

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FARMAKOLOJİ - TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA TAU-FLUVALİNAT MARUZİYETİNE
KARŞI DİOSMİN VE KRİSİNİN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Didem GEDİK**

**Danışman
Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

Doktora Tezi

**Haziran 2023
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FARMAKOLOJİ -TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA TAU-FLUVALİNAT MARUZİYETİNE KARŞI
DİOSMİN VE KRİSİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
(Doktora Tezi)

Hazırlayan
Didem GEDİK

Danışman
Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2019-9194 kodlu proje ile
desteklenmiştir.

Haziran 2023
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim

Adı-Soyadı: Didem GEDİK

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Ratlarda Tau-Fluvalinat Maruziyetine Karşı Diosmin ve Krisinin Etkinliğinin Değerlendirilmesi” adlı Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Didem GEDİK

Danışman

Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Prof. Dr. Gökhan ERASLAN danışmanlığında **Didem GEDİK** tarafından hazırlanan “**Ratlarda Tau-Fluvalinat Maruziyetine Karşı Diosmin ve Krisinin Etkinliğinin Değerlendirilmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalında **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

23.06.2023

JÜRİ

Danışman : Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Üye : Prof. Dr. Murat KANBUR

Üye : Prof. Dr. Meryem EREN

Üye : Prof. Dr. Ebru YILDIRIM

Üye : Doç. Dr. Mürsel KARABACAK

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

....../....../2023

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin ve tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Danışmanım kıymetli hocam Prof. Dr. Gökhan ERASLAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ve hayatımın her döneminde benden yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yasin TEKELİ'ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca birlikte çalıştığım, desteklerini esirgemeyen ve bana katkı veren arkadaşlarım Dr. Coşkun ASLAN ve Dr. Sinem ÇALIMLI'ya teşekkür ederim.

Western blot görüntüleme aşamasındaki katkıları için Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na teşekkür ederim.

Tez projesine finansal destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Doktora eğitimime devam edebilmem için benden desteklerini esirgemeyen Kayseri Nimet Bayraktar Ağız ve Diş Sağlığı Hastanesi idaresine ve tez çalışmam boyunca yanımda olan değerli mesai arkadaşım Osman ÇAĞLAR'a teşekkür ederim.

Bütün eğitim hayatımda olduğu gibi bu zorlu süreç boyunca da sevgi, anlayış, sabır ve hoşgörü gösteren, her zaman yanımda olan, en önemlisi bana inanan, bugünlere gelmemde benden daha çok emekleri olan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Didem GEDİK

Kayseri, Haziran 2023

RATLARDA TAU-FLUVALİNAT MARUZİYETİNE KARŞI DİOSMİN VE KRİSİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Didem GEDİK

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi, Haziran 2023
Danışman: Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

ÖZET

Çalışmada ratlarda tau-fluvalinat maruziyetinde diosmin ve krisinin etkisi araştırıldı. Bu amaçla *Wistar Albino* ırkı 4-6 haftalık erkek 60 adet rat kullanıldı. Toplam 6 grup oluşturuldu ve bu grupların ilki kontrol diğer 5'i deneme olarak belirlendi (her grupta 10 adet rat). Kontrol grubundaki ratlara sadece taşıt madde (mısır yağı) uygulandı. Deneme gruplarındaki ratlara ise sırasıyla, 20 mg/kg.ca diosmin (Grup 2), 20 mg/kg.ca krisin (Grup 3), 20 mg/kg.ca tau-fluvalinat (Grup 4), 20 mg/kg.ca tau-fluvalinat ile 20 mg/kg.ca diosmin (Grup 5) ve 20 mg/kg.ca tau-fluvalinat ile 20 mg/kg krisin (Grup 6) 21 gün süreyle taşıt madde içinde (mısır yağı) ağızdan gavajla verildi. Deneme süresi bitiminde tüm hayvanlardan kan ve doku (karaciğer, böbrek, beyin, testis, kalp, akciğer) örnekleri alındı. Alınan doku örneklerinde ve kanda bazı oksidatif stres parametreleri (MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST, G6PD) değerlendirildi. Karaciğerde kaspaz 3, 9 ve p53 ifadelendirme düzeylerinin tespiti western blot yöntemi ile belirlendi. Serumda bazı biyokimyasal parametrelerin (trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, LDH, AST, ALT, ALP ve PChE) aktiviteleri/düzeyleri ölçüldü. Ratların canlı ağırlıkları ve organ (karaciğer, böbrek, beyin, testis, kalp, akciğer) ağırlıkları alındı. Yalnızca diosmin ve krisin verilen gruplarda değerlendirilen parametrelerin tümünde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık söz konusu olmadı (Grup 2 ve Grup 3). Sadece tau-fluvalinata maruz kalan gruptaki hayvanların incelenen parametrelerin birçoğunda kontrol grubuna göre önemli farklılıklar saptandı (Grup 4). Tau-fluvalinat ile diosmin ve tau-fluvalinat ile krisinin birlikte uygulandığı grupta incelenen parametrelerin değerlerinde kontrol grubuna doğru yaklaşma gözlemlendi fakat yine de bazılarında kontrol grubuna göre önemli bir değişimin olduğu tespit edildi (Grup 5 ve Grup 6). Sonuç olarak, 20 mg/kg.ca dozunda 21 gün verilen tau-fluvalinat oksidatif strese/doku hasarına neden olurken 20 mg/kg.ca dozunda uygulanan diosmin ve krisinin bu hasarı hafifletmede pozitif etkilerinin olduğu anlaşıldı.

Anahtar kelimeler: diosmin; Tau-fluvalinat; krisin; oksidatif stres.

EVALUATION OF THE EFFICACY OF DIOSMIN AND CHRYSIN AGAINST TAU-FLUVALINATE EXPOSURE IN RATS

Didem GEDİK

**Erciyes University, Health Sciences Institute
Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology,
PhD Thesis, June 2023
Advisor: Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

ABSTRACT

In this study, the effect of diosmin and chrysin on tau-fluvalinate exposure in rats was investigated. For this purpose, 60 male *Wistar Albino* rats, 4-6 weeks old, were used. A total of 6 groups were formed and the first of these groups was determined as control and the other 5 as experimental (10 rats in each group). Control animals were treated with vehicle (corn oil) alone. The experimental groups were 20 mg/kg.bw diosmin (Group 2), 20 mg/kg.bw chrysin (Group 3), 20 mg/kg.bw tau-fluvalinate (Group 4), 20 mg/kg.bw of tau-fluvalinate plus 20 mg/kg.bw of diosmin (Group 5) and 20 mg/kg.bw of tau-fluvalinate plus 20 mg/kg.bw of chrysin (Group 6) were administered orally to the animals by gavage in the vehicle (corn oil) for 21 days. At the end of the trial period, blood samples and the organs (liver, kidney, brain, testis, heart and lung) were taken. Some oxidative stress parameters (MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST, G6PD) were evaluated in tissue samples and blood. Detection of caspase 3, 9 and p53 expression levels in liver and blood was determined by western blotting method. Some biochemical parameters (triglyceride, cholesterol, BUN, creatinine, uric acid, total protein, and albumin, LDH, AST, ALT, ALP and PChE) were measured in serum. The body weights and organ (liver, kidney, brain, testis, heart and lung) weights of the rats were taken. There was no significant difference in all parameters evaluated in the groups given diosmin alone and chrysin alone compared to the control group (Group 2 and Group 3). Significant differences were found in most of the examined parameters of the animals in the group exposed to tau-fluvalinate alone compared to the control group (Group 4). In the group in which co-administration of tau-fluvalinate and diosmin and co-administration of tau-fluvalinate and chrysin were administered, it was observed that the parameter values examined were closer to the control group, but there was significant change in some of them compared to the control group (Group 5 and Group 6). As a result, it was understood that tau-fluvalinate administered at a dose of 20 mg/kg.bw for 21 days caused oxidative stress/tissue damage, while diosmin and chrysin administered at a dose of 20 mg/kg.bw had positive effects in mitigating this damage.

Key words: Chrysin; Diosmin; Oxidative stress. Tau-fluvalinate.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Pestisitler	7
2.1.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması.....	8
2.1.1.1. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre.....	8
2.1.1.2. Kaynaklarına Göre.....	8
2.1.1.3. Toksisitelerine Göre.....	8
2.1.1.4. Kimyasal Bileşimlerine Göre	9
2.1.1.5. Giriş Yollarına Göre	9
2.1.2. Dünyada Pestisit Kullanımı	9
2.1.3. Ülkemizde Pestisit Kullanımı.....	10
2.2. Piretroidler ve Eldesi.....	10
2.2.1. Piretroidlerin Sınıflandırılması.....	11
2.2.2. Kimyasal Özellikleri.....	11
2.2.3. Piretroid Toksisitesi.....	12
2.2.4. Zehirlenmelerin Tedavisi.....	13
2.3. Tau-Fluvalinat	13
2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
2.3.2. Kullanım Alanları.....	14
2.3.3. Zehirliliği ve Klinik Bulguları.....	15

2.3.4. Etki Şekli	16
2.3.5. Farmakokinetik	16
2.4. Flavonoidler	16
2.5. Diosmin	19
2.5.1. Kimyasal yapısı	19
2.5.2. Kaynakları	20
2.5.3. Farmakolojik Etkileri.....	20
2.5.4. Farmakokinetik.....	21
2.6. Krisin	22
2.6.1. Kimyasal Yapısı	22
2.6.2. Kaynakları	22
2.6.3. Farmakolojik Etkileri.....	23
2.6.4. Farmakokinetik.....	23
2.7. Oksidatif Stres	24
2.8. Apoptoz	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Malzeme, Cihaz Ve Kimyasallar.....	28
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	28
3.1.2. Kimyasallar.....	29
3.2. Kullanılan Reaktifler	32
3.2.1. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Reaktifler	32
3.2.2. Western Blotta Kullanılan Reaktifler	35
3.3. Yöntem	36
3.3.1. Deneyde Kullanılan Hayvan.....	36
3.3.2. Deneyde Oluşturulan Gruplar.....	36
3.3.3. Örneklerin Toplanması	37
3.3.4. Eritrositlerin Yıkılması ve Hemolizatların Hazırlanması	38
3.3.5. Doku Homojenatının Hazırlanması	38
3.3.6. Yapılan Biyokimyasal Analizler	39
3.3.6.1. Hemogloblin Düzeyinin Eritrositlerde Belirlenmesi	39
3.3.6.2. Protein Düzeyinin Dokularda Belirlenmesi.....	39

3.3.6.3. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Plazma ve Dokularda Belirlenmesi	39
3.3.6.4. Nitrik Oksit (NO) Düzeyinin Plazma ve Dokularda Belirlenmesi	40
3.3.6.5. Glutasyon (GSH) Düzeyinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	40
3.3.6.6. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	40
3.3.6.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	41
3.3.6.8. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	41
3.3.6.9. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	41
3.3.6.10. Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	42
3.3.6.11. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi	42
3.3.6.12. Biyokimyasal Parametrelerin Aktivitesinin/Düzeyinin Belirlenmesi	42
3.3.7. Western Blot Analiz	42
3.2.7.1. Karaciğer Dokusunda Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini	42
3.2.7.2. Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)	43
3.2.7.2.1. Poliakrilamid Jelin Hazırlanması	43
3.2.7.2.2. Proteinlerin Hazırlanması, Jele Yüklenmesi ve Elektroforez	43
3.2.7.2.3. Transfer, Bloklama, Primer ve Sekonder Antikor ile İnkübasyon	44
3.2.7.2.4. Görüntüleme	44
3.2.8. Plazma ve Karaciğer Tau-fluvalinat Analizi	44
3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	47

4. BULGULAR.....	48
4.1. Diosmin	48
4.2. Krisin	48
4.3. Tau-Fluvalinat	49
4.4. Tau-Fluvalinat ve Diosmin.....	49
4.5. Tau-Fluvalinat ve Krisin	49
5. TARTIŞMA	60
5.1. Diosmin	62
5.2.Krisin	64
5.3. Tau-Fluvalinat	65
5.4. Tau-Fluvalinat ve Diosmin.....	69
5.5. Tau-Fluvalinat ve Krisin	70
6.KAYNAKLAR	73
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

AkE	: Asetilkolinesteraz
ALP	: Alkalın transferaz
ALT	: Alanin amino transferaz
AST	: Aspartat amino transferaz
BSA	: Sığır serum albümini
BUN	: Kan üre azotu
CAT	: Katalaz
DDT	: Dikloro-difenil-trikloroetan
G6PD	: Glukoz-6-fosfat-dehidrojenaz
GC	: Gaz kromatografi
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon-s-transferaz
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LDH	: Laktat dehidrojenaz
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
PBS	: Fosfat buffer solüsyonu
PChE	: Pseudokolinesteraz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TNF	: Tümör nekroz faktör

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Plazma ve karaciğer tau-fluvalinat analizinde kullanılan GC koşulları.....	45
Tablo 4.1. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat karaciğer dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.....	51
Tablo 4.2. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat böbrek dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.	52
Tablo 4.3. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat beyin dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.....	53
Tablo 4.4. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat testis dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.	54
Tablo 4.5. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat kalp dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.....	55
Tablo 4.6. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat akciğer dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.....	56
Tablo 4.7. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat eritrosit/plazmaya ait bazı oksidatif stres parametreleri.....	57
Tablo 4.8. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat serum biyokimyasal parametreleri.....	58
Tablo 4.9. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) canlı ağırlıkları, organ ağırlıkları ve relatif organ ağırlıkları.....	59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Tau-fluvalinatın kimyasal yapısı	14
Şekil 2.2.	Flavonoidlerin genel yapısı.....	17
Şekil 2.3.	Diosminin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.4.	Krisinin kimyasal yapısı	22
Şekil 3.1.	Gaz kromatografi cihazında belirlenen analiz koşullarında elektron yakalama dedektörde tau-fluvalinat piki ve tutulma zamanı.	46
Şekil 4.1.	Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu kaspaz-3, kaspaz-9 ve p53 ifadelendirme düzeyleri.....	58
Şekil 4.2.	Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu Bax ve Bcl-2 düzeyleri.	58
Şekil 4.3.	Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu Western Blot bant görüntüsü.	59

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pestisitler farklı amaçlarla (çevre sağlığı, halk sağlığı, veteriner hekimlik, tarım vb gibi) günümüzde sıklıkla kullanılan toksik kimyasallar arasında yer almaktadır (Anadón ve ark., 2009; Chrustek ve ark., 2018; Tudi ve ark., 2021). Bu hususta en büyük endişelerden biri pestisitlerin hedef dışı organizmalara verdiği zararın yanısıra yoğun ve kontrolsüz çevre kirliliğine yol açmasıdır (Saillenfait ve ark., 2015; Field ve ark., 2017). Pestisit sınıfında yer alan piretroidler büyük ve küçük hayvan ektoparazitlerinin geniş yelpazesine etkili olup sprey, toz, şampuan, aerosol gibi çeşitli formülasyonlarda uygulanabilmektedir. Kedi, köpek, büyük ve küçükbaş hayvanlarda veteriner ilacı olarak da kullanılmaktadır (Anadón ve ark., 2009). Hem tarım hem de kentsel alanlarda tercih edilen piretroidler piretrinlerin sentetik analoglarıdır. Etkilerini sodyum/klor kanalları üzerinden gösterirler. Sinir ve kas gibi yapılar piretroid toksisitesinde birincil hedeflerdir. Ayrıca voltaj kapılı sodyum kanallarının açılıp kapanma karakterlerini de, geciktirmek suretiyle değiştirirler. Böylece sodyum iyonlarının içeri giriş süresini uzatırlar. Eğer bu süre yeterince uzunsa aksiyon potansiyelinin eşiği düşeceği için tekrarlayan uyarılar gözlenir (Casida ve ark., 1983; Bradberry ve ark., 2005; Clark ve ark., 2012; Ramchandra ve ark., 2019). Tip I piretroidler titreme, saldırgan davranış, aşırı duyarlılık ve ataksi ile karakterize tremora yol açarken diğer taraftan tip II piretroidler ise salivasyona, koreoatetoz, salivasyon ve memelilerde motor fonksiyon bozukluğuna neden olur (Davies ve ark., 2007; Chrustek ve ark., 2018; Ensley, 2018). Piretroidlerin memelilere oranla böcekler için daha toksik olmasının sebebi sodyum kanal duyarlılığının fazlalığı, vücut kitlesinin küçüklüğü, düşük vücut sıcaklığının yanısıra memelilerde zayıf deri emilimi ve zehirsiz metabolitlere dönüşümü

nedeniyledir (Bradberry ve ark., 2005; Clark ve Symington, 2012; Gajendiran ve Abraham, 2018; Ravula ve Yenugu, 2021). Piretroidler hidrofobik yapıda maddeler olması sebebiyle toprakta partiküllere ve organik yapıli maddelere güçlü şekilde bağlanırlar. Bu yüzden su yada rüzgarla uygulandıkları yerden taşınması zor bileşiklerdir (Bragança ve ark., 2019).

Tau-fluvalinat temel insektisidal bileşenleri olan *Chrysanthemum* türlerinin kuru çiçek özlerinde bulunan piretrinlerden yapısal olarak türetilen geniş spektrumlu tip II sentetik piretroit insektisittir. Yapısı doğal krizantem esterine benzer. IUPAC adlandırması (RS)-siyano-(3-fenoksifenil) metil N-(2-klor-4-triflorometilfenil)-D-valinattır. Başlangıçta 1980’de rasemik karışım şeklinde fluvalinat olarak tanıtılmıştır. Fluvalinat kullanımının sonlandırılmasından sonra fluvalinatın bir izomerinden (R-formu) türetilen tau-fluvalinat üretilmiştir. Bal arıları aslında genel anlamda çoğu piretroidlere karşı oldukça duyarlıdır ancak tau-fluvalinata karşı duyarlılıkları daha azdır. Varroa akarları (*Varroa destructor*) bal arılarının ektoparazitleridir ve akarlar tau-fluvalinata bal arılarına göre daha duyarlıdır. Bu sebeple kovanlarda kullanımı güvenlidir ve özellikle arı kovanlarında Varroaosis kontrolünde uygulama alanı bulur. Ayrıca süs bitkilerinde, seralarda, bina ve çevrelerinde, karınca yuvaları, havuç ve tohumluk olarak yetiştirilen diğer ürünler için geniş spektrumlu piretroid insektisit/mitisit olarak kullanılır. Şeftali, patates, elma, armut, narenciye ağaçları, asmalar, sebzeler, pamuk, çay ve tütün bitkileri ve çimenlerdeki çok çeşitli böcekleri ve örümcek akarlarını da kontrol altına alır (Inchem,1998; Roberts ve Hutson, 1999; Williams, 2000; Tsigouri ve ark., 2001; PubChem, 2004; EPA, 2005). Böceklerde periferik ve santral sinir sistemine etkir. Voltaj kapılı sodyum kanalları, sinir sistemi ve diğer uyarılabilir hücrelerde aksiyon potansiyellerinin başlatılması ve yayılması için gereklidir. Sinir hücrelerini tekrarlayan deşarjlar üretmeleri için uyarırlar ve sonunda felce neden olurlar (Davies ve ark., 2007; González-Cabrera ve ark., 2016; Wu, 2017). Orta derecede akut toksiktir. Oral toksisitesi için toksisite kategorisi II ve dermal toksisite için kategori III olarak sınıflandırılır. Göz (toksisite kategori III) veya cilt (toksisite kategori IV) için birincil derecede tahriş edici değildir. Akut ağızdan rat LD₅₀’si erkeklerde 282 mg/kg.ca ve

dişilerde 261-365 mg/kg.ca'dır (EPA, 1986; 2005; PubChem, 2004; EFSA, 2010). Flavonoidler çeşitli meyvelerin (narenciye meyveleri, kayısı, vişne, kuşburnu, üzüm, elma, yaban mersini gibi) gövdesinde, kabuğunda, çekirdeğinde ayrıca sebzelerde (soğan, yeşilbiber, brokoli, domates, ıspanak gibi), bazı içeceklerde (kahve, çay, kırmızı şarap gibi), soya ürünleri ve baharatlarda yaygın bir şekilde bulunan polifenolik yapıda ikincil bitki metabolitidir. Çeşitli nutrasötik, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamalarda geniş bir kullanım spektrumuna sahiptir (Sultana ve Anwar, 2008; Viskupicova ve ark., 2008; Panche ve ark., 2016). Antioksidan, antimutajenik, antibakteriyel, antianjiyogenik, anti-inflamatuar, antialerjik, enzim düzenleyici aktiviteler ve anti-kanser gibi özellikler sergilerler. Flavonoidlerin antioksidan kapasitesi reaktif oksijen türlerini temizlemesi, oksidazların inhibisyonu veya antioksidan enzim aktivasyonu ile gelişen radikal hasarını önlemesi ile ilişkilidir (Ravishankar ve ark., 2013; Kumar ve Pandey, 2013; Panche ve ark., 2016; Shen ve ark., 2022).

Diosmin narenciye meyvelerinde bulunan 3',5,7-trihidroksi-40-metoksiflavon-7-ramnoglukosid kimyasal yapısında bir flavonoittir. Hesperidin glikozitinin dehidrojenasyonu ile elde edilebileceği gibi doğal olarak da bulunabilir. İlk olarak 1925'de *Scrophularia nodosa*'dan izole edilmiştir (Campanero ve ark., 2010). Antihiperglisemik, lipid peroksidasyon önleyici, anti-inflamatuvar, antioksidan, antimutajenik ve antihipertansif olmak üzere birçok farklı biyolojik aktiviteye sahiptir (Senthamizhselvan ve ark., 2014; Gerges ve ark., 2022; Huwait ve Mobashir, 2022). Diosmin kronik venöz yetmezlik ve hemoroid gibi damar hastalıklarının tedavisinde kullanılan flebotonikler sınıfına ait bir maddedir. Diosmin bağırsak enzimleriyle diosmetine dönüşür ve diosmetin glukuronokonjugatı ile insanda plazmada ve idrarda tespit edilebilmektedir (Monograph , 2004; Chen ve ark., 2019; Gerges ve ark., 2022). Krisin özellikle propolis, bal ve mavi tutku çiçeği (*Passiflora caerulea*)'inde yaygın olarak bulunan ekonomik değere ve tıbbi etkilere sahip bir flavonoittir. *Radix scutellariae* en çok bilinen krisin ve türevlerini taşıyan tıbbi öneme sahip bitkilerdendir. *Scutellaria baicalensi* hem krisin hem de krisin-7-O-glukuronid yapısını ayrıca baikalin, skutellarein, wogonin gibi ana aktif bileşikleri içeren bir bitkidir. Kimyasal yapısı 5,7-

dihidroksi-2-fenil-4H-kromen-4-on'dur (Nabavi ve ark., 2015; Stompor-Goracy ve ark., 2021; Shen ve ark., 2022). Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejenaratif hastalıklar, antiepileptik, hepatoprotektif, antiastmatik, antienflamatuar, böbrek koruyucu, anti-diyabetojenik, antihipertansif, osteoporoz önleyici, antikanser, antitumor, antioksidan, nörotrofik, antidepresan ve antiaterojenik gibi birçok farmakolojik etkilere sahiptir. Genel anlamda doku ve organ koruyucusu olarak bilinir (Anandhi ve ark. 2014; Mantawy ve ark. 2014; Nabavi ve ark., 2015; Stompor-Goracy ve ark., 2021; Shen ve ark., 2022).

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan yapılar olarak tanımlanmaktadır. Eşleşmemiş elektron taşıyan serbest radikaller diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirken eşlenmiş elektron taşıyanlar ise daha kararlı yapıdadırlar ve bundan dolayı non-radikal olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller oksijen veya azot kaynaklı olabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; 1985; Valko ve ark., 2007). Bir antioksidan molekülü aktif bir serbest radikale elektron verebilecek kadar kararlı bir yapıya sahiptir ve böylece serbest radikalın zarar verme kapasitesini azaltır. Antioksidanlar serbest radikalleri yakalama özellikleri ile hücre hasarı geciktirir veya önlerler. Reaktif oksijen türlerini detoksifiye etmek için hücre içinde ve dışında hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidanlar bulunur. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GR), glutasyon-S-transferaz (GST), glukoz-6-fosfat-dehidrojenaz (G6PD) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerdir (Miller ve ark., 1993; Lobo ve ark., 2010; Frijhoff ve ark., 2015; Irato ve Santovito, 2021). Enzimatik olmayan antioksidanlar ise askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), glutasyon (GSH), karotenoidler, flavonoidler ve diğer antioksidanlardır (Miller ve ark., 1993; Cadenas 1997; Ologundudu, 2021). Hücre ölümüne iki farklı süreçle değerlendirilebilir. İlki inflamatuvar yanıtın artması ile hücre içi proteaz ve lizozomların serbest kalmasıyla oluşan nekroz; ikincisi ise fagositozlarca çevrelenmiş hücre kalıntılarının hızlıca yok olma süreci olan apoptozdur. Apoptozis (kontrollü hücre ölümü) organizma içi dengeyi sağlayan gerekli biyolojik olgudur (Israels ve Israels, 1999; Ayala ve ark., 2014). Apoptoz moleküler olayların bir enerjiye bağlı dizisini içeren oldukça karmaşık ve kompleks bir mekanizmadır. İki ana apoptik süreçten bahsedilir. Bunlar dışsal (ekstrinsik) /ölüm reseptör ve içsel (intrinsik)/mitokondriyal yoldur.

Bu iki mekanizma birbiri ile ilişkili olup bir yolağı etkileyen molekül diğerini de etkileyebilmektedir. Ekstrinsik olanlar transmembran reseptör aracılı tümör nekroz faktör (TNF) reseptör geni süperfamilyası üyeleri olan ölüm reseptörlerini içerir. İntrinsik sinyal yolları hücre içindeki hedefleri ve mitokondrial yolu tetikleyerek hücre içi sinyallerin üretilmesiyle reseptör aracılı olmayan apoptozisi başlatır (Bellamy ve ark., 1995; Rai ve ark., 2005; Elmore, 2007; Redza-Dutordoir ve Averill-Bates, 2016). Apoptoz, kaspaz-3, 6, 7 ve 9 gibi efektör enzimatik kaspazların aktive olarak binlerce proteinin proteolitik bölünmesiyle katalize bir hücre ölümüdür. Apoptoz geçiren hücrelerde gözlemlenen PARP bölünmesi ile PARP proteini kaspaz-3 aktivasyonu için sıklıkla kullanılan hücre protein belirteçidir. p53 geni tümör baskılayıcı özellikte olup hücrelerin yaşaması ve ölmesi için önemli bir rol üstlenmektedir (Harris, 1996; Bellamy, 1997; Cavalcante ve ark., 2019; Carneiro ve El-Deiry, 2020).

Tarımda, kapalı-açık ortamda ve veteriner hekimlikte zararlı mücadelesinde bu piretroid grubu pestisitlerin kullanımı söz konusudur (EMEA, 1995; EPA, 2005; EFSA, 2018). Kullanım hataları tau-fluvalinatın çevresel ortam ve gıdalar aracılığıyla insan ve diğer canlılarda maruziyete yol açmaktadır. Buda beraberinde birçok toksik etkiyi beraberinde getirmektedir. Pestisitler ve diğer toksin bileşen maruziyetlerine karşı diosmin (Eraslan ve ark., 2017; Ağır ve Eraslan, 2019; Mirzaee ve ark., 2019; Bozdağ ve Eraslan, 2020; Tekeli ve ark., 2021; Bahar ve Eraslan, 2023) ve krisin (Zeinali ve ark., 2018; Tekeli ve ark., 2022; Zeinali ve ark., 2022; Tekeli ve ark., 2023) uygulamasının etkilerinin incelendiği çalışmalar mevcuttur. Günümüze kadar tau-fluvalinat maruziyetine karşı diosmin ve krisinin etkisinin değerlendirildiği araştırmaya ise rastlanmamıştır. Çalışmamız bu açıdan özgün ve ileride yapılacak benzer çalışmalara ışık tutacak nitelik taşımaktadır. Bu kapsamda ratlara 21 gün boyunca farklı gruplar oluşturularak diosmin, krisin, tau-fluvalinat, tau-fluvalinat+diosmin ve tau-fluvalinat+krisin verilmiştir. Uygulama süresinin sonunda, toksisite ve toksisiteye karşı etkinlik değerlendirmesi için ratların serumunda bazı biyokimyasal değişkenlerin (trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, LDH, AST, ALT, ALP ve PChE) yanı sıra kan/doku örneklerinde oksidatif stres parametrelerinden MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST ve G6PD değerlendirilmiştir. Ayrıca karaciğerde apoptozis markırlarından kaspaz 3, kaspaz 9 ve p53 ifadelendirme düzeyleri incelenmiştir.

Çalışma öncesinde ve sonunda canlı ağırlık, çalışma sonunda ise doku ağırlıkları kayıt edilmiştir. Tüm bu analizlerden yola çıkarak tau-fluvalinat maruziyetinin meydana getirdiği olumsuz etkiler saptanmış bu maruziyete karşı diosmin ve krisinin uygulamasının toksikasyona etkileri değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Pestisitler, esas olarak tarımda veya halk sağığı koruma programlarında kullanılan bitkileri zararlılardan, yabancı otlardan veya hastalıklardan ve insanları sıtma, dang humması ve şistozomiazis gibi vektör kaynaklı hastalıklardan korunmak için kullanılan madde ya da madde karışımlarıdır. Pestisitler, tarımda zararlı böcekleri ortadan kaldırıp hastalık vektörlerini kontrol altında tutarak gıda üretimini artırdığı için yaygın şekilde kullanılmaktadır. Halk sağığı ve tarımsal ölçekte bu şekilde kullanımı ciddi çevre kirliliğı ve akut/kronik zehirlenmelere neden olmaktadır (Abdollahi ve ark., 2004, Anadón ve ark., 2009; Nicolopoulou-Stamati ve ark., 2016; Chrustek ve ark., 2018). Pestisit terimi ‘‘insan veya hayvanlarda oluşabilecek hastalıkları taşıyan; gıda, tarımsal ürünler, ahşap ve ahşap ürünleri veya hayvan yemlerinin üretimi, işlenmesi, taşınması, depolanması ve/veya pazarlanması sırasında her türlü zararlının yok edilmesi veya kontrol altına alınması amacıyla kullanılan maddelerdir’’ şeklinde tanımlanır. Bu tanım, ayrıca bitki büyümesini düzenleyici, yaprak dökücü, kurutucu veya meyve seyreltici veya ham meyvelerin dökülmesini önleyici etkenleri ve depolanma ve taşınma sırasında ticari malların bozulmasını önlemek için hasat öncesi ve sonrası ürüne uygulanan maddeleri de kapsar (FAO, 2002; Maksymiv, 2015; Abubakar ve ark., 2020). Pestisitlere inhalasyon, dermal yada daha az oranda ağızdan maruz kalınmaktadır. Pestisitlerin akut zehirli etkileri sistemik emilime bağılı ölüme kadar gidebilir. Solunum ve kardiyovasküler sistem de pestisitlere oldukça duyarlıdır. Zira astım ve alerji öyküsü olanların solunum sistemi çok daha fazla etkilenir. Kronik toksik etkilerin en yaygınları

ise kanser, nörotoksisite, doğum defektleri ve fertilitedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997; Yadav ve Devi, 2017; Eddleston, 2020).

2.1.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

2.1.1.1. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre

İnsektisit (böcek öldürücü), fungusit (mantar öldürücü), herbisit (yabancı ot öldürücü), akarisit (akar öldürücü), bakterisit (bakteri öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü), nematosit (nematod öldürücü), mollussisit (yumuşakça öldürücü), algisit (algleri öldürücü), repellent (zararlıları kaçırmak), ovisit (kene ve böcek yumurtası öldürücü), larvisid (larva gelişimini engelleyici), virusid (virüslere karşı etki eden) ve termisitler (termitleri öldürenler) (Yadav ve Devi 2017; Tiwari ve ark., 2019).

2.1.1.2. Kaynaklarına Göre

Organik kaynaklar: Doğal-bitki fitokimyasalları (uçucu yağ, bitki özleri, yağlı tohumların küspe artıkları gibi).

Sentetik-kimyasal sentez yolu ile üretilenler: Piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar, organoklorinler gibi.

İnorganik kaynaklar: İnorganik tuz karışımları (bordo bulamacı, malahit yeşili, sülfür gibi).

Biyolojik kaynaklar: Biyolojik pestisitler (mantar, bakteri, virüs gibi)

Biyolojik pestisitler (mantar, bakteri, virüs gibi) (Akashe ve ark., 2018; Bilal ve ark., 2019; Abubakar ve ark., 2020).

2.1.1.3. Toksisitelerine Göre

Doz ve zaman olmak üzere iki faktöre bağlıdır. Ne kadar miktarda maddeye (doz) hangi sıklıkla maruz kalındığı (zaman) iki farklı tipte toksisitenin oluşumuna neden olmaktadır. Akut toksisite insan, hayvan ya da bitki tek bir doza kısa süreli maruz kaldığında gelişir. Akut toksisite kendi içerisinde akut oral, akut dermal ve akut inhalasyon gibi sınıflandırılabilir. Kronik toksisite ise bir pestisite tekrarlı maruziyetten sonra gecikmiş zehirli etkinin ortaya çıkış halidir. Pestisitlere yiyecek, hava ve suyla maruz kalınabilir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından pestisit toksisitesi için yapılan sınıflandırmaya göre ise 4 ana sınıf bulunmaktadır. Bunlar; sınıf Ia, son derece

tehlikeli olan; sınıf Ib, çok tehlikeli olan; sınıf II, orta derecede tehlikeli olan; sınıf III, biraz tehlikeli olan; sınıf IV, normal kullanıldığında tehlike arz etmesi olası değildir şeklinde sıralanabilir (Tano, 2011; Saillenfait ve ark., 2015; Pathak ve ark., 2022).

2.1.1.4. Kimyasal Bileşimlerine Göre

İnsektisitler (karbamatlar, organoklorinler, organofosfatlar, piretroidler, neonikotinoidler, çeşitli pestisitler gibi), fungusitler (nitrojen fungusitleri, amid fungusitler, aromatik fungusitler, dikarboksimid fungusitler, dinitrofenol fungusitler gibi), herbisitler (anilid herbisitler, fenoksiasetik herbisitler, kuaterner amonyum herbisitleri, klorotriazin herbisitler, sülfonilüre herbisitleri gibi) ve rodentisitler (inorganik rodentisitler, kumarin rodentisitleri gibi) şeklinde sınıflandırılabilirler (Akashe ve ark., 2018; Abubakar ve ark., 2020; Gaikwad and Marial, 2022).

2.1.1.5. Giriş Yollarına Göre

Sistemik pestisitler bitki veya hayvanlarca alınan ve dokularına transfer olan pestisitlerdir. Temas pestisitleri temas ettikleri hedef canlılara etki ederler. Mide zehirleri sindirim sistemi aracılığı ile vücuda giren ve etkisini gösteren pestisitlerdir. Fumigantlar buhar oluşturarak hedef canlıları öldüren ve solunum yolu ile alınan pestisitlerdir. Kovucular (repellentler), uygulandıkları alandan haşereleri kaçırarak/uzak tutarak haşerelerin mahsulü bulma yeteneğini önlerler (Yadav ve Devi 2017; Akashe ve ark., 2018; Sulaiman ve ark., 2019).

2.1.2. Dünyada Pestisit Kullanımı

Pestisitlerin geçmişi üç periyotta değerlendirilebilir: Birincisi (1870'lerden önceki dönem) doğal pestisitlerin kullanımı örneğin eski Yunanistan'da kükürtün haşereleri kontrol etmek için kullanılması. İkincisi (1870-1945) inorganik sentetik pestisit çağı, doğal malzemeler ve inorganik bileşikler ağırlıklı olarak bu dönemde kullanılmıştır. Üçüncüsü (1945'den günümüze kadar) organik sentetik pestisit çağıdır. Yıllık yaklaşık 2 milyon ton pestisit tüketiminde en büyük katkısı Çin sağlamaktadır ve bunu Amerika Birleşik Devletleri ve Arjantin takip etmektedir (Zhang ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2019).

2.1.3. Ülkemizde Pestisit Kullanımı

Ülkemizde en çok kullanılan pestisitler sırasıyla insektisitler, fungusitler, herbisitler, akarisitler, bitki gelişim düzenleyicileri, fumigantlar ve nematositler, tuzak ve feromonlar, kış mücadelesi ilaçları ve yazlık yağlar, rodentisitler ve mollusisitler, biyolojik mücadele etmenleri ve biyopreparatlarıdır. Bölge olarak bakıldığında ise en çok pestisiti Akdeniz Bölgesi kullanmaktadır. Organoklorlu insektisitler 1945’de kullanılmaya başlanıp 1960 ve 1970’lerde yaygınlaşmıştır. 1983’den sonra kullanımına ciddi kısıtlamalar getirilmiştir. Piretroid grubu pestisitler memelilerdeki düşük, haşerelerde yüksek toksisite ve çevredeki kalıcılıklarının sınırlı olması nedeni hamamböcekleri, sivrisinek, karasinek ve kene ile mücadelede sıklıkla tercih edilmektedir (Erdoğan ve ark., 2005; Avan ve Katan, 2021; Öz ve ark., 2021; Özercan ve Taşçı, 2022).

2.2. Piretroidler ve Eldesi

Piretroidler, *Chrysanthemum* cinsinden *Chrysanthemum cinerariifolium* çiçeklerinden ekstre edilen piretrinlerin yapısal modifikasyonu ile oluşturulan sentetik insektisitlerdir. Piretroidler piretrindeki asit/alkol yapısını korurlar ve benzer kimyasal özellikleri gösterirler (Proudfoot, 2005; Burns ve Pastoor, 2018). Piretrum çiçekleri ilk olarak 1800’lü yılların başında Kafkas kabileleri tarafından vücut bitlerinin kontrolünde kullanılmıştır. 1828’de Ermeniler tarafından ticari boyutta üretilmiştir. Yugoslavya’da üretimin başlaması yaklaşık olarak 1840’larda ve I. Dünya savaşının ortalarına kadar devam etmiştir. Japonya’da II. Dünya savaşından önce ve peşinden de Doğu Afrika’da üretilmiştir. Böcek tozu ilk olarak ABD’ye 1860’larda ithal edilmiştir (Bhardwaj ve ark., 2020). Nobel ödüllü iki İsviçreli kimyacı Hermann Staudinger ve Leopold Ruzicka tarafından 1910-1916 yılları arasında bu bileşiklerin temel kimyasal özellikleri ortaya konmuştur (Casida, 1980). 1935’de Charles depolara püskürtülen mineral yağ içindeki piretrum ekstraktının depolanan ürünlerdeki zararlıların kontrolünde etkili olduğunu tespit etmiştir. 1940’larda Schechter ve arkadaşları Amerikada ilk sentetik piretroidler olan alletrin ve bioalletrini geliştirdiler. Piretroidler böcekleri öldürmede dikloro-difenil-trikloroetan (DDT)’dan 20 kat daha başarılıydı ve ayrıca çevre ve insan sağlığını etkilemiyordu. 1962’de Elliot ve arkadaşları İngiltere’de piretroid halkasında moleküler bir düzenleme ile sentetik bir piretroid olan resmetrin elde etmişlerdir. Daha

sonrasında ise Sumitomo isimli bir japon kimya firması molekülü geliştirmiştir. 1967’de Elliot’un takımı resmetrini izole ettikten sonra 4 farklı izomer karışımından oluşan ve 1. nesil piretroid olan bioresmetrini üretmişlerdir. Permetrin ise 1970’de Michael Elliot tarafından geliştirilen gün ışığında çabuk bozunmayan tarımsal amaçlı kullanılan ilk piretroiddir. 2 yeni oldukça güçlü insektisit olan sipermetrin ve deltametrin 1976’da Michael Elliot ve Japon meslektaşı Izuru Yamamoto tarafından geliştirilmiştir. Fenvalerat ise 1976’da bir kimya firması olan Sumitoma tarafından üretilmiştir (Pickett, 2016; Bhardwaj ve ark., 2020).

2.2.1. Piretroidlerin Sınıflandırılması

Fiziksel ve toksikolojik özelliklerine göre tip 1 ve tip 2 olmak üzere 2 sınıfa ayrılırlar. Tip 1 piretroidler yapısında siklopropan karboksilik ester grubu bulundurlar. Bunlar resmetrin, fenotrin, alletrin, teflutrin, bifenthrin, permetrin ve tetraetrindir. Tip 2 piretroidler siyano grubu taşırlar. Bunlar fenpropatrin, flumetrin, tralometrin, deltametrin, siflutrin, sihalotrin, sipermetrin, fenvalerat, flusitrinat ve fluvalinattır. Tip 2 piretroidler koreatetozise ve salivasyona neden olur (Gajendiran ve Abraham, 2018; Bhardwaj ve ark., 2020). Diğer yandan sınıflandırma doğal piretrinler ve sentetik piretroidler şeklinde de yapılabilir. Doğal piretrinler 6 bileşik içerir. Bunlar piretrin I ve II, jasmolin I ve II ve sinerin I ve II’dir. Sentetik piretroidler ayrıca I. ve II. nesil piretroidler olarak da sınıflandırılır. I. nesil piretroidlerin karakteristik özelliği ışık, hava ve sıcaklığa karşı oldukça hassas olmalarıdır. Bu yüzden bu piretroidler genellikle ev içi haşerelerinin kontrolünde kullanılmaktadırlar. I. nesil piretroidlerin krizantemik asitteki modifikasyonu ile elde edilen II. nesil piretroidler, ışığa duyarlı yapının stabil hale gelmesiyle ev dışında kullanılabilen insektisidal kapasitesi artırılmış bileşikler haline gelmiştir (Kaneko, 2010; Clark, 2012; Ensley, 2018).

2.2.2. Kimyasal Özellikleri

Asit, ester ve alkol bağı içeren piretroidler organofosfatlı bileşiklere benzese de asit kısımlarında iki karbon atomuna sahip oldukları için stereoizomerik (cis ve trans) bileşiklerdir. Bazı bileşiklerde, alkol grubunda sekiz farklı stereoenantiyomer verebilen bir karbon atomu vardır. Bu sebeple piretroid grubu bileşikler stereo-spesifik yapıdadırlar. Sodyum kanallarına etkileri, böcek öldürücü aktiviteleri ve memeli toksisiteleri stereo-spesifik yapıdan dolayı farklılık gösterir. Cis-izomeri trans

izomerinden daha toksiktir (Schleier ve Peterson, 2011; Costa, 2015). Piretroidlerde her biri farklı biyolojik aktiviteye sahip dört stereoizomer bulunabilir. Rasemik karışımlar veya tek izomerler şeklinde (deltametrin) pazarlanabilir. Fakat farklı izomerler ticari önemlerini yansıtacak şekilde ortak isimlere sahip olabilir. Piretrumun bir insektisit olarak başlıca dezavantajı, ışık ve hava duyarlılığıdır. Sentetik piretroidlerin geliştirilmesi doğal piretrinlerin yapısal modifikasyonuna dayanır. Bu şekilde ışığa dayanıklı bileşikler sentezlenmiş, hızlı insektisidal aktivitenin yanısıra daha zayıf memeli toksisitesine sahip bileşikler üretilmiştir (Soderlund ve ark., 2002; Bradberry ve ark., 2005). Böceklerin hem merkezi hem de periferik sinir sistemi piretroidlerden etkilenir. Başlangıçta sinir hücreleri uyarılır ve ardından paraliz şekillenir. Bundan sodyum kanalları sorumludur. Kanallar insektisitten dolayı açık kalır ve de inaktivasyon ya da deaktivasyonla kapanırlar. Böceklerde knock-down adı verilen subletal bir etki oluştururlar. Bunda yüksek lipofilitelerinin rolü büyüktür (Bloomquist, 1996; Raymond-Delpech ve ark., 2005).

2.2.3. Piretroid Toksisitesi

Dermal maruziyet piretroid toksisitesinde en sık karşılaşılan vücuda giriş yollarından biridir ve biyoyararlanım genelde % 1 civarındadır. Emilim genelde ağızdan maruziyeti takiben midede ve genellikle % 36 oranında gerçekleşir. Emilimden hemen sonra lipofilik özelliğinden dolayı hızlıca dağılır ve tükürük salgısında artış ve hipereksitabilite gibi kontrol edilemeyen etkiler meydana gelir. Bu insektisitlerin yarı ömürleri (kanda, plazmada) genellikle uzun değildir. Oral maruziyette bu süre dermal maruziyetten daha kısadır. Örneğin siflutrinin yarı ömrü 19-86 dakika arasında değişmektedir. Klinik bulgular kedi ve köpek gibi memelilerde benzerdir. Bunlardan bazıları; tükürük salgısında artış, kusma, nöbet, dispne, bitkinlik, zayıflık ve ölümdür. Nörotoksik belirtilerin dışında memelilerde dermal, hepatik, renal, kardiyak, endokrin ve üreme fonksiyonunda bozukluklar gibi etkileri vardır (Malik ve ark., 2010; Ensley, 2018). Piretroidler, piretrinler ile oldukça benzer yapıya sahip kimyasallardır. Piretrinler ile piretroidler insektisidal aktivitelerini güçlendirmek yani sinerjistik bir etki elde etmek için genellikle diğer bileşenlerle kombine kullanılırlar. Bu sinerji bazı enzimlerce yıkılmayı önler bu da toksisitesini artırır. Çoğu piretroid tek molekülden oluşmaz. Bunun yerine çeşitli moleküllerin benzer kimyasal formüllerinin aynı sıralarında olan ama düzeni farklı atomlarından oluşmaktadır. Bu bileşikler stereoizomer olarak

adlandırılır. Bazı piretroidler sekiz farklı stereoizomerden oluşur (Casida ve ark., 1983; Todd ve ark., 2003).

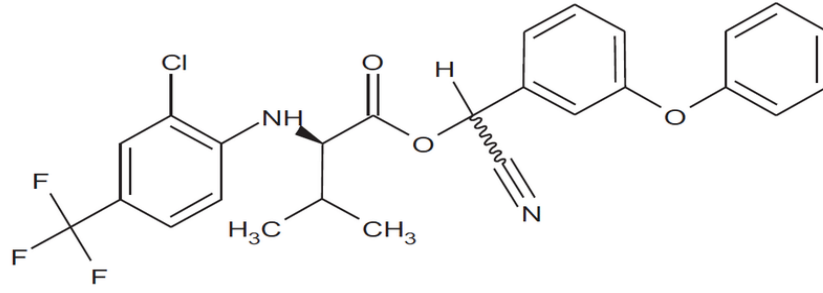
2.2.4. Zehirlenmelerin Tedavisi

Mevcut bir antidotu olmadığı için zehirlenme durumlarında tedavi semptomatiktir. Akut zehirlenme ile gelen her hastada havayolu, solunum ve dolaşımın optimizasyonu hayati önem taşır. Cilt dekontaminasyonu düşünülerek su ve sabun ile yıkanır. Piretroidlerin ağızdan alınması durumunda solvent ile birlikte aspirasyon pnömonisi riski yüksek olduğundan gastrik lavajdan kaçınılmalıdır. Aktif kömür kullanımına dair kanıtlar sınırlı olsa da ağızdan alınması durumunda 1 saat içerisinde kullanımı düşünülebilir. Nöbetler antiepileptik tedavi ile yeteri miktarda kontrol edilebilmektedir. Fenobarbital ile kıyaslandığında benzodiazepinler konvülsiyonların kontrolünde daha etkilidir (Bradberry ve ark., 2005; Ramchandra ve ark., 2019). İyi bir piretroid antidotu piretroitin modifiye ettiği sodyum kanallarını seçici bloke edebilmelidir. Lidokain ve tetrakainin kardiyak toksisiteleri kullanımlarını kısıtlasa da sodyum kanallarına etkilerinden dolayı hayvan çalışmalarında olumlu sonuçlar vermiştir. Diazepam, fenitoin ve fenobarbital piretroit zehirlenmesinin semptomatik tedavisinde kullanılır (Oortgiesen ve ark., 1990; Ramchandra ve ark., 2019).

2.3. Tau-Fluvalinat

2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Fluvalinat ilk olarak 1983'te tau-fluvalinat formunda kaydedilmiştir. Sentetik piretroid olan fluvalinat; sıvı halde, sarı renkte, suda pratik olarak çözünmeyen fakat organik çözücülerde çözünen, ışığa dayanıklı bir maddedir. Molekülün kimyasal formülü $C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$ ve kimyasal adı (RS)-alfa-siyano-3-fenoksifenil N-(2-kloro-a,a,a-trifloro-p-tolil)-D-valinat olup molekül ağırlığı 502,93'tür (Şekil 2.1). Mavrik ve Klartan en çok bilinen ticari isimleridir (Kaneko ve Miyamoto, 2001; Kaya ve ark., 2014). "Mavrik 2F" isimli ticari preparat tau-fluvalinatın sudaki yağ emülsiyonu şeklinde hazırlanmıştır ve 240 g/L etken madde içerir. Dört izomerden oluşan fluvalinat tau-fluvalinat formunda iken 1:1 oranda iki izomerin (R- α -siyano ve S- α -siyano) karışımını temsil etmektedir (EFSA, 2010; Brancato ve ark., 2018).



Şekil 2.1. Tau-fluvalinatın kimyasal yapısı (Aljedani, 2021).

2.3.2. Kullanım Alanları

Tau-fluvalinat ilk olarak 1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda dışı kullanımlar için Zoecon Şirketine tescil edilmiştir. 1986'da pamuk ve kahvede kullanımı için genişletilmiş ancak bu kullanımlar daha sonra iptal edilmiştir. 1990 yılında tau-fluvalinat, arı kovanlarında kullanılması onaylanan ilk kimyasal olmuştur. Boş arı kovanlarına yerleştirilen şeritlerle sürekli kullanımı şu anda kayıtlı tek gıda kullanımıdır. 1999 yılında, Kaliforniya'da tohumluk olarak yetiştirilen havuçlar için özel bir yerel ihtiyaç olarak onaylanmıştır. Buna 2004 yılında yine Kaliforniya'da tohumluk olarak yetiştirilen lahana/karnavut bitkileri için ikinci bir kayıt eklenmiştir. Böceklerde yüksek etkinliği, kalıntı aktivitesinin kısa ömürlü olması ve düşük memeli toksisitesi tau-fluvalinatı ideal bir insektisit yapar (EPA, 2005; Tao ve ark., 2016). Meyve ağaçları, sebze, tahıl, pamuk, çay, tütün gibi ürünlerde bulunan örümcek akarının aynı zamanda arı kovanlarında *Varroa dest.* türü parazitlerin kontrolünde kullanılır. *Varroa* bal arılarının larva, pupa ve erginlerinde yaşayan, onların kan sıvısını (haemolymph) emerek beslenen bir dış parazittir (Roberts ve Hutson, 1999; Rosenkranz, 2010; Ritter, 2015). Tau-fluvalinat keneler ve akarlarda böceklere olduğundan çok daha toksiktir ve bu durumun önemli sonucu olarak *Varroa destructor* akarını kontrol altına almakta yaygın bir şekilde kullanılır. *Varroa jacobsoni*, *Apis Cerena* ve *Apis Mellifera* cinsi arılarda görülen dış parazittir. Bu cins arılarda meydana gelen hastalıklarda ilk sırada yer alır. Fluvalinat bu parazite karşı kullanılan en önemli bileşenlerdendir (Kumova, 2001; Field ve ark., 2017). Apistan, Mavrik, Klartan gibi ticari formülasyonlarından özellikle Apistan 1988'den bu yana varroatozisi kontrol altına almak için arıcılıkta yaygın olarak kullanılır. Her koloniye uygulanacak olan ilaç miktarı uygulama tekniğine göre değişir. Önerilen uygulama, yılda 1 ya da 2 kez 4-8

haftalık periyotlarda 2 adet Apistan stribinin koloniye yerleştirilmesi şeklindedir. Apistan tau-fluvalinatın arıcılıkta kullanılan lipofilik halidir ve bu uygulama süresince toplam akarasit plastik stripler yardımıyla küçük porsiyonlar şeklinde uygulanmış olur. Bununla birlikte resmi olmayan suda çözünen tarım formülasyonunun uygulanması da sıklıkla yapılmaktadır. Arıcılar, tarımda kullanılan aköz süspansiyonu ya sprey şeklinde ya da bu formülasyonun emdirildiği ağaç (ahşap) parçalarını kullanarak uygulama yapabilmektedir. Apistan olarak arıcılıkta kullanılan tau-fluvalinat balda kontaminasyona rastlanılmazken tarım formülasyonunun kullanılması balda kalıntı oluşturur. Tau-fluvalinat lipofilik karakterinden dolayı baldan ziyade mumda birikmeye daha meyillidir (Tsigouri ve ark., 2001; Hillier ve ark., 2013; Erban ve ark., 2019). Diğer α -siyano grubu taşıyan piretroidlerin varroa kontrolünde kullanılması oldukça toksik etkilere yol açarken tau-fluvalinatın spreyle uçuş fazındaki arılara uygulanması dahi oldukça güvenlidir. Kovan içine yapılan tekrarlayan uygulamalarda mum en fazla 200 ppm'e kadar kontamine edilebilmektedir. Tau-fluvalinatın varroa kontrolünde bu denli yaygın ve tekrarlayan kullanımı dirençli akar seleksiyonunun oluşmasına ve varroasid etkinliğinde azalmaya neden olur. Tau-fluvalinat kaynaklı varroa dirençliliğinin mekanizması sodyum kanal genlerinde mutasyon gerçekleşmesi şeklinde tanımlanır (Erban ve ark., 2019; Reid ve ark., 2020). Gelişen rezistans da “*kdr* (knock down resistance)” mutasyonu meydana gelir. Akarın sodyum kanallarının kapı özelliklerinde değişim yapmasıyla piretroidlerin bağlanma noktalarına bağlanamamaları etki azalmasıyla sonuçlanır (Hubert ve ark., 2013; Stara ve ark., 2019).

2.3.3. Zehirliliği ve Klinik Bulguları

Fluvalinat gözler ve çeşitli deri bölgeleri için oldukça korozif olan sentetik piretroid insektisit/akarisittir. Tip 2 sentetik piretroid sınıfına ait olan tau-fluvalinat aşırı derecede salivasyon, lakrimasyon, titreme, pençeleme, anormal tutumlar, şişkin gözler ve hipoaktiviteyi takiben görülen hiperaktivite gibi karakteristik klinik belirtiler ortaya çıkarır. Gözlemlenen diğer nörotoksik etkiler ise yetiştirmede, ön ayak kavrama gücünde ve vücut sıcaklığında azalma, ağrıya karşı hassasiyet ve motor, otomatik ve sensörmotor fonksiyonunda azalmadır (EPA, 1986; 2016; He ve ark., 1989).

2.3.4. Etki Şekli

Diğer sentetik piretroidler gibi böcekleri sinir sistemlerine zarar vererek öldürür. Özellikle sentetik piretroidler akson Na ve K kanallarındaki mücadele ile merkezi sinir sisteminde, periferik sinirlerde ve iskelet kası liflerinde tekrarlayan deşarjlara ve güçlü uyarıcı eylemlere yol açar. Böylece sinirler sinyalden sonra reşarj özelliğini kaybeder. Fluvalinat da diğer tipik sentetik piretroidler gibi nörolojik belirtilere sebep olur. Kemirgenlerde periferik sinirlerde sinir hücresi dejenerasyonuna yol açar. Deri parestezisi (ciltte karıncalanma ve yanma hissi) meydana gelebilir (Vijverberg ve ark., 1982; Aldridge, 1990; Soderlund ve ark., 2002; Dong, 2007; Casida ve Durkin, 2013).

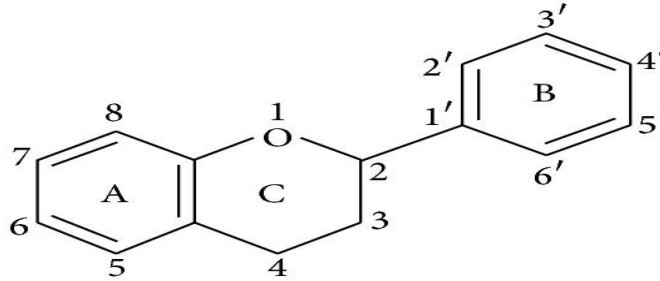
2.3.5. Farmakokinetik

Bu gruptaki pestisitlerin emilimlerinin değişkenlik gösterdiği, dokularda birikme eğiliminin çok fazla olmadığı, hızla metabolize edildiği, idrar ve dışkıyla atılım gösterdiği bilinmektedir. C14 ile işaretlenmiş tau-fluvalinatın ratlara 1 mg/kg olarak uygulanması ile uygulamadan 4 gün sonra % 9-19 oranında idrarla ve % 75-88 oranında feçesle atılır. En önemli metabolik yolak, asit ve alkol kısımlarındaki ester bağlantısının kopmasıdır. Ester hidrolizi anilino asit oluşumu ile sonuçlanır. Başlıca üriner metabolitler; anilino asit, anilino asitin hidroksi metil türevi, anilino asitin glisin konjugatı, haloanilin ve hidroksihaloanilinin sülfat konjugatıdır. Diğer yandan feçes metabolitleri ise anilino asit, anilino asitin amid türevi ve çeşitli endojen bileşikler ile anilino asiti çeşitli konjugatlarıdır. İnsanlarda yapılmış toksikokinetik çalışmalar mevcut değildir. Toksikokinetiğinin sipermetrin yada deltametrin gibi diğer piretroidlerdeki gibi fenoksi benzoat içeren ester kalıntıları şeklinde olduğu düşünülmektedir (Kaneko ve Miyamoto, 2001; Anadón ve ark., 2009; 2013; Tarazona ve ark., 2022).

2.4. Flavonoidler

Flavonoidler bitki türlerinde yaygın olarak bulunur ve fenilalaninden ikincil metabolit olarak sentezlenirler. Pek çok flavonoid bitki zarlarını kurumadan, oksidasyondan ve UV hasarından koruyucu antioksidan özellikler gösterir ve bitkilerin uygun gelişmeleri için önemlidir. Bitkinin büyümesini hızlandırır ve mikrobiyal etkiye karşı bağışıklığını destekler. Çiçeklerde renklenme ve tozlaşma, yapraklarda ise bitkiyi UV-B radyasyonu ve mantar enfeksiyonları gibi fizyolojik değişimlerden koruma görevleri bulunur (Cushnie ve Lamb, 2015; Alkhalidy ve ark., 2018). Beslenmede önemli yeri vardır.

Propolis, bal, çay ve şarabın yanı sıra meyve, sebze, kabuklu yemiş, tohum, bitki gövdeleri ve çiçeklerde yaygın olarak bulunur (Ross ve Kasum 2002; Cushnie ve Lamb, 2015). Bitki ve flavonoidleri içeren yiyecekler eski zamanlardan bu yana çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Alkhalidy ve ark., 2018; Zaragozá ve ark., 2022). Flavonoidler besin ve ilaç kombinasyonunu karşılayan nütresötikler olarak adlandırılır. Hem hastalıkların önlenmesinde hem de tedavisinde yararları bilimsel olarak kanıtlanmış ‘herhangi bir toksik etkiye sahip olmayan gıda ekstraktı’ olarak bilinirler (Ross ve Kasum, 2002; Alkhalidy ve ark., 2018). Dokuzbini aşkın flavonoid bileşiği 15 karbon atomu (C6-C3-C6) ile yaygın 3 halka parçasının (A-B-C halkaları) basit kimyasal yapısını paylaşır (Şekil 2.2). Metil, hidroksil, glikan, asetil veya diğer grupla heterosiklik halkanın (C halkası) fonksiyonel grubunun değişimiyle çeşitli alt gruplar türetilir. Kimyasal yapılarına göre temelde flavonoidler (2-fenil kroman) ve izoflavonoidler (3-fenil kroman) olmak üzere 2 ana gruba ayrılırlar. 2-fenil kromanlar flavanon, flavon, flavanol, flavan-3-ol ve antosiyanidin alt gruplarını 3-fenil kromanlar izoflavon, izoflavan ve pterokarpan alt gruplarını kapsarlar (Alkhalidy ve ark., 2018; Xing ve ark., 2021).



Şekil 2.2. Flavonoidlerin genel yapısı (Kumar ve Pandey, 2013).

- Flavonoller; en sık rastlanan flavonoidlerden bir tanesidir. Kapari, baharatlar, elma, kızılçık, roka, kuşkonmaz, brokoli, lahana, frenk soğanı, kişniş, hindiba, rezene, zencefil, bamya, soğan, biber, turp (çiğ, çekirdek, yaprak), fasulye, karabuğday başta olmak üzere birçok besinde bulunur. En bilinenleri kuersetin, kamferol, mirsertin, izoramnetin, rutin, silimarin ve silibindir. Antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, kardiovasküler hastalıkların ve diyabetin önlenmesine katkı verir (Wang ve ark., 2009; Xing ve ark., 2021).

- Flavanonlar; kurutulmuş kekik, greyfurt, limon, portakal, greyfurt suyu, limon suyu, portakal suyunda bulunmaktadır. Hesperidin, naringenin, eriodiktiol ve naringin grubun en çok bilinenlerindendir. Genellikle turunçgillerde bulunur. Bitkilerdeki formu glikozit şeklindedir. Vücuda giren bu glikozit formu epitelyal β -glukozidaz tarafından deglikolizasyon işlemine uğrar (Alkhalidy ve ark., 2018; Wang ve ark., 2021).
- Flavonlar; kuru kekik, kereviz tohumu, kuru maydanoz, kekik, kereviz, maydanoz, biberde bulunur. Luteolin, apigenin, viteksin ve orientin flavonlara örnek olarak verilir. Antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal, antihiperglisemi, antialerji ve kanserde kimyasalların zararlı etkilerini önleme gibi sayısız biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptirler (Arts ve Hollman, 2005; Wang ve ark., 2021).
- Flavan-3-oller; elma, bakla, ceviz, fıstık, şarap, kakao, çay (yeşil, siyah), soya fasulyesinde bulunur. Kateşin, gallokateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin 3-gallat, epigallokateşin 3-gallat, teaflavin, tealavin 3-gallat, teaflavin 3'-gallat, teaflavin 3,3'-digallat-rearubin bu grubun en bilinen örnekleridir. Antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, immünmodülatör, antialerjik ve antiviral etkileri vardır (Alkhalidy ve ark., 2018; Martín ve Ramos, 2021).
- Antosiyanidinler; yaban mersini, böğürtlen, aronya, mürver, ahududu, turna yemişi, taşarmudu, kuş üzümü, üzüm, erik, kırmızı lahana, patlıcan, ceviz, fıstık, şarap, kara fasülyede bulunur. Siyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, petunidin antosiyanidinlere örnektir. Diğer flavonoidlerden farklı renk yapıları ile tanınırlar. Temel yapıdan, yardımcı pigmentasyondan, metal iyon kompleksinden ve vakuol pH'ından etkilendikleri için farklı renklerde görünür (Neuhouser, 2004; Gutierrez ve ark., 2017).
- İzoflavonlar; kırmızı yonca, soya fasülyesi ve soya fasülyesi ürünlerinde (süt, yoğurt, peynir) bulunur. Daidzein, genistein ve glisitein örnek olarak gösterilebilir. Bu bileşiklerin antioksidan, antitümör ve β -galaktosidaz inhibitörü etkinlikleri vardır (Wang ve ark., 2020).

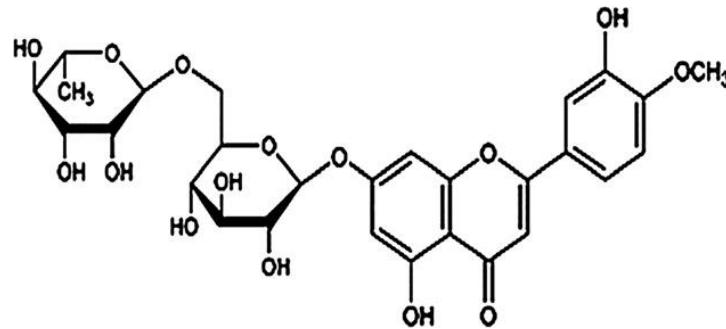
Bu bileşikler pek çok fizyolojik ve biyokimyasal süreçte antioksidan, enzim sistemi inhibitörü ve toksik maddeler ile pigmentlerin prekürsörü olarak aynı zamanda

enfeksiyona karşı savunma, inflamatuvar cevabın düzenlenmesi ve trombosit birikiminin gidişatını kapsayan çok önemli rollere sahiptirler. Flavonoidler antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptik, antiviral, antitumorejenik aktiviteler gösterir. Diosminin hepatik yaralanmayı da içeren bazı organ hasarlarına karşı koruyucu etkisi vardır (Pietta, 2000; Al-Asmari ve ark., 2021; Zaragoza ve ark., 2022). Flavonoidler aglikon veya glikozitler şeklindedir. Glikozit formundaki flavonoid bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılırken, aglikon formundaki flavonoid hücre membranlarından geçebilmektedir. Emilen flavonoidler karaciğere ulaştıklarında birçok farklı metabolik reaksiyonlara maruz kalır. Karaciğerde glukuronitler, sülfatlar ve metillenmiş türevleri gibi çeşitli konjugasyon formlarına dönüşür (Ross ve ark., 2002; Walle ve ark., 2005; Viskupičová ve ark., 2008). Ağızdan başlayarak, flavonoidler ilk olarak bitki matriksinden salınır ve bazıları flavonoid glikozitler tükürükte aglikonlara hidrolize edilirler. Bazı flavonoidler mideden emilirken çoğunluğu ince bağırsakta enzimatik hidrolize uğrar ve ileri derecede metabolize edilirler. Hidrolize edilme süreci beta glukosidaz tarafından flavonoidlerin glikozilasyonunu içerir. Hidrolize flavonoid ince bağırsakta glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak daha fazla metabolize edilir. Konjugasyonla flavonoid, yapısındaki B halkasındaki bir hidroksil grubu ile glukuronidasyona daha az eğilimli hale gelir. Bu durum daha uzun süreli bir metabolizasyona neden olur (Németh ve ark., 2003; Walle ve ark., 2005; Alkhalidy ve ark., 2018).

2.5. Diosmin

2.5.1. Kimyasal yapısı

Diosminin kimyasal yapısı 3',5,7-trihidroksi-4'-metoksi flavone-7-ramnoglukozittir (Şekil 2.3) (Gerges ve ark., 2022; Huang ve ark., 2022).



Şekil 2.3. Diosminin kimyasal yapısı (Gerges ve ark., 2022).

2.5.2. Kaynakları

Diosmin ve onun aglikon formu diosmetin oldukça yaygın bilinen polifenolik bileşiklerdir. Buchu bitkisinin (*Barosma* türleri, *Rutaceae* familyası) yapraklarında ve Zufa otunda (*Hyssopus officinalis* L) bulunur. Yada turunçgillerin perikarpındaki hesperidinden sentetik olarak elde edilebilir (Khamchun ve ark., 2021; Zaragozá ve ark., 2022).

2.5.3. Farmakolojik Etkileri

Diosmin en yaygın zayıf kan akışının neden olduğu bacak yaraları ve hemoroidi önlenmede kullanılır. Şişkinlikleri azaltıp normal ven fonksiyonunu düzelterek etkisini gösterir (Huwait ve Mobashir, 2022). Venöz yetmezlikte flebotonik olarak kullanılır ve hemoroidal hastalıkların şiddetini ve semptomlarını düzenler (Khamchun ve ark., 2021; Zaragozá ve ark., 2022). İlk olarak sarı kantaron bitkisinde 1925’de bulunmuştur. Hemoroid, varisli damarlar, venöz yetmezlik, bacak ülserleri ve diğer dolaşım bozukluklarında kullanılmıştır. Kan akışının kısıtlı olduğu venöz yetmezlikte inflamasyonu azaltıp normal kan akışını düzenler (Monograph, 2004; Huwait ve Mobashir, 2022). Diosmin ve metabolitlerinin antioksidan, reaktif oksijen türlerini yakalayıcı ve antiinflamatuvar etkisi vardır. Antialerjik, antibakteriyel, östrojenik, antikanser, hepatoprotektif, nöroprotektif, kardiyovasküler koruma, renoprotektif, retina koruyucu, antitrombotik ve antiviral potansiyelleri bulunmaktadır. Ağızdan alındığında sudaki çözünürlüğünün zayıf olması nedeniyle sınırlı sistemik biyoyararlanıma sahiptir (Boisnic ve ark., 2018; Zheng ve ark., 2020; Gerges ve ark., 2022). Antioksidan özelliği oksidatif dengesizliğe bağlı enzim ve biomarkerları içeren bir dizi değişkenin aktivitelerini başarılı bir şekilde düzenlemesiyle ilintilidir. MCF-7, MDA-MB-231 ve SKBR-3 meme kanser hücreleri, aynı zamanda DU145 prostat kanser hücreleri, A431 cilt kanser hücreleri ve kolon, ağız, mesane ve özefagus kanserinde apoptozisi tetikler. Ayrıca antidiabetik özellikleri de mevcuttur. Diabette, nöropati ve dislipidemi gibi ilişkili komplikasyonlarında terapötik etkilere sahiptir. Diosmin ve hesperidin kombinasyonu kronik venöz yetmezlik ve hemoroid tedavisinde etkilidir. Aynı zamanda insan eklem kondrositlerinde kondroprotektif etkiye sahiptir (Khamchun ve ark., 2021; Zaragozá ve ark., 2022; Huwait ve Mobashir, 2022). İlk kez 1969’da inflamatuvar hastalıklarda terapötik ajan olarak kullanılmıştır. Lipit peroksidasyon göstergeleri olan

malondialdehit ve nitrik oksit seviyelerini azaltarak oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterir. Süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim aktivitesini ve glutasyon seviyelerini artırır (Gandhi ve ark., 2020; Wójciak ve ark., 2022). Diosminin mikronize nutrasötik formülasyonu ticari ismi Daflon® uzun yıllar kronik venöz hastalıklarda, hemoroidde, subkonjonktival ve retinal hemoraji, diş eti kanaması ve diyabetin tedavisinde kullanılmıştır (Thanapongsathorn ve ark.,1992; Srinivasan ve ark., 2019). Oksidatif stres, miyokard infarktüs, serebral iskemi reperfüzyon hastalığı, diyabet, nöral hücre hasarı, hipoksi ve kanseri içeren çeşitli hastalıkların gelişimiyle bağlantılıdır. Bu antioksidan özelliklerinden dolayı, oksidatif stresle tanımlanan hastalıklar için çeşitli terapötik etkiler sunabilir. Serbest oksijen radikallerinin yakalanması ve prostaglandin ve prekürsörü olan isoprostan gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin azaltılması gibi etkilerinden dolayı antioksidan aktivitesi mevcuttur. Artrit, alerji, astım, otoimmün hastalık, ateroskleroz, diyabet ve kanseri içeren pek çok inflamasyonlu hastalığa neden olur. En yaygın inflamasyon göstergeleri nötrofil, bazofil, eozinofil, trombosit, makrofajlar gibi bağışıklık sistem hücreleri ile diğer hücre yüzey reseptörleri, selektinler gibi adhezyon molekülleri ve sitokinler gibi solübl mediyatörlerdir (Monograph, 2004; Feldo ve ark., 2018; Huwait ve Mobashir, 2022).

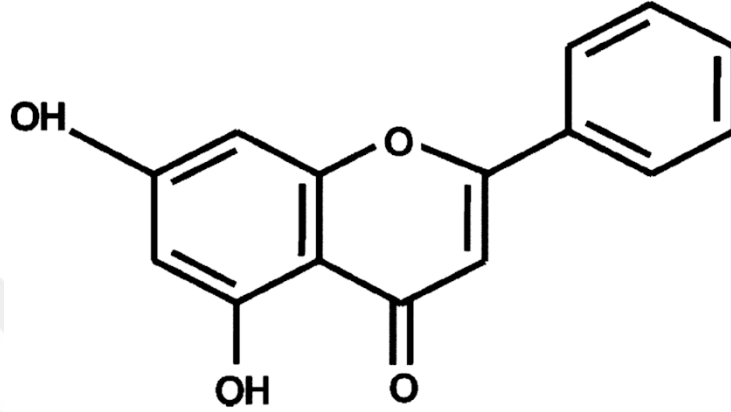
2.5.4. Farmakokinetik

Diosmin insanlarda plazma yarı ömrü ağızdan alındığında 26-43 saat arasındadır. Bağırsak mikroflora enzimlerince hidrolize olan diosmetine dönüşür. Bu şekli daha kolay emilir ve vücudun her bölümüne dağılır (Huang ve ark., 2022; Huwait ve Mobashir, 2022). Diosmetin bağırsak çeperinden emilip sistemik dolaşıma geçtiğinde enzimatik olarak 3-O-glukuronid ve 3,7-O-diglukuronide esterlenir. Ağızdan diosmin alımını takiben plazma diosmetin düzeyi düşüktür. Plazma konsantrasyonlarında bağırsak emiliminde partikül boyutunun kısıtlayıcı etkisinden dolayı diosminin mikronize formu geliştirilmiştir. Diosmin fenolik asit veya glisin konjuge türevlerine parçalanarak idrarla vücuttan atılır. Alkil fenolik asit gibi parçalanma ürünlerinin varlığı metabolizma yolağının diğer flavonoidlere benzediğini gösterir (Russo ve ark., 2018; Huwait ve Mobashir, 2022).

2.6. Krisin

2.6.1. Kimyasal Yapısı

Krisin (5,7-dihidroksi-2-fenil-4H-kromen 4-on) 15 karbon iskeletine sahip flavon sınıfından polifenolik bir bileşiktir (Miyamoto ve ark., 2006; Ganai ve ark., 2020) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Krisinin kimyasal yapısı (Miyamoto ve ark., 2006; Ganai ve ark., 2020).

2.6.2. Kaynakları

En önemli doğal kaynağı çarkıfelek meyvesi (*passiflora spp*), bal ve propolistir. Salgı balında bu flavonoidin içeriği 0,10 mg/kg'dır. Orman ballarında bu oran 5,3 mg/kg'a kadar çıkabilir. Propolisteki krisin içeriği 25 g/kg civarındadır. Mantarlardaki krisin düzeyi ise 0,17-0,34 mg/kg aralığındadır. Krisin ve türevleri tıbbi olarak oldukça iyi bilinen *Radix scutellariae*'nin birincil bileşenlerinden biridir. Doğada aglikon yapısıyla O-glikozit veya C-glukozit formu şeklinde bulunmaktadır (Naz ve ark., 2019; Moghadam ve ark., 2020; Gao ve ark., 2021). Krisin içeren bazı kaynaklar; *Oroxylum indicum*, *Cytisus multiflorus*, *Cytisus villosus*, *Crataegus oxyacantha*, *Pelargonium crispum*, *Mangifera indica*, *Desmos cochinchinensis*, *Passiflora incarnate*, *Passiflora coerulea*, *Scutellaria immaculata*, *Scutellariabaicalensis*, *Scutellaria ramosissima*, *Scutellaria orientalis*, *Scutellaria bornmuelleri*, *Scutellaria lateriflora*, *Scutellaria tomentosa*, *Pyrus pashia*, *Teloxys graveolens*, *Artocarpus heterophyllus*, *Centaurea omphalotricha*, *Eriodictyon californicum*, *Alpinia oxyphylla*, *Lactarius deliciosus*, *Suillus bellinii*, *Pleurotus ostreatus* ve *Chaetomium globosum* (Hadjmohammadi ve ark., 2010; Al-Hatamleh ve ark., 2020; Talebi ve ark., 2021)'dur.

2.6.3. Farmakolojik Etkileri

Krisin diğer flavonoidlerin aksine A halkasında hidroksil grupları (5,7-dihidroksi) bulunduran B halkası üzerinde herhangi eklenti yapı olmayan bir kimyasal yapıya sahiptir. Krisinin biyolojik aktiviteleri B ve C halkalarındaki oksijenasyon eksikliği ile ilgilidir. Farklı flavonların antioksidan aktivitesi farklı kimyasal yapılarından kaynaklanır. C-4 üzerinde karbonil grubunun varlığı ve C-2 ve C-3 arasında çift bağ olması krisinin antioksidan aktivitesi ile yakından ilişkilidir. Flavonoidler düşük dozlarda oldukça etkilidir oysa yüksek miktarda tüketildiğinde toksik etkiye neden olur. Krisinin önerilen günlük dozu 0,5-3 g arasındadır (Naz ve ark., 2019; Pingili ve ark., 2019; Gao ve ark., 2021). Obeziteye ve kardiyovasküler hastalıklara etkilidir. Antialerjik, hepatoprotektif, nöroprotektif, antikanser, antidiabetik, antibakteriyel, antihipertansif, vasodilatör, anksiyolitik, antiviral, antiöstrojenik, antiaging, antikonvülsan, antioksidan ve antiinflamatuvar etki gibi birçok özelliklere sahiptir. Mezenkimal kök hücre proliferasyonunu artırır (Kasala ve ark., 2015; Naz ve ark., 2019; Huo ve ark., 2021). İndüklenebilir nitrik oksit sentazı (iNOS) ve nükleer faktör- κ B'yi baskılayarak astımı önler. Histon deasetilasyon ve DNA topoizomerez inhibisyonuna sebep olur. İskemi sonrası fonksiyonel iyileşmeyi güçlendirerek kardiyoprotektif etki oluşturur. Histamin salımını ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu bloke ederek antiinflamatuvar aktivite gösterir. Östrojen reseptörü/mitojenlerce aktive edilen protein kinazın (MAPK) aktivasyonu ile osteoporozun önüne geçer. TNF- α ve interlökin (IL)1b'nin inhibisyonu ile matriks metalloproteinaz-2 aktivitesini azaltıp renoprotektif, antihiperkolestrolemik ve antidiabetik etki gösterir. Meme kanser hücrelerinde metastik dönemi önleyici rolü vardır (Samarghandian ve ark.,2016; Pingili ve ark., 2019).

2.6.4. Farmakokinetik

Krisinin oral biyoyararlanımı düşüktür. Hızla dışkıyla atılır. Sülfat formu plazmada saptanabilmektedir. Oldukça düşük çözünürlükte, zayıf derecede emilen ve hızla metabolize edilen bir madde olduğundan biyoyararlanımı çok düşüktür (Farkhondeh ve ark., 2019; Talebi ve ark., 2021). Oral krisin verildiğinde değişmemiş krisin düzeyi çok azdır. Krisinin plazmaya bağlanması % 99'dan yüksektir. Bu değerler kuersetin ile oldukça benzerlik gösterir. Krisinin oral biyoyararlanımı sınırlıdır. Ağırlıklı olarak

glukuronidasyon ve sülfat konjugasyonu ile metabolize edilir. Daha az olarak da karaciğer ve bağırsak hücrelerinde oksidasyona uğrar (Nabavi ve ark., 2015; Talebi ve ark., 2021). Metabolitlerinin eliminasyonu MRP2 taşıyıcısıyla efflux ile atılımına bağlıdır. Krisin glukuronat ve sülfat, idrarda ve plazmada oldukça düşük seviyede bulunur. Krisin ve metabolitlerinin eliminasyon yolu feçesle olur. İyi bilinen testesteron artıcı bitkisel kaynaklardandır. İnsanlarda 500 mg krisin herhangi yan etkiye ve akut dozajında gözlenebilir bir toksik etkiye yol açmaz. Yüksek dozda flavonoidler toksisiteye neden olabilir (Nabavi ve ark., 2015; Mani ve Natesan, 2018; Talebi ve ark., 2021)

2.7. Oksidatif Stres

Serbest radikaller dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan molekül ya da molekül parçalarıdır. Diğer moleküllerden bir elektron yakalama yatkınlıklarından dolayı stabil değildir ve oldukça reaktif yapılardır. Süperoksit iyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH), alkoksil radikali (RO), peroksil radikali (ROO), hidroperoksil radikali (ROOH) gibi reaktif oksijen türleri oksidatif stresle ortaya çıkar. Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit (NO), nitrik dioksit (NO_2) ve peroksinitrit (NO_3) gibi maddelerdir. En çok bilinen bu iki türün dışında reaktif kükürt türleri, reaktif karbonil türleri ve reaktif selenyum türleri bulunmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Finaud ve ark., 2006; Pisoschi ve Pop, 2015; Sies ve ark., 2017). Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine değişmesi, redoks sinyallerinin ve fizyolojik fonksiyonların bozulmasıyla karakterize bir durumdur. Oksidatif stres geri dönüşümsüz kimyasal modifikasyonlara neden olur. Oksidatif stres kavramı, redoks homeostazının kararlı değişikliğini ifade eder. Bu dengenin bozulması stresi başlatan olaydır (Frijhoff ve ark., 2015; Ursini ve ark., 2016). Vücutta serbest radikallerin neden olduğu olumsuz etkileri önlemek için birçok antioksidan savunma sistemi bulunur. Antioksidanlar, hedef molekülde oksidatif hasarı geciktiren veya engelleyen maddelerdir. Bu moleküller elektron vererek serbest radikalleri nötralize edecek kadar kararlıdır. Serbest radikal hasarına karşı korunma sisteminin temeli oksidasyon karşıtı enzimatik sistemdir. Antioksidanlar biyolojik oksidan ile antioksidan dengesini korumak için fazla reaktif oksijen türlerini detoksifiye eden temizleyicilerdir. Endojen antioksidanlar; radikal oluşumunu engelleyerek, kendilerini okside ederek ve nötralizasyona neden olarak diğer moleküllerin oksidasyon reaksiyonlarını geciktirerek

etki gösterirler. Ayrıca bazı antioksidanlar metal şelatörleri gibi davranıp metal pro-oksidanları daha kararlı kimyasal formlara dönüştürürler (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Gulcin, 2020; Vona ve ark., 2021). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) gibileri enzimatik antioksidanlar ve tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), betakaroten, retinol (A vitamini), flavonoidler, tioller, koenzim Q10 gibi bir çok madde ise non-enzimatik antioksidanlardandır. Flavonoidlerin konfigürasyonları ve toplam hidroksil gruplarının sayısı büyük ölçüde antioksidan kapasitelerini etkiler. B halkası hidroksil konfigürasyonu ROS yakalamanın en önemli belirleyicisidir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; 1990; Finaud ve ark., 2006; He ve ark., 2017).

2.8. Apoptoz

Apoptozis ve programlı hücre ölümü genellikle birbirinin yerine kullanılan terimlerdir. Hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, genlerle düzenlenen, programlı, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan ve organizmada homeostazı dengeleyen olaya verilen isimdir. Bu terim ilk olarak 1972'de J.F.K. Kerr tarafından tanımlanmıştır (Kerr ve ark., 1972; Renahan ve ark., 2001). Apoptoz doğumdan ölüme kadar birçok farklı durumda meydana gelen bir olgudur. Memelilerde el ve ayak parmakları arasındaki boşlukların meydana gelmesi, merkezi sinir sisteminin şekillenmesi, cinsel gelişimde duktus sisteminin gerilemesi, menstruasyon esnasında endometriyumun fonksiyonel tabakasının uzaklaştırılması, döngü sonunda korpus luteumun involüsyonu, diyabet, Parkinson, Alzheimer, bağışıklık sistemi hastalıkları, tümör oluşumu, oksidatif stres gibi pek çok durumda apoptozis meydana gelir (Kannan ve Jain, 2000; Marti ve ark., 2001; Degterev ve ark., 2003; Subramaniam ve Chesselet, 2013; Arya ve White, 2015). Apoptoz süreci çok hücreli organizmalarda yüksek oranda devam eder ve genetik olarak kontrol edilir. Apoptoz uyarısı alan bir hücre çevre hücrelerden bağını koparıp büzülür ve kromatin iplik yoğunlaşır. DNA nükleozamdan ayrılıp jel elektroforezinde bakılırsa merdiven bant görünümü aldığı görülür. Organeller yapısal bütünlüğünü korurken hücre zarındaki fosfatidil serin zarın iç yüzeyinden dış yüzeyine geçer. Hücre çekirdeği küçülüp parçalara ayrılır ve sonuçta hücre kopar apoptik cisimler meydana gelir. Meydana gelen apoptik cisimler makrofajlar tarafından algılanır. Fagositoz olayı başlar (Bellamy, 1995; Elmore, 2007; D'Arcy, 2019). Apoptoz sürecinde Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, kalsiyum, sitokrom-c gibi proteinler ve mitokondriyonlar rol

oyunar. Bcl-2 hücrenin yaşayıp yaşamayacağına karar veren önemli bir gen ailesidir. Mitokondriyal dış zarın geçirgenliğini düzenler. Birbirinden zıt iki üyesi vardır. Bunlar; proapoptik üyeler ve antiapoptik üyelerdir. Bir hücrede bulunan proapoptik ve antiapoptik yapı oranı hücrel stres düzeyi hakkında bilgi verir. Bu stres düzeyini besinler, DNA hasarı ve protein işleme boyutu gibi durumlar belirler. Proapoptikler apoptoza yatkınlığı artırırken antiapoptikler azaltır. Bad, Bax, Bid, Bak, Bim, Puma, BclXs, ve noxa proapoptik Bcl-2 üyeleridir (Adams ve Cory, 2001; McIlwain ve ark., 2013; Warren ve ark., 2019). p53'e bağımlı apoptozis için uyarıcılar; DNA hasarı, onkogen aktivasyonu, hipoksi, belirli sitokinler ve sitokin yokluğu ve ısı şokunu içerir. Yaşlanmayı, hücre döngüsünü G1 ve/veya G fazında durdurması veya apoptozu indükleyerek hücrel büyümeyi kısıtlaması p53'ün özelliklerindendir. Hasar tamir edilemeyecek durumda ise Bax, Apaf-1 ve Fas aktivasyonu artırıp Bcl-2 ve Bcl-xL'yi baskılar ve apoptozu indükler (Vousden ve Lu, 2002; Redza-Dutordoir ve Averill-Bates, 2016). Fas, TNF reseptörlerinden en çok bilinenidir. Fas aracılı apoptoz normal hücre fonksiyonlarının sürdürülmesi için gereklidir ve hücrelerde çeşitli sinyal yolları tarafından düzenlenir. Fas reseptörlerinin en önemli rollerinden birisi bağışıklık yanıtının düzenlenmesidir. Fas reseptör sinyali T hücresi ve B hücresinin gelişimini, olgunlaşmasını ve kaldırılmasını düzenler. Bir enfeksiyona karşı edinilmiş bağışıklık yanıtı süresince olgunlaşmış T hücrelerinin aktivasyonu örnek olarak verilebilir. Fas reseptörleri APO-1 veya CD95 olarak bilinen tip-1 membran proteinleridir (Curtin ve Cotter, 2003; Strasser ve ark. 2009). Kaspazlar birçok hücrede inaktif proenzim formunda yaygın şekilde bulunur. Bir kez aktive olduklarında ise bir proteaz kaskadının başlamasına izin veren diğer prokaspazları aktive edebilirler. Kaspazlar aktive edildiklerinde geri dönüşümsüz bir zorunluluk ile hücre ölümü ortaya çıkar. En iyi bilinen 10 kaspaz; başlatıcılar (kaspaz-2,-8,-9,-10), efektörler ya da karar vericiler (kaspaz-3,-6,-7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5) olarak sınıflandırılabilir. Kaspaz aktivitesi hücrel bir aile tarafından düzenlenir. Apoptozisin inhibitör etkisinde kaspaz-3, kaspaz-7 ve kaspaz-9 inhibisyonu muhtemel rol oynamaktadır (Rai ve ark., 2005; Xu ve ark.,2019). Apoptozis mekanizması oldukça karışık ve birbiriyle ilişki 2 ana yoldan oluşur. Ekstrinsik yolda TNF reseptörleri (ölüm reseptörleri olarak da adlandırılır) rol oynar. Öldürücü reseptörler ligand ve karşılıkları ile FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 ve Apo2L/DR5'i içerir. İntrinsik yol,

mitokondriyal yolak olarak da bilinir ve Bcl-2 ailesi tarafından düzenlenir. Bu yola dışsal uyarılar aracılık eder. Ölüm reseptörlerinin süper ailesinden transmembran proteinlerinin oligomerizasyonu ile veya spesifik faktörlerin hücre dışı konsantrasyonları belirli bir eşiğe ulaştığında; ölümcül sinyallerin veya bağımlılık reseptörlerinin iletilmesini tetikler. DNA hasarı, hipoksi, hatalı bir hücre döngüsü ve hücrenin hayatta kalma faktörlerinde birinin kaybından kaynaklanan hücresel stres sinyallerine cevap olarak oluşur (Ashkenazi ve Dixit, 1998; Ren ve ark., 2010; Gurzov ve Eizirik, 2011). Apoptozun tespitinde 3 farklı yöntem vardır. Apoptozun tespiti, membran değişiklikleri, DNA fragmentasyonu, sitotoksisite ve hücre proliferasyonu, mitokondriyal hasar, immünolojik tespit ve mekanizma bazlı analizler ile ilgili yöntemleri içerir. Bunlardan ilki morfolojik görüntüleme yöntemidir. Işık mikroskobu ile değerlendirilen hematoksilen ve giemza boyama; floresan mikroskobu ile değerlendirilen propidium iyodür ve hoechst; elektron mikroskobu ve faz kontrast mikroskobu bu yöntemlerdendir. İkincisi ise immunohistokimyasal yöntemlerdir. Anneksin V, TUNNEL, M30 ve kaspaz-3 bu yöntemlere girer. Sonuncu yöntem ise biyokimyasal yöntemlerdir. Bunlar agaroz jel elektroforez ve western blottur (Galluzzi ve ark., 2009; Banfalvi, 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzeme, Cihaz Ve Kimyasallar

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

1. Antikoagulanlı tüp (Lityum heparin)
2. Antikoagulantsız tüp
3. Azot altında uçurma sistemi (Digital Dry Bath)
4. Azot tankı (SJ-CRYO-YDS-10)
5. Balon joje
6. Beher
7. Buz makinesi (Kale Buzzbar)
8. Buzdolabı (Profilo BD 2663TM)
9. Deiyonize su cihazı (GLF, 2004)
10. Derin dondurucu (Arctiko ULUF 550-2M -80 °C)
11. Dikey elektroforez sistemi (Biorad)
12. ELISA mikropate okuyucu (Bio-Tek synergy H1 reader)
13. ELISA plate yıkayıcı (Bio-Tek Elx 50)
14. Enjektör (21 G)
15. Ependorf tüp (200 µl, 1,5 ml ve 2 ml)
16. Erlenmayer
17. Gaz kromatografi vialleri (Agilent)
18. Gaz kromatografisi (Agilent 6890N)
19. Hassas terazi (Sartorius TE3102S ve BP1215)
20. Homojenizatör (Heidolph Silient Crusher M)

21. Isıtıcı Blok (DLAB HCM-100 Pro)
22. Kanül
23. Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR Hei-Standard)
24. Mikropipet (Termo Finn timer 1-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)
25. Mini trans blot sistemi (Biorad)
26. Oto-örnekleyici (Agilent 7683B)
27. pH metre (Metler Toledo seven easy pH GmbH 8603)
28. Soğutmalı santrifüj (Sigma 3K30)
29. Spektrofotometre küveti (Quartz) (Helma)
30. Su banyosu (Nüve BM402)
31. UV-VIS Spektrofotometre (Thermo Helios α)
32. Vida kapaklı tüp
33. Vorteks (Heidolph Reaxtop)
34. Western blot görüntüleme sistemi (Fusion Fx, Vilber Lourmat)
35. Yatay karıştırıcı (Heidolph Rotamax 120)

3.1.2. Kimyasallar

1. 1.1.3.3. tetraetoksipropan ($C_{11}H_{24}O_4$) (Sigma T 9889)
2. 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) (Supelco 1024270025)
3. 2-merkaptetanol (Sigma M3148)
4. 2-tiyobarbitürik asit ($C_4H_4N_2O_2S$) (Merck 108180)
5. 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) (Sigma D8130)
6. Akrilamid ($CH_2=CHCONH_2$) (Sigma A8887)
7. Amonyum persülfat (APS) (Sigma A9164)
8. Amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) (Merck 101217)
9. Aseton (Merck 10020)
10. Azot gazı (% 99,9999)
11. Bakır klorit dihidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) (Merck 102733)
12. Bakır sülfat ($CuSO_4$) (Merck 102791)
13. Bax poliklonal antikor (Elabscience E-AB-13814)
14. Bcl-2 poliklonal antikor (Elabscience E-AB-60012)
15. Beta-aktin poliklonal antikor (Elabscience E-AB-40338)
16. Bromofenol mavisi ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$) (Sigma 114391)

17. Cryo tüp (Dıştan vidalı 2 ml)
18. D-glukoz-6-fosfat sodyum tuzu ($C_6H_{12}NaO_9P$) (Sigma G7879)
19. Dimetil sulfoksit ($((CH_3)_2SO)$ (Merck 1.16743)
20. Diosmin ($(C_{28}H_{33}O_{15})$ (Sigma D3525)
21. Di-sodyum hidrojen dodekahidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) (Merck 106573)
22. Etanol absolut (CH_3CH_2OH) (Merck 100983)
23. Etilendiamin tetraasetik asit potasyum (EDTA) ($(KOOCCCH_2)_2NCH_2CH_2N(CH_2COOK)CH_2COOH \cdot 2H_2O$) (Merck 814696)
24. Flavın adenin dinükleotit (FAD) ($C_{27}H_{31}N_9Na_2O_{15}P_2 \cdot xH_2O$) (Sigma N6625)
25. Folin ciocalteu's fenol (C_6H_6O) (Merck 109001)
26. Formaldehit (CH_2O) (Merck 104002)
27. Glasiyel asetik asit (CH_3COOH) (Merck 100056)
28. Gliserol ($C_3H_8O_3$) (Sigma G9012)
29. Glisin (NH_2CH_2COOH) (Sigma G8898)
30. Glutasyon okside (Santa Cruz SC29093A)
31. Glutasyon redüktaz ($NAD(P)H$) (Sigma G3664)
32. Hemoglobin (Sigma H2500)
33. Hidrojen gazı (% 99,9999)
34. Hidrojen peroksit (H_2O_2) (Merck 108600)
35. Hidroklorik asit (HCl) (Merck 100314)
36. Kaspaz-3 (Elabscience E-AB-60017)
37. Kaspaz-9 (Cell Signaling 9508S)
38. Kemilüminesans görüntüleme reaktifi (Thermo 34080)
39. Ketamin (Alfamin)
40. Krisin ($C_{15}H_{10}O_4$) (Sigma C80105)
41. Ksantin (Sigma X0626)
42. Ksantin oksidaz (Sigma X1875)
43. Ksilazin (Rompun % 2)
44. Magnezyum klorid ($MgCl_2$) (Sigma M8266)
45. Metanol (CH_3OH) (Merck UN1230)
46. N,N,N',N''-tetrametiletilendiamid ($((CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2)$ (Sigma T9281)
47. N,N'-Metilenbisakrilamid ($CH_2=CHCONH)_2CH_2$) (Sigma M7256)

48. N,N-metilen-bis-akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CHCONH})_2\text{CH}_2$ (Sigma M7256)
49. N-1-naftiletilendiamin dihidroklorür ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{C}_{12}\text{N}_2$) (NED) (Merck 106237)
50. n-Butanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$) (Merck 100988)
51. n-Hekzan (Merck 104368)
52. Nitrat redüktaz (Sigma N7265)
53. Nitro blue tetrazolium klorid ($\text{C}_{40}\text{H}_{30}\text{N}_{10}\text{O}_6 \cdot 2\text{Cl}$) (Sigma N6876)
54. Ortofosforik asit (H_3PO_4) (Merck 100563)
55. p53 (Elabscience E-AB-60866)
56. PCR tüpleri (Isolab 0,2 ml)
57. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck 104873)
58. Potasyum fosfat dibazik (K_2HPO_4) ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) (Sigma 60356)
59. Potasyum heksosiyanoferrat (Merck 104971)
60. Potasyum klorid (KCl) (Merck 104936)
61. Potasyum siyanid (KCN) (Merck 104965)
62. Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6\text{H}_2\text{O}$) (Merck 108087)
63. Pridin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) (Merck 107462)
64. Rabbit anti rat Ig G (Elabscience E-AB-1005-200)
65. Redükte glutasyon ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$) (Merck 104090)
66. RIPA lizis buffer sistem (Santa Cruz 24948A)
67. Sığır albumini (Sigma A4503)
68. Sodyum azid (NaN_3) (Merck 106688)
69. Sodyum dihidrojenfosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$) (Merck 106345)
70. Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma L3771)
71. Sodyum hidrojen karbonat ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_2\text{ONa}$) (Merck 106329)
72. Sodyum hidroksit (NaOH) (Carlo Erba 480507)
73. Sodyum karbonat (Merck 106392)
74. Sodyum klorür (NaCl) (Merck 106404)
75. Sodyum nitrit (NaNO_2) (Merck 106549)
76. Spektra™ multikolor protein markır (Thermo 26634)
77. β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat disodyum tuzu (NADP) (Sigma 10128031001)
78. Sulfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) (Merck 11799)

79. Super Signal™ West piko PLUS kemiluminesent substrat (Thermo 34580)
80. Süt tozu (Sigma 70166)
81. Tau-fluvalinat (PESTANAL Sigma 46294)
82. Triklorasetik asit (TCAA) (CCl_3COOH) (Merck 100810)
83. Triton X-100 ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{C}_6\text{H}_4(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$) (Merck 108603)
84. Trizma baz ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) (Sigma T6066)
85. Trizma hidroklorid ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3\cdot\text{HCl}$) (Sigma T5941)
86. Tween 20 ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_6$) (Sigma P1379)
87. β -merkaptetanol ($\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) (Sigma 3148)
88. β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat sodyum tuzu hidrat (Sigma N0505)
89. β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat tetrasodyum (β -NADPH) (Sigma N6505)

3.2. Kullanılan Reaktifler

3.2.1. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Reaktifler

Drabkin reaktifi (1 g sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3)+0,2 g potasyum heksosiyanoferat ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)+0,05 g potasyum siyanid (KCN) alınıp distile suda çözündürülerek 1000 ml'ye tamamlandı), Folin Fenol çözeltisi (% 10) (1 kısım folin ciocalteu's fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$)+9 kısım distile su toplam hacim 10 kısma tamamlandı), bakır reaktifi (4 g sodyum karbonat (Na_2CO_3) 40 ml distile suda çözündürüldü, 0,268 g potasyum sodyum tartarat tetrahidrate ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 10 ml distile suda çözündürüldü, 0,128 g bakır sülfat (CuSO_4) 10 ml distile suda çözündürüldü; bunlar sırasıyla 20:1:1 oranında olacak şekilde alındı ve karıştırıldı), tuzlu fosfat tamponu (PBS) (8 g sodyum klorit+0,2 g potasyum klorit+1,44 g sodyum dihidrojenfosfat dihidrat+0,24 g potasyum dihidrojen fosfat tartılarak 1 L'ye distile su ile tamamlandı (pH: 7,4), sığır serum albümini (BSA)/PBS stok çözeltisi (0,008 g sığır albümini+5 ml PBS), sodyum dodesil sülfat (SDS) (% 8,1) çözeltisi (2,43 g+distile suda 30 ml'ye tamamlandı), asetik asit (% 20) çözeltisi (46 ml glasiyel asetik asit+su ile hacmi 230 ml'ye tamamlandı), tiyobarbitürik asit (TBA) (% 0,9) çözeltisi (2,07 g TBA+hacmi distile su ile 230 ml'ye çözündürülerek ayarlandı), 1.1.3.3.tetraetoksipropan standart çözeltisi (0,05 ml 1.1.3.3. tetraetoksipropan+etanol ile son hacim 10 ml'ye ayarlandı. Bu karışımdan 0,2 ml alınıp distile su ile hacmi 10 ml'ye tamamlandı), SOD reaktifi (NaOH (0,1 N) (Ksantin stok

çözeltisi için) (0,40 g sodyum hidroksit+toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü), ksantin stok (3 mmol/L) çözeltisi (0,023 g ksantin+5 ml NaOH (0,1 N) ile çözdürülerek distile su ile hacmi 50 ml'ye ayarlandı), ksantin çalışma çözeltisi (20 ml ksantin stok çözeltisi+distile su ile son hacim 200 ml'ye tamamlandı), EDTA.Na₂.2H₂O (0,6 mmol/L) çözeltisi (0,022 g etilendiamin tetraasetik asit potasyum (EDTA)+toplam hacim 100 ml'ye çözdürülerek tamamlandı), nitroblutetrazolium (NBT) (0,15 mmol/L) çözeltisi (0,012 g nitro blue tetrazolium klorit+toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü), Na₂CO₃ (400 mmol/L) çözeltisi (2,544 g sodyum karbonat (Na₂CO₃)+toplam hacim 60 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü), sığır serum albümin (1 g/L, % 0,1) çözeltisi (0,03 g sığır albümini+toplam hacim 30 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü), SOD reaktifi (200 ml ksantin çalışma çözeltisi) 100 ml EDTA+100 ml NBT+60 ml Na₂CO₃+30 ml sığır serum albümin çözeltisi+toplam hacim 490 ml olacak şekilde karıştırıldı), amonyum sülfat çözeltisi (2 mol/L) (13,214 g amonyum sülfat+50 ml distile suda çözdürüldü), ksantin oksidaz (0,1666 U/ml) çözeltisi (ksantin oksidaz enziminden (40 U/12,1 ml) 105,5 µl+2000 µl 2 M amonyum sülfat çözeltisinde çözdürüldü), bakır klorür (0,8 mmol/L) çözeltisi (0,0136 g bakır klorit dihidrat+100 ml distile suda çözdürüldü), tris-HCl tamponu (0,2 M)+EDTA tamponu (20 mM) (7,08 g tris hidroklorit+6,68 g tris base+3,72 g etilendiamintetraasetik asit (EDTA) tartıldı+hacmi distile su kullanılarak 500 ml'ye ayarlandı (pH: 8,2), sodyum sitrat (% 1) çözeltisi (1 g tri-sodyum sitrat dihidrat+100 ml distile suda çözdürüldü), DTNB (10 mM) çözeltisi (0,396 g 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit (DTNB)+100 ml % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözdürüldü), glutasyon standart çözeltisi (0,01229 g redükte glutasyon+10 ml distile suda çözdürüldü), fosfat tamponu (pH: 7,0; 50 mmol/L) (14,536 g sodyum dihidrojen fosfat dihidrat+7,044 g potasyum fosfat dibazik+distile suda çözdürülerek son hacim 2000 ml ayarlandı), fosfat tamponunda hidrojen peroksit çözeltisi (250 ml fosfat tamponu+275 µl hidrojen peroksit ışık almayan bir şişeye ekledi ve çalkalandı), tris-HCl (0,1 M) tamponu (4,44 g tris hidroklorit+2,65 g tris base tartıldı distile suda çözdürülerek son hacim 500 ml tamamlandı (pH 8,0 olarak ayarlandı), glutasyon (60 mM) çözeltisi (0,0922 g redükte glutasyon+bir miktar distile su içerisinde çözdürüldü ve son hacim 5 ml olarak ayarlandı), NADPH (2 mM) çözeltisi (0,00249 g β-Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş), tartıldı bir miktar distile su içerisinde çözdürülerek son

hacim 4,5 ml olarak ayarlandı), amonyum sülfat (3,6 M) çözeltisi (4,757 g amonyum sülfat+bir miktar distile su içerisinde çözündürülerek son hacim 10 ml'ye ayarlandı), glutasyon redüktaz çözeltisi (2,5 KU olan glutasyon redüktaz 12 µl+88 µl distile suyla karıştırıldı. Bu karışımdan 12 µl alındı 1988 µl 3,6 M amonyum sülfat ile karıştırıldı), sodyum azit (30 mM) çözeltisi (0,0195 g sodyum azid tartıldı+10 ml distile suda çözündürülerek ayarlandı), H₂O₂ (1,5 mM) çözeltisi (128,9 µl hidrojen peroksit üstüne 1 L distile su eklendi), potasyum fosfat (50 mM) tamponu (5,356 g potasyum fosfat dibazik ve potasyum dihidrojen fosfat tartıldı ve az miktarda distile su içerisinde çözündürülerek pH 7,0'ye ayarlandı ve son hacim 1000 ml'ye ayarlandı), redükte glutasyon (20 mM) çözeltisi (0,0307 g redükte glutasyon+bir miktar distile su içerisinde çözündürülerek son hacim 5 ml'ye ayarlandı), CDNB (20 mM) çözeltisi (0,0202 g 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)+az miktarda etanolde çözündürüldükten sonra hacmi distile su ile 10 ml'ye tamamlandı, potasyum fosfat (0,5 M) tamponu (3,7713 g potasyum fosfat dibazik+0,4556 g potasyum dihidrojen fosfat+az miktarda distile su içerisinde çözündürülerek hacmi 50 ml olarak ayarlandı (pH: 7,2 olarak ayarlandı), EDTA (50 mM) çözeltisi (0,9306 g etilendiamin tetraasetik asit potasyum+bir miktar distile su içerisinde çözündürülerek hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlandı (pH 7,6), GSSG (30 mM) çözeltisi (0,0295 g L-glutasyon oksit disodyum tuzu+bir miktar distile su içerisinde çözündürülerek son hacim 1,5 ml olarak ayarlandı), NADPH (1 mM) çözeltisi (0,0037 g β-Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş)+10 mM Tris-HCl tamponunda çözündürülerek son hacim 4,5 ml'ye ayarlandı), tris-HCl (10 mM) çözeltisi (0,1212 g tris hidroklorit+0,0278 g tris base+bir miktar distile su içerisinde çözündürülerek son hacim 100 ml olarak ayarlandı (pH 7,6), fosfat tamponu (10,1414 g sodyum dihidrojenfosfat dihidrat+0,6803 g potasyum fosfat dibazik+bir miktar distile suda çözündürülerek son hacim 100 ml'ye tamamlandı (pH 7,5), NADPH (0,86 mM) çözeltisi (0,00716 g β-Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat 4Na (indirgenmiş)+distile su içinde çözündürülerek 10 ml'ye tamamlandı), FAD çözeltisi (0,11 mM) (0,0046 g flavin adenin dinükleotit (FAD)+distile su içinde çözündürülerek 50 ml'ye tamamlandı), nitrat redüktaz (1 U/ml) çözeltisi (pH 7,5'luk fosfat tamponu ile 1 U/ml konsantrasyonda taze olarak hazırlandı), fosforik asit (% 5) çözeltisi (2,941 ml % 85'lik fosforik asitten alınarak üzerine eklenen distile su ile hacim 50 ml'ye tamamlandı), sülfanilamid (% 1) çözeltisi (0,5 g sülfanilamid+% 5'lik fosforik asit çözeltisinden bir miktar alınıp çözündürülerek

son hacim aynı çözeltiyle 50 ml'ye tamamlandı), N-(1-naftil) etilendiamin çözeltisi (0,05 g N-1-naftil etilendiamin dihidroklorür (NED)+az miktarda distile suyla çözdürülerek hacim 50 ml'ye tamamlandı), griess reaktifi (1:1 oranında % 1'lik sülfanilamid çözeltisi ve % 0,1'lik N-(1-naftil) etilendiamin çözeltisi karıştırıldı), NO₂/NO₃ standart (80 µmol/ml) çözeltisi (0,0552 g sodyum nitrit+10 ml distile suda çözdürüldü), tris (1 M)-EDTA (5 mM) tamponu (8,88 g tris hidroklorit+5,30 g tris base+0,1861 g etilendiamin tetraasetik asit potasyum (EDTA)+distile suda çözdürülerek son hacimde 100 ml olarak ayarlandı (pH 8,0), MgCl₂ çözeltisi (0,1 M) (0,9521 g magnezyum klorit+100 ml distile suda çözdürüldü), glukoz 6-fosfat (6 mM) çözeltisi (0,0073 g D-Glukoz-6-fosfat+4 ml distile suda çözdürüldü), NADP⁺ (2 mM) çözeltisi (0,0063 g β-Nikotin adenin dinükleotit fosfat disodyum tuzu+4 ml distile su içerisinde çözdürüldü).

3.2.2. Western Blotta Kullanılan Reaktifler

Akrilamid çözeltisi: 1 g bisakrilamid+29 g akrilamid+100 ml distile suda çözdürüldü.

Jel tamponu

1. Ayırıcı jel tamponu (Alt Jel): pH 8,8'e ayarlı tris HCl (1,5 M).

2. Yığınlama jel tamponu (Üst Jel): pH 6,82'e ayarlı tris-HCl (0,5 M).

SDS (% 10): 10 g sodyum dodesil sülfat (SDS)+100 ml distile suda çözdürüldü.

APS (% 10): 0,1 g amonyum persülfat (APS)+1 ml distile suda çözdürüldü.

4X Yığıcı jel çözeltisi (0,5 M Tris, % 0,4 SDS): 3,0275 g tris baz+0,2 SDS+distile suyla 50 ml'ye tamamlandı (pH 6,8).

6X Yükleme tamponu: 7 ml 4X yığıcı jel çözelti+1,2 mg bromofenol mavisi+1 g SDS+3,6 ml gliserol (Bioshop, GLY001)+distile su ile 10 ml hacme tamamlanarak 5-10 dakika kaynatıldı ve 1X olarak seyreltilerek kullanıldı.

Protein yükleme tamponu: Taze olarak 100 µl yükleme tamponu içerisinde 4 µl β-merkaptoetanol eklenerek deney günü hazırlandı.

1X Elektroforez yürütme çözeltisi: 10 ml hacmindeki SDS 100 ml 10X elektroforez yürütme çözeltisi içerisine eklenerek distile suyla 1 L hacme tamamlandı.

10X Elektroforez yürütme çözeltisi: 6,055 g tris baz+28,82 g glisin+200 ml hacme tamamlandı.

Transfer çözeltisi: 150 ml metanol+100 ml 10X elektroforez yürütme çözeltisi+distile suyla 1 L'ye tamamlandı.

% 5 Oranındaki süt tozu çözeltisi: 500 mg yağsız süt tozu tartıldı ve TBST eklenerek 10 ml'ye tamamlandı.

10X TBS (Trisbuffered saline): 24 g tris baz+88 g NaCl+distile suda çözündürülerek 1 L'ye tamamlandı (pH 7,6).

TBST (Trisbuffered saline, Tween 20 % 0,1): 10X TBS'ten 100 ml+900 ml distile su+1 ml Tween 20 eklendi.

3.3. Yöntem

3.3.1. Deneyde Kullanılan Hayvan

Araştırma kapsamında Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen *Wistar Albino* ırkı 4-6 haftalık erkek (150-200 g) ve her bir grupta 10'ar hayvan olacak şekilde toplamda 60 adet rat kullanıldı. Hayvanlar 22-24 °C oda ısısında 12 saat aydınlık/karanlık ortamında tutuldu. Gruplar oluşturulurken kafeslerin (polietilen yapıda) her birine en fazla 4 rat yerleştirildi. Hayvanların yemleri ve suları ise uygulama boyunca sürekli önlerinde hazır halde bulunduruldu.

3.3.2. Deneyde Oluşturulan Gruplar

Grup 1: Kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki ratlara yalnızca taşıt madde (mısır yağı) ağızdan gavajla uygulandı.

Grup 2: Ratlara 20 mg/kg.ca dozundaki diosmin mısır yağı içinde ağızdan gavajla uygulandı.

Grup 3: Ratlara 20 mg/kg.ca dozunda krisin mısır yağı içinde ağızdan gavajla uygulandı.

Grup 4: Ratlara 20 mg/kg.ca dozunda tau-fluvalinat mısır yağı içinde ağızdan gavajla uygulandı.

Grup 5: Ratlara 20 mg/kg.ca dozunda tau-fluvalinat ile 20 mg/kg.ca dozunda diosmin mısır yağı içinde ağızdan gavajla uygulandı.

Grup 6: Ratlara 20 mg/kg.ca dozunda tau-fluvalinat ile 20 mg/kg.ca dozunda krisin mısır yağı içinde ağızdan gavajla uygulandı.

Tüm uygulamalar her gün günde bir kez 21 gün süreyle gerçekleştirildi. Tau-fluvalinat uygulandıktan 4 saat sonra diosmin/krisin verildi. Çalışmada uygulanan tau-fluvalinat için ratlarda ağızdan LD₅₀ değeri (EPA, 1986; EMEA, 1995) esas alındı. Krisin (Zeinali ve ark., 2018; Tekeli ve ark., 2022; Zeinali ve ark., 2022; Tekeli ve ark., 2023) ve diosmin (Eraslan ve ark., 2017; Ağır ve Eraslan, 2019; Mirzaee ve ark., 2019; Bozdağ ve Eraslan, 2020; Tekeli ve ark., 2021; Bahar ve Eraslan, 2023) dozunun ayarlanmasında önceki yıllarda gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar göz önünde bulunduruldu. Deney protokolü Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunuldu ve onay (18/156) alındı.

3.3.3. Örneklerin Toplanması

Yirmi birinci günün sonunda ratlara 87 mg/kg.ca ketamin ve 13 mg/kg.ca dozunda ksilazin kas içi yolla verilerek anesteziye alındı. Kalbe yeşil uçlu kanül yardımıyla antikoagulanlı (lityum heparin) ve antikoagulantsız tüplere kan alındı. Takiben servikal dislokasyonla hayvanların karaciğer, böbrek, beyin, testis, kalp ve akciğeri çıkarıldı. Doku ve kanda malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), glutasyon (GSH), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GR), glutasyon-S-transferaz (GST) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) aktiviteleri/düzeyleri değerlendirildi. Karaciğer kaspaz 3, 9, p53, Bax ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyleri western blot yöntemi ile belirlendi. Serum trigliserit, kolesterol, kan üre azotu (BUN), kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrojenaz (LDH) ve pseudokolin esterase (PChE) aktiviteleri/düzeyleri değerlendirildi. Çalışma sonunda tüm hayvanların canlı ağırlıkları ile organ ağırlıkları kaydedildi. Grupların plazma ve karaciğer tau-fluvalinat düzeyi gaz kromatografi cihazında belirlendi.

3.3.4. Eritrositlerin Yıkanması ve Hemolizatların Hazırlanması

Antikoagulantlı tüplere alınan kanlar santrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı. Şekli elemanları içine alan bölüm lökosit ve trombositlerinden tamamiyle temizlendikten sonra eritrosit tabakası ardı ardına üç sefer tuzlu fosfat tampon (pH 7,4) yardımıyla 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi ve üstteki faz atıldı. Altta kalan eritrosit tabakası yine eritrosit hacmi kadar tuzlu fosfat tampon (pH 7,4) eklenerek hafifçe çalkalanıp analize hazır hale getirildi (Winterbourn ve ark., 1975). Numuneler analizler yapılana kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edildi. Analiz sırasında oda koşullarında erimeye bırakıldı ve eritrosit süspansiyonu (400 µl) üzerine hemoliz için buz soğukluğunda tuzlu fosfat tampon (1600 µl) eklendi çalkalandı ve 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Üstteki kısım tekrar alınarak (hemolizat) analizleri (hemoglobin düzeyi, CAT, GSH-Px, GR, GST, GR ve G6PD aktiviteleri) yapılana kadar +4 °C'de bekletildi. SOD aktivitesinin değerlendirilmesinde 300 µl hemolizat ve 300 µl kloroform/etanol (6/10 v/v) karışımı ilave edilerek 10-15 sn vortekslenerek 5000 rpm'de 5 dk (+4 °C) santrifüj edildi. Üst faz alınarak analizler gerçekleştirildi.

3.3.5. Doku Homojenatının Hazırlanması

Alınan dokulardaki protein düzeyinin belirlenmesinde Lowry ve ark. (1951)'nin metodunu esas alan Miller (1959)'in yöntemi kullanıldı. Ependorf tüplere 250 µl doku süpernatantı PBS kullanılarak 25 kat seyreltildi. Üzerine 250 µl alkali bakır reaktifi (% 2 bakır sülfat, % 2 sodyum potasyum tartarat ve % 20 sodyum karbonat; 1:1:100 oranında) eklendi vortekslendi oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. 1:9 oranında distile suda seyreltilmiş 2 N folin-fenol reaktifinden tüplere 750 µl eklenerek yine vortekslendi 50 °C sıcaklıkta 30 dakika bekletildi. Ardından 300 µl alınarak mikropleytlere aktarıldı ve oluşan mavi renkli bileşiğin absorbansı 540 nm dalga boyunda köre karşı mikroparka okuyucuda okundu. Alınan absorbansların hesaplanmasında standart eğrisi kullanıldı ve değerler mg-protein/ml süpernatant cinsinden hesaplandı.

3.3.6. Yapılan Biyokimyasal Analizler

3.3.6.1. Hemoglobin Düzeyinin Eritrositlerde Belirlenmesi

Fairbanks ve Klee (1987)'nin yöntemi kullanıldı. Ependorfa 900 µl drabkin reaktifi (0,2 g/L $K_3Fe(CN)_6$, 0,05 g/L KCN ve 1 g/L $NaHCO_3$ içerir) pipetlendi üzerine 100 µl hemolizat eklendi ve 5 dk bekletildikten sonra spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda drabkin reaktifine karşı okundu. Ölçülen absorbansların miktara dönüştürülmesinde daha önce hemoglobin kullanılarak hazırlanmış olan standart eğrisi esas alındı. Sonuçlar mgHb/ml hemolizat cinsinden hesaplandı.

3.3.6.2. Protein Düzeyinin Dokularda Belirlenmesi

Lowry ve ark. (1951)'nin yöntemini esas alan ve Miller (1959) tarafından modifiye edilen metoda göre yapıldı. Analiz için ependorf tüplere 10 µl doku süpernatantı, 240 µl distile su ile 250 µl bakır reaktifi eklendip tüplerin ağzı kapatılarak 10 saniye vortekslendi ardından üzerine 750 µl folin fenol çözeltisi eklendi 30 dakika 50 °C'de bekletildi. Tüplerden 300 µl alınarak mikrotelatlere aktarıldı ve 540 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Kalibrasyon eğrisi için sığır albümini kullanılarak aynı süreçler tekrarlandı. Miktar tayini mg-protein/ml süpernatant olarak değerlendirildi.

3.3.6.3. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Plazma ve Dokularda Belirlenmesi

Plazma MDA düzeyinin belirlenmesinde Yoshioka ve ark.'nın (1979) metodu kullanıldı. Vida kapaklı cam tüplere sırasıyla 0,5 ml plazma, 2,5 ml % 20'lik triklorasetik asit ve 0,5 ml % 0,67'lik tiyobarbitürik asit eklenerek tüplerin ağızları kapatıldı sıcaklığı 95 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 30 dakika bekletilerek soğuk su altında hızla soğutuldu ve 4 ml n-butanol ilave edilerek 30 sn vortekslendi takiben 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki pembe renkli n-butanol fazı 535 nm'de spektrofotometre cihazında köre karşı okundu. Alınan absorbanslar 1.1.3.3. tetraetoksipropanda hazırlanmış standart eğrisine göre nmol/ml cinsinden hesaplandı.

Doku MDA düzeyinin ölçümünde Ohkawa ve ark. (1979)'nin yöntemi esas alındı. Vida kapaklı cam tüplere 200 µl doku süpernatantı, plazma veya standarttan ilave edildi. Üzerine % 8,1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS), 1,5 ml % 0,9 tiyobarbitürik asit, 1,5 ml % 20'lik glasiyel asetik asit ile 600 µl distile su eklenerek kapaklar kapatıldı. Su banyosunda 95 °C'de 60 dakika bekletildi. Soğuk su altında tüpler hızla oda sıcaklığına

getirildi. Ependorfa 400 µl alındı, takiben 150 µl disitle su ile 750 µl n-butanol/pridin (15:1) karışımı ilave edilerek 1 dakika süreyle vortekslenip 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. 532 nm'de köre karşı mikrolaka okuyucuda üst kısımdan 200 µl alınarak mikropleytlere aktararak okundu. MDA düzeyinin hesaplanmasında çizilen standart eğri için 1.1.3.3.tetraetoksipropan kullanıldı. Veriler nmol/ml veya nmol/mg-protein olarak tanımlandı.

3.3.6.4. Nitrik Oksit (NO) Düzeyinin Plazma ve Dokularda Belirlenmesi

Ölçümler Tracey ve ark. (1995)'nın metoduna göre yapıldı. Mikropleyt kuyucuklarına 40 µl distile su, 20 µl 0,33 M fosfat tamponu, 10 µl 0,86 mM NADPH, 10 µl 0,11 mM FAD, 10 µl doku süpernatantı ve 10 µl 1 U/ml nitrat redüktaz pipetlenerek 5 dk çalkalayıcıda tutularak karanlık ortamda oda ısısında 1 saat bekletilerek takiben 200 µl griess reaktifi eklendi 10 dk oda ısısında tutuldu. 540 nm dalga boyunda mikrolaka okuyucuda absorbans değerleri okundu. Sonuçların hesaplanması çizilen standart eğriye göre yapıldı. Değerler, nmol/ml veya nmol/mg-protein şeklinde hesaplandı.

3.3.6.5. Glutasyon (GSH) Düzeyinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Sedlak ve Lindsay (1968) yöntemi takip edildi. Ependorf tüplere 100 µl standart/doku süpernatantı/hemolizat, 300 µl 20 mM EDTA bulunduran 0,2 M tris tamponu (pH: 8,2), 20 µl 10 mM DTNB (% 1'lik sodyum sitrat içinde) ve 1480 µl metanol eklendi. Oda sıcaklığında çalkalayıcıda 30 dk bekletilerek takiben 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Üst fazdan 300 µl mikropleytlere aktarıldı. Takiben 412 nm dalga boyunda köre karşı mikrolaka okuyucuda okundu. Farklı yoğunluklardaki GSH çözeltisi kullanılarak standart eğrisi yardımıyla miktar tayini yapıldı. Sonuçlar nmol/ml hemolizat veya nmol/mg-protein tarzında ifade edildi.

3.3.6.6. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Sun ve ark. (1988)'nın metodu SOD aktivitesi ölçümünde kullanıldı. Ependorf tüplere örneklerin kloroform/etanol ekstraktından 150 µl alındı üzerine 735 µl SOD reaktifi (sırasıyla 20:10:10:6:3 oranlarında 0,3 mM ksantin çözeltisi, 0,6 mM EDTA, 0,15 mM NBT, 400 mM Na₂CO₃ ve 1 g/L albümin) eklendi. Reaksiyon 15 µl ksantin oksidaz çözeltisi (0,1666 U/ml) eklenerek başlatıldı 37 °C'de 20 dk inkübasyona bırakıldı.

Üzerine 300 µl 0,8 mM bakır klorür çözeltisi konuldu ve kör tüpleri için de numune yerine distile su eklendi. 560 nm dalga boyunda SOD reaktifine karşı 300 µl mikropleyte eklenen numuneler okundu. Okunan absorbanslar U/mgHb ve U/mg-protein olarak verildi.

3.3.6.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Luck (1965)'un yöntemi numune analizleri için kullanıldı. Kullanılacak H₂O₂ çözeltisi (% 35'lik) 50 mM fosfat tampona (3,522 g KH₂PO₄ ve 5,796 g Na₂HPO₄ deiyonize suda çözülürülerek 1 litreye tamamlandı, pH 7'ye ayarlandı) 240 nm'deki absorbansı fosfat tampona karşı 0,500 olacak şekilde eklendi. Ölçümlerde her numune için farklı hacimlerde örnek alındı (5-175 µl numune µl numune) ve üzerine farklı hacimlerde 50 mM fosfat tamponu eklenerek 3 ml'ye tamamlandı. Spektrofotometrede 45 sn süreyle absorbans düşüşleri kaydedildi. Elde edilen absorbanslar k/gHb ve k/g-protein şeklinde ifade edildi.

3.3.6.8. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Paglia ve Valentie (1967)'nin metodu esas alındı. Analizler için kuyucuklara sırasıyla 220 µl 0,1 M tris tamponu (pH: 8), 10 µl doku süpernatantı/hemolizat, 10 µl 80 mM GSH, 10 µl 0,24 U GR ve 10 µl 30 mM sodyum azid ilave edilerek 5 dk bekletildi. Ardından yine kuyucuklara 10 µl 1,5 mM hidrojen peroksit ve 30 µl 2 mM NADPH eklendi ve örneklerdeki absorbans düşüşleri 340 nm dalga boyunda 30 sn aralıklarla 3 dk kaydedildi. Sonuçlar, nmol/dk/gHb ve nmol/dk/g-protein olarak ifade edildi.

3.3.6.9. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Carlberg ve Mannervik (1985)'in yöntemi takip edildi. Kuyucuklara 182 µl distile su, 63 µl 0,5 M potasyum fosfat tamponu (pH 7,6), 10 µl 30 mM GSSG ve 15 µl doku süpernatantı/hemolizat konularak üzerine 30 µl 1 mM NADPH eklendi. Absorbans düşüşleri köre karşı her 30 saniyede bir 3 dk süreyle 340 nm dalga boyunda izlendi. Elde edilen veriler nmol/dk/gHb ve nmol/dk/g-protein cinsinden hesaplandı.

3.3.6.10. Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Habig ve ark. (1957)'nin metoduna göre gerçekleştirildi. Mikropleyte 235 µl 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH: 7), 20 µl 20 mM GSH ve 15 µl doku süpernatantı/hemolizat eklendi takiben 30 µl 20 mM CDNB (3/2 oranında etanol/dH₂O içinde) ilave edilerek absorbanslardaki yükselmenin okuması 20 sn aralıklarla 2 dk boyunca 340 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Elde edilen veriler, nmol/dk/gHb ve nmol/dk/g-protein olarak tanımlandı.

3.3.6.11. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) Aktivitesinin Eritrosit ve Dokularda Belirlenmesi

Beutler (1971)'nin metodu takip edildi. Deneyde kuyucuklara 1650 µl distile su (köre 1800 µl), 300 µl tris-EDTA (pH:8, 1 M-5 mM), 300 µl MgCl₂ (0,1 M), 300 µl NADP⁺ (2 mM) ve 150 µl doku süpernatantı/hemolizat eklendi ve 37 °C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı. Adından 300 µl glukoz-6-fosfat (6 mM) ilave edilerek 340 nm dalga boyunda 3 dk süreyle absorbans çıkışı kaydedildi. Okunan veriler, nmol/dk/gHb ve nmol/dk/g-protein şeklinde verildi.

3.3.6.12. Biyokimyasal Parametrelerin Aktivitesinin/Düzeyinin Belirlenmesi

Serum trigliserit, kolesterol, kan üre azotu (BUN), kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, laktad dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP) ve pseudokolinesteraz (PChE) aktivitelerinin/düzeylerinin belirlenmesi Roche Cobas marka kit ve aynı marka otoanalizör kullanılarak gerçekleştirildi.

3.3.7. Western Blot Analiz

3.2.7.1. Karaciğer Dokusunda Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini

Ependorf tüplere buz aküsü üzerinde deney hayvanlarından alınan karaciğer dokusunun 70 mg'ı bisturiyle alınıp üzerine 0,7 ml RIPA tamponu (50 ml RIPA tamponu+500 µl 200 mM PMSF+500 µl proteaz inhibitör kokteyl+500 µl (100 mM) sodyum ortovanadat) eklenerek buzla dolu kanteyster içerisinde homojenize edildi. Takiben buza gömülü halde 30 dakika bekletilerek soğutmalı santrifüjde (+4°C) 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı. Santrifüj işlemi tekrar yapıldı.

Üstte toplanan yağ tabakasından almamak koşuluyla orta kısımdan 300-400 µl'lik bölüm başka bir tüpe transfer edildi ve 1/4 oranında RIPA tamponuyla seyreltildi. Protein ölçümü Lowry ve ark. (1951)'nin metodunu esas alan Miller (1959) tarafından modifiye edilen yöntemle yapıldı.

3.2.7.2. Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)

3.2.7.2.1. Poliakrilamid Jelin Hazırlanması

Alt jel (% 10'luk) 4,1 ml distile su, 3,4 ml akrilamid-bisakrilamid karışımı (29/1), 2,5 ml alt jel tamponu (pH:8,8), % 10'luk amonyum persülfat (APS), 0,1 ml % 10'luk SDS ve 0,04 ml TEMED içermektedir. İfade edilen karışım hızla cam plakalar arasına üst jel sınırına kadar dökülerek üzerine n-butanol taşıdığı noktaya kadar ilave edilerek jelleşme sağlanana kadar beklemeye bırakıldı. Ardından üstte bulunan n-butanol fazı plakalar arasından uzaklaştırıldı ve 3 sefer distile suyla yıkandı. Jelin üst kısmındaki su kurutma kağıdına emdirildi.

Üst jel (% 5'lik) 5,7 ml distile su, 1,7 ml akrilamid-bisakrilamid karışımı (29/1), 2,5 ml üst jel tamponu (pH:6,8), % 10'luk amonyum persülfat (APS), 0,1 ml % 10'luk SDS ve 0,04 ml TEMED içermektedir. Karışım hızla cam plakalar arasına taşana kadar döküldü taraklar jel içerisine yerleştirildi. Jel donduktan sonra kasetler elektroforez tankına konularak üzerine soğuk 1X elektroforez yürütme çözeltisi eklendi. Ardından taraklar çıkarılarak kuyucukların şekillenmesi sağlandı.

3.2.7.2.2. Proteinlerin Hazırlanması, Jele Yüklenmesi ve Elektroforez

Her kuyucuğa yüklenecek protein miktarı 40 µg olarak belirlendi ve kuyucuklara yüklemenden önce 6X laemmlı tampon hazır halde bulunduruldu (7 ml 0,5 M Tris-HCl (pH 6,8)+3,6 ml gliserol+1 g SDS+1,2 mg bromfenol mavisi ilave edilip karıştırıldı - 20°C'ye alındı). Taze olarak 96 µl 6X laemmlı tampona 4 µl β-merkaptoetanol ilave edilerek yükleme tamponu hazırlandı. 40 µg protein yükleme tamponuyla 6 kat seyreltilerek 95 °C'de 5 dakika ısıtıcı kuru blokta kaynatıldı. Ardından her bir kuyucuğa hesap edilen miktar kadar yüklendi. Tankın etrafı buzla kaplandı ve üst jelde 100 V ve alt jelde 200 V uygulanarak elektroforez işlemi yapıldı ve işleme bromfenol mavisi jelin alt ucuna ulaşınca kadar devam etti.

3.2.7.2.3. Transfer, Bloklama, Primer ve Sekonder Antikor ile İnkübasyon

Elektroforezden sonra üst jel kesilerek atıldı ve alt jel distile suyla yıkandı. Transfer kasetinin siyah yüzeyinden beyaz yüzeyine doğru sırasıyla sünger, whatman kağıdı, jel, poliviniliden diflorür (PVDF) membran (metanolde 15 sn aktive edildi), whatman kağıdı ve sünger yerleştirildi ve kaset kapatıldı. Kaset tanka yerleştirildi. Etrafına buz aküsü konuldu ardından tamamı transfer çözeltisiyle dolduruldu. Sonrasında 90 dakika 250 mA akıma maruz bırakılarak proteinlerin membrana transferini gerçekleştirildi. Bloklama için membran % 5'lik süt tozunda 45 dakika 140-250 rpm'de çalkalandı ve süt tozu kalıntılarından arındırmak için membran 3 kez TBST çözeltisiyle yıkandı. Ardından gece boyu çalkalayıcıda membran yüzeyine primer antikor dökülerek +4 °C'de bekletildi. Üç kez TBST çözeltisiyle 10 dakika yıkayıp membran sekonder antikorla oda sıcaklığında karanlık ortamda çalkalayıcıda 2 saat tutuldu. Takiben 10 dakika 3 kez TBST çözeltisiyle yıkandı.

3.2.7.2.4. Görüntüleme

Kemilüminesans görüntüleme reaktifi, peroksit solüsyonu ve luminol solüsyonu (1:1:1) karıştırılarak hazırlandı. Karanlık odada membranın yüzeyine döküldü. Fusion Fx cihazında görüntü alındı ve bant yoğunluğu Image J programı kullanılarak gerçekleştirildi ve değerler β -aktin yoğunluğuna oranlanarak hesaplandı.

3.2.8. Plazma ve Karaciğer Tau-fluvalinat Analizi

Plazma/doku tau-fluvalinat analizinin ekstraksiyon aşaması Yavuz ve ark. (2010)'nın belirlediği metodda bazı uyarlamalar yapılarak gerçekleştirildi. 0,25 ml plazma/0,25 g karaciğer dokusu (trimlenmiş karaciğer) alındı. Üzerine 2,75 ml n-hekzan/aseton (8/2, v/v) eklendi ve tüplerin ağzları kapatıldı oda koşullarında 10 dakika bekletildi. Ardından 3 dakika vorteksenerek soğutmalı santrifüjde (+4°C) 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan kısımdan 1,5 ml alınıp ayrı tüplere konularak azot gazıyla uçuruldu. Devamında 600 μ l n-hekzan ilave edildi ve vorteksenerek viyallere aktarıldı. Gaz kromatografisinde, kapillar kolon (HP-5MS, 30 m-0,25 mm-25 mm) ve oto-örnekleyici bağlantılı elektron yakalama dedektörü (ECD) kullanılarak gerçekleştirildi. Analizlerde cihaz şartlarının oluşturulmasında Mekebri ve ark (2008), Wang ve ark (2009) ve Hunter ve ark (2010)'ın yöntemi modifiye edilerek kullanıldı. Alınan veriler, ng/ml (plazma) ve ng/g (karaciğer) şeklinde hesaplandı.

Tablo 3.1. Plazma ve karaciğer tau-fluvalinat analizinde kullanılan GC koşulları.

Cihaz Bölümü	Şartlar
Enjeksiyon	
Enjeksiyon modu	Splitless
Sıcaklık	260 °C
Taşıyıcı gaz	Helyum
Basınç	27 psi
Cihaza uygulanan numune hacmi	2 µl
Gaz akış hızı	51,2 ml/dk
Gaz atılma hızı	45,5 ml/dk
Dedektör	
Tipi	µECD
Yardımcı gaz	Azot
Dedektör ısısı	325 °C
Gaz akış şekli	Sürekli
Gaz akış hızı	60 ml/dk
Fırın	
Başlangıç bekleme süresi	2 dakika
Başlangıç ısısı	70 °C
Birinci aşama	25 °C/dk hızla 150 °C'ye ulaşıldı
İkinci aşama	3 °C/dk hızla 200 °C'ye ulaşıldı
Üçüncü aşama	8 °C/dk hızla 280 °C'ye ulaşıldı
Toplam analiz süresi	41,87 dk
Kolon	
Mod	Sürekli basınç
Basıncı	27 psi
Kolon ölçüleri	30 m, 0,25 mm, 0,25 µm
Kolon tipi	Kapillar kolon (HP-5MS)
Kolon gaz akış hızı	2,8 ml/dk

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel hesaplanmasında IBM SPSS 21,0 istatistik programı kullanıldı ve değerler aritmetik ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arası önemlilikler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan testi ($p<0,05$ esas alınarak) ile belirlendi. Western blot sonuçlarının kontrole göre karşılaştırılması independent sample t testi ile gerçekleştirildi.



4. BULGULAR

4.1. Diosmin

Kontrol grubu (Grup 1) ile yalnızca diosmin uygulanan grup (Grup 2) karşılaştırıldığında oksidatif stres parametreleri (MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST ve G6PD), serum biyokimyasal parametreleri (trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, LDH, AST, ALT, ALP, pseudokolinesteraz düzeyleri/aktiviteleri) ve ağırlıklarda (canlı ağırlık, organ ağırlığı ve organ bağıl ağırlığı) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim söz konusu olmamıştır (Tablo 4.1-9). Benzeri şekilde karaciğer kaspaz-3 kaspaz-9, p53, Bcl-2 ve Bax ifadelendirme düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.1-3).

4.2. Krisin

Kontrol grubu (Grup 1) ile yalnızca krisin verilen grup (Grup 3) karşılaştırıldığında oksidatif stres parametreleri (MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST ve G6PD), serum biyokimyasal parametreleri (trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, LDH, AST, ALT, ALP, pseudokolinesteraz düzeyleri/aktiviteleri) ve ağırlıklarında (canlı ağırlık, organ ağırlığı ve organ bağıl ağırlığı) istatistiki anlamda bir farklılık belirlenmemiştir (Tablo 4.1-9). Aynı şekilde kaspaz-3 kaspaz-9, p53, Bcl-2 ve Bax ifadelendirilme seviyelerinde kontrole göre istatistiksel bir farkın şekillenmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.1-3).

4.3. Tau-Fluvalinat

Kontrol grubuna göre değerlendirilen numunelerde yalnızca tau-fluvalinat (Grup 4) verilen grupta MDA ve NO düzeylerinde önemli bir artış söz konusu olmuşken GSH düzeylerinde ise anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Antioksidan enzimlerden tüm doku ve eritrosit aktivitelerinde (testis GST, akciğer G6PD ve eritrosit GR aktivitesi dışında) önemli bir düşüş belirlenmiştir (Tablo 4.1-7). Biyokimyasal parametreler arasında trigliserit, kolesterol, toplam protein ve albümin, LDH ve PChE düzeyleri/aktivitelerinde düşüş; BUN, kreatinin, ürik asit, AST, ALT, ALP ve düzeyleri/aktivitelerinde önemli artış tespit edilmiştir (Tablo 4.8). Deneme sonunda ölçülen canlı ağırlık ve doku ağırlıklarında (karaciğer, kalp, böbrek, testis, akciğer, beyin) ve relatif karaciğer ağırlığındaki düşüşlerin önemli olduğu anlaşılmıştır (Tablo 4.9). Kaspaz 3, kaspaz 9, p53 ve Bax ifadelendirme düzeylerinde bulunan artış ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyindeki düşüş istatistiksel olarak farklıdır (Şekil 4.1-3). Grubun plazma ve karaciğer dokusu ortalama tau-fluvalinat düzeyi sırasıyla 8,70 ng/ml ve 5,07 ng/g bulunmuştur.

4.4. Tau-Fluvalinat ve Diosmin

Tau-fluvalinat ile birlikte diosmin uygulanan grubun (Grup 5) değerlerinin kontrol grubu (Grup 1) değerlerine doğru yaklaştığı saptanmıştır. Yine de karaciğer GSH, GST ve G6PD aktivitesi; böbrek GST ve G6PD aktivitesi; testis MDA, CAT ve G6PD aktivitesi/düzeyi; kalp GSH, CAT ve G6PD aktivitesi; akciğer SOD, CAT ve GR aktivitesinde istatistiksel farklılık vardır (Tablo 4.1-7). Benzer şekilde biyokimyasal parametrelerden trigliserit, kolesterol, LDH ve PChE aktivitesi/düzeyinde önemlilik mevcuttur. Canlı ağırlık, karaciğer, akciğer ve beyin ağırlığında istatistiki önemlilik mevcuttur (Tablo 4.8). Kaspaz 3, kaspaz 9 ve p53 ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyinde saptanan değişimler istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.1-3). Grubun plazma ve karaciğer dokusu ortalama tau-fluvalinat miktarı sırasıyla 4,72 ng/ml ve 2,17 ng/g olarak saptandı.

4.5. Tau-Fluvalinat ve Krisin

Tau-fluvalinat ile birlikte krisin uygulanan grup (Grup 6) ve kontrol grubu (Grup 1) kıyaslandığında sonuçların kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştığı tespit edilmiştir. Bu yaklaşıma rağmen oksidatif stres parametrelerinden karaciğer GSH, GST ve G6PD; böbrek GST; testis CAT ve G6PD; kalp GSH ve CAT; akciğer GSH, SOD,

CAT, GR; eritrosit GR aktivitesi/düzeylerinde önemli farklılıklar belirlenmiştir (Tablo 4.1-7). Biyokimyasal parametrelerden trigliserit, kolesterol, LDH ve PChE aktivitesi/düzeyinde farklılıklar devam etmiştir (Tablo 4.8). Canlı ağırlık, karaciğer ve akciğer ağırlıklarında her iki grup arasında istatistiki fark bulunamamıştır (Tablo 4.9). Kaspaz 3, p53, Bax ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyinde farklılıklar gözlenmiştir (Şekil 4.1-3). Grubun plazma ve karaciğer dokusu ortalama tau-fluvalinat seviyesinin sırasıyla 3,20 ng/ml ve 2,48 ng/g olduğu anlaşılmıştır.



Tablo 4.1. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat karaciğer dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	3,02±0,40 ^a	2,84±0,32 ^a	2,92±0,40 ^a	4,06±1,44 ^b	3,00±0,64 ^a	2,95±0,41 ^a
NO (nmol/mg-protein)	2,32±0,43 ^a	2,23±0,31 ^a	2,41±0,45 ^a	3,05±0,77 ^b	2,31±0,32 ^a	2,20±0,21 ^a
GSH (nmol/mg-protein)	64,13±4,61 ^a	68,37±4,30 ^a	67,25±7,90 ^a	51,75±5,51 ^c	59,14±4,24 ^b	54,32±3,27 ^c
SOD (U/mg-protein)	0,58±0,03 ^{ab}	0,62±0,11 ^{ab}	0,66±0,14 ^a	0,46±0,11 ^c	0,57±0,07 ^{ab}	0,55±0,09 ^b
CAT (k/g-protein)	869,38±330,53 ^a	890,7972±181,75 ^a	929,98±142,36 ^a	595,38±164,48 ^b	924,26±110,82 ^a	761,05±191,38 ^{ab}
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	17,55±3,31 ^a	16,6954±4,13 ^a	15,19±3,15 ^a	9,36±4,09 ^b	13,69±5,53 ^a	14,63±3,31 ^a
GR (nmol/dk/g-protein)	22,03±5,19 ^a	20,5826±3,33 ^a	23,48±3,34 ^a	15,32±2,54 ^b	19,75±4,23 ^a	20,24±3,60 ^a
GST (nmol/dk/g-protein)	177,91±24,74 ^a	171,0354±47,59 ^{ab}	184,44±37,64 ^a	134,92±33,14 ^c	143,12±38,36 ^{bc}	135,03±28,27 ^c
G6PD (nmol/dk/g-protein)	31,67±3,99 ^a	29,7274±5,14 ^{ab}	33,66±5,54 ^a	21,51±6,00 ^c	25,64±4,96 ^{bc}	26,51±4,12 ^b

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.2. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat böbrek dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	2,05±0,55 ^a	1,96±0,15 ^a	2,12±0,24 ^a	2,70±0,80 ^b	2,50±0,84 ^{ab}	2,31±0,48 ^{ab}
NO (nmol/mg-protein)	2,42±0,53 ^a	2,35±0,21 ^a	2,60±0,24 ^a	3,20±0,59 ^b	2,77±0,32 ^a	2,68±0,58 ^a
GSH (nmol/mg-protein)	39,63±4,63 ^a	41,46±5,76 ^a	44,05±3,97 ^a	34,42±9,83 ^b	44,10±3,95 ^a	41,67±3,67 ^a
SOD (U/mg-protein)	0,89±0,11 ^a	0,83±0,06 ^a	0,91±0,12 ^a	0,70±0,16 ^b	0,87±0,09 ^a	0,82±0,12 ^a
CAT (k/g-protein)	99,10±13,14 ^a	90,19±15,08 ^a	96,76±17,87 ^a	71,79±17,13 ^b	91,50±17,29 ^a	89,25±12,92 ^a
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	27,79±5,63 ^a	25,73±6,44 ^a	27,21±8,64 ^a	17,99±5,46 ^b	25,09±8,11 ^a	22,77±6,33 ^{ab}
GR (nmol/dk/g-protein)	28,20±4,85 ^a	27,31±5,62 ^a	26,73±6,08 ^a	19,97±6,97 ^b	24,87±5,27 ^{ab}	26,55±3,85 ^a
GST (nmol/dk/g-protein)	88,82±21,43 ^a	84,47±21,64 ^a	77,66±18,83 ^{ab}	45,45±21,27 ^c	53,01±18,98 ^c	58,90±24,71 ^{bc}
G6PD (nmol/dk/g-protein)	23,05±2,75 ^a	21,97±5,01 ^{ab}	20,82±2,31 ^{ab}	15,39±4,34 ^c	18,58±3,47 ^{bc}	20,52±3,90 ^{ab}

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.3. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat beyin dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	1,77±0,23 ^{ab}	1,84±0,29 ^{ab}	1,72±0,29 ^a	2,43±0,63 ^c	1,92±0,66 ^{ab}	2,21±0,61 ^{bc}
NO (nmol/mg-protein)	3,39±0,32 ^a	3,10±0,43 ^a	3,24±0,27 ^a	3,74±0,45 ^b	3,42±0,24 ^{ab}	3,36±0,36 ^a
GSH (nmol/mg-protein)	37,32±7,75 ^a	39,43±4,03 ^a	38,17±3,34 ^a	29,67±7,71 ^b	37,67±6,24 ^a	36,14±8,62 ^a
SOD (U/mg-protein)	0,84±0,13 ^a	0,77±0,17 ^a	0,81±0,12 ^a	0,61±,21 ^b	0,89±0,11 ^a	0,80±0,22 ^a
CAT (k/g-protein)	5,72±1,26 ^a	5,68±1,31 ^a	5,55±1,18 ^a	4,18±1,38 ^b	5,46±0,92 ^a	6,30±2,14 ^a
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	15,92±4,81 ^a	17,28±4,08 ^a	16,07±4,26 ^a	11,58±1,84 ^b	16,94±5,16 ^a	15,27±2,05 ^a
GR (nmol/dk/g-protein)	16,90±3,93 ^a	18,10±4,38 ^a	17,01±4,99 ^a	11,95±1,49 ^b	16,62±5,66 ^a	17,11±4,25 ^a
GST (nmol/dk/g-protein)	57,76±25,32 ^a	55,74±18,30 ^a	51,66±16,83 ^a	33,10±12,31 ^b	52,05±15,37 ^a	56,47±13,06 ^a
G6PD (nmol/dk/g-protein)	46,85±3,41 ^a	44,83±17,19 ^a	43,83±13,90 ^a	28,89±10,49 ^b	37,19±5,83 ^{ab}	40,24±11,87 ^a

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.4. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat testis dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	4,70±1,15 ^a	4,54±0,62 ^a	5,00±0,44 ^{ab}	6,29±1,21 ^c	5,82±1,17 ^{bc}	5,01±1,40 ^{ab}
NO (nmol/mg-protein)	3,85±1,25 ^a	3,77±0,83 ^a	3,70±0,59 ^a	5,12±1,74 ^b	4,18±,96 ^{ab}	4,36±0,65 ^{ab}
GSH (nmol/mg-protein)	32,09±5,31 ^{ab}	35,62±5,60 ^a	33,33±4,43 ^a	23,34±4,67 ^c	27,80±5,08 ^b	28,15±4,11 ^b
SOD (U/mg-protein)	0,42±0,13 ^a	0,44±0,17 ^a	0,41±0,07 ^a	0,27±0,06 ^b	0,38±0,12 ^{ab}	0,42±0,14 ^a
CAT (k/g-protein)	6,22±1,80 ^a	6,19±0,99 ^a	5,79±1,68 ^a	3,70±0,89 ^b	4,23±1,30 ^b	4,31±1,59 ^b
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	21,82±5,92 ^a	24,82±6,54 ^a	23,32±5,03 ^a	16,60±2,86 ^b	22,39±6,17 ^a	19,88±5,51 ^{ab}
GR (nmol/dk/g-protein)	6,71±2,10 ^a	7,47±1,14 ^a	7,50±1,85 ^a	4,58±1,67 ^b	6,77±1,74 ^a	6,67±2,15 ^a
GST (nmol/dk/g-protein)	228,35±62,60 ^a	203,08±73,92 ^a	235,03±87,96 ^a	324,72±103,59 ^b	252,25±57,54 ^{ab}	273,00±67,75 ^{ab}
G6PD (nmol/dk/g-protein)	14,58±2,15 ^a	13,28±4,57 ^{ab}	12,07±4,26 ^{abc}	8,69±2,60 ^d	10,48±1,69 ^{bcd}	9,98±2,38 ^{cd}

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.5. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat kalp dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	3,81±0,62 ^a	3,57±0,63 ^a	3,60±1,13 ^a	4,79±1,08 ^b	3,40±0,90 ^{ab}	3,93±1,20 ^{ab}
NO (nmol/mg-protein)	3,31±0,49 ^a	3,27±0,44 ^a	3,15±0,29 ^a	3,93±0,89 ^b	3,56±0,41 ^{ab}	3,57±0,58 ^{ab}
GSH (nmol/mg-protein)	63,51±7,04 ^a	59,35±4,02 ^{abc}	60,17±7,97 ^{ab}	45,87±6,87 ^d	53,25±6,21 ^c	53,83±8,41 ^{bc}
SOD (U/mg-protein)	0,73±0,12 ^a	0,72±0,12 ^a	0,70±0,05 ^a	0,53±0,13 ^b	0,74±0,08 ^a	0,76±0,14 ^a
CAT (k/g-protein)	23,28±7,04 ^a	25,55±5,22 ^a	22,49±5,96 ^a	8,32±1,93 ^c	13,36±3,74 ^b	14,30±2,92 ^b
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	10,92±3,26 ^a	11,19±2,82 ^a	11,72±2,59 ^a	7,54±1,33 ^b	10,89±2,93 ^a	11,40±4,30 ^a
GR (nmol/dk/g-protein)	6,17±1,79 ^a	6,62±1,89 ^a	6,31±1,29 ^a	3,93±1,42 ^b	6,07±1,21 ^a	6,17±2,77 ^a
GST (nmol/dk/g-protein)	20,68±11,66 ^a	21,18±5,51 ^a	24,32±8,48 ^a	12,86±6,11 ^b	22,16±6,13 ^a	23,69±9,54 ^a
G6PD (nmol/dk/g-protein)	50,45±8,39 ^a	48,00±8,26 ^{ab}	44,10±2,85 ^{ab}	33,57±9,40 ^c	40,46±13,32 ^{bc}	43,41±12,30 ^{ab}

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.6. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat akciğer dokusuna ait bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/mg-protein)	3,60±0,60 ^a	3,69±1,01 ^a	3,50±0,90 ^a	5,06±1,71 ^b	3,98±1,23 ^a	3,67±1,29 ^a
NO (nmol/mg-protein)	3,47±0,68 ^a	3,53±0,65 ^a	3,24±0,45 ^a	4,22±1,07 ^b	3,42±0,51 ^a	3,31±0,52 ^a
GSH (nmol/mg-protein)	52,31±6,10 ^{ab}	53,97±7,95 ^a	47,91±7,19 ^{ab}	39,40±6,69 ^d	46,14±7,02 ^{bc}	40,94±4,34 ^{cd}
SOD (U/mg-protein)	0,69±0,13 ^a	0,66±0,15 ^{ab}	0,62±0,09 ^{ab}	0,49±0,09 ^c	0,58±0,08 ^{bc}	0,52±0,06 ^c
CAT (k/g-protein)	14,13±3,63 ^a	12,35±2,30 ^a	13,83±3,20 ^a	9,37±2,03 ^b	10,02±2,17 ^b	9,48±1,55 ^b
GSH-Px (nmol/dk/g-protein)	14,33±3,37 ^a	13,47±5,09 ^a	14,75±4,17 ^a	9,42±2,58 ^b	13,72±4,89 ^a	11,05±2,83 ^a
GR (nmol/dk/g-protein)	13,62±2,95 ^a	15,61±4,64 ^a	12,73±2,75 ^{ab}	7,57±3,22 ^c	9,47±2,74 ^c	10,44±1,71 ^{bc}
GST (nmol/dk/g-protein)	51,10±7,84 ^a	49,91±10,74 ^a	46,27±9,03 ^{ab}	28,28±13,40 ^c	38,32±13,64 ^{ab}	35,63±12,77 ^{ab}
G6PD (nmol/dk/g-protein)	5,12±1,96 ^a	5,03±1,62 ^a	5,25±2,37 ^a	7,32±0,97 ^b	6,05±1,69 ^{ab}	5,38±1,79 ^a

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.7. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat eritrosit/plazmaya ait bazı oksidatif stres parametreleri

Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
MDA (nmol/ml)	63,62±10,92 ^a	65,12±13,96 ^a	75,62±17,35 ^a	107,82±49,39 ^b	91,72±43,12 ^{ab}	87,44±33,00 ^{ab}
NO (nmol/ml)	26,35±5,18 ^a	24,20±3,58 ^a	25,39±4,82 ^a	36,51±13,23 ^b	28,33±4,31 ^a	30,42±3,80 ^a
GSH (nmol/ml)	5048,20±1189,12 ^a	4759,04±717,63 ^a	4959,66±731,17 ^a	3847,30±349,18 ^b	4598,71±527,37 ^a	4667,10±1078,80 ^a
SOD (U/mgHb)	1,49±0,27 ^a	1,56±0,58 ^a	1,43±0,30 ^a	0,95±0,46 ^b	1,21±0,41 ^{ab}	1,35±0,40 ^a
CAT (k/gHb)	329,85±103,44 ^a	306,13±93,04 ^a	315,69±88,57 ^a	223,23±62,69 ^b	264,42±32,10 ^{ab}	291,12±67,88 ^{ab}
GSH-Px (nmol/dk/gHb)	236,19±72,73 ^a	230,56±79,43 ^a	253,88±41,38 ^a	163,53±35,11 ^b	208,84±54,11 ^{ab}	230,56±55,44 ^{ab}
GR (nmol/dk/gHb)	2,74±0,97 ^a	2,69±0,77 ^a	2,5129±0,73 ^a	3,90±1,66 ^b	3,39±1,23 ^{ab}	4,12±0,87 ^b
GST (nmol/dk/gHb)	25,23±9,78 ^a	24,89±17,57 ^a	22,78±10,94 ^a	6,45±4,28 ^b	19,52±2,98 ^a	17,40±5,37 ^a
G6PD (nmol/dk/gHb)	52,94±14,43 ^a	46,48±20,09 ^{ab}	48,64±11,37 ^{ab}	31,93±10,70 ^c	38,48±11,57 ^{bc}	43,01±11,37 ^{abc}

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

Tablo 4.8. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) rat serum biyokimyasal parametreleri

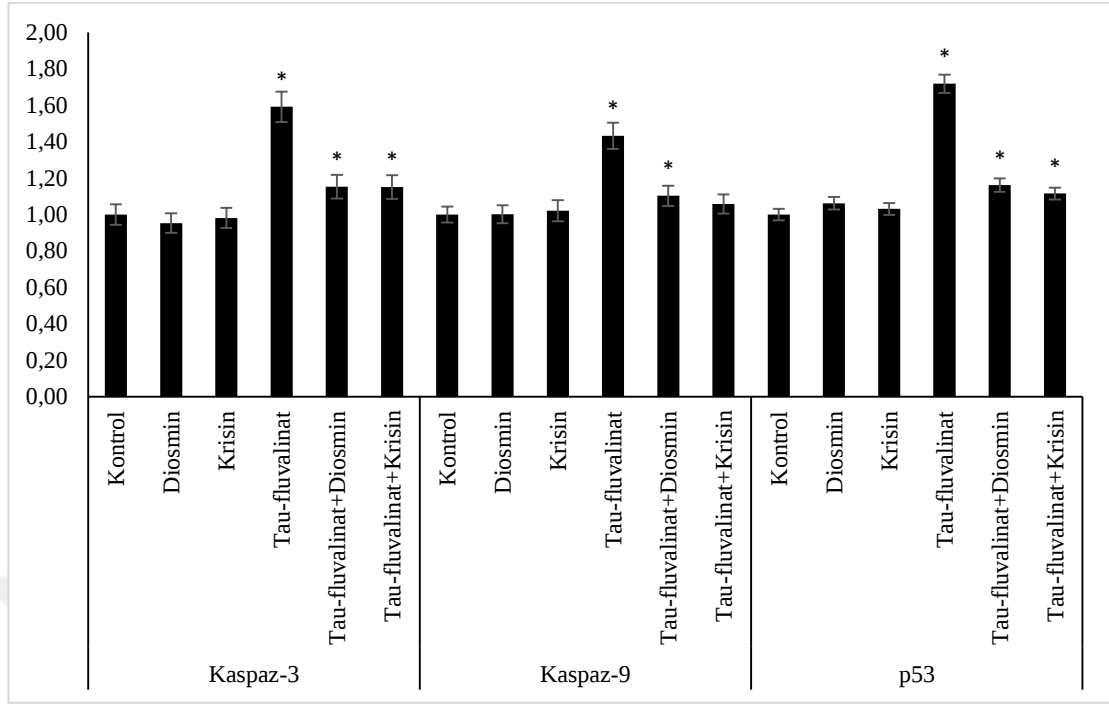
Parametre	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
Trigliserit (mg/dL)	109,00±27,17 ^a	103,40±15,52 ^a	113,60±34,95 ^a	65,00±21,78 ^b	76,80±18,18 ^b	74,00±13,21 ^b
Kolesterol (mg/dL)	55,90±7,66 ^a	53,10±8,67 ^{ab}	53,70±6,05 ^{ab}	45,60±2,95 ^c	49,20±4,61 ^{bc}	48,80±3,48 ^{bc}
BUN (mg/dL)	17,43±4,48 ^{ab}	18,38±4,00 ^b	16,57±3,28 ^{ab}	22,27±4,89 ^c	15,59±5,42 ^{ab}	14,02±2,29 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0,30±0,03 ^a	0,31±0,03 ^a	0,29±0,03 ^a	0,40±0,12 ^b	0,28±0,03 ^a	0,29±0,03 ^a
Urik Asit (mg/dL)	1,13±0,28 ^a	1,01±0,19 ^a	0,98±0,35 ^a	1,54±0,74 ^b	0,95±0,34 ^a	0,92±0,27 ^a
T-Protein (mg/dL)	5,84±0,17 ^a	5,80±0,28 ^a	5,76±0,20 ^a	4,73±1,21 ^b	5,36±0,23 ^a	5,47±,22 ^a
Albumin (mg/dL)	3,83±0,19 ^a	3,78±0,17 ^a	3,90±0,54 ^a	2,90±0,78 ^b	3,62±0,13 ^a	3,78±3,78 ^a
AST (U/dL)	113,60±13,69 ^a	121,80±22,06 ^a	115,00±15,24 ^a	147,20±35,12 ^b	104,10±15,24 ^a	120,20±28,67 ^a
ALT (U/dL)	52,50±15,87 ^a	48,30±5,35 ^a	50,50±8,47 ^a	71,40±21,37 ^b	46,60±4,45 ^a	45,40±6,70 ^a
ALP (U/dL)	192,30±35,13 ^a	188,50±39,67 ^a	204,80±31,93 ^a	256,80±59,95 ^b	177,20±35,73 ^a	173,20±29,82 ^a
LDH (U/dL)	1300,80±559,85 ^a	1328,20±594,97 ^a	1259,00±377,91 ^a	737,50±236,84 ^b	762,80±365,25 ^b	796,40±318,25 ^b
PChE (U/L)	175,90±25,94 ^a	168,00±23,56 ^{ab}	176,00±14,59 ^a	131,40±44,38 ^c	130,00±19,53 ^c	147,00±12,85 ^{bc}

Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).

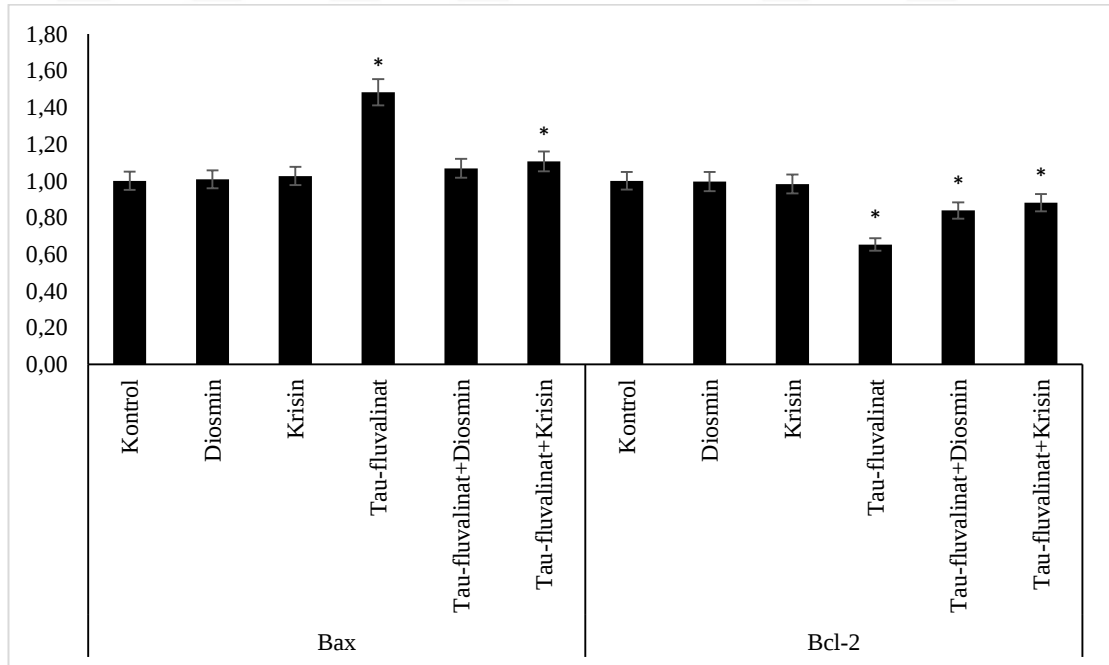
Tablo 4.9. Diosmin, krisin, tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına/birlikte) canlı ağırlıkları, organ ağırlıkları ve relatif organ ağırlıkları

Parametre (Ağırlık)	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	Grup 6 (n:10)
Canlı Ağırlık (g)	253,90±20,14 ^a	249,10±14,27 ^a	256,60±18,74 ^a	214,50±16,69 ^c	232,00±17,17 ^b	228,10±17,47 ^{bc}
Karaciğer (g)	10,43±1,00 ^a	10,42±1,14 ^a	11,02±0,96 ^a	7,76±1,27 ^b	8,77±1,29 ^b	8,54±1,03 ^b
Kalp (g)	2,09±0,25 ^a	1,97±0,45 ^a	2,02±0,26 ^a	1,30±0,22 ^b	2,19±1,40 ^a	1,73±0,20 ^{ab}
Böbrek (g)	1,86±0,14 ^a	1,87±0,31 ^a	1,92±0,14 ^a	1,68±0,20 ^b	1,89±0,10 ^a	1,93±0,09 ^a
Testis (g)	2,61±0,26 ^a	2,53±0,37 ^a	2,70±0,10 ^a	2,25±0,42 ^b	2,56±0,12 ^a	2,49±0,19 ^{ab}
Akciğer (g)	0,88±0,13 ^a	0,96±0,18 ^a	0,92±0,14 ^a	0,71±0,08 ^b	0,76±0,09 ^b	0,76±0,06 ^b
Beyin (g)	1,86±0,28 ^a	1,80±0,22 ^a	1,82±0,25 ^a	1,44±0,32 ^b	1,50±0,23 ^b	1,59±0,41 ^{ab}
Relatif Karaciğer	4,10±0,25 ^{ab}	4,18±0,39 ^a	4,30±0,33 ^a	3,65±0,71 ^c	3,77±0,43 ^{bc}	3,73±0,20 ^{bc}
Relatif Kalp	0,82±0,06	0,79±0,19	0,79±0,10	0,61±0,13	0,92±0,51	0,76±0,05
Relatif Böbrek	0,73±0,04	0,75±0,15	0,75±0,08	0,79±0,13	0,82±0,08	0,85±0,05
Relatif Testis	1,03±0,12	1,01±0,15	1,05±0,07	1,05±0,20	1,11±0,07	1,09±0,08
Relatif Akciğer	0,35±0,05	0,38±0,08	0,36±0,07	0,33±0,02	0,33±0,04	0,33±0,03
Relatif Beyin	0,73±0,12	0,72±0,09	0,71±0,08	0,67±0,17	0,64±0,10	0,70±0,20

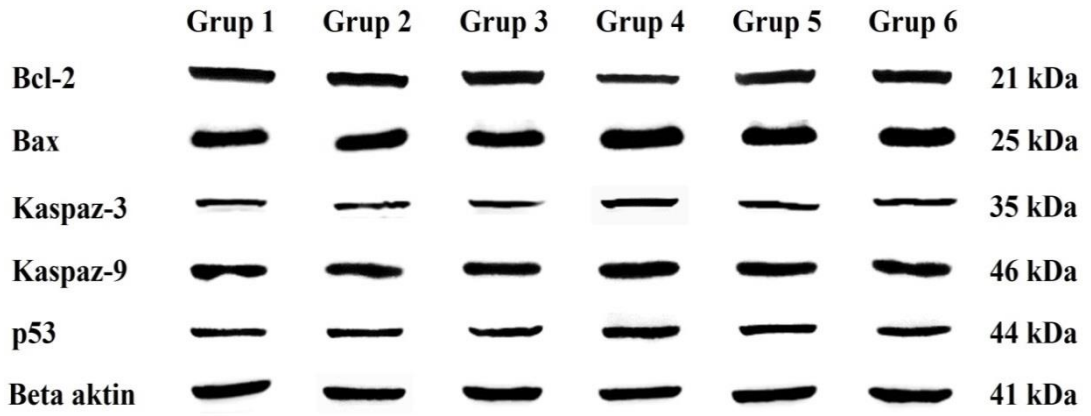
Grup 1, Kontrol; Grup 2, Diosmin; Grup 3, Krisin; Grup 4, Tau-fluvalinat; Grup 5, Tau-fluvalinat-Diosmin; Grup 6, Tau-fluvalinat-Krisin. ^{a,b,c}. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup verileri önemlidir (p<0.05).



Şekil 4.1. Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu kaspaz-3, kaspaz-9 ve p53 ifadelendirme düzeyleri. *. $p < 0,05$ (kontrol grubuna göre).



Şekil 4.2. Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu Bax ve Bcl-2 düzeyleri. *. $p < 0,05$ (kontrol grubuna göre).



Şekil 4.3. Diosmin, krisin ve tau-fluvalinat uygulanan grupların (tek başına ve birlikte) rat karaciğer dokusu Western Blot bant görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında tau-fluvalinat maruziyetinin doku ve organ düzeyindeki etkileri değerlendirilmiş ve bu etkilere karşı diosmin ve krisinin onarıcı etkilerinin olup olmadığı ve bunun boyutu araştırılmıştır. Bu kapsamda, bazı oksidatif stres parametreleri, apoptozis parametreleri ve bazı biyokimyasal parametreler incelenmiştir. Oksidatif stres serbest radikallerin üretimi sonucunda şekillenir (Banerjee ve ark., 2001; Lobo ve ark., 2010). Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron taşıyan kararsız yapılardır ve reaktif oksijen türleri (ROS) ya da reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak nitelendirilir. Eşlenmemiş elektron serbest radikalın kimyasal reaktivitesinden sorumludur. Hücrelerde ya da dokularda farklı reaksiyonlar oluştururlar. Serbest oksijen radikalleri iskemi, hiperoksijenizasyon ve enflamasyon gibi birçok durumda rol oynar (Bulkley 1983; Basaga, 1989). Yüksek düzeylerde ROS, lipid, protein ve nükleik asit membranlarını da içeren hücresel hasarın en önemli araçlarından biri olmaktadır. Oksidatif stres antioksidan savunması ile hücrelerin lipid katmanının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlikle şekillenir (Miller ve ark., 1993; Valko ve ark., 2006). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden türevlenmektedir. Oksijen demir-kükürt içeren bazı enzimler ile indirgenerek oluşur. Hücresel yapılara hasar verme potansiyeli çok fazla olan süperoksit grubu SOD aracılığı ile hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürülür. Hidrojen peroksit ise dokulardaki CAT ve GSH-Px gibi enzimlerle su ve oksijene çevrilir (Cadenas, 1997; Mates, 2000). GR okside glutasyonun indirgenmesinden rol alır (Pannala ve ark., 2013). G6PD, NADPH düzeyinin hücresel ortamda idamesinde görevlidir (Yang ve ark., 2019). NADPH katkısıyla okside GSH redükte GSH'a çevrilir (Lienkamp ve

ark., 2020). GSH enzimatik olmayan antioksidanlardandır. Üç aminoasitten oluşur (sistein, glutamin ve glisin) biyolojik sistemde sentezlenir ve serbest radikallerin canlı organizmadan uzaklaştırılmasında ve pek çok bileşiğin (ilaç, toksik madde gibi) bağlanmasında rol alırlar (Townsend ve ark., 2003; Lushchak, 2012). GST ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol alan farklı bileşenlerin ve radikallerin GSH'a konjugasyonunu sağlar (Ramsay ve Dilda, 2014). Endojen ROS kaynaklarını mitokondri, plazma zarı, endoplazmik retikulum ve peroksizomlar oluşturur (Phaniendra ve ark., 2015). Eksojen ROS kaynakları ise çevre kirleticileri, ilaçlar, metaller, toksik bir çok kimyasal, ultraviyole ışık, radyasyon gibi unsurlar eksojen serbest radikal kaynaklarıdır (Bhattacharyya ve ark., 2014). Apoptozis parametreleri içinde p53 hücrel ortamda denge rolü görür. Serbest radikal düzeyinin arttığı ortamda zararlı etkileri baskılamada transkripsiyonu artarak olumlu etki oluşturmaya çalışırken (hücre içi antioksidan enzim aktivitelerini artırır) aynı zamanda dışarıdan kimyasal maruziyeti ile p53 aktivasyonu hücre içi oksidatif stresi ve mitokondriyal ROS seviyelerini artırır (Erster ve Moll, 2005; Liu ve Xu, 2011; Liu ve ark., 2020). Bu süreçte p53, hücreyi apoptoza da yönlendirebilir (Liu ve Xu, 2011). Eğer hücre apoptoza doğru eğilim gösterirse kaspazların aktivasyonundan bahsedilir. Kaspaz 9, 3 aktivasyonu ve diğer kaspazlar süreci apoptoza götürür (McIlwain ve ark., 2013).

Pestisitlerin geniş ölçekte kullanılıyor olması maruziyet riskini de beraberinde getirir (FAO, 2002; Saillenfait ve ark., 2015). Piretroidlerin bireysel anlamda canlı organizmasında bazı sitokrom P450 izoformları (oksidasyon için) ve karboksilesterazlarca (hidroliz için) metabolizması sırasında reaktif oksijen türleri şekillenir bu da dolayısıyla oksidatif stresi üretir (Lu ve ark. 2019; Ravula ve Yenugu, 2021). Ayrıca piretroid maruziyetinde inflamasyon, DNA hasarı ve apoptoz süreci gözlenir (Chrutek ve ark., 2018; Ensley, 2018). Nrf2 ve Ho-1'in mRNA ekspresyonunu artırır; beraberinde Nrf2'nin sitozolden çekirdeğe translokasyonu ile karaciğerinde sitokrom P450 enzimleri, oksidatif stres ve apoptozla ilgili genlerin ekspresyonu indüklenir (Martínez ve ark., 2018; Ravula ve Yenugu, 2021). Biyolojik sistemde GSH düzeyini ve antioksidan enzim aktivitelerini değiştirir (Kale ve ark., 1999). Dengenin oksidasyon tarafına kaymasıyla lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin karbonilasyonuna ve nükleik asitlerin oksidasyonuna sebep olur (Ravula

ve Yenugu, 2021). Bu yapılara olan etkinin tersine çevrilmesi veya minimale indirilmesi için bazı enzimatik (SOD, GR, GSH-Px, GST, G6PD, CAT gibi) ve enzimatik olmayan (GSH) antioksidan savunma sistemleri devreye girer (Banerjee ve ark., 2001; Bashir ve Jan, 2015) dolayısıyla bu parametrelerde değişimler söz konusu olur (Mariana ve ark., 2009; Santana ve ark., 2022; Deyashi ve Chakraborty, 2016). Diğer taraftan bu grubun içinde yer alan piretroidler yine günümüzde pestisit sınıfı içinde hem iç ve dış ortamda hem de hayvanlarda veteriner hekimliği alanında kullanım bulmaktadır (Anadón ve ark., 2013). Mevcut çalışmalar piretroid grubu insektisitlerin oksidatif stresi indüklediğini göstermektedir (Hu ve ark., 2010; Yang ve ark., 2020).

Flavonoidler meyve, sebze, bitkisel ürünler ve bunların kabuk, gövde ve çekirdeğinde bulunan doğal bileşiklerdir. Flavonodiler antioksidan etkilerini serbest radikalleri bağlaması, prooksidan özellik gösteren ve serbest radikal üretiminde ko-faktör olarak rol alan metallerle kelasyon, redoks reaksiyonlarından sorumlu bazı oksidazları inhibe etmesi ve antioksidan enzimlerin aktivasyonuna yol açmaları gibi etkileri vardır (Procházková ve ark., 2011; Panche ve ark., 2016). Krisin antioksidan özelliği belirgin flavonoidlerdendir (Stompor-Gorący ve ark., 2021; Mani ve Natesan, 2018). Kaspaz aktivasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu inhibe eder ve antioksidan enzimleri iyileştirir. Serbest radikal süpürücü aktiviteleri vardır (Khoo ve ark., 2010; Pushpavalli ve ark., 2010). Aromatazı inhibe eder. GSH sentez yollarında olumlu etkileri vardır. Bazı sitokromal ve sitokromal olmayan enzimlerin (ksantin oksidaz) inhibisyona yol açarak oksidatif strese sebep olan yolları inhibe eder (Mani ve Natesan 2018; Naz ve ark., 2019). Diosminin antioksidan etki mekanizmaları arasında antienflamatuvar etkisi (ksantin oksidaz, aldoz redüktaz, fosfodiesteraz gibi çeşitli enzimleri inhibe ederek), serbest radikalleri bağlayıcı potansiyeli ve antioksidan enzim sentezinin indüksiyonu bulunur (Huwait ve Mobashir, 2022).

5.1. Diosmin

Sadece diosmin uygulanan grupta değerlerin kontrol grubu değerleriyle örtüşmesi veya benzer olması belirtilen doz ve sürede ratların biyolojik sisteminde diosminin negatif bir etkiye sebep olmadığını göstermektedir. İncelenen tüm parametreler için

bu kanıya varılmıştır. Benzer araştırmalara göz atıldığında; Vafa ve ark. (2020) ratlara 28 gün 40 mg/kg.ca dozunda diosmini ağızdan uygulamışlardır ve LPO, CAT, GSH, GSH-Px, GR ve GST seviyelerinde/aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Tahir ve ark. (2012) ratlara 28 gün boyunca 20 mg/kg.ca dozunda ağızdan diosmin uygulamışlar vücut ağırlıklarında, karaciğer relatif ağırlığında, MDA, CAT, GSH, GSH-Px ve GR aktivite/düzeylerinde ve ALT, AST ve LDH seviyelerinde anlamlı bir farklılığın bulunmadığını kaydetmişlerdir. Eraslan ve ark. (2017), ratlara 50 mg/kg.ca dozunda 21 gün süreyle verdikleri diosminin eritrosit, karaciğer ve böbrek MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde (böbrek için GSH-Px aktivitesi hariç) önemli değişime yol açmadığını bildirmişlerdir. Yine, Bahar ve Eraslan (2023) ratlara 10 ve 20 mg/kg.ca dozunda 28 gün ağızdan diosmin uygulamışlar ve canlı ağırlık ve organ ağırlıklarında kontrole göre anlamlı bir farklılığın olmadığı saptamışlardır. Diğer taraftan karaciğer, böbrek, beyin, testis, kalp, akciğer ve eritrositte incelenen MDA, NO, GSH, SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST ve G6PD aktivite/düzeyleri ile biyokimyasal parametreler içinde AST, ALT, ALP, LDH, BUN, kreatinin, ürik asit, albümin, total protein, kolesterol, trigliserit ve pseudokolinestraz değerlerinde önemli değişim gözlememişlerdir. Aynı çalışmada kaspaz-3, kaspaz-9 ve p53 ifadelendirme düzeylerinde anlamlı bir farklılığa rastlamamışlardır. Mahgoup ve ark. (2020) ratlara 200 mg/kg.ca dozunda oral diosmini bir ay uygulamışlar karaciğer için SOD'un yanısıra kreatinin, üre, AST ve ALT aktivite/düzeylerinde ve kaspaz-3 seviyelerinde bir farklılığın olmadığını rapor etmişlerdir. Abdel-Reheim ve ark. (2017) 20 mg/kg.ca miktarında diosmini ağızdan 10 gün uygulamışlar ALT, AST, ALP ve LDH değerlerinde ve karaciğer GSH, MDA ve NO seviyelerinde kontrol grubuna göre bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. Ağır ve Eraslan (2019) ratlara 30 gün 100 mg/kg.ca dozunda uyguladıkları diosminin AST, ALT, ALP ve LDH aktiviteleri ile karaciğer/eritrosit MDA, NO, GSH düzeyleri ile SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde değişime neden olmadığını gözlemişlerdir. Tekeli ve ark. (2021) ratlara 28 gün süreyle 50 mg/kg.ca dozunda uygulanan diosminin karaciğer, böbrek, beyin, kalp ve testis oksidatif stres parametrelerinde (MDA, NO, GSH, SOD, CAT ve GSH-Px düzeyleri/aktiviteleri) ve biyokimyasal parametrelerde (kreatinin, BUN, ALT, AST) farklılığa sebep olmadığını tespit etmişlerdir. Bozdağ ve Eraslan (2020) ratlara 50 mg/kg.ca dozunda

42 gün uyguladıkları diosminin trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, LDH, AST, ALT, ALP, total protein, albümin ile MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzey/aktiviteleri ile canlı ağırlık ve doku ağırlıklarında kontrol grubuna göre önemli bir değişim yapmadığını görmüşlerdir. Bu yönüyle yukarıdaki çalışma sonuçları mevcut çalışmada da gözlenmiştir.

5.2.Krisin

Kontrol grubuna göre yalnızca krisin verilen grupta, incelenen tüm parametrelerde anlamlı farklılığın gözlenmemesi; çalışılan doz ve sürelerde krisinin rat organizmasında olumsuz etkiye yol açmadığı anlamına gelmektedir. Konuya ilişkin daha önceki çalışmalar takip edildiğinde; Çiftçi ve ark. (2011) 50 mg/kg.ca dozunda ağızdan krisinin 60 gün uygulanması sonrasında karaciğer MDA, SOD, GSH-Px değerlerinde anlamlı bir farklılık olmadığını kaydetmişlerdir. Tahir ve Sultana (2011) 40 mg/kg.ca dozunda krisinin ağızdan 28 gün uygulanması relatif organ ve vücut ağırlığında, karaciğer ve böbrek dokusunda CAT, GSH, GSH-Px, GR ve MDA düzey/aktivitelerinde ve AST, ALT, LDH, kreatinin ve BUN biyokimyasal değerlerinde önemli bir değişim belirleyememişlerdir. Anand ve ark. (2012) 20 mg/kg.ca dozunda krisini ağızdan 8 hafta süreyle uygulamışlar karaciğer, böbrek ve beyin dokusu CAT, SOD, GSH-Px, GST, GR, G6PD değerleri ile yine aynı dokularda MDA ve GSH düzeylerinde anlamlı bir değişimin olmadığını rapor etmişlerdir. Rehman ve ark. (2013) ratlara 40 mg/kg.ca dozunda krisinin 20 gün uygulanmasını takiben BUN, kreatinin ve LDH değerleri ile böbrek dokusu GSH, GR, GSH-Px, CAT, SOD, MDA ve GST seviyelerinde anlamlı bir farklılığa rastlanılmadığı görülmüştür. Ali ve ark. (2014) 80 mg/kg.ca dozunda krisini ağızdan ratlara 20 gün vermişler ve LDH, AST, ALT ile MDA, GSH, GR, GSH-Px, CAT ve SOD aktivite/düzeylerinde anlamlı bir farklılığa rastlamamışlardır. Anitha ve Rajadurai (2014) ratlara 100 mg/kg.ca dozundaki krisini 45 gün uygulamışlar karaciğer ve böbrek SOD, CAT, GST, GR ve GSH değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılık belirleyememişlerdir. Rashid ve ark. (2014) ratlara 100 mg/kg.ca dozunda krisini 21 gün uyguladıktan sonra böbrek MDA, GSH, SOD, CAT, GR, GSH-Px, p53 ve kaspaz-3 ile serum BUN, kreatin, LDH değerlerinde farklılık bulamamışlardır. Kandemir ve ark. (2017) ağızdan 25-50 mg/kg.ca dozunda 6 gün boyunca verdikleri krisinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında böbrek

dokusunda incelenen MDA, SOD, GSH-Px, CAT ve GSH değerlerinde anlamlı bir değişime yol açmadığını göstermişlerdir. Kuçukler ve ark. (2021) 50 mg/kg.ca dozunda krisini ağızdan 7 gün uygulamışlar vücut ağırlığı, üre, kreatinin seviyelerinde, böbrek MDA, GSH, SOD, CAT, GSH-Px ve böbrek p53 değerlerinde önemli bir değişiklik tespit etmemişlerdir. Tekeli ve ark. (2021), ratlara 50 mg/kg.ca dozunda ağızdan 28 gün krisin uygulaması yapmışlar kan, kalp, karaciğer, böbrek, beyin ve testis MDA, NO, GSH, SOD, CAT ve GSH-Px aktivite/düzeyleri ile canlı ağırlık, organ ağırlıkları ve trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, AST, ALT ve psödokolinesterez değerlerinde farklılık bulamamışlardır. Söz konusu değerlendirmeler bahse konu çalışma sonuçlarıyla benzerlik arz etmektedir.

5.3. Tau-Fluvalinat

Kontrol grubuyla kıyaslandığında incelemesi yapılan tüm numunelerden elde edilen sonuçlarda, tau-fluvalinat uygulanan grupta MDA ve NO düzeylerinde anlamlı bir artış GSH düzeylerinde ise önemli bir düşüş saptanmasının yanı sıra; antioksidan enzimlerden tüm doku ve eritrosit aktivitelerinde (akciğer G6PD, testis GST ve eritrosit GR aktivitesi dışında) önemli bir düşüşün mevcudiyeti tau-fluvalinatın serbest radikal oluşumunu tetiklediği ve hücrel antioksidan savunma sisteminin bu ataklara karşı harekete geçtiği fakat mevcut potansiyelinin yeterli olmadığı anlamına gelir. Ek olarak kaspaz 3, kaspaz 9, p53 ve Bax ifadelendirme düzeylerinde artışın ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyinde düşüşün gözlenmesi de serbest radikallerin doğrudan/dolaylı yoldan radikalleri yeterince elimine edemediğini ortaya koymaktadır. Bu parametredeki değişimler sürecin apoptozise doğru yönlendiğini de ifade eder. Trigliserit, kolesterol, toplam protein ve albümin, LDH ve pseudokolinesterez düzeyleri/aktivitelerinde düşüş varken BUN, kreatinin, ürik asit, AST, ALT ve ALP düzeyleri/aktivitelerinde önemli artışın tespit edilmiş olması da yüksek düzeyde üretilen serbest radikallerin biyojik sistemde olumsuz etkilere yol açtığının ve organlarda hasara sebep olduğunun belirteçidir. Deneme sonunda ölçülen canlı ağırlık ve doku ağırlıklarında (karaciğer, kalp, böbrek, testis, akciğer, beyin) ve relatif karaciğer ağırlığındaki düşüşler de organizma ve organlara olumsuz etkilerinin yansımasıdır. Plazma ve karaciğer tau-fluvalinat düzeyinin düşük çıkmasında, deney protokolü gereği son uygulamadan ancak 24 sonra kan alınmasının ve dokularının çıkarılmasının etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca bu pestistin metabolizmasının oldukça hızlı olabileceği de akılda tutulmalıdır. Serbest radikal oluşturma mekanizması muhtemelen piretroidler için yukarıda da ifade edildiği gibi metabolizmada rol alan enzimleri aktive etmesi (sitokrom P450 ve karboksilesterazlar gibi) (Lu ve ark. 2019; Ravula ve Yenugu, 2021), inflamasyon (Al-Omar ve ark., 2020), Nrf2 ve Ho-1'in mRNA ekspresyonunu artırarak karaciğer sitokrom P450 enzim, oksidatif stres ve apoptozla ilgili genlerin ekspresyonunu indüklemesi (Martínez ve ark., 2018; Ravula ve Yenugu, 2021) sebebiyledir. Tau-fluvalinat da CYP450 enzim aktivitesini indüklemektedir (Johnson ve ark., 2006). Yüksek düzeyde serbest radikal lipid peroksidasyonuna sebep olduğu için MDA düzeyi artar serbest radikalleri bağlama gayreti nedeniyle GSH düşer antioksidan enzimlerin serbest radikalleri daha zehirsiz metabolitlere çevrilmesi için tükenmesi söz konusu olur. Bu etkiler tau-fluvalinatın doğrudan etkisiyle de söz konusu olabilir. Apoptotik parametrelerden p53 ifadelendirme düzeyindeki değişimler de serbest radikal hücreyi apoptoza sürüklediğini akla getirmektedir. Aslında p53'ün antioksidan özelliği de bulunmaktadır (Sablina ve ark., 2005). Serbest radikallerin etkisiz kılınması yönünde başarı sağlanmadığı takdirde, bu seferde bu protein ekspresyonun artışı sırasıyla kaspaz 9 ve kaspaz 3'ü indükleyerek apoptozis sürecini tetikler. Yukarıda ifade edilen bazı biyokimyasal parametrelerde, canlı ağırlık ve doku ağırlıklarındaki değişimlerin tau-fluvalinatın doğrudan veya dolaylı etkisiyle ilintili olduğu düşünülmektedir. Konuya ilişkin; Garg ve ark. (1997) ratlara 35 mg/kg.ca dozunda ağızdan 21 gün verilen tau-fluvalinatın AST ve BUN değerlerinde ve 70 mg/kg.ca dozunda aynı yol ve süreyle uygulaması BUN düzeyinde artışa; 70 mg/kg.ca dozunda yapılan uygulamanın relatif karaciğer ağırlığında anlamlı bir artışa yol açtığını belirlemişlerdir. Tau-fluvalinatın deney hayvanlarında incelenen parametreler kapsamında değerlendirilen çalışmaların azlığından dolayı diğer piretroidlerle gerçekleştirilen araştırmalardan; Yousef ve ark. (2006) 1,28 mg/kg ağızdan deltametrini 30 gün uygulamışlar GST ve SOD aktivitelerinin önemli ölçüde gerilediğini, AST, ALT, LDH, kolesterol, trigliserit, üre ve kreatinin seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir. Kanbur ve ark. (2008) tarafından farelerde yapılan çalışmada sipermetrin için 5 ve 10 mg/kg.ca olmak üzere iki farklı dozu kullanılmıştır. 15. günde yapılan ölçümlerde MDA ve CAT değerlerindeki değişim iki doz içinde anlamlı iken NO ve GSH-Px düzey/aktivitelerinde anlamlı farklılık sadece 10

mg/kg.ca verilen grupta görmüşlerdir. 45. günde yapılan ölçümlerde MDA, CAT ve GSH-Px değerlerinde her iki doz için anlamlı farklılık var iken NO ve SOD için sadece 10 mg/kg.ca verilen grupta anlamlı değişikliğe neden olmuştur. Çalışmanın 60. günü için yapılan ölçümlerde MDA, SOD, CAT ve GSH-Px değerlerinde her iki doz için de anlamlı farklılık var iken NO için yine sadece 10 mg/kg.ca verilen grupta anlamlı değişim olduğu gözlemlenmiştir. Eraslan ve ark. (2008) tarafından ratlarda yapılan çalışmada 125 mg/kg.ca dozunda uygulanan sipermetrinin plazmada MDA, SOD ve CAT, karaciğer ve böbrek dokusu MDA, SOD, GSH-Px, beyin dokusu MDA, SOD, CAT ve GSH-Px değerlerinde, biyokimya ölçümlerinde ise glukoz ve trigliserit düzeylerinde anlamlı bir farklılığa neden olduğu rapor edilmiştir. Kanbur ve ark. (2010) 15 mg/kg.ca dozunda flumetrini ağızdan 15 gün vermişler ve serum, karaciğer, böbrek ve beyin MDA ile NO değerlerinde anlamlı bir artış ve eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin dokusu SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde anlamlı bir düşüşe neden olduğunu belirlemişlerdir. Singh ve ark. (2012) flumetrinin oral 2 mg/kg.ca dozunda 14 gün süreyle uygulanmasını takiben serum ve karaciğer dokusu ALT, AST, MDA CAT ve SOD düzey/aktivitelerinde anlamlı değişim tespit etmişlerdir. Eraslan ve ark. (2016) tarafından 80 mg/kg.ca dozunda gavajla ratlara sipermetrin verilerek yapılan akut toksisite çalışmasında MDA için karaciğer, dalak, testis ve eritrositlerde; NO için karaciğer, böbrek ve dalak dokusunda, SOD için karaciğer, beyin ve eritrositlerde, CAT için böbrek, beyin ve eritrositlerde, GSH-Px için karaciğer, beyin, dalak ve eritrositlerde anlamlı farklılık gözlemişlerdir. Biyokimyasal parametrelerden ise glukoz, trigliserit, AST ve ALP değerlerinde farklılık rapor edilmiştir. Karaciğer GSH değerinde farklılık gözlemişlerdir. Kronik toksisite için 60 gün ağızdan 12,5 mg/kg.ca dozunda sipermetrin uygulaması yapılmış olup MDA seviyeleri için karaciğer, böbrek, beyin, dalak, testis ve eritrositlerde; NO için karaciğer, böbrek, beyin ve dalak dokusunda; SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesi için karaciğer, böbrek, beyin, dalak, testis ve eritrositlerde anlamlı farklılık görmüşlerdir. Biyokimyasal parametrelerden glukoz, trigliserit, kolesterol, AST ve ALP değerlerinde anlamlı farklılık belirlemişlerdir. Karaciğer GST ve GSH değerlerinde de anlamlı farklılıklar tespit gözlemişlerdir. Kanbur ve ark. (2016) ratlara sipermetrinin akut ve kronik etkilerin değerlendirildiği çalışmada sipermetrinin akut etki için 80 mg/kg.ca dozunda; kronik etki için 40 gün 12

mg/kg.ca dozunda ağızdan verildiği çalışmada akut etki için değerlendirilen gruplarda; MDA değerleri karaciğer, böbrek, beyin, testis ve eritrositte, NO değerleri karaciğer, beyin ve testis dokusunda, SOD değerleri karaciğer, böbrek, beyin ve eritrositte, CAT aktivitesi karaciğer, böbrek beyin, dalak ve eritrositte, GSH-Px değerlerinde karaciğer, böbrek, beyin, testis ve eritrositte anlamlı farklılıklar ifade etmişlerdir. Biyokimyasal parametrelerden glukoz, AST ve ALP değerlerinde istatistiksel farklılık tespit etmişlerdir. Kronik etki için MDA düzeyleri karaciğer, böbrek, beyin, testis ve eritrositlerde, NO düzeyi karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokusunda, SOD aktivitesi karaciğer, böbrek, dalak, testis ve eritrositlerde, CAT ve GSH-Px aktivitesi karaciğer, böbrek, beyin, dalak, testis ve eritrositlerde anlamlı farklılık raporlamışlardır. Biyokimyasal parametrelerden glukoz, trigliserit, AST, ALT, ALP ve total protein değerlerinde de anlamlı farklılık belirlemişlerdir. Salama ve ark. (2019) 1 mg/kg.ca dozunda 28 gün haftada 3 kez ağızdan uygulanan flumetrinin, karaciğer ve beyin dokusu CAT, SOD, GSH aktivite/düzeylelerinde önemli bir düşüşe MDA değerinde ise anlamlı bir artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Beyin dokusu kaspaz-3 ifadelendirme düzeyinde artış gözlenmiştir. Tekeli ve ark. (2021) ratlara 5 mg/kg.ca dozundaki deltametrini ağızdan 28 gün süreyle vermişler kan, kalp, karaciğer, böbrek, beyin ve testis MDA ve NO seviyelerinde artış; GSH düzeyinde düşüş; SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde düşüş/yükseliş; AST ve ALT aktiviteleri ile üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı artış gözlemlenmiştir. Benito-Murcia ve ark. (2022) arılara değişen miktarlarda uyguladıkları tau-fluvalinatın 156 ppm'i GST aktivitesinde yükselişe neden olurken 350 ppm dozundaki uygulama ise CAT aktivitesinde artışa sebep olmuştur. Kaşuba ve ark. (2022) Wistar sıçanlarına 28 gün boyunca günlük 2.186 mg/kg.ca, 0.015 mg/kg.ca, 0.157 mg/kg.ca ve 0.786 mg/kg.ca dozlarında α -sipermetrine ağızdan maruz kalma sonucunda kontrole göre sıçanların böbrek, karaciğer ve beyin ağırlığının etkilediği, beyin GSH-Px aktivitesi ile TBA düzeyinde artışa; karaciğer GSH-Px aktivitesinde artışa; kan GSH-Px aktivitesinde düşüşe; böbrek ve karaciğerde kolinesteraz aktivitelerinde azalmaya yol açtığı rapor etmişlerdir. İleritürk ve Kandemir (2023) 6,23 mg/kg.ca dozunda ağızdan 21 gün verilen λ -sihalotrinin karaciğer ve böbrek MDA düzeylerini artırırken, SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ve GSH düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca biyokimyasal

parametrelerden AST, ALT, ALP, üre ve kreatinin düzey/aktivitelerinde anlamlı artış tespit etmişlerdir. Karaciğer kaspaz 3 ve Bax ifadelendirme düzeyinde artışa Bcl-2’de düşüş saptamışlardır. Yukarıda sunulan tüm çalışma verileri mevcut çalışmayla uyushmaktadır.

5.4. Tau-Fluvalinat ve Diosmin

Değerlerin kontrol grubuna doğru yaklaştığı gözlenmiştir. Bu durum diosminin tau-fluvalinatın yol açtığı olumsuz etkileri hafiflettiğini ortaya koymaktadır. Buna rağmen bazı değerlerde istatistiksel fark devam etmektedir. Karaciğer GSH, GST ve G6PD aktivitesi; böbrek GST ve G6PD aktivitesi; testis MDA, CAT ve G6PD aktivitesi/düzeyi; kalp GSH, CAT ve G6PD aktivitesi; akciğer SOD, CAT ve GR aktivitesi; trigliserit, kolesterol, LDH ve PChE aktivitesi/düzeyinde; canlı ağırlık, karaciğer, akciğer ve beyin ağırlığında; kaspaz 3, kaspaz 9 ve p53 ifadelendirme değerlerinde ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyinde tespit edilen farklılıklar tau-fluvalinat maruziyetinin yol açtığı olumsuz etkileri bütünüyle ortadan kaldırmadığını fakat belirli bir oranda iyileşmeye katkısının olduğunu göstermektedir. Bu durum tau-fluvalinat tarafından üretilen serbest radikallerin düzeyinin yüksek olması ile açıklanabilir. Diosminin bu noktada etkiyi ortamda mevcut olan serbest radikalleri bağlayarak ya da redoks tepkimelerinde rol alan bazı metalleri tutarak gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca tau-fluvalinatı doğrudan bağlayarak sistemik dolaşıma geçişini sınırlandırılması da benzer etkiye yol açabilir. Kesin olmamakla birlikte plazma ve doku tau-fluvalinat düzeyleri incelendiğinde, yalnızca tau-fluvalinat verilen gruba göre daha düşük olması bu durumu akla getirmektedir. Diosmin inflamasyonda rol alan ksantin oksidaz, aldoz redüktaz ve fosfodiesterazı inhide ederek de (Monograph, 2004; Ibrahim ve ark., 2018; Serafim ve ark., 2020) antiinflamatuvar etkiyle serbest radikal oluşumunu sınırlandırabilir. Diosminin antioksidan enzim aktivitesini artırıcı etkisi de (Wójciak ve ark., 2022) serbest radikallerin daha az zararlı ve zararsız bileşiklere dönüşümünü dolaylı yoldan artırabilir. Litereatürde diosminin tau-fluvalinat maruziyetinde etkisinin incelendiği bir çalışma olmadığı için oksidatif strese yol açan diğer pesisitlere karşı etkileri gözden geçirildiğinde; Mirzaee ve ark. (2019) parakuatın neden olduğu akciğer hasarına karşı farelere 50 ve 100 mg/kg.ca dozunda ağızdan diosmin vermiş; parakuat uygulamadan 3 gün önce diosmin verilmeye başlanmış sonrasında da 24

gün çalışma devam edilmiş GSH ve CAT aktivite/düzeylerinde artış MDA seviyesinde azalma tespit etmişlerdir. Tekeli ve ark. (2021) ratlara 5 mg/kg.ca dozunda ağızdan 28 gün deltametrin vermişler 50 mg/kg.ca dozunda uyguladıkları diosminin, deltametrinin yol açtığı doku hasarını ortaya koyan parametreleri iyileştirdiğini (MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px, GSH, kretinin, BUN, AST, ALT, canlı ağırlık, organ ağırlıkları) belirtmişlerdir. Bahar ve Eraslan (2023) ratlarda bendiokarbın yol açtığı oksidatif stres ve organ hasarına karşı 20 mg/kg.ca dozunda ve 28 gün verilen diosminin incelenen parametreleri (oksidatif stres, biyokimyasal parametre, apoptotik parametreler) kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını; fakat bazı parametrelerde dokulara göre değişkenlik göstermekle birlikte (SOD, GSH-Px, G6PD, CAT, GR, GST, MDA, NO, LDH, AST, canlı ağırlık, akciğer ağırlığı, karaciğer kaspaz 3, karaciğer kaspaz 9 ve karaciğer p53 ifadelendirme düzeylerinde) kontrol grubuna göre önemli farkların olduğunu bildirmişlerdir. Bu yönüyle daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar mevcut çalışma ile örtüşmektedir.

5.5. Tau-Fluvalinat ve Krisin

İncelenen parametre sonuçlarının kontrol grubuna doğru yaklaştığı anlaşılmıştır. Bu durum, krisinin tau-fluvalinatın yol açtığı olumsuz etkileri hafiflettiğini ortaya koymaktadır. Buna rağmen bazı değerlerde istatistiksel fark devam etmektedir. Bu yaklaşıma rağmen, karaciğer GSH, GST ve G6PD; böbrek GST; testis CAT ve G6PD; kalp GSH ve CAT; akciğer GSH, SOD, CAT, GR; eritrosit GR aktivitesi/düzeylerinde önemli değişimler; trigliserit, kolesterol, LDH, PCHE aktivitesi/düzeyinde farklılıklar; canlı ağırlık, karaciğer, akciğer ağırlıklarında her iki grup arasında istatistiki fark; kaspaz 3, p53, Bax ve Bcl-2 ifadelendirme düzeyinde farklılıkların devam etmesi krisinin tam anlamıyla tau-fluvalinatın şekillendirdiği hasarı gideremediğini açıklamaktadır. Flavonoidler antioksidan yeteneklerini, endojen antioksidanları artırarak veya koruyarak gerçekleştirmektedirler (Ross ve Kasum, 2002). Krisin GSH sentezini artırırken CYP450E1, alkol dehidrojenaz ve ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu baskılar (Tahir ve Sultana, 2011; Naz ve ark., 2019; Mishra ve ark., 2021). Krisinin oksidatif stres durumunda biyolojik sistemde antioksidan enzim sistemini indükliyerek ve GSH sentezini artırarak bu olumsuz etkileri giderdiği düşünülmektedir. Ayrıca bu flavonoitin doğrudan pestisiti bağlayarak da benzeri etki oluşturmaları muhtemel olabilir. Net

olmamakla birlikte plazma ve doku tau-fluvalinat düzeylerinin sadece tau-fluvalinat uygulanan gruba göre daha düşük olması da bu ihtimali akla getirmektedir. Tau-fluvalinat maruziyetine karşı krisinin etkisinin değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte pestisit maruziyetinde krisinin etkisinin incelendiği diğer çalışmalar incelendiğinde; Zeinali ve ark. (2018) farelere 20 mg/kg.ca dozunda diazinonun verilmesini takiben 28 gün boyunca haftada beş kez 12,5, 25 ve 50 mg/kg.ca dozunda krisin vermişler kreatinin ve LDH değerlerinde olumlu değişimler rapor etmişlerdir. Cerit ve Koç (2019)'un balıklarda gerçekleştirdikleri çalışmada 1,25 ve 2,5 mg/kg.ca dozunda verilen krisinin sipermetrinin neden olduğu AST ve ALT değerlerinin, karaciğer SOD ve CAT ve böbrek SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin kontrole doğru yaklaştığını ifade etmişlerdir. Wang ve ark. (2019) ratlara 5 mg/kg dozunda 4 hafta ANTU maruziyetine karşı 10, 20, 40 mg/kg.ca dozunda krisin vermiş LDH, AST ve ALT değerlerinde ve SOD, GSH, MDA, NO değerlerinde doza bağlı bir şekilde kontrol grubuna yaklaştığını gözlemişlerdir. Tekeli ve ark. (2022) 10 mg/kg.ca dozunda propetamfos maruziyetine karşı 50 mg/kg.ca dozunda krisini 28 gün vermişler krisin uygulanan grupta oksidatif stres, lipid peroksidasyon ve antioksidan seviyelerinde ve serum biyokimya göstergelerinde iyileşme belirlemişlerdir. Naseri ve ark. (2023) tarafından ratlarda yapılan çalışmada 12,5, 25 ve 50 mg/kg.ca dozunda periton içi krisinin 45 gün uygulanmasının klorprifos verilmesine etkisi değerlendirilmiş GSH, SOD, MDA, NO değerlerinde doz bağımlı şekilde kontrol değerlerine yaklaşıldığını görmüşlerdir. Roshanravan ve ark. (2023) sıçanlara 10 mg/kg.ca dozunda 45 gün boyunca uygulanan klorprifos uygulamasında yine aynı süreyle 12,5, 25 ve 50 mg/kg.ca dozunda krisin uygulamışlar karaciğer MDA, NO ve GSH düzeylerinde iyileşmeye yol açtığı yani değerlerin kontrol grubu değerlerine yaklaştığını bildirmişlerdir. Tekeli ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada emamektin benzoatın neden olduğu toksisitede krisinin etkinliğinin ratlarda değerlendirildiği çalışmada 20 gün 50 mg/kg.ca ağızdan krisin uygulamasının MDA, NO ve GSH düzeyleri ile GSHPx, GR, GST, SOD ve CAT aktivitelerinin sadece emamektin benzoat alan grup ile kıyaslandığında anlamlı olarak değiştiğini belirlemişlerdir. Parametrelerinin kontrol grubuna yaklaştığı kontrol ve krisin verilen grup arasında tüm parametreler için anlamlı farklılığın olmadığını gözlemlemişlerdir.

Sonuç olarak, tau-fluvalinat maruziyeti ratlarda biyolojik sistemde olumsuz etkilere sebep olmuştur. Bu etkilerin boyutu incelenen parametrelerdeki önemli değişimlerden de anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar tau-fluvalinatın verilen doz ve sürede organizmada serbest radikal üretimini tetiklediği hücresel savunma sisteminin bu etkiyi bertaraf etmede yetersiz kaldığı göstermektedir. Bu etkilerin elime edilmesi için kullanılan diosmin ve krisinin pestisit yolları açtığı toksik etkileri gerilettiği anlaşılmaktadır. Dolayısıyla diosmin ve krisin, tau-fluvalinat maruziyetinden ileri gelen muhtemel zehirlenmelerde; koruyucu veya temel tedavi seçeneklerini destekleyici amaçla seçenek olarak değerlendirilebilir.



6. KAYNAKLAR

- Abdel-Reheim MA, Anwar Shehata Messiha B, Abo-Saif AA. Hepatoprotective effect of diosmin on iron-induced liver damage. *Int J Pharmacol*, 2017; 13: 529-540.
- Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2004; 137: 29-34.
- Abubakar Y, Tijjani H, Egbuna C, Adetunji CO, Kala S, Kryeziu TL, Ifemeje JC, Patrick-Iwuanyanwu KC. Natural remedies for pest, disease and weed control, Chapter 3 - Pesticides, History, and Classification. Academic Press, 2020; 29-42
- Adams JM, Cory S. Life or death decisions by the Bcl-2 family. *Trends Biochem Sci*, 2001; 26: 61-66.
- Ağır MS, Eraslan G. The effect of diosmin against liver damage caused by cadmium in rats. *J Food Biochem*, 2019; 43, e12966, doi: 10.1111/jfbc.12966.
- Akashe MM, Pawade UV, Nikam AV. Classification of pesticides: A review. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2018; 9: 144-150.
- Al-Asmari AF, Alharbi M, Alqahtani F, Alasmari F, Al-Swayyed M, Alzarea SI, Al-Alallah IA, Alghamdi A, Hakami HM, Alyousef MK. Diosmin alleviates doxorubicin-induced liver injury via modulation of oxidative stress-mediated hepatic inflammation and apoptosis via NfκB and MAPK Pathway: A preclinical study. *Antioxidants (Basel)*, 2021; 10: 1998, doi: 10.3390/antiox10121998.

- Aldridge, WN. An assessment of the toxicological properties of pyrethroids and their neurotoxicity. *Crit Revs Toxicol*, 1990; 21: 89-104
- Al-Hatamleh MAI, Boer JC, Wilson KL, Plebanski M, Mohamud R, Mustafa MZ. Antioxidant-based medicinal properties of stingless bee products: Recent progress and future directions. *Biomolecules*, 2020; 10: 923, doi: 10.3390/biom10060923.
- Ali N, Rashid S, Nafees S, Hasan SK, Sultana S. Beneficial effects of chrysin against methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis. *Mol Cell Biochem*, 2014; 385: 215-123.
- Aljedani DM. Evaluation of the potential toxicity of taufluvalinate on adult honeybees *Apis mellifera*, under laboratory conditions. *Appl Ecol Environ Res*, 2021; 20: 55-67.
- Alkhalidy H, Wang Y, Liu D. Dietary flavonoids in the prevention of T2D: An overview. *Nutrients*, 2018; 10: 438.
- Al-Omar MS, Naz M, Mohammed SAA, Mansha M, Ansari MN, Rehman NU, Kamal M, Mohammed HA, Yusuf M, Hamad AM, Akhtar N, Khan RA. Pyrethroid-induced organ toxicity and anti-oxidant-supplemented amelioration of toxicity and organ damage: The Protective roles of ascorbic acid and α -tocopherol. *Int J Environ Res Public Health*, 2020; 17: 6177, doi: 10.3390/ijerph17176177.
- Anadón A, Martínez MA, Martínez M, Castellano V, Ares I, Romero A, Fernández R, Martínez-Larrañaga MR. Differential induction of cytochrome P450 isoforms and peroxisomal proliferation by cyfluthrin in male Wistar rats. *Toxicol Lett*, 2013; 220: 135-142.
- Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Martínez MA. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *Vet J*, 2009; 182: 7-20.
- Anand KV, Mohamed Jaabir MS, Thomas PA, Geraldine P. Protective role of chrysin against oxidative stress in d-galactose-induced aging in an experimental rat model. *Geriatr Gerontol Int*, 2012; 12: 741-750.
- Anandhi R, Thomas PA, Geraldine P. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in Wistar rats. *Mol Cell Biochem*, 2014; 385: 103-113.

- Anitha TA, Rajadurai M. Antioxidative potential of chrysin, a flavone in streptozotocin–nicotinamide-induced diabetic rats. *Biomed Prev Nutr*, 2014; 4: 511-517.
- Arts IC, Hollman PC. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, 2005; 81: 317-325.
- Arya R, White K. Cell death in development: Signaling pathways and core mechanisms. *Semin Cell Dev Biol*, 2015; 39: 12-19.
- Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: Signaling and modulation. *Science*, 1998; 281: 1305-1308.
- Avan M, Kotan R. Fungusların mikrobiyal gübre veya biyopestisit olarak tarımda kullanılması. *IJEASED*, 2021; 3: 167-191.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 360438., doi: 10.1155/2014/360438.
- Bahar O, Eraslan G. Investigation of the efficacy of diosmin against organ damage caused by bendiocarb in male Wistar albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023; 30: 55826-55845.
- Banerjee BD, Seth V, Ahmed RS. Pesticide-induced oxidative stress: Perspectives and trends. *Rev Environ Health*, 2001; 16: 1-40.
- Banfalvi G. Methods to detect apoptotic cell death. *Apoptosis*, 2017; 22: 306-323.
- Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol*, 1990; 68: 989-998.
- Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH. Cell death in health and disease: The biology and regulation of apoptosis. *Semin Cancer Biol*, 1995; 6: 3-16.
- Bellamy CO. p53 and apoptosis. *Br Med Bull*, 1997; 53: 522-538.
- Benito-Murcia M, Botías C, Martín-Hernández R, Higes M, Soler F, Perez-Lopez M, Míguez-Santiyán MP, Martínez-Morcillo S. Evaluating the chronic effect of two varroacides using multiple biomarkers and an integrated biological response index. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2022; 94: 103920, doi: 10.1016/j.etap.2022.103920.

- Beutler E. Red Cell Metabolism: A manual of biochemical methods. Academic Press, London 1971, pp. 68-70.
- Bhardwaj K, Sharma R, Abraham J, Sharma P. Pyrethroids: A natural product for protection. In: Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture (Singh J, Yadav AN). Springer Nature Singapore Pte Ltd, Singapore, 2020; pp. 113-130
- Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*, 2014; 94: 329-354.
- Bilal M, Iqbal HMN, Barceló D. Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. *Sci Total Environ*, 2019; 695: 133896, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133896.
- Bloomquist JR. Ion channels as targets for insecticides. *Annu Rev Entomol*, 1996; 41: 163-190.
- Boisnic S, Branchet MC, Gouhier Kodas C, Verriere F, Jabbour V. Anti-inflammatory and antiradical effects of a 2% diosmin cream in a human skin organ culture as model. *J Cosmet Dermatol*, 2018; 17: 848-854
- Bozdağ M, Eraslan G. The effect of diosmin against lead exposure in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2020; 393: 639-649.
- Bradberry SM, Cage SA, Proudfoot AT, Vale JA. Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol Rev*, 2005; 24: 93-106.
- Bragança I, Mucha AP, Tomasino MP, Santos F, Lemos PC, Delerue-Matos C, Domingues VF. Deltamethrin impact in a cabbage planted soil: Degradation and effect on microbial community structure. *Chemosphere*, 2019; 220: 1179-1186.
- Brancato A, Brocca D, Carrasco Cabrera L, De Lentdecker C, Erdos Z, Ferreira L, Greco L, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R, Lostia A, Lythgo C, Medina P, Miron I, Molnar T, Pedersen R, Reich H, Sacchi A, Santos M, Stanek A, Sturma J, Tarazona J, Theobald A, Vagenende B, Villamar-Bouza L. Review of the existing maximum residue levels for tau-fluvalinate

- according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFSA J, 2018; 16: 5475, doi: 10.2903/j.efsa.2018.5475.
- Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery*, 1983; 94: 407-411.
- Burns CJ, Pastoor TP. Pyrethroid epidemiology: A quality-based review. *Crit Rev Toxicol*, 2018; 48: 297-311.
- Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 1997; 6: 391-397.
- Campanero MA, Escolar M, Perez G, Garcia-Quetglas E, Sadaba B, Azanza JR. Simultaneous determination of diosmin and diosmetin in human plasma by ion trap liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry: Application to a clinical pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal*, 2010; 51: 875-881.
- Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol*, 1985; 113: 484-490.
- Carneiro BA, El-Deiry WS. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020; 17: 395-417.
- Casida JE, Durkin KA. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol*, 2013; 58: 99-117.
- Casida JE, Gammon DW, Glickman AH, Lawrence LJ. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1983; 23: 413-438.
- Casida JE. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ Health Perspect*, 1980; 34: 189-202.
- Cavalcante GC, Schaan AP, Cabral GF, Santana-da-Silva MN, Pinto P, Vidal AF, Ribeiro-Dos-Santos Â. A cell's fate: An overview of the molecular biology and genetics of apoptosis. *Int J Mol Sci*, 2019; 20: 4133, doi: 10.3390/ijms20174133.
- Cerit O, Koc F. The effects of chrysin on cypermethrin-induced acute intoxication in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Aquatic Life*, 2019; 27: 102-111.
- Chen X, Xu L, Guo S, Wang Z, Jiang L, Wang F, Zhang J, Liu B. Profiling and comparison of the metabolites of diosmetin and diosmin in rat urine, plasma

- and feces using UHPLC-LTQ-Orbitrap MSn. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019; 1124: 58-71.
- Chrustek A, Hołyńska-Iwan I, Dziembowska I, Bogusiewicz J, Wróblewski M, Cwynar A, Olszewska-Słonina D. Current research on the safety of pyrethroids used as insecticides. *Medicina (Kaunas)*, 2018; 54: 61, doi: 10.3390/medicina54040061.
- Clark JM, Symington SB. Advances in the Mode of Action of Pyrethroids. *Top Curr Chem*, 2012; 314: 49-72.
- Costa LG. The neurotoxicity of organochlorine and pyrethroid pesticides. *Handb Clin Neurol*, 2015; 131: 135-148.
- Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: Regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal*, 2003;15: 983-992.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*, 2015; 26: 343-356.
- Çiftci O, Vardi N, Özdemir I. Effects of quercetin and chrysin on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced hepatotoxicity in rats. *Environ Toxicol*, 2011; 28: 146-154.
- D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*, 2019; 43: 582-592.
- Davies TG, Field LM, Usherwood PN, Williamson MS. DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*, 2007; 59: 151-162.
- Degterev A, Boyce M, Yuan J. A decade of caspases. *Oncogene*, 2003; 22: 8543-8567.
- Deyashi M, Chakraborty SB. Pesticide induced oxidative stress and the role of antioxidant defense system in animal body. *Harvest (Online)*. 2016;2:1–14
- Dong K. Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invert Neurosc*, 2007; 7: 17-30.
- Eddleston M. Poisoning by pesticides, *Medicine*, 2020; 48: 214-217.
- EFSA (European Food Safety Authority). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tau-fluvalinate. *EFSA Journal*, 2010; 8: 1645, 1-75.

- Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 495-516.
- EMA. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Veterinary Medicinal Products. Tau-fluvalinate. Revised Summary Report, EMA/MRL/021-REVI/95.
- Ensley SM. Pyrethrins and Pyrethroids. In: Gupta RC (ed) *Veterinary toxicology basic and clinical principles*. Academic Press, New York, 2018: 515-520.
- EPA. Fluvalinate (Mavrik). Pesticide Fact Sheet, 31.03.1986.
- EPA. Reregistration Eligibility Decision (RED) for Tau-fluvalinate list A Case No. 2295, 2005.
- EPA. Rules and Regulations. *Federal Register*, 2016; 81: 87456-87463.
- EPA. U.S. Environmental Protection Agency. Pesticide Fact Sheet Number 86: Fluvalinate. Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, 1986, 2-39.
- Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Altinordulu S, Karabacak M. Effects of cypermethrin on some biochemical changes in rats: the protective role of propolis. *Exp Anim*, 2008; 57: 453-460.
- Eraslan G, Kanbur M, Siliğ Y, Karabacak M, Soyer Sarica Z, Şahin S. The acute and chronic toxic effect of cypermethrin, propetamphos, and their combinations in rats. *Environ Toxicol*, 2016; 31: 1415-1429.
- Eraslan G, Sarica ZS, Bayram LÇ, Tekeli MY, Kanbur M, Karabacak M. The effects of diosmin on aflatoxin-induced liver and kidney damage. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017; 24: 27931-27941.
- Erban T, Vaclavikova M, Tomesova D, Halesovab T, Huberta J. Tau-fluvalinate and other pesticide residues in honey bees before overwintering. *Pest Manag Sci*, 2019; 75: 3245-3251.
- Erdogrul O, Covacı A, Schepens P. Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey. *Environ Int*, 2005; 31: 703-711.
- Erster S, Moll UM. Stress-induced p53 runs a transcription-independent death program. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; 331: 843-50.

- Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of hematology. In: Tietz NW (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry. WB Saunders, Philadelphia, 1987; pp. 803-806.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides, 2002.
- Farkhondeh T, Samarghandian S, Roshanravan B. Impact of chrysin on the molecular mechanisms underlying diabetic complications. *J Cell Physiol*, 2019; 1-15.
- Feldo M, Woźniak M, Wójciak-Kosior M, Sowa I, Kot-Waśik A, Aszyk J, Bogucki J, Zubilewicz T, Bogucka-Kocka A. Influence of diosmin treatment on the level of oxidative stress markers in patients with chronic venous insufficiency. *Oxid Med Cell Longev*, 2018; 2561705, doi: 10.1155/2018/2561705.
- Field LM, Emyr Davies TG, O'Reilly AO, Williamson MS, Wallace BA. Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *Eur Biophys J*, 2017; 46: 675–679.
- Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Med*, 2006; 36: 327-358.
- Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, Knight AR, Taylor EL, Oettrich J, Ruskovska T, Gasparovic AC, Cuadrado A, Weber D, Poulsen HE, Grune T, Schmidt HH, Ghezzi P. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, 2015; 23: 1144-1170.
- Gaikwad TS, Mairal PB. The review on pesticides. *Int J Multidisip Res*, 2022; 4: 582-2160.
- Gajendiran A, Abraham J. An overview of pyrethroid insecticides. *Front Biol*, 2018; 13: 79-90.
- Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, Alnemri ES, Andrews DW, Baehrecke EH, Bazan NG, Blagosklonny MV, Blomgren K, Borner C, Bredesen DE, Brenner C, Castedo M, Cidlowski JA, Ciechanover A, Cohen GM, De Laurenzi V, De Maria R, Deshmukh M, Dynlacht BD, El-Deiry WS, Flavell RA, Fulda S, Garrido C, Golstein P, Gougeon ML, Green DR, Gronemeyer

- H, Hajnóczky G, Hardwick JM, Hengartner MO, Ichijo H, Jäättelä M, Kepp O, Kimchi A, Klionsky DJ, Knight RA, Kornbluth S, Kumar S, Levine B, Lipton SA, Lugli E, Madeo F, Malomi W, Marine JC, Martin SJ, Medema JP, Mehlen P, Melino G, Moll UM, Morselli E, Nagata S, Nicholson DW, Nicotera P, Nuñez G, Oren M, Penninger J, Pervaiz S, Peter ME, Piacentini M, Prehn JH, Puthalakath H, Rabinovich GA, Rizzuto R, Rodrigues CM, Rubinsztein DC, Rudel T, Scorrano L, Simon HU, Steller H, Tschopp J, Tsujimoto Y, Vandenabeele P, Vitale I, Voutsden KH, Youle RJ, Yuan J, Zhivotovsky B, Kroemer G. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ*, 2009; 16: 1093-1107.
- Ganai SA, Sheikh FA, Baba ZA. Plant flavone chrysin as an emerging histone deacetylase inhibitor for prosperous epigenetic-based anticancer therapy. *Phytother Res*, 2021; 35: 823-834.
- Gandhi GR, Vasconcelos ABS, Wu DT, Li HB, Antony PJ, Li H, Geng F, Gurgel RQ, Narain N, Gan RY. Citrus flavonoids as promising phytochemicals targeting diabetes and related complications: A systematic review of in vitro and in vivo studies. *Nutrients*, 2020; 12: 2907, doi: 10.3390/nu12102907.
- Gao S, Siddiqui N, Etim I, Du T, Zhang Y, Liang D. Developing nutritional component chrysin as a therapeutic agent: Bioavailability and pharmacokinetics consideration, and ADME mechanisms. *Biomed Pharmacother*, 2021; 142: 112080, doi: 10.1016/j.biopha.2021.112080.
- Garg SK, Ayub Shah MA, Garg KM, Farooqui MM, Sabir M. Biochemical and physiological alterations following short term exposure to fluvalinate- A synthetic pyrethroid. *Indian J Pharmacol*, 1997; 29: 250-254.
- Gerges SH, Wahdan SA, Elsherbiny DA, El-Demerdash E. Pharmacology of diosmin, a citrus flavone glycoside: An updated review. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2022; 47: 1-18.
- González-Cabrera J, Rodríguez-Vargas S, Davies TG, Field LM, Schmehl D, Ellis JD, Krieger K, Williamson MS. Novel mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroid-resistant *Varroa destructor* populations from

- the Southeastern USA. PLoS One 2016; 11: e0155332, doi: 10.1371/journal.pone.0155332.
- Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Arch Toxicol, 2020; 94: 651-715.
- Gurzov EN, Eizirik DL. Bcl-2 proteins in diabetes: Mitochondrial pathways of β -cell death and dysfunction. Trends Cell Biol, 2011; 21: 424-431.
- Gutierrez E, Velasco AG, Lucas JA, Gutierrez-Mañero FJ, Ramos-Solano B. The flavonol-anthocyanin pathway in blackberry and arabidopsis. In: Justino GC (ed), Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health. In Tech, Rijeka 2017: 130-143.
- Güler Ç, Çobanoğlu Z. Pestisitler. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52; 1997. 1. Baskı Ankara. ISBN 975- 8088-69-6
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic steps in mercapturic acid formation, J Biol Chem, 1957; 249: 7130-7139.
- Hadjmohammadi MR, Nazari SS. Separation optimization of quercetin, hesperetin and chrysin in honey by micellar liquid chromatography and experimental design. J Sep Sci, 2010; 33: 3144-3151.
- Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. Lancet, 1984; 1: 1396-1397.
- Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys, 1990; 280: 1-8
- Halliwell B, Gutteridge JM. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. Mol Aspects Med, 1985; 8: 89-193.
- Harris CC. Structure and Function of the p53 tumor suppressor gene: Clues for rational cancer therapeutic strategies. J Natl Cancer Inst, 1996; 88: 1442-1455.
- He F, Wang S, Liu L, Chen S, Zhang Z, Sun J. Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning. Arch Toxicol, 1989; 63: 54-58.
- He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. Cell Physiol Biochem, 2017; 44: 532-553.

- Hillier NK, Frost EH, Shutler D. Fate of dermally applied miticides fluvalinate and amitraz within honey bee (Hymenoptera: Apidae) bodies. *J Econ Entomol*, 2013; 106: 558-565.
- Hu F, Li L, Wang C, Zhang Q, Zhang X, Zhao M. Enantioselective induction of oxidative stress by permethrin in rat adrenal pheochromocytoma (PC12) cells. *Environ Toxicol Chem*, 2010; 29: 683-690.
- Huang M, Singh N, Kainth R, Khalid M, Kushwah AS, Kumar M. Mechanistic Insight into diosmin-induced neuroprotection and memory improvement in intracerebroventricular-quinolinic acid rat model: Resurrection of mitochondrial functions and antioxidants. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022; 8: 8584558, doi: 10.1155/2022/8584558.
- Hubert J, Nesvorna M, Kamler M, Kopecky J, Tyl J, Titera D, Stara J. Point mutations in the sodium channel gene conferring tau-fluvalinate resistance in *Varroa destructor*. *Pest Manag Sci*, 2013; 70: 889-894
- Hunter RE Jr, Riederer AM, Ryan PB. Method for the determination of organophosphorus and pyrethroid pesticides in food via gas chromatography with electron-capture detection. *J Agric Food Chem*, 2010; 58: 1396-1402.
- Huo JF, Zhang ML, Wang XX, Zou DH. Chrysin induces osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Exp. Cell Res*, 2021; 400: 112466.
- Huwait E, Mobashir M. Potential and therapeutic roles of diosmin in human diseases. *Biomedicines*, 2022; 10: 1076, doi: 10.3390/biomedicines10051076.
- Ibrahim SRM, Mohamed GA, Alshali KZ, Al Haidari RA, El-Kholy AA, Zayed MF. Lipoxygenase inhibitors flavonoids from *Cyperus rotundus* aerial parts. *Rev Bras Farmacogn*, 2018; 28: 320-324.
- Ileriturk M, Kandemir FM. Carvacrol protects against λ -Cyhalothrin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis, endoplasmic reticulum stress, and autophagy. *Environ Toxicol*, 2023; 38: 1535-1547.
- Inchem. Tau-fluvalinat. National Poisons Information Service (Birmingham Centre) Erişim: <https://inchem.org/documents/ukpids/ukpids/ukpid81.htm> Erişim Tarihi: 20 Haziran 2023).

- Irato P, Santovito G. Enzymatic and non-enzymatic molecules with antioxidant function. *Antioxidants* (Basel), 2021; 10: 579, doi: 10.3390/antiox10040579.
- Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *Oncologist*, 1999; 4: 332-339.
- Johnson RM, Wen Z, Schuler MA, Berenbaum MR. Mediation of pyrethroid insecticide toxicity to honey Bees (Hymenoptera: Apidae) by cytochrome P450 Monooxygenases. *J Econ Entomol*, 2006; 99: 1046-1050.
- Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: A possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*, 1999; 105: 197-205.
- Kanbur M, Eraslan G, Sarica ZS, Altinordulu S. The effects of Saw palmetto on flumethrin-induced lipid peroxidation in rats. *Pestic Biochem Phys*, 2010; 97: 43-46.
- Kanbur M, Liman BC, Eraslan G, Altinordulu S. Effects of cypermethrin, propetamphos, and combination involving cypermethrin and propetamphos on lipid peroxidation in mice. *Environ Toxicol*, 2008; 23: 473-479.
- Kanbur M, Siliğ Y, Eraslan G, Karabacak M, Soyer Sarica Z, Şahin S. The toxic effect of cypermethrin, amitraz and combinations of cypermethrin-amitraz in rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016; 23: 5232-5242.
- Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C, Gülçin İ. Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: A multi-biomarker approach. *Sci Pharm*, 2017; 85: 4, doi: 10.3390/scipharm85010004.
- Kaneko H, Miyamoto J. Chapter 58-Pyrethroid Chemistry and Metabolism, Editor(s): Robert Krieger, Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition), Academic Press, 2001; pp. 1263-1288
- Kaneko H. Chapter 76 - Pyrethroid Chemistry and Metabolism, Editor(s): Robert Krieger, Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition), Academic Press, 2010: 1635-1663.
- Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*, 2000; 7: 153-163.

- Kasala ER, Bodduluru LN, Madana RM, Athira KM, Gogoi R, Barua CC. Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: Mechanistic perspectives. *Toxicol Lett*, 2015; 233: 214-225.
- Kašuba V, Lovaković BT, Vrdoljak AL, Katić A, Kopjar N, Micek V, Milić M, Pizent A, Želježić D, Žunec S. Evaluation of toxic effects induced by sub-acute exposure to low doses of α -cypermethrin in adult male rats. *Toxics*, 2022; 10: 717, doi: 10.3390/toxics10120717.
- Kaya S. Pestisitler. İçinde: Kaya S (Ed), Veteriner Toksikoloji, Üçüncü baskı, Medisan Yayınları, Ankara, 2014: 301-392.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972; 26: 239-257.
- Khamchun S, Yoodee S, Thongboonkerd V. Dual modulatory effects of diosmin on calcium oxalate kidney stone formation processes: Crystallization, growth, aggregation, crystal-cell adhesion, internalization into renal tubular cells, and invasion through extracellular matrix. *Biomed Pharmacother*, 2021; 141: 111903, doi: 10.1016/j.biopha.2021.111903.
- Khoo BY, Chua SL, Balaram P. Apoptotic effects of chrysin in human cancer cell lines. *Int J Mol Sci*, 2010; 11: 2188-2199.
- Kucukler S, Benzer F, Yildirim S, Gur C, Kandemir FM, Bengu AS, Ayna A, Caglayan C, Dortbudak MB. Protective effects of chrysin against oxidative stress and inflammation induced by lead acetate in rat kidneys: A biochemical and histopathological approach. *Biol Trace Elem Res*, 2021; 199: 1501-1514.
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *ScientificWorldJournal*, 2013; Article ID 162750, doi: 10.1155/2013/162750.
- Kumova, U. Varroa Jacobsoni kontrolünde ülkemizde kullanılan bazı ilaçların etkinliğinin araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci*, 2001; 25: 597-602.
- Lienkamp AC, Heine T, Tischler D. Glutathione: A powerful but rare cofactor among Actinobacteria. *Adv Appl Microbiol*, 2020; 110: 181-217.

- Liu D, Xu Y. p53, oxidative stress, and aging. *Antioxid Redox Signal*, 2011; 15: 1669-1678.
- Liu X, Fan L, Lu C, Yin S, Hu H. Functional role of p53 in the regulation of chemical-induced oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev*, 2020: 6039769, doi: 10.1155/2020/6039769.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 2010; 4: 118-126.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951; 193: 265-275.
- Lu Q, Sun Y, Ares I, Anadón A, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Yuan Z, Wang X, Martínez MA. Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environ Res*, 2019; 170: 260-281.
- Luck HS. Catalase. In: Bergmeyer HU (eds), *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, London, 1965; pp: 885-894.
- Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: Potential targets for medical interventions. *J Amino Acids*, 2012; 736837, doi: 10.1155/2012/736837.
- Mahgoub S, Sallam AO, Sarhan HKA, Ammar AAA, Soror SH. Role of diosmin in protection against the oxidative stress induced damage by gamma-radiation in Wistar albino rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2020; 113: 104622, doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104622.
- Maksymiv I. Pesticides: Benefits and Hazards. *J Vasyl Stefanyk Precarpath Nat Univ*, 2015; 2: 70-76.
- Malik R, Ward MP, Seavers A, Fawcett A, Bell E, Govendir M, Page S. Permethrin spot-on intoxication of cats literature review and survey of veterinary practitioners in Australia. *J Feline Med Surg*, 2010; 12: 5-14.
- Mani R, Natesan V. Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. *Phytochemistry*, 2018; 145: 187-196.
- Mantawy EM, El-Bakly WM, Esmat A, Badr AM, El-Demerdash E. Chrysin alleviates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Eur J Pharmacol*, 2014; 728: 107-118.

- Mariana M, de Alaniz MJ, Marra CA. The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. *Pestic Biochem Phys*, 2009; 94: 93-99.
- Marti A, Ritter PM, Jäger R, Lazar H, Baltzer A, Schenkel J, Declercq W, Vandenabeele P, Jaggi R. Mouse mammary gland involution is associated with cytochrome c release and caspase activation. *Mech Dev*, 2001; 104: 89-98.
- Martín MÁ, Ramos S. Impact of dietary flavanols on microbiota, immunity and inflammation in metabolic diseases. *Nutrients*, 2021; 13: 1-24.
- Martínez MA, Ares I, Rodríguez JL, Martínez M, Roura-Martínez D, Castellano V, Lopez-Torres B, Martínez-Larrañaga MR, Anadón A. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin induces hepatic cytochrome P450 enzymes, oxidative stress and apoptosis in rats. *Sci Total Environ*, 2018; 631-632:1371-1382.
- Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 2000; 153: 83-104.
- McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013; 5: a008656, doi: 10.1101/cshperspect.a008656.
- Mekebri A, Crane DB, Blondina GJ, Oros DR, Rocca JL. Extraction and analysis methods for the determination of pyrethroid insecticides in surface water, sediments and biological tissues at environmentally relevant concentrations. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2008; 80: 455-460.
- Miller GL. Protein determination for large numbers of samples. *Anal Chem*, 1959; 31: 964-964.
- Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J Dairy Sci*, 1993; 76: 2812-2823.
- Mirzaee S, Mansouri E, Shirani M, Zeinvand-Lorestani M, Khodayar MJ. Diosmin ameliorative effects on oxidative stress and fibrosis in paraquat-induced lung injury in mice. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019; 26: 36468-36477.
- Mishra A, Mishra PS, Bandopadhyay R, Khurana N, Angelopoulou E, Paudel YN, Piperi C. Neuroprotective potential of chrysin: Mechanistic insights and

- therapeutic potential for neurological disorders. *Molecules*, 2021; 26: 6456, doi: 10.3390/molecules26216456.
- Miyamoto S, Kohno H, Suzuki R, Sugie S, Murakami A, Ohigashi H, Tanaka T. Preventive effects of chrysin on the development of azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Oncol Rep*, 2006; 15: 1169-1173.
- Moghadam ER, Ang HL, Asnaf SE, Zabolian A, Saleki H, Yavari M, Esmaeili H, ZarrabiA, Ashrafizadeh M, Kumar AP. Broad-spectrum preclinical antitumor activity of chrysin: Current trends and future perspectives. *Biomolecules*, 2020; 10: 1374, doi: 10.3390/biom10101374.
- Monograph. Diosmin. *Altern Med Rev*. 2004; 9: 308-311, PMID: 15387721.
- Nabavi SF, Braidy N, Habtemariam S, Orhan IE, Daglia M, Manayi A, Gortzi O, Nabavi SM. Neuroprotective effects of chrysin: From chemistry to medicine. *Neurochem Int*, 2015; 90: 224-231.
- Naseri K, Safarzadeh M, Rajabi Moghaddam M, Aramjoo H, Roshanravan B, Samarghandian S, Farkhondeh T. Protective effect of chrysin against chlorpyrifos-induced metabolic impairment and pancreatitis in male rats. *Curr Mol Pharmacol*, 2023, doi: 10.2174/1874467216666230220094827.
- Naz S, Imran M, Rauf A, Orhan IE, Shariati MA, Iahtisham-Ul-Haq, IqraYasmin, Shahbaz M, Qaisrani TB, Shah ZA, Plygun S, Heydari M. Chrysin: Pharmacological and therapeutic properties. *Life Sci*, 2019; 235: 116797, doi: 10.1016/j.lfs.2019.116797
- Németh K, Plumb GW, Berrin JG, Juge N, Jacob R, Naim HY, Williamson G, Swallow DM, Kroon PA. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr*. 2003; 42: 29-42.
- Neuhouser ML. Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. *Nutr Cancer*, 2004; 50: 1-7.
- Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L. Chemical pesticides and human health: The Urgent need for a new concept in agriculture. *Front Public Healt*, 2016; 4: 148, doi: 10.3389/fpubh.2016.00148.

- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. J Lipid Res, 1978; 19: 1053-1057.
- Ologundudu, F. Antioxidant enzymes and non-enzymatic antioxidants as defense mechanism of salinity stress in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)-Ife brown and Ife bpc. Bull Natl Res Cent, 2021; 45, 152, [doi: 10.1186/s42269-021-00615-w](https://doi.org/10.1186/s42269-021-00615-w).
- Oortgiesen M, van Kleef RG, Vijverberg HP. Block of deltamethrin-modified sodium current in cultured mouse neuroblastoma cells: Local anesthetics as potential antidotes. Brain research, 1990; 518: 11-18.
- Öz E, Çetin H , Yanıkoğlu A. Investigation of resistance to synthetic pyrethroids in *Blattella germanica* L., 1767 (Blattodea: Ectobiidae) and *Periplaneta americana* L., 1758 (Blattodea: Blattidae) populations in Turkey". Turk Entomol Derg, 2021;45: 361-370
- Özercan B, Taşçı T. Türkiye’de pestisit kullanımının iller, bölgeler ve pestisit grupları açısından incelenmesi. Ziraat Mühendisliği, 2022; 375, 75-88.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med, 1967; 70: 158-169.
- Panche A, Diwan A, Chandra S. Flavonoids: an overview. J Nutr Sci, 2016; 5: e47, [doi: 10.1017/jns.2016.41](https://doi.org/10.1017/jns.2016.41).
- Pannala VR, Bazil JN, Camara AKS, Dash RK. A biophysically based mathematical model for the catalytic mechanism of glutathione reductase. Free Radic Biol Med, 2013; 65: 1385-1397.
- Pathak VM, Verma VK, Rawat BS, Kaur B, Babu N, Sharma A, Dewali S, Yadav M, Kumari R, Singh S, Mohapatra A, Pandey V, Rana N, Cunill JM. Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. Front Microbiol, 2022; 13: 962619.
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian J Clin Biochem, 2015; 30: 11-26.

- Pickett J. Michael Elliott CBE. 30 September 1924-17 October 2007. Royal Soc, 2016; 62: 109-123.
- Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod, 2000; 63: 1035-1042.
- Pingili RB, Pawar AK, Challa SR, Kodali T, Koppula S, Toleti V. A comprehensive review on hepatoprotective and nephroprotective activities of chrysin against various drugs and toxic agents. Chem Biol Interact, 2019; 308: 51-60.
- Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur J Med Chem, 2015; 97: 55-74.
- Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. Fitoterapia, 2011; 82: 513-523.
- Proudfoot AT. Poisoning due to pyrethrins. Toxicol Rev, 2005; 24: 107-113.
- PubChem. Tau-fluvalinat. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 91768, Tau-fluvalinate; Erişim: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tau-fluvalinate> (Erişim tarihi: 20 Haziran 2023)
- Pushpavalli G, Kalaiarasi P, Veeramani C, Pugalendi KV. Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats. Eur J Pharmacol, 2010; 631: 36-41.
- Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. Int J Low Extrem Wounds, 2005; 4: 138-144.
- Ramchandra AM, Chacko B, Victor PJ. Pyrethroid poisoning. Indian J Crit Care Med, 2019; 4: 267-271.
- Ramsay EE, Dilda PJ. Glutathione S-conjugates as prodrugs to target drug-resistant tumors. Front Pharmacol, 2014; 5: 181, doi: 10.3389/fphar.2014.00181.
- Rashid S, Ali N, Nafees S, Hasan SK, Sultana S. Mitigation of 5-fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. Food Chem Toxicol, 2014; 66: 185-193.
- Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HM. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol, 2013; 45: 2821-2831.

- Ravula AR, Yenugu S. Pyrethroid based pesticides-Chemical and biological aspects. *Crit Rev Toxicol*, 2021; 51: 117-140.
- Raymond-Delpech V, Matsuda K, Sattelle BM, Rauh JJ, Sattelle DB. Ion channels: Molecular targets of neuroactive insecticides. *Invert Neurosci*, 2005; 5: 119-133.
- Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta*, 2016; 1863: 2977-2992.
- Rehman MU, Tahir M, Khan AQ, Khan R, Lateef A, Oday-O-Hamiza, Qamar W, Ali F, Sultana S. Chrysin suppresses renal carcinogenesis via amelioration of hyperproliferation, oxidative stress and inflammation: Plausible role of NF- κ B. *Toxicol Lett*, 2013; 216: 146-158.
- Reid RJ, Troczka BJ, Kor, Randall E, Williamson MS, Field LM, Nauen R, Bass C, Davies TGE. Assessing the acute toxicity of insecticides to the buff-tailed bumblebee (*Bombus terrestris audax*). *Pestic Biochem Physiol*, 2020; 166: 104562, doi: 10.1016/j.pestbp.2020.104562.
- Ren D, Tu HC, Kim H, Wang GX, Bean GR, Takeuchi O, Cheng, EHY. Bid, Bim, and Puma are essential for activation of the Bax- and Bak-dependent cell death program. *Science*, 2010; 330: 1390-1393.
- Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ*, 2001; 322: 1536-1538.
- Ritter W. Varroa disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World*, 2015; 62: 141-153.
- Roberts TR, Hutson DH, Metabolic Pathways of Agrochemicals, Royal Society of Chemistry. 1999: 670-677
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of Varroa destructor. *J Invertebr Pathol*, 2010; 103 Suppl 1: 96-119.
- Roshanravan B, Farkhondeh T, Darroudi M, Samarghandian S. Protective effect of chrysin against chlorpyrifos-induced hepatotoxicity in rats: Biochemical and histopathological approaches in a sub-chronic study. *Curr Pharm Biotechnol*, 2023; 24: 1291-1296
- Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*, 2002; 22: 19-34

- Russo R, Chandradhara D, De Tommasi N. Comparative bioavailability of two diosmin formulations after oral administration to healthy volunteers. *Molecules*, 2018; 23: 2174, doi: 10.3390/molecules23092174.
- Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, Agapova LS, Kravchenko JE, Chumakov PM. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med*, 2005; 11: 1306-1313.
- Saillenfait AM, Ndiaye D, Sabaté JP. Pyrethroids: Exposure and health effects-An update. *Int J Hyg Environ Health*, 2015; 218: 281-292.
- Salama AM, Talkhan OFA, Khattab MS, Fakhry FM. Protective effect of quercetin against oxidative stress, immunohistochemical and histopathological changes induced by flumethrin. *Anim Health Res Rev*, 2019; 7: 1-14.
- Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Samini F, Farkhondeh T. Chrysin treatment improves diabetes and its complications in liver, brain, and pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016; 94: 388-393.
- Santana MS, Domingues de Melo G, Sandrini-Neto L, Di Domenico M, Prodocimo MM. A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. *Chemosphere*, 2022; 291: 132730, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132730.
- Schleier III JJ, Peterson RKD. Pyrethrins and pyrethroid insecticides. *Green trends in insect control*. 2011; 11: 94-131.
- 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, doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4.
- Senthamizhselvan O, Manivannan J, Silambarasan T, Raja B. Diosmin pretreatment improves cardiac function and suppresses oxidative stress in rat heart after ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol*, 2014; 736: 131-137.
- Serafim C, Araruna ME, Júnior EA, Diniz M, Hiruma-Lima C, Batista L. A review of the role of flavonoids in peptic ulcer (2010-2020). *Molecules*, 2020; 25: 5431, doi: 10.3390/molecules25225431.
- Sharma A, Kumar V, Shahzad B, Tanveer M, Sidhu GP, Handa N, Kohli SK, Yadav P, Bali AS, Parihar RD, Dar OI, Singh KB, Jasrotia S, Bakshi P,

- Ramakrishnan M, Kumar S, Bhardwaj R, Thukral AK. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Appl Sci*, 2019; 1: 1446, doi: 10.1007/s42452-019-1485-1.
- Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem*, 2022; 383: 1-13.
- Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem*. 2017;86:715-748.
- Singh AK, Singh P, Dey A, Mishra A, Dewangan G, Chakraborty AK, Mandal TK. Effect of flumethrin on hematological and biochemical changes in rats. *Explor Anim Med Res*, 2012; 1: 131-136.
- Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, Stevens JT, Weiner ML. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: Implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 2002; 171: 3-59.
- Srinivasan S, Vinothkumar V, Murali R. Antidiabetic efficacy of citrus fruits with special allusion to flavone glycosides. In: *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes (Second Edition)*. 2019; pp. 335-346.
- Stara J, Pekar S, Nesvorna M, Erban T, Vinsova H, Kopecky J, Doskocil I, Kamler M, Hubert J. Detection of tau-fluvalinate resistance in the mite *Varroa destructor* based on the comparison of vial test and PCR–RFLP of *kdr* mutation in sodium channel gene. *Exp Appl Acarol*, 2019; 77: 161-171.
- Stompor-Gorący M, Bajek-Bil A, Machaczka M. Chrysin: Perspectives on contemporary status and future possibilities as pro-health agent. *Nutrients*, 2021; 13: 2038, doi: 10.3390/nu13062038.
- Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity*, 2009; 30: 180-192.
- Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 2013; 106-107: 17-32.
- Sulaiman NS, Rovina K, Joseph VM. Classification, extraction and current analytical approaches for detection of pesticides in various food products. *J Food Prot*, 2019; doi:10.1007/s00003-019-01242-4

- Sultana B, Anwar F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem*, 2008; 108: 879- 884.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988; 34: 497-500.
- Tahir M, Rehman MU, Lateef A, Khan R, Khan AQ, Qamar W, Ali F, O'Hamiza O, Sultana S. Diosmin protects against ethanol-induced hepatic injury via alleviation of inflammation and regulation of TNF- α and NF- κ B activation. *Alcohol*, 2013; 47: 131-139.
- Tahir M, Sultana S. Chrysin modulates ethanol metabolism in Wistar rats: A promising role against organ toxicities. *Alcohol Alcohol*, 2011; 46: 383-392.
- Talebi M, Talebi M, Farkhondeh T, Kopustinskiene DM, Simal-Gandara J, Bernatoniene J, Samarghandian S. An updated review on the versatile role of chrysin in neurological diseases: Chemistry, pharmacology, and drug delivery approaches. *Biomed Pharmacother*, 2021; 141: 111906, doi: 10.1016/j.biopha.2021.111906.
- Tano ZJ. Identity, physical and chemical properties of pesticides'. *Pesticides in the modern world-trends in pesticides analysis*. InTech, 2011, doi:10.5772/17513.
- Tao M, Zhang G, Pan J, Xiong C. Deciphering the groove binding modes of tau-fluvalinate and flumethrin with calf thymus DNA. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2016; 155: 28-37.
- Tarazona JV, Cattaneo I, Niemann L, Pedraza-Diaz S, González-Caballero MC, de Alba-Gonzalez M, Cañas A, Dominguez-Morueco N, Esteban-López M, Castaño A, Borges T, Katsonouri A, Makris KC, Ottenbros I, Mol H, De Decker A, Morrens B, Berman T, Barnett-Itzhaki Z, Probst-Hensch N, Fuhrmann S, Tratnik JS, Horvat M, Rambaud L, Riou M, Schoeters G, Govarts E, Kolossa-Gehring M, Weber T, Apel P, Namorado S, Santonen T. A tiered approach for assessing individual and combined risk of pyrethroids using human biomonitoring data. *Toxics*, 2022; 10: 451, doi: 10.3390/toxics10080451.

- Tekeli MY, Çakır Bayram L, Eraslan G, Soyer Sarıca Z. The protective effect of chrysin against oxidative stress and organ toxicity in rats exposed to propetamphos. *Drug Chem Toxicol*, 2022; 45: 2664-2677.
- Tekeli MY, Eraslan G, Bayram LÇ, Aslan C, Çalimli S. The protective effects of baicalin and chrysin against emamectin benzoate-induced toxicity in Wistar albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023; 30: 53997-54021.
- Tekeli MY, Eraslan G, Çakır Bayram L, Soyer Sarıca Z. Effect of diosmin on lipid peroxidation and organ damage against subacute deltamethrin exposure in rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021; 28: 15890-15908.
- Thanapongsathorn W, Vajrabukka T. Clinical trial of oral diosmin (Daflon®) in the treatment of hemorrhoids. *Dis Colon Rectum*, 1992; 35: 1085-1088.
- Tiwari B, Kharwar S, Tiwari DN. Chapter 15-Pesticides and Rice Agriculture. *Cyanobacteria*, 2019: 303-325
- Todd GD, Wohlers D, Citra M. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Centers for Disease Control and Prevention, 2003.
- Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*, 2003; 57: 145-155.
- Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharma Exp Ther*, 1995; 272: 1011-1015.
- Tsigouri AD, Menkissoglu-Spiroudi U, Thrasyvoulou A. Study of tau-fluvalinate persistence in honey. *Pest Manag Sci*, 2001; 57: 467-471.
- Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung DT. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *Int J Environ Res Public Health*, 2021; 18: 1112, doi: 10.3390/ijerph18031112.
- Ursini F, Maiorino M, Forman HJ. Redox homeostasis: The Golden mean of healthy living. *Redox Biol*, 2016; 8: 205-215.
- Vafa A, Afzal S, Barnwal P, Rashid S, Shahid A, Alpashree, Islam J, Sultana S. Protective role of diosmin against testosterone propionate-induced prostatic

- hyperplasia in Wistar rats: Plausible role of oxidative stress and inflammation. *Hum Exp Toxicol*, 2020; 39: 1133-1146.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007; 39: 44-84.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006; 160: 1-40.
- Vijverberg H, van der Zalm JM, van den Bercken J. Similar mode of action of pyrethroids and DDT on sodium channel gating in myelinated nerves. *Nature*, 1982; 295: 601-603.
- Viskupicova J, Ondrejovic M, Sturdik E. Bioavailability and metabolism of flavonoids. *J Food Nutr Res*, 2008; 47: 151-162.
- Vona R, Pallotta L, Cappelletti M, Severi C, Matarrese P. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants*, 2021; 10: 201, doi: 10.3390/ijerph18031112.
- Vousden KH, Lu X. Live or let die: The cell's response to p53. *Nat Rev Cancer*, 2002; 2: 594-604.
- Walle T, Browning AM, Steed LL, Reed SG, Walle UK. Flavonoid glucosides are hydrolyzed and thus activated in the oral cavity in humans. *J Nutr*, 2005; 135: 48-52.
- Wang D, Weston DP, Lydy MJ. Method development for the analysis of organophosphate and pyrethroid insecticides at low parts per trillion levels in water. *Talanta* 2009; 78: 1345-1351.
- Wang JF, Liu SS, Song ZQ, Xu TC, Liu CS, Hou YG, Wu SH. Naturally occurring flavonoids and isoflavonoids and their microbial transformation: A review. *Molecules*, 2020; 25: 1-27.
- Wang L, Lee IM, Zhang SM, Blumberg JB, Buring JE, Sesso HD. Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89: 905-912.

- Wang L, Wang Y, Lei Z. Chrysin ameliorates ANTU-induced pulmonary edema and pulmonary arterial hypertension via modulation of VEGF and eNOs. *J Biochem Mol Toxicol*, 2019; 33: e22332, doi: 10.1002/jbt.22332.
- Wang X, Cao Y, Chen S, Lin J, Bian J, Huang D. Antiinflammation activity of flavones and their structure-activity relationship. *J Agric Food Chem*, 2021; 69: 7285-7302.
- Warren CFA, Wong-Brown MW, Bowden NA. BCL-2 family isoforms in apoptosis and cancer. *Cell Death Dis*, 2019; 10: 177, doi: 10.1038/s41419-019-1407-6.
- Williams DL. A veterinary approach to the European honey bee (*Apis mellifera*). *Vet J*, 2000; 160: 61-73.
- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med*, 1975; 85: 337-341.
- Wójciak M, Feldo M, Borowski G, Kubrak T, Płachno BJ, Sowa I. Antioxidant Potential of diosmin and diosmetin against oxidative Stress in endothelial cells. *Molecules*, 2022; 27: 8232, doi: 10.3390/molecules27238232.
- Wu S, Nomura Y, Du Y, Zhorov BS, Dong K. Molecular basis of selective resistance of the bumblebee BiNav1 sodium channel to tau-fluvalinate. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 2017; 114: 12922-12927.
- Xing M, Cao Y, Grierson D, Sun C, Li X. The chemistry, distribution, and metabolic modifications of fruit flavonols. *Fruit Res*, 2021; 1: 1-11.
- Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*, 2019; 39: BSR20180992, doi: 10.1042/BSR20180992.
- Yadav IC, Devi NL. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. In: *Environmental Science and Engineering*. Vol. 6: Toxicology Chapter: 7, Studium Press LLC, 2017: 140-158.
- Yang C, Lim W, Song G. Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2020; 234: 108758, doi: 10.1016/j.cbpc.2020.108758.

- Yang HC, Wu YH, Yen WC, Liu HY, Hwang TL, Stern A, Chiu DT. The redox role of G6PD in cell growth, cell death, and cancer. *Cells*, 2019; 8: 1055, doi: 10.3390/cells8091055.
- Yavuz O, Aksoy A, Das YK, Atmaca E. Evaluation of liquid-liquid and different solid phase extraction cartridges for determination of selected syntetic pyreroid insecticides in whole blood. *Asian J Chem*, 2010; 22: 4026-4032.
- Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 1979; 135: 372-376.
- Yousef MI, Awad TI, Mohamed EH. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, 2006; 227: 240-247.
- Zaragozá C, Álvarez-Mon MÁ, Zaragoza F, Villaescusa L. Flavonoids: Antiplatelet Effect as Inhibitors of COX-1. *Molecules*, 2022; 27: 1146.
- Zeinali M, Shafaei A, Rafatpanah H, Mosavat A, Tayebi-Meybodi N, Hosseinzadeh H, Rezaee SA. Potential protective effects of chrysin against immunotoxicity induced by diazinon. *Sci Rep*, 2022; 12: 15578, doi: 10.1038/s41598-022-20010-3
- Zeinali M, Meybodi NT, Rezaee SA, Rafatpanah H, Hosseinzadeh H. Protective effects of chrysin on sub-acute diazinon-induced biochemical, hematological, histopathological alterations, and genotoxicity indices in male BALB/c mice. *Drug Chem Toxicol*, 2018; 41: 270-280.
- Zhang WJ, Jiang FB, Ou JF. Global pesticide consumption and pollution: With China as a focus. *Int J Ecol Environ Sci*, 2011; 1: 125-144.
- Zheng Y, Zhang R, Shi W, Li L, Liu H, Chen Z, Wu L. Metabolism and pharmacological activities of the natural health-benefiting compound diosmin. *Food Funct*, 2020; 11: 8472-8492.



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYЕК)



Tarih: 12.12.2018

Toplantı Sayısı: 11

Karar No:18/156

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 12.12.2018 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Dr.Öğr.Üyesi	Veteriner Fakültesi
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Dr.Öğr.Üyesi	Eczacılık Fakültesi
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneyisel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Özge AL	Arş. Görevlisi	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.D.'dan Prof. Dr. Gökhan ERASLAN tarafından sunulan "Ratlarda Tau-fluvalinat Maruziyetine Karşı Diosmin ve Krisinin Etkinliğinin Değerlendirilmesi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 12.12.2018
Etik Kurul Başkanı :
İmza :

RATLARDA TAU-FLUVALİNAT MARUZİYETİNE KARŞI DİOSMİN VE KRİSİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **7**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **7**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **1**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

% **7**

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< %1

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Didem GEDİK

Uyruğu : Türkiye (TC)

EĞİTİM

DERECE	KURUM	MEZUNİYET
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji ABD	2019
Lisans	Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Sema Yazar Anadolu Lisesi	2009

İŞ DENEYİMLERİ

YIL	KURUM	GÖREV
2015-Devam ediyor	Kayseri Nimet Bayraktar ADSH	Eczacı
2015-2015	Van İpekyolu Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi	Eczacı