide toksisitesine neden olduğu anlaşılmaktadır.

ROS ve Endoplazmik Retikulum (ER) stresi, mitokondri yoluyla apoptotik süreçlere aracılık eder [43]. Cd, ER stresini indükler ve daha sonra inositol gerektiren enzim 1 (IRE1), protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktör 6 (ATF6)'yı Glikoz düzenleyici protein 78 (GRP78) ve CHOP yoluyla aktive ederek apoptozun indüksiyonuna yol açar [44]. GRP78, ER stresinin merkezi bir düzenleyicisidir ve IRE1 yolu kaynaklı apoptoz, kaspaz-3'ü içerir [45]. Bununla birlikte ER stres yolağının önemli moleküllerinden biri olan ATF6 mRNA ekspresyonunun Cd uygulaması ile arttığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [46,47]. Mevcut çalışmada da Cd uygulamasının GRP78 mRNA transkript seviyesini ve ATF6 mRNA ekspresyonunu önemli şekilde artırdığı tespit edilmiştir.

Alternatif tıptaki hızlı gelişim kimyasal ve toksik ajanların meydana getirdiği yan etkiler ve hasarlara karşı doğal antioksidanların kullanımını artırmış ve çalışmaların bu alanda odaklanmasına neden olmuştur. Günümüzde farklı toksikasyon modellerinde çok sayıda bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlar kullanılmış ve bir çoğunda bu antioksidanların yararlı etkileri ortaya konmuştur [48-50]. Sunulan çalışmada da Cd kaynaklı mide hasarı üzerine Krv'un 25 ve 50 mg kg<sup>-1</sup>'lık dozlarının etkinliği araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre; Krv uygulamasının mide dokusunda MDA düzeylerini azalttığı ve GSH seviyelerini ise artırdığı belirlenmiştir. GPx aktivitesinde Krv'nin her iki dozunda aktiviteyi artırdığı bunda GPx'in substratı olan GSH seviyesinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı zamanda Krv'un ratların mide dokularında SOD ve KAT aktivitesinin artırdığı, SOD aktivitesindeki artışın muhtemelen SOD'un kofaktörleri ile Cd'un yer değiştirmesinin Krv tarafından gerçekleştiği, bunun sonucu dolaylı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> deki artıştan dolayı KAT aktivitesinin arttığı tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmada Krv uygulamasının Cd tarafından ekspresyonu artırılan GRP78 ve ATF6' seviyelerini azalttığı ve ER stresini hafifletmede etkili olduğu saptanmıştır.

#### 5. SONUÇ

Cd uygulamasının mide dokularında hücreleri oksidatif ve ER stresine sürükleyerek ciddi toksisiteye neden olduğu, Krv'nin ise oluşan Cd kaynaklı mide

toksitesini hafiflettiği tespit edildi. Elde edilen verilere göre Krv'nin Cd kaynaklı mide toksitesine karşı yararlı olduğu fakat alternatif tedavi protokollerine eklenebilmesi için ileri düzey çalışmaların gerekliliği ortaya konmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] Rahman Z, Singh VP. The relative impact of toxic heavy metals (THMs)(arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. *Environ Monit Assess.* 2019; 191.7: 419.
- [2] El-Boshy M, Ashshi A, Gaith M, Qusty N, Bokhary T, AlTaweel N, et al. Studies on the protective effect of the artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against cadmium toxicity-induced oxidative stress, hepatorenal damage, and immunosuppressive and hematological disorders in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017;24(13):12372-12383.
- [3] Haouem S, El Hani A. Effect of cadmium on lipid peroxidation and on some antioxidants in the liver, kidneys and testes of rats given diet containing cadmium-polluted radish bulbs. *J Toxicol Pathol.* 2013; 26.4: 359-364.
- [4] Kriegel AM, Soliman AS, Zhang Q, Ghawalby NE, Ezzat F, Soultan A et al. Serum cadmium levels in pancreatic cancer patients from the East Nile Delta region of Egypt *Environ Health Perspect.* 2006; 114.1: 113-119.
- [5] Naglaa E. Effect of Aqueous Extract of *Glycyrrhiza glabra* on the Biochemical Changes Induced by Cadmium Chloride in Rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 2019;190(1):87-94.
- [6] Alaei P, Khodarahmi P, Salehipour M. Effect of repeated injection of cadmium on Bax/Bcl-2 mRNA Level in stomach of rats. *Int J Med Sci.* 2018;5(2):133-140.
- [7] Saleh RM, Awadin WF. Biochemical and histopathological changes of subacute cadmium intoxication in male rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017;24(32):25475-25481.
- [8] Wardani G, Eraiko K, Sudjarwo SA. Protective activity of chitosan nanoparticle against cadmium chloride induced gastric toxicity in rat. *J Young Pharm* 2018;10(3):303.
- [9] Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell.* 1999;10(11), 3787-3799.
- [10] Xu X, Lei T, Li W, & Ou H. Enhanced cellular cholesterol efflux by naringenin is mediated through inhibiting endoplasmic reticulum stress-ATF6 activity in macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 2019; 1864.10: 1472-1482.
- [11] Aksu EH, Kandemir FM, Altun S, Küçükler S, Çomaklı S, Ömür AD. Ameliorative effect of carvacrol on cisplatin- Induced reproductive damage in male rats. *J Biochem Mol Toxic* 2016;30(10):513-520.
- [12] Kim KS, Lim H-J, Lim JS, Son JY, Lee J, Lee BM, et al. Curcumin ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2018;114:34-40.
- [13] Bayramoglu G, Senturk H, Bayramoglu A, Uyanoglu M, Colak S, Ozmen A, et al. Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. *Cytotechnology*, 2014; 66(2), 251-257.
- [14] Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.* 1966;16(2):359-364.
- [15] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968;25:192-205.
- [16] Matkovic B. Determination of enzyme activity in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnostika* 1988;15:248-250.
- [17] Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988;34(3):497-500.
- [18] Aebi H. *Methods in enzymology.* vol. 105. Packer, ed., Academic, NY 1984:121-126.
- [19] [19] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- [20] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$  method. *methods* 2001;25(4):402-408.
- [21] Sarwar N, Malhi SS, Zia MH, Naeem A, Bibi S, Farid G. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *J. Sci. Food Agric.* 2010;90(6):925-937.
- [22] Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, Caglayan C, Darendelioğlu E, Dortbudak MB. Protective effects of morin against acrylamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity: A multi-biomarker approach. *Food Chem Toxicol* 2020;138:111190.
- [23] Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, Yildirim S, Kucukler S, Gur C, et al. Protective effect of rutin on mercuric chloride- induced reproductive damage in male rats. *Andrologia* 2020.
- [24] Çelik H, Kandemir FM, Caglayan C, Özdemir S, Çomaklı S, Kucukler S et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. *Mol. Biol. Rep.* 2020;47(3):2023-2034.
- [25] Temel Y, Kucukler S, Yıldırım S, Caglayan C, Kandemir FM. Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2020;393(3):325-337.
- [26] Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, Özdemir S, Caglayan C, Yardım A, et al. Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation

- and neuronal apoptosis. *NeuroToxicology* 2020;76:126-137.
- [27] Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioglu E, Yildirim S, Kucukler S, Dortbudak MB. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. *J Trace Elem Med Bio* 2019;56:60-68.
- [28] Sakat MS, Kilic K, Kandemir FM, Yildirim S, Sahin A, Kucukler S, et al. The ameliorative effect of berberine and coenzyme Q10 in an ovalbumin-induced allergic rhinitis model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2018;275(10):2495-2505.
- [29] Aksu EH, Kandemir FM, Yildirim S, Küçükler S, Dörtbudak MB, Çağlayan C, et al. Palliative effect of curcumin on doxorubicin- induced testicular damage in male rats. *J Biochem Mol Toxic* 2019;33(10):e22384.
- [30] Kandemir FM, Kucukler S, Çağlayan C. Ratlarda Methotrexate Kaynaklı Karaciğer Toksisitesine Karşı Silymarin ve Naringin'in Yararlı Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2017;12(2):167-177.
- [31] Patra R, Rautray AK, Swarup D. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *J. Vet. Med. Sci.* 2011;2011.
- [32] Nair AR, DeGheselle O, Smeets K, Van Kerkhove E, Cuypers A. Cadmium-induced pathologies: where is the oxidative balance lost (or not)? *Int J Mol Sci* 2013;14(3):6116-6143.
- [33] Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Eser G. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019;26(22):22562-22574.
- [34] Kuzu M, Yildirim S, Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C, Türk E, et al. Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem. Biol. Interact.* 2019;308:89-100.
- [35] Singh P, Mogra P, Bano H, Sankhla V, Deora K, Barolia S, et al. Protective and preventive effects of curcumin against cadmium chloride induced gastrointestinal toxicity in Swiss albino mice. *World j. sci. technol.* 2012;2(12):10-17.
- [36] de Oliveira Leite G, Penha ARS, da Silva GQ, Colares AV, Rodrigues FFG, Costa JGM, et al. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. *J Young Pharm* 2009;1(1):54.
- [37] Rebelo FM, Caldas ED. Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants. *Environ. Res.* 2016;151:671-688.
- [38] Nwokocho C, Nwokocho M, Owu D, Edidjana E, Nwogbo N, Ekpo U, et al. Estimation of absorbed cadmium in tissues of male and female albino rats through different routes of administration. *Niger. J. Physiol. Sci.* 2011;26(1).
- [39] Patrick L. Toxic metals and antioxidants: part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern Med Rev* 2003;8(2).
- [40] Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Eser G. Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. *J Trace Elem Med Bio* 2019;54:69-78.
- [41] Hanedan B, Ozkaraca M, Kirbas A, Kandemir FM, Aktas MS, Kilic K, et al. Investigation of the effects of hesperidin and chrysin on renal injury induced by colistin in rats. *Biomed Pharmacother* 2018;108:1607-1616.
- [42] Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S, Mahamadu A. Improvement in colistin- induced reproductive damage, apoptosis, and autophagy in testes via reducing oxidative stress by chrysin. *J Biochem Mol Toxic* 2018;32(11):e22201.
- [43] Gobe G, Crane D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney. *Toxicol. Lett.* 2010;198(1):49-55.
- [44] Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis* 2009;14(8):996-1007.
- [45] Greenblatt D, Wygnanski I. Effect of leading-edge curvature on airfoil separation control. *J. Aircr.* 2003;40(3):473-481.
- [46] Chou X, Ding F, Zhang X, Ding X, Gao H, Wu Q. Sirtuin-1 ameliorates cadmium-induced endoplasmic reticulum stress and pyroptosis through XBP-1s deacetylation in human renal tubular epithelial cells. *Arch. Toxicol.* 2019;93(4):965-986.
- [47] Jin Y, Zhang S, Tao R, Huang J, He X, Qu L, et al. Oral exposure of mice to cadmium (II), chromium (VI) and their mixture induce oxidative- and endoplasmic reticulum- stress mediated apoptosis in the livers. *Environ. Toxicol.* 2016;31(6):693-705.
- [48] Ekinci Akdemir FN, Yildirim S, Kandemir FM, Tanyeli A, Küçükler S, Bahaeddin Dortbudak M. Protective effects of gallic acid on doxorubicin-induced cardiotoxicity; an experimental study. *Arch Physiol Biochem* 2019:1-8.
- [49] Kilic K, Sakat MS, Yildirim S, Kandemir FM, Gozeler MS, Dortbudak MB et al. The amendatory effect of hesperidin and thymol in allergic rhinitis: an ovalbumin-induced rat model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2019;276(2):407-415.
- [50] Ekinci-Akdemir FN, Yildirim S, Kandemir FM, Gülçin İ, Küçükler S, Sağlam YS, et al. The effects of casticin and myricetin on liver damage induced by methotrexate in rats. *Iran J Basic Med Sci* 2018;21(12):1281.