



**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POTASYUM DİKROMAT VERİLEN RATLARDA OKSİDATİF  
STRES VE İNFLAMATUVAR CEVAP ÜZERİNE KUERSETİNİN  
ETKİSİ**

**HİHAL ÖZÇİFLİKÇİ  
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Miyase ÇINAR**

**KIRIKKALE-2023**



**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POTASYUM DİKROMAT VERİLEN RATLARDA OKSİDATİF  
STRES VE İNFLAMATUVAR CEVAP ÜZERİNE KUERSETİNİN  
ETKİSİ**

**HİHAL ÖZÇİFLİKÇİ  
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Miyase ÇINAR**

**Bu tez, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri birimi  
tarafından 2022-50 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

**KIRIKKALE-2023**

Biyokimya Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali Kısaçam

ve

6 Şubat 2023 depreminde yarım kalan hayatlara ithaf ediyorum.

## ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hilal ÖZÇİFLİKÇİ  
17/07/2023

## ÖZET

### POTASYUM DİKROMAT VERİLEN RATLARDA OKSİDATİF STRES VE İNFLAMATUVAR CEVAP ÜZERİNE KUERSETİNİN ETKİSİ

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Miyase ÇINAR

Temmuz 2023, 122 sayfa

Ağır metallerden krom (Cr)'un bir bileşiği olan potasyum dikromat (PDK), antropojenik kaynaklı sebepler sonucu doğada bulunur ve memelilerde böbrek ve karaciğer başta olmak üzere birçok dokuda toksiktir. Kuersetin (QUE) çeşitli terapötik etkilere sahip olan ve antioksidan etki gösteren bir polifenolik flavonoid türevidir. Bu çalışma PDK'ya maruz kalan ratlarda bazı biyokimyasal parametreler, oksidatif stres ve inflamatuvar cevap üzerine QUE'nin olası koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Bu amaçla 40 adet erkek Wistar albino rat her bir grupta 10'ar hayvan olacak şekilde; kontrol (FTS, oral), QUE (100 mg/kg/gün, oral), PDK (15 mg/kg/gün, oral) ve PDK (15 mg/kg/gün, oral) + QUE (100 mg/kg/gün, oral) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Yirmi sekiz günlük denemenin sonunda ratların kan serumlarında; aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri, üre, kreatinin, total protein, albümin, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri ile karaciğer ve plazmada total oksidan durum (TOS), total antioksidan durum (TAS), oksidatif stres indeksi (OSI), malondialdehit (MDA), interlökin (IL)-6 ve tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$ , plazma total tiyol (TT), native tiyol (NT) ve dinamik disülfit (DD) düzeyleri belirlendi. Serum AST ( $P<0,01$ ) ve ALT aktivitelerinin ( $P>0,05$ ), üre ( $P<0,01$ ) ve kreatinin ( $P>0,05$ ) düzeylerinin kontrol ve QUE gruplarına göre PDK ve PDK+QUE gruplarında arttığı belirlendi. Kontrol ve QUE gruplarına göre PDK gruplarında serum total protein düzeylerinin sayısal olarak azaldığı, trigliserit düzeylerinin ise arttığı gözlemlendi ( $P>0,05$ ). Diğer gruplara göre PDK grubunda albümin düzeyleri sayısal olarak düşüktü. ( $P>0,05$ ). Kontrol grubuna göre total kolesterol düzeyleri tüm deneme gruplarında sayısal olarak yüksekti ( $P>0,05$ ). Plazma TOS ( $P<0,05$ ) ve OSI ( $P<0,001$ ) düzeylerinin kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda arttığı, OSI değerlerinin PDK+QUE grubunda PDK grubuna göre azaldığı saptandı ( $P<0,001$ ). Kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda plazma TAS düzeylerinin azaldığı görüldü ( $P<0,01$ ). Plazma MDA düzeyleri PDK grubunda tüm gruplara göre yüksekti ( $P>0,05$ ).

Karaciğerde TOS ( $P<0,001$ ) ve OSI ( $P<0,001$ ) düzeylerinin PDK grubunda kontrol ve QUE gruplarına göre önemli düzeyde artarken, TAS değerlerinin azaldığı ( $P<0,001$ ) ve PDK ile QUE'nin kombine uygulanmasının PDK grubuna göre TAS düzeylerini artırdığı ve OSI değerlerini ise azalttığı görüldü ( $P<0,001$ ). Karaciğerde MDA düzeyleri PDK grubunda tüm gruplara göre sayısal olarak yüksekti ( $P>0,05$ ).

Kontrol ve PDK gruplarına göre QUE ve PDK+QUE gruplarında plazma TT düzeylerinin sayısal olarak arttığı, DD düzeylerinin ise azaldığı görülürken ( $P>0,05$ ); plazma NT düzeylerinin ise önemli düzeyde arttığı saptandı ( $P<0,001$ ). Kuersetin ve PDK uygulaması plazma ve karaciğerde IL-6 konsantrasyonlarını etkilemedi. Plazma ve karaciğerde PDK grubunda diğer gruplara göre TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının arttığı, PDK grubuna QUE uygulamasının plazmada TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarını

önemli ( $P<0,01$ ), karaciğer dokusunda ise sayısal olarak ( $P>0,05$ ) azalttığı bulundu.

Sonuç olarak, ratlarda süspansiyon şeklinde oral olarak verilen 100 mg/kg QUE'nin PDK'dan dolayı artan plazma ve karaciğer OSI düzeylerini ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarını azalttığı, azalan plazma NT ve karaciğer TAS düzeylerini ise artırdığı, fakat diğer parametreleri önemli düzeyde etkilemediği tespit edildi. Ratlara uygulanan 15 mg/kg PDK'ya karşı QUE'nin bazı biyokimyasal parametreler, oksidatif stres ve inflamatuvar cevap üzerinde etkilerinin ortaya konulması için bu maddelerin farklı süre, doz, form ve uygulama yolunun denenebileceği alternatif çalışmalar yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidan, biyokimyasal parametreler, inflamatuvar cevap, kuersetin, oksidatif stres, potasyum dikromat, rat

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF KUERSETIN ON OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATORY RESPONSE IN RATS GIVEN POTASSIUM DICROMATE

Kirikkale University

Health Sciences Institute

Department of Biochemistry (Veterinary Medicine), Master Thesis

Advisor: Prof. Dr. Miyase ÇINAR

July 2023, 122 pages

Potassium dichromate (PDK), a compound of heavy metal chromium (Cr), is found in nature as a result of anthropogenic causes and is toxic in many tissues, especially in mammals, kidney and liver. Quercetin (QUE) is a polyphenolic flavonoid derivative with various therapeutic effects and antioxidant effects. This study was conducted to investigate the possible protective effects of QUE on some biochemical parameters, oxidative stress and inflammatory response in rats exposed to PDK. For this purpose, 40 male Wistar albino rats, 10 animals in each group they were divided into 4 groups as control (FTS, oral), QUE (100 mg/kg/day, oral), PDK (15 mg/kg/day, oral) and PDK (15 mg/kg/day, oral)+QUE (100 mg/kg/day, oral). At the end of the twenty-eight-day trial, in the blood serum of the rats; aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities, urea, creatinine, total protein, albumin, triglyceride and total cholesterol levels, in liver and plasma, total oxidant status (TOS) total antioxidant status (TAS), oxidative stress index (OSI), malondialdehyde (MDA), interleukin (IL)-6 and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , plasma total thiol (TT), native thiol (NT) and dynamic disulfide (DD) levels were determined. It was determined that serum AST ( $P < 0,01$ ) and ALT activities ( $P > 0,05$ ), urea ( $P < 0,01$ ) and creatinine ( $P > 0,05$ ) levels increased in PDK and PDK+QUE groups compared to control and QUE groups. It was observed that serum total protein levels decreased numerically and triglyceride levels increased numerically in the PDK groups compared to the control and QUE groups ( $P > 0,05$ ). Albumin levels were numerically lower in the PDK group compared to the other groups ( $P > 0,05$ ). Total cholesterol levels were numerically higher in all experimental groups compared to the control group ( $P > 0,05$ ).

Plasma TOS ( $P < 0,05$ ) and OSI ( $P < 0,001$ ) levels were increased in the PDK group compared to the control and QUE groups, and OSI values were found to be decreased in the PDK+QUE group compared to the PDK group ( $P < 0,001$ ). Plasma TAS levels were decreased in the PDK group compared to the control and QUE groups ( $P < 0,01$ ). Plasma MDA levels were higher in the PDK group than in all groups ( $P > 0,05$ ). While TOS ( $P < 0,001$ ) and OSI ( $P < 0,001$ ) levels increased, TAS values decreased ( $P < 0,001$ ) significantly in the PDK group compared to the control and QUE groups, and the combined application of PDK and QUE, increased TAS and decreased OSI levels compared to the PDK group. ( $P < 0,001$ ) in liver. Malondialdehyde levels in the liver were numerically higher in the PDK group than in all groups ( $P > 0,05$ ). Plasma TT levels increased, while DD levels decreased numerically ( $P > 0,05$ ) and plasma NT levels were found to increase significantly ( $P < 0,001$ ) in the QUE and PDK+QUE groups compared to control and PDK groups.

Quercetin and PDK administration did not affect IL-6 concentrations in plasma and liver. It was found that TNF- $\alpha$  concentrations increased in the plasma and liver tissue

in the PDK group compared to the other groups, and QUE administration in the PDK group significantly ( $P < 0,01$ ) reduced TNF- $\alpha$  concentrations in plasma and numerically ( $P > 0,05$ ) in liver.

As a result, it was determined that 100 mg/kg QUE administered orally in the form of suspension in rats decreased the increased plasma and liver OSI levels and TNF- $\alpha$  concentrations due to PDK, increased the decreased plasma NT and liver TAS levels, but did not significantly affect the other parameters.

In order to demonstrate the effects of QUE against 15 mg/kg PDK administered to rats on some biochemical parameters, oxidative stress and anti-inflammatory response, it was concluded that alternative studies should be conducted in which different duration, dose, form and administration route of these substances can be tested.

**Key words:** Antioxidant, biochemical parameters, inflammatory response, oxidative stress, rat, quercetin, potassium dichromate



## TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek Lisans eğitim-öğretim hayatım boyunca yanımda olup beni akademik olarak geliştiren, eğitim ve iş hayatımda aile olmayı öğreten, sevgisini, güler yüzünü ve hiçbir emeğini esirgemeyen danışman hocam Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Miyase ÇINAR'a, verdiği eğitimler ile beraber güler yüzü ve hoş sohbetini hiç esirgemeyen hocam Doç. Dr. Özkan DURU'ya, çalışmamın her alanında yanımda olup, emeklerini esirgemeyen Arş. Gör. Ali ŞENOL'a, bu çalışmayı destekleyen Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, hayatımın her döneminde koşulsuz şartsız yanımda olan benden hiçbir zaman emeklerini esirgemeyen canım aileme, annem ve ablalarıma, hayallerimi gerçekleştirebileceğime inanan, daima yanımda ve kalbimde olan rahmetli babama ve her koşulda daima benimle olan, bana güvenlerini hep hissettiren dostlarıma, teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>VIII</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>XI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>XV</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Krom .....	2
1.1.1. Kromun Tarihçesi .....	2
1.1.2. Kromun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	3
1.1.3. Kromun Doğal Kaynakları, Dünyada ve Ülkemizde Dağılımı .....	4
1.1.4. Krom'un Kullanım Alanları ve Maruziyeti .....	5
1.1.5. Kromun Emilimi .....	6
1.1.6. Kromun Transportu .....	7
1.1.7. Kromun Atılımı .....	7
1.1.8. Krom Toksisitesi.....	8
1.2. Oksidatif Stres.....	9
1.3. Antioksidan Sistem .....	11
1.3.1. Tiyo- Disülfid Dengesi.....	12
1.4. Krom (VI) Reaksiyonları ve Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları .....	14
1.5. İnflamatuvar Cevap.....	15
1.5.1. İnterlökin-6.....	16
1.5.2. Tümör nekroz faktörü.....	16
1.6. Krom (VI)'nın Oksidatif Stres ve İnflamasyon ile İlişkisi .....	17
1.7. Flavonoidler .....	19
1.7.1. Kuersetin .....	20
1.7.1.1. Kuersetin Metabolizması .....	21
1.7.1.2. Kuersetin ve Oksidatif Stres İlişkisi .....	22
1.7.1.3. Kuersetin'in Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri .....	23
<b>2. TEZİN AMACI</b> .....	<b>26</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>27</b>
3.1. Gereç .....	27
3.1.1. Demirbaş ve Sarf Malzemeler .....	27
3.1.2. Hayvan Materyali .....	28
3.1.3. Barınma ve Yetiştirme Koşulları .....	29
3.1.4. Deney Gruplarının Oluşturulması .....	29
3.1.5. Numunelerin Toplanması .....	30
3.1.6. Doku Numunelerinin Hazırlanması .....	30
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi.....	31

3.2.2. Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Belirlenmesi .....	31
3.2.2.1. Total Oksidan Durumun Belirlenmesi .....	31
3.2.2.2. Total Antioksidan Durumun Belirlenmesi .....	31
3.2.2.3. Oksidatif Stres İndeksin Hesaplanması .....	32
3.2.2.4. Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi .....	32
3.2.2.5. Tiyol-Disülfid Dengesinin Belirlenmesi .....	33
3.2.2.6. Doku Protein Tayini .....	33
3.2.3. Plazma ve Doku İnterlökin-6 Konsantrasyonlarının Belirlenmesi .....	34
3.2.4. Plazma ve Doku Tümör Nekroz Faktörü- $\alpha$ Konsantrasyonlarının Belirlenmesi .....	35
3.2.5. İstatistiksel Analizler .....	36
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>37</b>
4.1. Bazı Serum Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri .....	37
4.2. Plazma ve Karaciğer Dokusunda Oksidan-Antioksidan Durum .....	40
4.3. Plazma ve Karaciğer Dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ Konsantrasyonları .....	44
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>46</b>
5.1. Potasyum Dikromat ve Kuersetin'in Bazı Serum Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi .....	46
5.2. Potasyum Dikromat ve Kuersetin'in Plazma ve Karaciğer Dokusunda Oksidan-Antioksidan Durum Üzerine Etkileri .....	49
5.3. Plazma ve Karaciğer Dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi .....	55
<b>6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER</b> .....	<b>58</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>60</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>79</b>
<b>EK-1</b> .....	<b>80</b>
<b>EK-2</b> .....	<b>83</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>94</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1 Kromun kimyasal ve fiziksel özellikleri .....	3
1.2. Serbest radikaller ve oksidanlar .....	10
1.3. Antioksidanlar ve özellikleri .....	12
3.1. Demirbaş malzeme listesi .....	27
3.2. Sarf malzeme listesi .....	28
3.3. Deney Gruplarının oluşturulması ve uygulanması.....	29
4.1. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda bazı serum biyokimyasal parametreler .....	38
4.2. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer TOS, TAS, OSI ve MDA düzeyleri.....	41
4.3. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma TT, NT ve DD düzeyleri .....	43
4.4. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer IL-6 ve TNF- $\alpha$ konsantrasyonları .....	44

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Krom bileşiklerinin en yaygın formları ve kullanım alanları .....	5
1.2. Tiyol oksidasyon mekanizması. ....	14
1.3. Cr(VI)'nin indirgenmesi ROS oluşumu . ....	15
1.4. İnterlökin-6 biyolojik fonksiyonları .....	16
1.5. Tümör nekroz faktörü fonksiyonları .....	17
1.6. Flavonoidlerin genel yapısı ve sınıflandırılması .....	19
1.7. Kuersetin metabolitleri ve kaynakları .....	20
1.8. Kuersetin metal şelatlayıcı bölgeleri.....	22
1.9. Kuersetin'in etkileri . ....	23
3.1. Hayvanların bakım ve beslemesi. ....	29
3.2. Anestezi altındaki ratın sabitlemesi, karın boşluğunun açılması, ötenazi işlemi ve numunelerin toplanması. ....	30
3.3. Total Protein Standart Kalibrasyon Eğrisi.....	34
3.4. İnterlökin-6 OD eğrisi.....	35
3.5. Tümör nekroz faktörü- $\alpha$ OD eğrisi .....	35
4.1. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda bazı serum biyokimyasal parametreler. ....	39
4.2. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer TOS, TAS, OSI ve MDA düzeyleri.....	42
4.3. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma TT, NT ve DD düzeyleri. ....	43
4.4. Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer IL-6 ve TNF- $\alpha$ konsantrasyonları .....	45

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER DİZİNİ

$\alpha, \beta, a, b, c$	: Birim hücre parametreleri
$g$	: Göreceli santrifüj kuvveti
$\mu$	: Mikro

### KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	: Asetilkolinesteraz
Al	: Alimünyum
ALT	: Alanin aminotransferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
AST	: Aspartat amino transferaz
BSA	: Sığır serum albümin
BChE	: Butirilkolinesteraz
BHT	: Butylhydroxytoluol
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
CA	: Canlı ağırlık
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
CdCl <sub>2</sub>	: Kadmiyum klorür
COX	: Siklooksijenaz
Cr(VI)	: Altı değerlikli krom
Cr(0)	: Elemental krom
Cr(II)	: İki değerlikli krom
Cr(III)	: Üç değerlikli krom
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	: Dikromat
CrO <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	: Kromat
Cu	: Bakır
CuO-Nps	: Bakır oksit nano partikülleri
CuSO <sub>4</sub>	: Bakır sülfat
DD	: Dinamik disülfid
DNA	: Deoksiribo nükleik asit

DTNB	: 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit)
E2	: Östradiol
Eq	: Ekivalan
ERK1/2	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen protein kinazlar 1 ve 2
Fe	: Demir
FeCr <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	: Ferro kromit
GES	: İnsan mide epitel hücre hattı
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
GRAS	: Genellikle emniyetli kabul edilen
GSH	: Glutatyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HAT	: Hidrojen atomu nakli
HCl	: Hidroklorik asit
HepG2	: İnsan karaciğer kanseri hücre dizisi
HMGB1	: Yüksek mobilite grup kutusu 1
HNO <sub>2</sub>	: Nitrik asit
HOCl	: Hipokloröz asit
HUVEC	: İnsan göbük damarı endotel hücreleri
ICDA	: Uluslararası Krom Geliştirme Derneği
IL	: İnterlökin
IMQ	: İmikuimod
IUPAC	: Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
i.p.	: İntra peritoneal
KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	: Potasyum sodyum tartarat
LOO•	: Lipid peroksil radikali
LPO	: Lipid peroksit
MDA	: Malondialdehit
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
Mn	: Mangan
MTA	: Maden Tetkik Arama
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	: Dinitrojen trioksit
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum bikarbonat
NaBH <sub>4</sub>	: Sodyum borohidrit

NaCl	: Sodyum Klorür
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit (indirgenmiş)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (indirgenmiş)
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik oksit
NO•	: Nitrik oksit radikali
NO <sub>2</sub> •	: Nitrojen dioksit radikali
NOX	: NADPH oksidaz
NPA	: 3-nitropropionik asit
NPSH	: Protein olmayan sülfidril
Nrf2	: Nükleer faktör eritroid 2
NT	: Native tiyol
O	: Oksijen
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	: Singlet oksijen
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksit radikali
O <sub>3</sub>	: Ozon
OD	: Optik Dansite
OH•	: Hidroksil radikali
ONOO-	: Peroksinitrit
OSI	: Oksidatif stres indeksi
Pb	: Kurşun
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PbCrO <sub>4</sub>	: Krokoit
PDK	: Potasyum dikromat
pH	: Hidrojen potansiyeli
ppm	: Parça/milyon
QUE	: Kuersetin
RAGE	: İleri glikasyon son ürünleri reseptörü
RKIP	: Raf kinaz inhibitör proteini
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
RO•	: Alkoksil radikali
ROO•	: Peroksil radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı



RSH	: Tiyoller
RSSR	: Disülür bağları
QUE	: Kuersetin
S	: Kükürt
s.c.	: Subkutan
SET-PT	: Basit elektron nakli ve ardından proton aktarımı
-SH	: Sülfhidril grubu
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	: Sülfat oksianyon
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPLET	: Proton kaybıyla sıralı elektron aktarımı
STZ	: Streptozotosin
TBA	: Tiyobarbitürük asit
TAS	: Total antioksidan kapasite
TBARS	: Tiyobarbitürük asit ile reaksiyona giren maddeler
TCA	: Triklorasetik asit
TDH	: Tiyol-disülfit homeostazı
TJ	: Sıkı bağlantılı
TMC	: Geçiş metallerinin şelasyonu
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TOS	: Total oksidan kapasite
TT	: Total tiyol
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tiroksin
Zn	: Çinko

# 1. GİRİŞ

Suya kıyasla yüksek yoğunluğa sahip olan metalik elementler [1] ya da atom numarası 20'den, element yoğunluğu  $5 \text{ g/m}^3$ 'ten büyük olan doğal olarak oluşan metaller, ağır metal olarak nitelendirilir [2]. Sanayi atıklarıyla beraber çevreye yayılan ağır metaller biyobirikime uğrarlar; hava, toprak ve suyu kirleterek insanlar ve hayvanlar üzerinde toksik etki yaparlar [3]. Doğada bulunma şekillerinden dolayı ağır metaller, özellikle haliçlerde ve kıyı sularında potansiyel toksik kirletici olarak kabul edilirler [4]. Endüstriyel ve antropojenik kaynaklar ile ayrışma ve volkanik patlamalar gibi jeolojik olayların ağır metal kirliliğine neden olduğu bilinmektedir [1]. Hemen hemen bütün ağır metaller, düşük konsantrasyonlarda bile insanlar için toksik kabul edilmesine [5] rağmen toksisitesi ve kanserojenliği; doza, elementin tipine, formuna ve maruz kalma süresine bağlıdır [6, 7]. Ağır metaller, biyolojik sistemlerde detoksifikasyonu, metabolizmayı, hasar onarımında görev alan bazı enzimleri, mitokondri, çekirdek, hücre zarı, lizozom, endoplazmik retikulum gibi hücresel organelleri ve bileşenleri etkilediği; nükleer proteinler gibi hücre bileşenleri ve DNA'nın metal iyonları ile etkileşime girerek DNA hasarına, karsinogeneze, hücre döngüsü modülasyonuna veya apoptoza yol açabilecek konformasyonel farklılıkları meydana getirdiği bildirilmiştir [1].

Metallerin patofizyolojisi öncelikli olarak oksidatif stres oluşumuna bağlıdır. Oksidatif stres, artan reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen (RNS) türleri, hücre içi antioksidan depolarının ve serbest radikal süpürücülerinin tükenmesi, metabolizmaya önemli ölçüde katkı sağlayan enzimlerin aktivitelerinin inhibisyonu yahut azalması ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu olarak detaylandırılabilir [7]. Akut metal maruziyetinin toksik etkileri genellikle bilinir ve ivedilikle tedavi edilebilir, fakat subklinik toksikasyonda fark edilemez ve tedavisi gecikebilir. Ağır metal toksikasyonlarında tedavi ilkesi şelasyondur [8]. Tüm bu sebeplerden dolayı yapılan araştırmalarda, ROS'un yıkıcı etkisini zayıflatarak bu kimyasalların vücutta sebebiyet verdiği oksidatif hasarı önlemek/tedavi etmek amacıyla antioksidan madde kullanımı yaygınlaşmıştır [9-12].

Sunulan çalışmada tercih edilen ağır metallere Cr tarım ve endüstriyel uygulamaların sonucunda çevrede artan toksik kimyasal bileşenlerden biridir [13]. Karasal ve sulu ekosistem içerisinde bulunan önemli bir çevresel kirletici olan [14] Cr(VI)'nın bulaşma yolları gıda maddeleri ve içme suları iledir. Kromun en önemli toksik etkileri; Cr(VI) metabolizmasının karakteristik özelliği olan Cr ara maddelerinin indirgeme (Cr(V) ve Cr(IV)) sırasında oluşan ROS'un aşırı üretimi ile açığa çıkar [15]. Serbest radikal oksijen türevlerinin; hücrelerdeki lipid, protein ve nükleik asitlerle tepkime verme eğilimi vardır. Bu moleküllerde oluşan hasarlar hücrelerin indirgenme potansiyelinin değişmesine ve dengelerin bozulmasına yol açar, oksidatif hasarın meydana gelmesi ile antioksidan savunma mekanizmaları aktifleşir [16].

Flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerdir ve metal şelasyonu, enzim inhibisyonu, gen regülasyonu gibi aktiviteler sergileyerek antioksidan etki gösterir [17].

Kuersetin, çeşitli terapötik etkilere sahip olan ve flavonoid ailesinin diyetle alınan üyeleri arasında yer alan bir polifenolik flavonoid türevidir [18]; antioksidan, antikanser, antiviral, antimikrobiyal, nöroproteksiyon, antiinflamatuvar, kardiyovasküler ve antiobezite gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir [19]. İyi bir metal iyonoforu olan QUE, vücuttaki bir antioksidan olan glutatyon (GSH) seviyesini artırır. Bu özellikler, QUE'yi oksidatif stresin neden olduğu birçok hastalığı ve vücuttaki proinflamatuvar maddelerin salınmasını önlemek/tedavi etmek için önemli bir terapötik ajan yapar [20].

## **1.1. Krom**

Krom; toprak, kaya, duman, volkanik gaz ve bitkiler ile hayvanlarda doğal olarak bulunan bir elementtir [13].

### **1.1.1. Kromun Tarihçesi**

Krom ilk olarak 1761 yılında, Sibirya'nın Ural Dağlarında, Legmann tarafından krokoit ( $PbCrO_4$ ) adı verilen bir mineralden elde edilip incelenmiştir [25]. Daha sonraları 1797'de Vanquelin tarafından Cr'ye, renkli bileşikleri nedeniyle Yunanca renk anlamına gelen "khrōma" ismi önerilmiş sonrasında ise Cr olarak isimlendirilerek literatüre dahil edilmiştir [21,22]. Ticari amaçla kullanılan ferro

kromit ( $\text{FeCr}_2\text{O}_4$ ), 1797-1827 yılları arasında öncelikle kimyasal kullanım amacıyla anavatanı Rusya'nın Ural Dağları'ndan tüm dünyanın kullanımına sunulmuştur. Vanquelin'in öğrencisi Andreas Kurtz tarafından 1816'da Londra'da Cr sarısı ve diğer Cr kimyasalları işlenmeye başlanmıştır. Kochlin tarafından 1820'li yıllarında PDK patiska baskıya Cr sarısı şeklinde tanıtılmış; PDK tabaklama ve mordanda, 1828'de ise çelik üretimine katkı maddesi olarak kullanılmıştır [21,23].

Türkiye/Bursa yakınlarında 1848 yılında  $\text{FeCr}_2\text{O}_4$  yatakları bulunmuştur [21]. Türkiye'de 1850'li yıllarında faaliyete geçirilen Cr yatakları ihracata başlamış [22] ve 1860'lı yıllarda Maryland yataklarının tükenmesi neticesinde Türkiye yatakları Cr'nin ana tedarik yeri haline gelmiştir. Krom, 1865 yılında çelikte kullanım için patent alırken, 1879 yılında ilk kez Fransa'da refrakter olarak kullanılmış, fakat asıl kullanımı 1886 yılında İngiltere'de olmuştur [21]. Galvanik kaplama sürecine 1920'li yıllarında giren Cr, 1940'lı yıllarda motor bileşenleri ile savaş sanayisine katılmıştır [21], Schwarz ve Mertz tarafından 1959 yılında glikoz metabolizması için gerekli iz element olarak tanımlanmıştır [24].

### 1.1.2. Kromun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Krom periyodik tabloda VI-B grubunda yer alan bir geçiş metalidir. Kimyasal ve fiziksel özelliklerine ait bilgileri çizelge 1.1.'de bahsedilen Cr; parlak, sert ve kırılğan bir elementtir. Krom elementi -2 değerlikten +6 değerliğe kadar değişen farklı oksidasyon basamaklarına sahipken sıklıkla 0, +2, +3 ve +6 oksidasyon durumlarında bulunabilir [25], Cr'nin kararlı formları Cr(III) ve Cr(VI) formlarıdır [26].

**Çizelge 1.1** Kromun kimyasal ve fiziksel özellikleri [25,27]

<b>Atom Numarası</b>	24
<b>Atom Ağırlığı</b>	52
<b>Değerliği</b>	(-II, -I, 0, I, II, III, IV, V, VI)
<b>Kaynama Noktası</b>	2672.0 °C
<b>Erime Noktası</b>	1857.0 °C
<b>Dansite</b>	7,19 g/mL
<b>Renk</b>	Metalik

Krom, ortam sıcaklığında  $5\text{g/m}^3$ 'ten daha yüksek yoğunluğa sahip olmasından dolayı ağır metal olarak nitelendirilirken [28] aynı zamanda katı faz kütle konsantrasyonunun 100 ppm'den az olması nedeniyle bir iz elementtir. Krom(VI)

bileşikleri asidik koşullarda güçlü oksitleyici maddelerdir. Krom bileşiklerinin çözünürlüğü oksidasyon durumlarına göre değişkenlik gösterir. Oksitlenebilir organik madde varlığında Cr(VI), Cr(III)'e indirgenir. Krom(III)'ün suda çözünürlüğü azdır ve yer altı sularında stabil halde bulunur; fakat Cr(VI)'nın suda çözünürlüğü fazladır, bu nedenle daha toksik kabul edilir. Kararlı yapıya sahip olan Cr(VI) ve Cr(III)'ü toksisite yönünden birbirinden ayıran bir diğer önemli özellik ise Cr(III) yağda çok iyi çözünmezken Cr(VI) rahatlıkla yağda çözünebilir. Güçlü bir oksidatif kapasiteye sahip olan Cr(VI), kromat ( $\text{CrO}_7^{2-}$ ) veya dikromat ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) olarak oksijene bağlanır [21].

### 1.1.3. Kromun Doğal Kaynakları, Dünyada ve Ülkemizde Dağılımı

Krom; kayalarda, hayvanlarda, bitkilerde ve toprakta bulunan ve çeşitli bileşikler oluşturmak için diğer elementlerle kombinasyon halinde bulunan, doğal olarak oluşan bir elementtir [29]. Elemental Cr doğada nadiren doğal olarak bulunurken, Cr(II) çevresel koşullarda nispeten kararsız bulunur ve biyolojik sistemlerde kısa bir ömre sahip olmasından dolayı kolayca Cr(III)'e oksitlenir [21]. Doğal şartlarda çoğunlukla Cr(III), krom bileşikleri formunda  $\text{FeCr}_2\text{O}_4$  gibi alaşımlarda bulunur. En kararlı ikinci form Cr(VI)'dır, fakat doğada doğal olarak sadece  $\text{PbCrO}_4$  gibi yegane minerallerde bulunur ve doğada bulunan Cr(VI) bileşikleri antropojenik kaynaklıdır [1]. Yerkabuğunda bulunan mineraller içerisinde 21. sırada yer alan Cr, en geniş dağılıma sahip ağır metallerden birisidir [26]. Krom, yaklaşık olarak yerkabuğunun %0,037'sini meydana getirmektedir [22]. Yeryüzünde her alanda bulunan Cr; yer kabuğunda 6., deniz suyunda ve insan vücudunda 15.sırada yer alır. [25]. Kayaların ayrışması, yağışlar, diyajenetik reaksiyonlar ve volkanik patlamalar dahil olmak üzere bir dizi doğal süreçler havaya, toprağa ve suya Cr salınımı sağlayabilir. Krom'un toprak konsantrasyonu 1 -250 mg/kg arasında değişir, bazı bölgelerde 3000 mg/kg'a kadar çıkabilir. Normal şartlarda nehirlerde ve göllerde 1-30  $\mu\text{g/L}$ , yağmur sularında 0.2-1  $\mu\text{g/L}$  ve deniz suyunda ortalama konsantrasyon 0.3  $\mu\text{g/L}$  arasındadır, fakat endüstriyel faaliyetler toprağa, yeraltı sularına ve diğer su sistemlerine büyük miktarda Cr salınımına neden olmuştur. Havadaki Cr konsantrasyonu normal şartlarda çok düşüktür; kentsel alanlarda 0 ila 30  $\text{ng/m}^3$ , kırsal ve yarı kırsal alanlarda 10  $\text{ng/m}^3$ 'den az olmasına rağmen çevresel kirleticilerin varlığı bu oranın artmasına sebep olur. Doğal gaz, petrol veya kömürün konutlarda yakılması da atmosferik Cr konsantrasyonuna katkıda bulunur [30]. Krom, doğada bulunan yaklaşık olarak 40

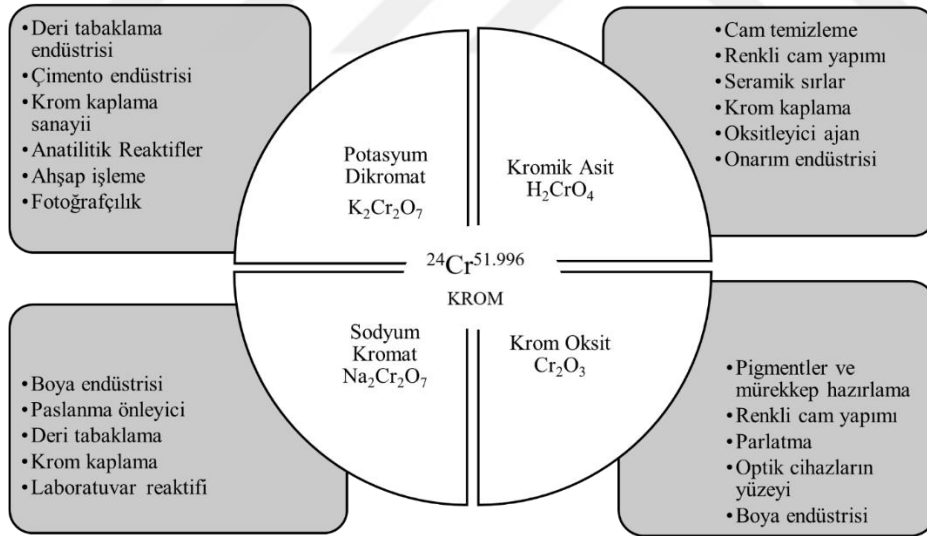
farklı mineral ile aslen demir (Fe) ile bazen de mangan (Mn) ve alimünyum'a (Al) oksitlenerek kromit olarak doğada bulunur [31].

Uluslararası Krom Geliştirme Derneği (ICDA)'nin istatistiklerine göre, tespit edilen küresel Cr kaynakları yaklaşık 12 milyar tondan daha fazla olup, bunun %72'si Güney Afrika, %12'si Zimbabve ve %5'i Kazakistan, %0,9'u Türkiye'de yoğunlaşmaktadır. Türkiye Cr tedariğinde 2022 yılının son çeyreğinde 2. sırada yer almaktadır [32].

Maden Tetkik Arama (MTA) Genel Müdürlüğü'nün sunduğu verilere göre Türkiye'de Cr maden yatakları; Mersin-Karsantı-Pınarbaşı, Guleman (Elazığ), Erzincan-Kopdağ, Fethiye-Köyceğiz-Denizli, İskenderun-Kahramanmaraş, Bursa-Kütahya-Eskişehir yöreleri olarak 6 coğrafi bölgede toplanabilir [33].

#### 1.1.4. Krom'un Kullanım Alanları ve Maruziyeti

Krom ve bileşikleri keşfedildiği günden beri birçok alanda kullanılmaktadır olup başlıca kullanım alanları şekil 1.1.'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Krom bileşiklerinin en yaygın formları ve kullanım alanları [34].

Ayrıca protez ve ortezlerde de kobalt-krom karışımları, tütün ürünleri ve dövme boya maddelerinde kullanılmaktadır [30]. Endüstriyel alanda Cr kullanımı, Cr içeren atık suların çevreye deşarj edilmesiyle sonuçlanmakta ve uygun işlem görmeden Cr salınımı, ciddi antropojenik kontaminasyona neden olmaktadır [31].

Krom; havaya, suya ve toprağa çoğunlukla Cr(III) ve Cr(VI) formlarında girer.

Havada, Cr bileşikleri genellikle ince toz partikülleri olarak bulunur ve sonunda toprak ve suya lokalize olur. Tortuya ve toprağa güçlü bir şekilde bağlanabilen Cr'nin yalnızca küçük bir miktarının suda çözünmesi ile topraktan yeraltı suyuna sızması beklenir. Popülasyonda Cr maruziyeti genellikle Cr(III) içeren gıdalardaki kimyasalın yutulması yoluyla gerçekleşir, ancak kontamine kuyu suyunun içilmesi yahut Cr içeren kontrolsüz tehlikeli atık alanlarının veya Cr kullanan endüstrilerin yakınında yaşamının bir sonucu olarak da maruziyet mümkün olmaktadır. Krom tozunun inhalasyonu ve dermal teması işyerinde kullanım sırasında mesleki yahut kullanılan tütün ürünleri ve harici kozmetik ürünleri gibi birçok ürün, maruziyetin esas sebepleridir [35].

#### **1.1.5. Kromun Emilimi**

Krom, gastrointestinal sistem, dermal ve inhalasyon yoluyla absorbe edilebilir. [30,36,37]. Krom(III), Cr(VI)'dan daha az emilir ve bu, hücrelere taşınma yöntemlerinde bir farklılığa yol açar [36]; Cr(III) hücreye pinositoz ve kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla girerken, Cr(VI) hücreye anyonik ileticiler (sülfat/fosfat) aracılığıyla nüfuz eder. Bunun nedeni, Cr(VI) çevrede büyük ölçüde  $CrO_4^{2-}$  olarak bulunur. Yapısal olarak,  $CrO_4^{2-}$ , sülfat oksianyona ( $SO_4^{2-}$ ) çok benzer ve bu nedenle hücreye girmek için hücre yüzeyindeki genel sülfat taşıyıcılarını kullanır [38].

İz elementler (Zn, Fe, Mn, Cu, Ca vb.) Cr ile reaksiyona girerek bir kompleks oluşturur ve vücudun Cr emilim oranını düşürürler. Ayrıca, Cr emilimi için sinerjik olarak hareket eden niasin ve askorbik asit gibi vitaminler ve monosakkaritler (glukoz, fruktoz, vb.) de Cr emilim oranını azaltırlar. Histidin Cr ile şelasyonu, emilimi teşvik ederek ince bağırsağın alkali ortamında Cr'nin çökmesini önlerler [39]. Askorbik asit, aminoasitler, oksalatlar ve diğer diyet faktörleri, Cr absorpsiyonunu marjinal olarak arttırırlar [40].

Krom inhalasyonu sonrası, kayda değer bir biçimde akciğer bronşiyollerinde birikim meydana gelebilir ve uzun süre orada tutunabilir [37]. Krom bileşiklerinin absorpsiyonu alveol makrofajlarının aktivitesinin yanı sıra; boyut, çözünürlük, oksidasyon durumları gibi fizikokimyasal özelliklerine ve daha çok akciğerlerdeki biyomoleküller ile etkileşimine bağlıdır [36]. İmmun sistemde alveolar makrofajlar, akciğeri mikrobiyal enfeksiyon ve kirleticilere karşı koruyan savunma sistemi

unsurlarıdır. Krom(VI) bileşikleri hücre zarından kolay transferi neticesinde biyolojik zarlara penetre olur ve bu nedenle de Cr(III)'e nazaran daha fazla absorbe olurlar, ancak Cr(VI) vücutta daha kararsızdır [37]. Absorbe olan Cr(VI)'nın, Cr (III)'e indirgenmesi akciğer dokusunda, pulmoner alveolar makrofajlar tarafından alt solunum yollarında gerçekleşir. Oksijene bağlanan Cr(VI),  $\text{CrO}_7^{2-}$  ve  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  oluşturur. [36].

Kemirgenler ve insanlarda Cr(VI)'nın sadece %7'sinin emildiği ve oral alım sonrası midenin asidik pH'ı altında Cr(VI)'nın, Cr (III)'e indirgendiği ifade edilmiştir [37]. Krom, ince barsakların üst kısımlarında absorbe olur. Krom(III)'ün intestinal absorpsiyonu yaklaşık olarak %0,4-2,5 arasında değişkenlik gösterir [41].

### **1.1.6. Kromun Transportu**

Krom, transferrin aracılığıyla beta globülinin plazma kısmına bağlanır ve kanda taşınır [39]. Krom(VI) kan dolaşımına girer daha sonra eritrositler tarafından alınır, indirgenir ve hemoglobine bağlanır. Krom(VI) 7 saat, 15-30 gün ve 3-5 yıl olmak üzere 3 yarılanma ömrüne sahiptir [36]. Absorpsiyondan sonra Cr(III) serum proteinlerin S-globulin fraksiyonlarına, bilhassa transferrine bağlanarak dokulara taşınır [42]. Kromun transferrine bağlanma affinitesi hemen hemen Fe'ye yakındır. Kromun memelilerde en çok lokalize olduğu yer karaciğerdir fakat; dalak, diğer yumuşak dokular ve kemikte de bulunur [40]. Kromat midede ve dokularda Cr(III)'e indirgenir. Çoğu bakterinin, reaktif Cr(V) ve Cr(IV) ara ürünleri olmadan kromattan Cr(III) oluşturan kromat redüktazlara, NADPH'ye bağlı flavoenzimlere sahip olması ve bu nedenle, farklı türlerdeki bağırsak mikrobiyotalarının, kromatın metabolizması ve olası toksisitesinde dikkate alınması gerekir [43].

### **1.1.7. Kromun Atılımı**

Oral yolla alınan Cr'nin büyük bir kısmının mekanizması anlaşılmamış [21] olmakla birlikte alınan Cr'nin bir kısmının sindirim sonucu gastrik detoksifikasyondan kaçıp, hedef dokulara lokalize olup absorbe olduğu bilinmektedir [30] ve dışkı ile atılımda aslen absorbe edilmemiş diyet Cr'si yer alır [44]. İnhal edilen Cr(VI) akciğerlerde veya plazmada Cr(III)'e indirgenir [45], dolaşıma katılmanın ardından karaciğer [35] ve böbrek aracılığıyla idrarda Cr(III) olarak atılır [45]. Kromun idrar ile çıkışı yaklaşık 0,2 µg/gün'dür [30]. Boşaltımda atılan Cr miktarı bir noktaya kadar alıma bağlı olmasına rağmen koşma ve dirençli egzersizler idrar ile Cr atılımını artırır [40].



Vücuda alınan Cr'nin bir kısmının atılımı saç, tırnak, süt ve ter üzerinden sağlanır [46].

### 1.1.8. Krom Toksikitesi

Kromun kimyası (partikül boyutu, oksidasyon durumu ve çözünürlüğü) hücreye girişinde ve toksik etkilerinde önemli rol oynar [36, 40].

Krom (VI) maruziyeti; vücutta solunum, böbrek, karaciğer, kardiyovasküler, gastrointestinal, dermal, immünolojik, hormonal ve reproduktif olarak hasar meydana getirir [30,39]. Krom bileşiklerine dermal maruz kalma, tahriş edici dermatite ve cilt ülserasyonlarına sebep olabilir; yüksek seviyede solunması, burunda akma, burun kanaması, ülser ve nazal septumda delikler gibi tahriş neden olabilirken akciğer kanseri ile ilişkilendirilir ve bu bileşikler insan kanserojenleri olarak sınıflandırılır [30]. Her bir Cr türü; DNA, proteinler ve zar lipidleri gibi hücresel makromoleküllere saldırarak hücre işlev bozukluğuna neden olabilir [36]. Krom (VI)'nın farelerde Fe eksikliğine ve homeostazın bozulmasına neden olduğu, ratlarda tiroid bezini etkileyerek serbest T3, T4 salımını azalttığı, serum testosteron, insülin ve çinko seviyelerini artırdığı, sperm sayısını ve hareketliliğini azalttığı saptanmıştır [47]. Yapılan bir çalışmada [48], 30 gün boyunca içme suyuyla 75 mg/kg PDK'ya maruz bırakılan farelerde plazma AST, ALT, laktat dehidrojenaz aktiviteleri, bilirubin, albümin ve glikoz seviyeleri gibi karaciğer hasarının biyobelirteçleri artarken, trigliserit ve kolesterol seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Wistar ırkı dişi ratlara 10 mg/kg/CA subkutan (s.c) olarak tek doz PDK uygulanması ile metalin toksik etkilerine cevap olarak serum total protein değerlerinin azaldığı, ALT aktivitelerinin, üre nitrojen ve kreatinin düzeylerinin arttığı, kan hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin, eritrosit ve lökosit sayılarının, ortalama eritrosit hacminin, ortalama eritrosit hemoglobinin arttığı bildirilmiştir [49]. Chen ve ark. [50]; 14, 28 ve 42 gün boyunca 22,14 mg/kg dozda PDK'ya maruz kalan civcivlerde karaciğer, böbrekler, kalp ve dalakta Cr biriktiği belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada [51], 45 gün boyunca PDK'ya maruz kalan civcivlerde PDK'nın inflamatuvar kalp dokusu hasarı, mitokondriyal bozukluk ve otofaji şekillendirdiği ortaya konulmuştur. Zhu ve ark. [52] tavukların 28 ve 42 gün boyunca kontamine içme suları ile maruz kaldıkları 22,14 mg/kg dozda PDK'nın, zamanla beyin ve serumda birikerek, beyin ve serumundaki eser elementlerin emilimini

bozduğunu ileri sürmüşlerdir. Kumar ve ark. [53] ratlarda Cr(VI)'nın gebelik döneminde hormon reseptörlerinin zayıflatılmış ekspresyonu nedeniyle sıkı bağlantılı (TJ) proteinlerinin ekspresyonunu engellediğini tespit etmişlerdir.

## 1.2. Oksidatif Stres

Biyolojik sistemler içerisinde yer alan serbest radikaller, atomik bir yörüngede eşleşmemiş elektron içeren ve bağımsız olarak var olabilen moleküler türlerdir. Birçok radikal kararsız yapıda ve oldukça reaktiflerdir. Başka moleküllere elektron verebilir veya başka moleküllerden bir elektron alırlar. Bu nedenle oksidan ya da redüktan olarak davranırlar [54]. Serbest radikallere karşı etkisizleştirici özellikte bulunan, süpürücü etkiye sahip antioksidanlar bulunmaktadır. Oksidatif stres, antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki dengenin ROS lehine bozulması ve endojen savunmasının yetersiz kalması olarak tanımlanır [55]. Birçok organizma metabolizma sırasında oksijen kullanır ve bu nedenle oksidatif strese maruz kalabilir [56]. Yüksek reaktivite yeteneklerine sahip, organizmada moleküler düzeyde birçok etkiye neden olan serbest radikaller; mitokondri başta olmak üzere hücre organellerinde açığa çıkar [55] ve bağışıklık hücresi aktivasyonu, inflamasyon, aşırı egzersiz, enfeksiyon, iskemi, zihinsel stres, yaşlanma, kanser gibi endojen ya da hava kirliliği, sigara dumanı, su kirliliği, alkol, ağır metal maruziyeti gibi eksojen kaynaklardan üretilir. Metaller, geçiş metalleri, farmasötik maddeler/farmakolojik ajanlar ve radyasyon maruziyeti gibi durumlar aşırı serbest radikal üretimine sebep olur, hücre fonksiyonları değiştirir, kronik ve dejeneratif hastalıklara neden olur [57].

Serbest radikaller metabolizma esnasında sürekli olarak hücrede üretilir ve fizyolojik düzeyin üzerinde olanlar antioksidan sistemler tarafından yok edilirler. Serbest radikaller çizelge 1.2.'de bahsedilen ROS ve RNS olmak üzere iki grupta incelenebilirken bunların haricinde bir grup oksidantlarda mevcuttur; RNS ve ROS, radikal olmayan diğer reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilirler [58].

**Çizelge 1.2.** Serbest radikaller ve oksidanlar [58].

<b>Reaktif Oksijen Türleri</b>	<b>Reaktif Nitrojen Türleri</b>	<b>Oksidanlar</b>
Hidroksil radikali (OH•)	Nitrik oksit radikali (NO•)	Ozon (O <sub>3</sub> )
Alkoksil radikali (RO•)	Nitrojen dioksit radikali (NO <sub>2</sub> •)	Singlet oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )
Peroksil radikali (ROO•)		Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Lipid peroksil radikali (LOO•)		Peroksinitrit (ONOO-)
Süperoksit radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )		Hipokloröz asit (HOCl)
		Dinitrojen trioksit (N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
		Nitrik asit (HNO <sub>2</sub> )
		Lipid peroksit (LPO)

Metabolizma esnasında fizyolojik olarak açığa çıkan; oksijen içeren, eşleşmemiş elektronlar nedeniyle oldukça kararsız ve reaktif olan serbest radikaller; hücrel fonksiyonların sürdürülmesi ve homeostaz için önemlidir bu nedenle düşük seviyelerde üretilirler [59]. Enfeksiyöz aktivitelerden korunma, fertilizasyon, fetal gelişim, hücre proliferasyonu/farklılaşması, transkripsiyon faktörlerinin ve bazı enzimatik aktivitelerin düzenlenmesi gibi birçok süreçte serbest radikallerin yararlı rolleri bulunmaktadır. Canlılar tarafından üretilen oksidanlar, fizyolojik ve patolojik koşullarda, organizmada rahatlıkla serbest radikal reaksiyonlarına sebep olabilirler [58].

Lipid peroksidasyonu hücre membranlarında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır [60]. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en önemli ürün MDA'dır. Malondialdehit, araşidonik asit ve daha büyük çoklu doymamış yağ asitlerinin enzimatik veya non-enzimatik süreçler yoluyla ayrışmasıyla üretilen bir son üründür [61]. Hücre zarlarında iyon transferine etki ederek hücre zar yapısındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına sebep olan MDA, enzim aktivitesi ve iyon geçirgenliğinin bozulması gibi olumsuz etkiler meydana getirir [62]. Oldukça toksik bir molekül olan MDA, genellikle organizmada oksidatif stresin bir biyolojik belirteci olarak kabul edilir [63].

Antioksidanlar ve oksidanlar, aralarındaki homeostazın bozulması ve oluşturdukları moleküler hasarı ile birçok hastalığın patolojisinde rol oynarlar [55]. İnflamasyon bölgesinde bulunan oksidanlar inflamatuvar cevabın şekillenmesinde de rol oynar. Ezim transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyon/defosforilasyon olayları ile kontrol

edilen durumlarda oksidanların önemi yüksektir. Oksidanlar ile başlayan sinyalizasyon özellikle redoks reaksiyonları sonucu ile özelliği değişen sinyal yollarını etkiler [64]. Serbest radikallerin üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması oksidatif stresin etiolojisinde rol oynar. Antioksidan tüketiminin araştırılması, antioksidan miktarındaki azalış veya metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi oksidatif stres biyobelirteci olarak karşımıza çıkar [65].

### **1.3. Antioksidan Sistem**

Antioksidanların temel görevi hücrede serbest radikalleri temizleyerek hücre hasarını engellemektir. Antioksidanlar vücutta endojen olarak bulunurlar ya da eksojen olarak alınırlar. Antioksidan sistemler enzimatik ve non-enzimatik olan komplike sistemlerden oluşur [66] ve içerisinde yer alan onarım mekanizmaları oksidatif olarak hasar almış nükleik asitleri onarır, oksitlenmiş proteinleri proteoliz ile yok eder, oksitlenmiş lipidleri fosfolipaz, peroksidaz gibi enzimler aracılığı ile onarımını sağlar. Bu onarım mekanizmalarının bozulması sonucunda birçok patolojik bozukluk meydana gelir. Antioksidan savunma sistemleri hücrelerin redoks dengesini sağlar. Savunmanın ilk adımını enzimatik antioksidan sistemi, ikinci adımını ise hücre içi ve besinle alınan antioksidan karakterli bileşikler sağlar [55].

Antioksidanların Etki Mekanizmaları [55].;

- I. Ortamdaki oksijenin uzaklaştırılması ve bölgesel bir şekilde yoğunluğun azaltılması.
- II. Katalitik metal iyonlarını ortamdaki uzaklaştırılması.
- III.  $O_2^-$  veya  $H_2O_2$  gibi kilit görev üstlenen ROS'u ortamdaki uzaklaştırılması veya etkilerinin azaltılması.
- IV. Serbest radikallerin yol açtığı reaksiyon zincirlerinin blokajı.
- V. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarın onarılması.

Antioksidanlar; endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki ana grupta incelenirken, endojen antioksidanlarda kendi içerisinde enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak iki sınıfa ayrılır [67]. Antioksidanlar ve özellikleri çizelge 3.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 1.3.** Antioksidanlar ve özellikleri [67, 68]

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi	Durumu
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizanı	Endojen Enzimatik
Süperoksit dismutaz (SOD)	Cu, Zn, Mn, SOD	Mitokondri, serum	Süperoksidi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'e dönüştürür	Endojen Enzimatik
Katalaz (CAT)	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı	Endojen Enzimatik
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Selenoprotein	Sitozol, mitokondri	LPO ürünlerini indirger	Endojen Enzimatik
Glutasyon redüktaz (GR)	Dimerik protein	Sitozol, mitokondri	Disülfitleri indirger	Endojen Enzimatik
α-tokoferol	Yağda çözünen vit.	Membranlar, hücre dışı ortam	Peroksidasyonu azaltır	Eksojen
β-karoten	Vit A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi	Eksojen
Glutasyon	Tripeptid	Hücre içi ortam, alveoller	GSH redoks substratı	Endojen Enzimatik değil
Askorbik asit	Suda çözünen vit.	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder	Eksojen
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, vit C korur	Endojen Enzimatik değil
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger	Endojen Enzimatik değil
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir	Endojen Enzimatik değil
Bilirubin	Hemoprotein ürünü	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan	Enzimatik değil Endojen
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksidi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'e çevirir	Endojen Enzimatik değil
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar	Endojen Enzimatik değil
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar	Endojen Enzimatik değil
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı	Endojen Enzimatik Değil
Fenolik Bileşikler	Fenolik	Geniş dağılım gösterir	Serbest radikal süpürücü, metal şelatlayıcı	Eksojen

### 1.3.1. Tiyol- Disülfit Dengesi

Bir karbon atomuna bağlı, bir sülfhidril grubu (-SH) içeren organik bileşikler tiyol olarak adlandırılır [69-71], aynı zamanda merkaptanlar olarak da bilinirler [70] ve güçlü esansiyel antioksidan moleküllerdir. İçerdikleri -SH grupları nedeniyle oksidasyona karşı yüksek hassasiyeti olan tiyoller, ROS ile sıklıkla reaksiyona girerler. Tiyoller, oksidanlar aracılığıyla oksidasyon reaksiyonuna girebilir ve

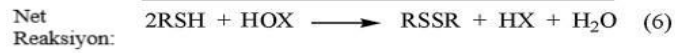
disülfür bağları (RSSR) meydana getirebilir [71,72,73]. İki tiyol grubu arasında meydana gelen redoks tepkili, dinamik, kovalent bağlar disülfid olarak tanımlanır [74].

Tiyoller, GSH'da serbest form olarak yer alabilir veya sistein protein gruplarına bağlanabilir. [73]. Plazmada yer alan önemli ölçüde protein tiyolleri, albümin ve daha az ölçüde sistein, sisteinilglisin, homosistein,  $\gamma$ -glutamilsistein ve GSH gibi moleküler ağırlığı düşük tiyollerden meydana gelir [68-69]. Sistein grupları, tüm proteinin yalnızca %3'üne karşılık gelseler bile; sinyal iletimi, moleküler stabilizasyon, metal kompleksleri oluşturma ve güçlü bir indirgeyici olarak antioksidan savunma üzerindeki pleiotropik fonksiyonları için proteinler çok önemlidirler [73]. Sistein kalıntılarının oksidasyonu, oksidatif stres arttığında düşük moleküler kütleli tiyoller ve protein tiyol grupları arasında tersinir karışık disülfür oluşumuna yol açabilir. Bu disülfid bağları tiyol gruplarına indirgenebilir; bu nedenle, tiyol-disülfid homeostazı (TDH) korunur [69]. Dinamik TDH, tiyollerin proteinlerdeki oksidasyonunun tersine çevrilmesidir ve disülfidler ile tiyollerin düzeylerini temsil eder [71]. Bu mekanizma ile tiyollerin antioksidan etkilerine aracı olur. Meydana gelen disülfid bağları yine tiyol gruplarına indirgenebilirler. Dinamik TDH, detoksifikasyon, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi, antioksidan savunma, apoptoz ve hücrel sinyal iletiminde önemli bir rol oynar [72]. Hücrel tiyollerin oksidasyonu, yalnızca bir dizi redoks duyarlı protein ve enzimi inhibe etmekle kalmaz, aynı zamanda GSH'ı tüketir ve dolayısıyla hücrel redoks dengesini disülfid stresine doğru döndürür [73]. Glutasyon ve protein tiyolleri yüksek hücre içi düzeylere sahip olmaları nedeniyle hücre içi antioksidanlardır [75]. Plazma tiyollerinin, çeşitli mekanizmalarda antioksidan olarak rol aldığı ve serbest radikal süpürücüsü olduğu düşünülmektedir. Plazma total tiyol ölçümünün ve tiyol-disülfid dengesinin tespit edilmesi çeşitli hastalıkların patolojilerinde rol alan serbest radikallerin iyi bir yansımasıdır [72]. Çeşitli biyokimyasal reaksiyonlarla ilgili önemli bir parametre olarak kabul gören TDH bozulduğunda, etiyojisi bilinmeyen çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bugüne kadar ulaşılabilen veriler, TDH önemli ve tamamen aydınlatılması gereken bir konu olduğunu düşündürmektedir [71].

### a Klasik Tiyol-Disülfüd Değişim Mekanizması



### b İki Elektronlu Oksidanlar Tarafından Tiyol Oksidasyonu



### c Radikal Aracılı Tiyol Oksidasyonu

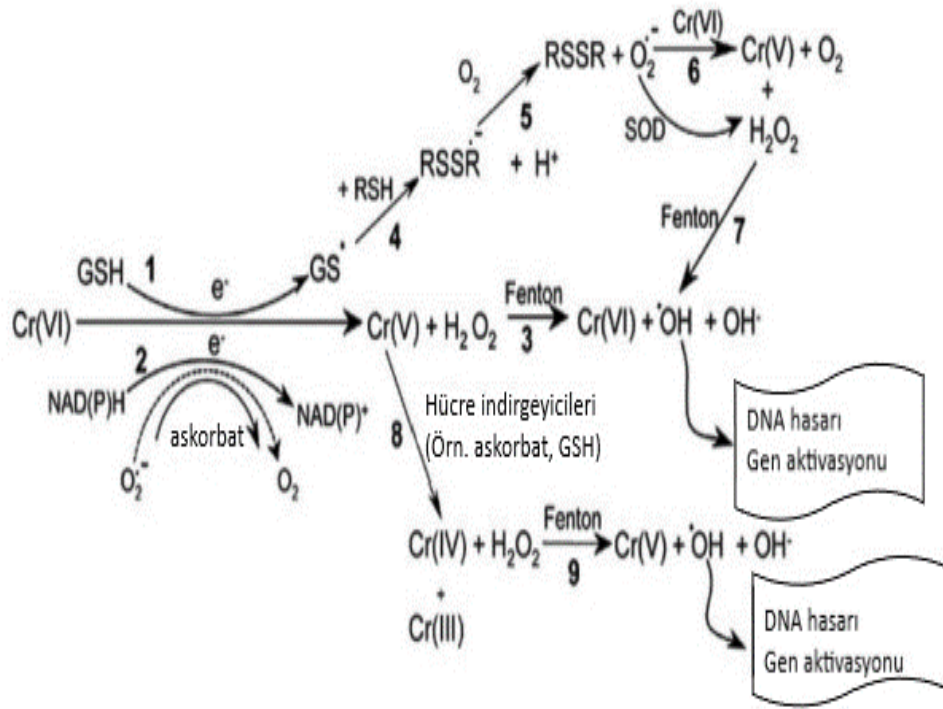


Şekil 1.2. Tiyol oksidasyon mekanizması [76].

## 1.4. Krom (VI) Reaksiyonları ve Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları

Krom(VI), hücre dışı sitotoksik bir ajan değildir ve in vitro veya izole edilmiş çekirdeklerde DNA ile reaksiyona giremez [77], hücre içinde indirgenmesi esnasında açığa çıkan reaktif Cr(V) ve Cr(III) DNA'yı etkiler ve patolojilere sebep olur [35]. Krom(VI)'ın indirgenmesi başta mikrozomlar ve mitokondri olmak üzere çeşitli biyolojik sistemlerde, zaman ve doza bağımlı bir şekilde gerçekleşirken redüksiyon ile eş zamanlı olarak, Fenton ve Haber–Weiss reaksiyonları ile potansiyel hücrel hasar kaynaklarını, özellikle mikrozomlar, mitokondri ve askorbat tarafından Cr(VI)'nın indirgenmesiyle açığa çıkan ROS türlerini oluşturur; açığa çıkan bu indirgeme molekülleri, Cr(VI) hücreler tarafından alındığında hücrel redoks dengesinin korunmasına önemli ölçüde katkıda bulunur. Örneğin, GSH ve askorbat, Cr(VI) ile hızla bir kompleks oluşturur, ardından Cr(VI)'nın yavaş bir şekilde indirgenmesiyle Cr(V) elde edilir sonra Cr(V)'in Fenton reaksiyonu yoluyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile

reaksiyona girerek OH<sup>·</sup> oluşturarak DNA hasarına neden olur ve Cr(V), askorbat veya indirgenmiş GSH formu gibi hücrel indirgeyici maddeler tarafından da Cr(IV)'e indirgenir [77]. Toksik etkisini askorbat ve GSH veya sistein amino asit kalıntıları gibi biyolojik tiyoller ile indirgemeyi takiben gösterir. Krom(VI) GSH ile bir elektron transferi sayesinde reaktif Cr(V)'e indirgenir bu şekilde Cr(VI) sonuç olarak Cr(III)'e dönüştürülür. Bu süreç, özellikle GSH'ın indirgenmesi ile, hücrel lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar veren yüksek düzeyde oksidatif stres üreten H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve diğer serbest radikal türleri üretebilir [38]. NADPH oksidaz (NOX) ailesi, Cr(VI) tarafından indüklenen ROS oluşumunda, oksidatif stres ve karsinojenezde çok önemli bir role sahiptir [37].



Şekil 1.3. Cr(VI)'nın indirgenmesi ROS oluşumu [77].

## 1.5. İnflamatuvar Cevap

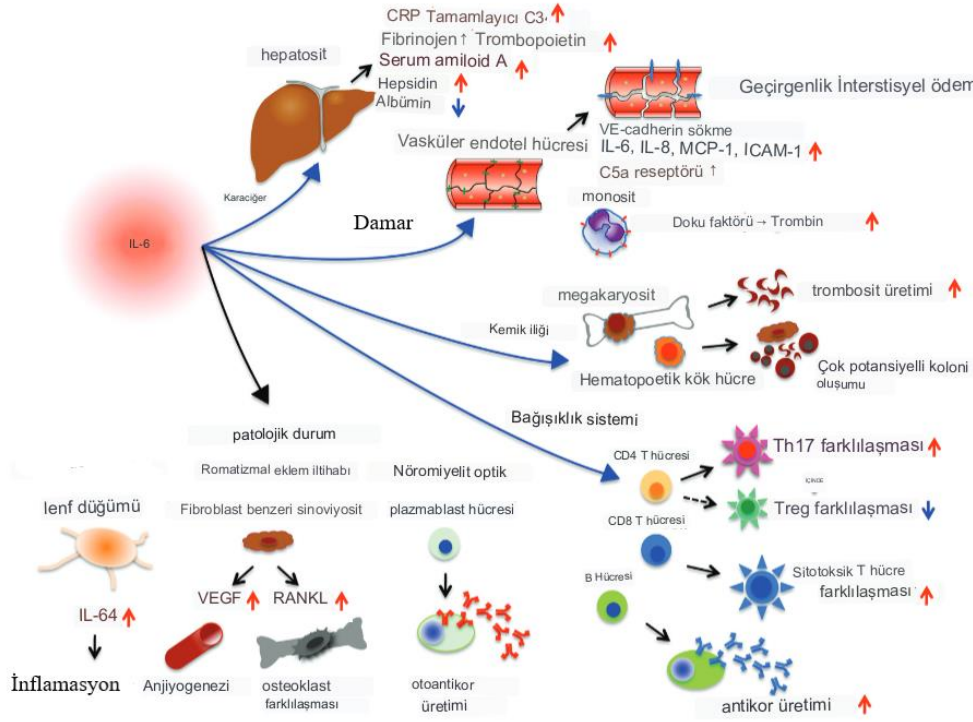
İnflamasyon, bakterileri veya irritan maddeleri yok etmek ve enfeksiyona, antijen tehdidine veya doku yaralanmasına karşı hücre onarımını güçlendirmek için tasarlanmış bir cevaptır [78].

Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler inflamasyonda çok önemli roller oynar [79].



### 1.5.1. İnterlökin-6

İnterlökin-6, inflamatuvar uyarılara cevap olarak üretilen pleiotropik bir sitokindir. Eritropoez, kemik metabolizması ve nöronal hücre dejenerasyonunu içeren çeşitli hücresel süreçlerin ana düzenleyicisidir [80]. İnterlökin-6; T hücreleri, B hücreleri, monositler, fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, mezangiyal hücreler, çeşitli tümör hücreleri türleri gibi lenfoid veya lenfoid olmayan hücreler tarafından üretilir ve farklı hedef hücreler üzerinde çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir [81]. Sıklıkla proinflamatuvar sitokinlerin sistemik aktivasyonu için bir belirteç olarak kullanılan IL-6; akut faz proteininin güçlü bir indükleyicisi olarak proinflamatuvar işlev görürken aynı zamanda antiinflamatuvar özelliklere de sahiptir [82].



Şekil 1.4. İnterlökin-6 biyolojik fonksiyonları [83].

### 1.5.2. Tümör nekroz faktörü

Tümör nekroz faktörü  $\alpha$ , proinflamatuvar sitokinler arasında, güçlü, çok işlevli bir sitokindir [84] ve sitokinlerin hem proinflamatuvar hem de immün düzenleyici özelliklerini sergiler. B hücrelerinin, T hücrelerinin ve dendritik hücrelerin farklılaşmasında immün düzenleyici bir rol alır ve ayrıca programlanmış hücre ölümü sürecini yürütmeye yardımcı olur [80]. Sistemik inflamasyonu arttırmanın ve

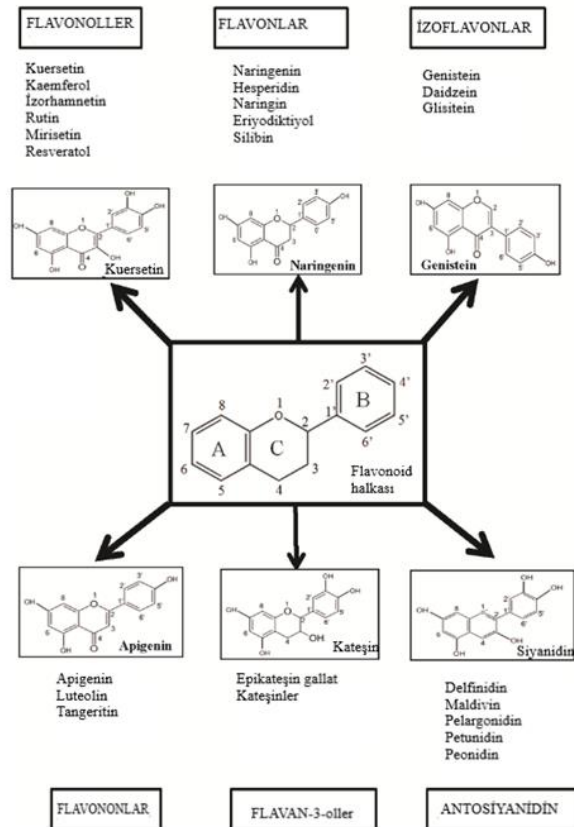


maruz kalan ratlarda karaciğer dokusunda ve serumda AST ve ALT enzim aktivitelerinin, IL-1 $\beta$ , IL-10 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin arttığı, ve ROS'un hepatotoksositeye neden olduğu, Cr(VI)'nin ROS'u artırarak inflamatuvar cevabı ve oksidatif stresi indüklediği bildirilmiştir. İçme suyu ile 60 gün boyunca Cr(VI)'ya maruz kalan ratlarda, miyokardiyal hücrelerde raf kinaz inhibitör proteini (RKIP) ekspresyonu azalttığı ve kalpte RKIP'nin  $\beta$ -adrenerjik reseptör cevabını ve G proteini sinyalini geliştirme yeteneğini inhibe ettiği [89], ayrıca sığır hemoglobinin ve HUVEC üzerinde yapılan in vitro çalışmada PDK'nın mitokondriyal apoptoz yollarını aktive ederek apoptoza yol açabileceği bildirilmiştir [90]. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada [87], 28 gün boyunca 10, 20 ve 40 mg/kg dozda PDK'nın karaciğer, böbrek, ovaryum ve uterus dokularında GSH düzeylerini, SOD ve CAT aktivitelerini önemli düzeyde düşürdüğü, MDA düzeylerini ise kontrole göre önemli düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ratların 15, 30 ve 60 gün boyunca 20 mg/kg Cr(VI)'ya maruz kaldığı çalışmada [91], hepatik oksidatif stres ve sitotoksosite ile birlikte, serum insülin, melatonin ve glikoz seviyelerindeki değişikliklerde toksikasyonun süreye bağlı bir etkisi olduğu ortaya konulmuştur [92]. Krom(VI) insan karaciğer karsinomu hücrelerinde sitotoksosite, DNA hasarı ve oksidatif stresi indüklediği [93] ayrıca spermatogonial kök hücrelerinde apoptotik sinyal yolunu aktive ettiği bildirilmiştir [91]. Yapılan bir çalışmada [94], tek doz 20 mg/kg intraperitoneal (i.p.) PDK uygulanan farelerin karaciğerlerinde belirgin bir lipid peroksidasyonu artışının olduğu, buna eşlik eden protein olmayan sülfidril (NPSH) seviyelerinde, CAT ve SOD enzim aktivitelerinde bir azalmanın olduğu ve aynı zamanda dokuda belirgin bir Cr birikimine de neden olduğu tespit edilmiştir. Ratların 10 gün boyunca 15 mg/kg dozda (s.c.) PDK'ya maruz kaldığı çalışmada [95] PDK'nın; serum üre, kreatinin düzeylerinde ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinde artışa neden olduğu; buna renal GSH düzeyleri ve SOD aktivitelerinin azalması ve renal MDA düzeylerinde ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarında artış eşlik ettiği bildirilmiştir. İnsan lenfoblastoid hücreleri üzerinde 24 ve 48 saat yapılan çalışmada [96]; PDK'nın hücre canlılığını azaltarak ve insan B lenfoblastoid hücrelerinde zamana ve konsantrasyona bağlı bir şekilde DNA hasarına neden olabileceği saptanmıştır. Karaulov ve ark. [97], 135 gün boyunca oral olarak 20 mg/kg PDK verilen ratlarda, bağışıklık hücrelerinin etkilendiği; PDK'nın timus kütlelerinde ve timosit sayısında azalmaya, lenfte yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu, kemik iliğindeki miyeloid hücre ve nötrofil sayısını azalttığını, lenfoid ve

eritroid hücre sayısını artırdığını bildirmişlerdir. Banu ve ark. [98], içme suyu ile 50 ppm PDK verilen emziren farelerin doğum sonrası 1-21. günleri boyunca atrezisitokrom C'yi ve parçalanmış kaspaz-3'ü artırarak folüküllerin, antiapoptotik proteinlerini ve östradiol (E2) biyosentezini azalttığını, oksidatif stresi artırdığını ve endojen antioksidanları azalttığını, Aruldhas ve ark. [99], 6 ay süreyle içme suyu ile Cr(VI) alan maymunlarda, serbest radikallerin toksisiteyi indükleyerek spermatogenezi bozduğunu tespit etmişlerdir.

## 1.7. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerdir [17] ve hücreleri zararlı etkilere karşı koruma yeteneğine sahip bir grup biyomolekül olarak sınıflandırılır [100]. Yaklaşık 3000'den fazla flavonoid çeşidi tanımlanmış ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel yararlı etkileri nedeniyle son zamanlarda özel bir ilgi uyandırmıştır. Antiviral, antialerjik, antiplatelet, antiinflamatuvar, antitümör, antioksidan ve nörodejeneratif bozuklukların tedavisine sahip olduğu bildirilen flavonoidler; kimyasal yapılarına göre şekil 1.6.'da gösterildiği gibi altı sınıfa ayrılır [57].

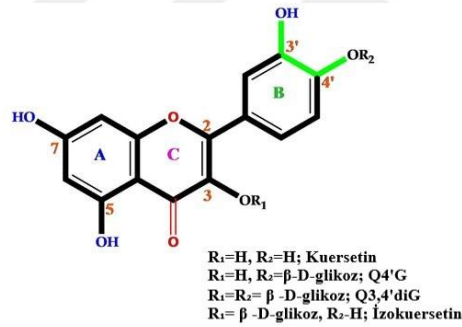


Şekil 1.6. Flavonoidlerin genel yapısı ve sınıflandırılması [101].

Flavonoidler; aglikonlar, glikozitler ve metillenmiş türevler olarak açığa çıkar. Flavonoid aglikon, serbest radikalleri stabilize etmek için rezonans yoluyla elektron bağışlayabilen çok sayıda çift bağ ve hidroksil grubu içeren bir polifenol yapısına sahiptir [56]; 2 konumunda sübstitüent olarak bir fenil halkası (B) taşıyan, pıran halkası (C) ile yoğunlaştırılmış bir benzen halkasından (A) oluşur [102]. B halkası, antioksidan özellikte ve ROS'un temizlenmesi için ana aktif bölgedir [19].

### 1.7.1. Kuersetin

Kuersetin 1857'de kullanılmaya başlanmış ve ilk olarak meşe ağacı (*Quercus rubra*)'dan izole edilmiştir [103]. En çok çalışılan flavonoidlerden biri olarak kabul edilen QUE, diyetle alınan toplam flavonoidin yaklaşık %75'ini oluşturur [59]. Kuersetin, insanlar için önemli bir diyet besin maddesi, antioksidan ve potansiyel terapötik ajan olmakla birlikte [104] metabolik ve inflamatuvar bozuklukların tedavisi için en yaygın kullanılan biyoflavonoidlerden biridir [57].



**Şekil 1.7.** Kuersetin metabolitleri ve kaynakları [105].

Kütlesi 302.24 g/mol olan QUE, yüksek erime noktasına (316.5°C) sahip, sarımsı kristaller halinde bulunan, hidrofobik bir moleküldür [24]. Kuersetin'in moleküler formülü  $C_{15}H_{10}O_7$ 'dir [106], Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC)

terminolojisinde 3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflavan olarak adlandırılır [103]. Saf QUE'nin kimyasal yapısı, bir karbonhidrat parçasına sahip olmayan, konjuge olmayan, bir aglikondur [107]. Yapısında bulunan apolar gruplar QUE'ye hidrofobik özellik verirken, aynı zamanda polar hidroksil grupları da içermektedir. Diğer flavonoidlerle karşılaştırıldığında en az lipofilik olan QUE'nin [104], biyolojik aktivitesi büyük ölçüde bu aktif fenolik hidroksil gruplarına ve çift bağlara atfedilir [19]. Kuersetin içeriğinde bulunan fenil gruplarından dolayı; iki değerlikli kanyonlar ile şelat oluşturarak serbest radikal oluşumunu baskılar, OH• oluşumunu engeller ve DNA bütünlüğünü koruyarak antioksidan özellik gösterir [108].

#### **1.7.1.1. Kuersetin Metabolizması**

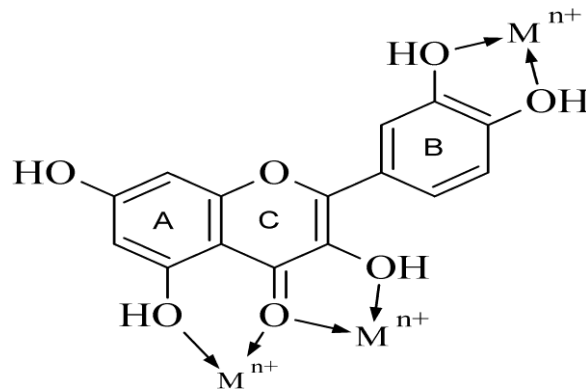
Kuersetin insan veya hayvan vücudunda sentezlenmez; besin kaynaklarından birinden elde edilmeli veya bir besin takviyesi olarak alınmalıdır [100]. Hızlı bir metabolizmaya sahip olan QUE, vücutta birikmeden atılır [59]. Kuersetin ve türevleri mide asidinde stabildir [103], %24-53 biyoyararlanım ile mideden emilir [20]. Tüm QUE formları (aglikon ve glikozitli QUE) ince bağırsakta (%5-10) ve kolonda (%90-95) emilmektedir [59,103]. Aglikon QUE, pasif olarak bağırsak epitel bariyerine nüfuz ederken, glikozitleri bağırsak sodyum/glikoz kotransporter-1 yoluyla emilir [109]. Aglikonun bakteri halkası bölünmesi hem ince bağırsakta hem de kolonda meydana gelir, bu da QUE'nin omurga yapısının bozulmasına ve ardından daha küçük fenoliklerin oluşumuna neden olur. İnce bağırsağın üst segmentinde emilen QUE glikozitleri, daha sonra ince bağırsakta ve karaciğerde biyotransformasyon enzimleri tarafından metillenir, sülfoikameli glukuronidasyona uğrar [103] ve karaciğerde (aglikon veya glikozitlerle birlikte) hızla metabolitlere dönüştürülür. Bu metabolitler daha sonra emilir, sistemik dolaşıma girer, dokulara dağılır, dönüştürülür veya atılır. Glikozitli QUE'nin aglikon QUE olarak emilmeden önce bir laktaz floridzin hidrolaz enzimi tarafından hidroliz edildiği ama aglikon QUE'nin bozulmadan emildiği düşünülmektedir [107]. Kuersetin lipofiliktir ve bu nedenle plazma zarından kolayca geçer [59], plazmada albümine güçlü bir şekilde bağlıdır. Pik plazma düzeyi, QUE alımını takiben 0,7 saat ila 7 saat arasında ulaşır. Kuersetin'in eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 25 saattir; eliminasyon, yağdan zengin diyetlerle uygulanmasından sonra önemli ölçüde gecikir [102]; vücutta klerensi çok hızlıdır ve kanda çok kısa bir yarı ömre sahip olduğu kabul edilir [59]. İki kanserojen olmayan bileşiğe metabolize edilir (3'-O-metilkuersetin ve 4'-O-

metilkuersetin) ve dışının yanı sıra idrarla da atılır. Kronik kullanımda QUE, toksik olabilen bir albümin-QUE kompleksi oluşturur, ancak sınırlı biyoyararlanımı bu olayın olmasını engeller; 2.231 g/kg/gün'e kadar sistemik toksisite veya kanserojenite üretmez [20].

### 1.7.1.2. Kuersetin ve Oksidatif Stres İlişkisi

Flavonoidler, serbest radikallerin neden olduğu hasarı, ROS'u temizleyerek, antioksidan enzimlerin aktivasyonunu, metal şelatlama aktivitesini,  $\alpha$ -tokoferil radikallerinin indirgenmesini, oksidazların inhibisyonunu sağlar ve NO'nun neden olduğu oksidatif stresin hafifletilmesini ve ürik asit seviyelerinin artmasını önler [57], ayrıca ROS'un hücre canlılığına zarar vermeden önce zincirleme reaksiyonunu sonlandırabilir [59]. Kuersetin, flavonoid ailesindeki en etkili, C ve E vitaminlerinden bile daha güçlü bir oksidan ve serbest radikal temizleyicisi polifenol olarak kabul edilir [104].

Kuersetin, hidrojen atomlarını bağışlama ve ROS aktivitesini söndürme yeteneğine sahiptir [59]. Aktif oksijen radikallerinin parçalanması; hidrojen atomu nakli (HAT), basit elektron nakli ve ardından proton aktarımı (SET-PT), proton kaybıyla sıralı elektron aktarımı (SPLET) ve geçiş metallere şelasyonu (TMC) ile sağlanabilir [110] ki bu noktada QUE mükemmel bir metal iyonofordur [20]. Ayrıca, QUE, GSH düzeylerini düzenleyerek vücudun antioksidan kapasitesini artırır. Bunun nedeni; vücutta serbest oksijen radikalleri üretildiğinde, SOD'un hızla  $O_2^{\cdot-}$ 'yi yakalaması ve  $H_2O_2$ 'ye dönüştürmesidir [20].

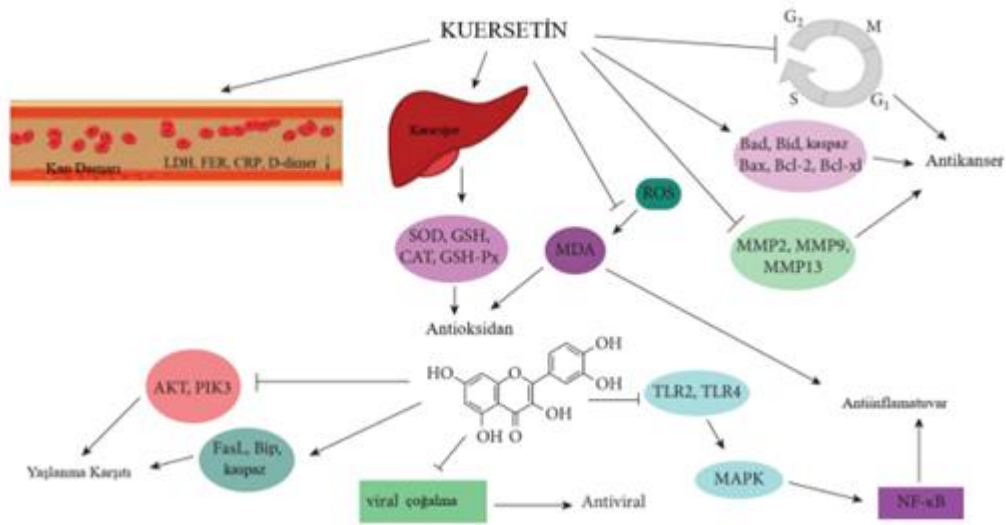


**Şekil 1.8.** Kuersetin metal şelatlayıcı bölgeleri [111].

İçerdiği yan fenil halkası üzerindeki -OH grupları, iki enzimin aktif bölgesindeki önemli amino asit kalıntılarına bağlanması ile oksidatif özelliklerle ilişkili anahtar



enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE)'a karşı daha güçlü bir inhibitör etki gösteren QUE, ayrıca sinyal iletim yollarını etkileyerek, antioksidan özellikleri artıran enzimleri veya antioksidan maddeleri modüle ederek hastalık gelişimini önler. Glutasyon, CAT ve SOD aktivitelerini artırır ve toplu olarak vücudun antioksidan performansını artıran imikuiomod (IMQ) tarafından indüklenen cilt dokularındaki MDA düzeylerini azaltır [112]. Kuersetin, MDA düzeylerini düşürürken GSH ve membran -SH gruplarının seviyelerini artırır [113] ve ortaya çıkan oksidatif hasarı önleyerek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından indüklenen akantositlerin oluşumunu önler [100]. Bir immun sistem uyarıcı ajanı olan QUE, bazofiller ve mast hücreleri için güçlü affinite sergiler. Bazofillerin ve mast hücrelerinin hücre zarlarını stabilize eder ve proinflamatuvar mediatörlerin etrafa saçılmasına engel olur. Kuersetin'in anti inflamatuvar aktiviteleri esas olarak IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve proinflamatuvar mediatörlerin etkilerini inhibe etmesidir [59].



**Şekil 1.9.** Kuersetin'in etkileri [19].

### 1.7.1.3. Kuersetin'in Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri

Antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip olan QUE'nin, oksidatif kinaz ve hücre döngüsü inhibitörleri olarak aktivitesi bilinmekte olup apoptozu indükler ve antikanser potansiyelin de anahtarı [114] olmakla birlikte dikkat çekici özelliklerinden biri, inflamasyonu modüle etme yeteneğidir [57]. Kuersetin'in kan glukoz seviyesini normalleştirebildiğini, diyabette hiperglisemi aracılı oksidatif stresi azaltabildiği [115] ve diğer flavonoid bileşiklere göre daha etkili antidiyabetik ve



hipoglisemik bileşik olduğu bildirilmektedir [116]. Ratlarda deneysel streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabette QUE'nin antioksidan enzimler üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada [117], 25 gün boyunca STZ uygulamasından 3 gün önce 15 mg/kg dozda (i.p.) QUE uygulanması neticesinde QUE'nin antioksidan enzimleri önemli derecede artırdığı ve antidiyabetik etki gösterdiği saptanmıştır. Atopik dermatitli farelerde QUE'nin, 50 mg/kg dozda oral 2 haftalık kullanımının inflamasyonu azalttığı, sitoplazmik HMGB1, RAGE, nükleer p-NFκB, p-ERK1/2, COX2, TNF-α, IL-1β, IL-2Ra, IFNγ ve IL-4'ü aşağı, nükleer Nrf2'yi ise yukarı regüle ettiği bildirilmiştir [118]. Mamani- Matsuda ve ark. [119] ratlarda oluşturdukları dejeneratif artritte QUE'nin, inflamasyonda rol oynadığı bilinen makrofajların proinflamatuvar faktörlerinin çoğunun potansiyel güçlü bir inhibitörü olduğunu belirtmişlerdir. Kuersetin (25 mg/kg dozda oral) ve balık yağının (2 mL/kg dozda oral) nöroprotektif etkisinin incelendiği bir çalışmada [120], ratlara 3-nitropropionik asit (NPA) uygulanması ile beyin dokusunda artan MDA, protein karbonilleri ve NO düzeylerinin balık yağı ve QUE'nin kombine uygulandığı grupta bu parametrelerin düzeylerinin normal değerlere yaklaştığını, sonuç olarak artan oksidatif strese karşı balık yağı ve QUE'nin koruyucu etkilerinin olabileceği ortaya konulmuştur.

Kuersetin güçlü antikanserojenik özelliklere sahiptir; beyin, karaciğer, kolon ve diğer dokulardaki tümörün büyümesini azaltan, kötü huylu hücrelerin yayılmasını önleyen apoptoz önleyici olarak katkıda bulunduğu bilinmektedir [57]. Hücresel büyüme inhibisyonuna ve hücre göçüne neden olarak hücresel proliferasyonu azaltan ve nihayetinde hücre döngüsünü durdurarak kanser hücrelerinin büyümesini baskılayan yerleşik bir otofaji modülatörü olan QUE; telomerazın işleyişini inhibe etme ve apoptozu indükleme yeteneğine sahiptir [121]. Ratlarda yapılan kolon karsinogenez çalışmasında [122], 4 hafta boyunca 4,5 g/kg dozda oral QUE'nin, erken preneoplastik lezyonların oluşumunu baskıladığını; bu etkinin proliferasyon ve apoptoz üzerinde QUE'nin proinflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu baskılama eğiliminden kaynaklanmış olabileceği ve böylece nihai kolon tümörü oluşumunu azaltabileceği öne sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada [123], HepG2 hücrelerinde 4 ve 18 saat 50 μM QUE ile inkübe edilmesi sonrası QUE'nin Nrf2 ve GSH ile ilişkili enzimlerin modülasyonu yoluyla hücre cevabının mekanizmalarında yer aldığı tespit edilmiştir. Chen ve ark [124] gerbillerde geçici serebral iskemi üzerine yaptıkları bir

çalışmada; iskemi öncesi 15 gün boyunca oral olarak verilen 20 mg/kg QUE'nin antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak geçici serebral iskemiye karşı güçlü nöroprotektif etkiler gösterebileceğini bildirmişlerdir. Epitelyal GES-1 hücrelerinde 25 ve 50 µM ve farelerde ise 25 mg/kg dozda QUE ön işleminin yapıldığı bir çalışmada [125], QUE'nin GES-1 hücrelerini oksidatif hasardan koruyabildiğini ve akut gastrik mukozal yaralanma sırasında ROS üretimini iyileştirici etkisi olduğunu; oksidatif stresin inhibisyonuna, mitokondriyal disfonksiyonun düzenlenmesine, antioksidan savunmanın başlatılması ve apoptozun inhibisyonu ile ilişkili olabileceği saptanmıştır.



## 2. TEZİN AMACI

Besinlerle organizmaya alınan Cr tüm metabolizma olaylarını etkilemektedir. Tarım ve endüstriyel uygulamalarının sonucunda çevrede artan toksik kimyasal bileşenlerden biri olan Cr'nin en toksik ve kanserojen olarak kabul edilen formu PDK'dır. Kromun en önemli toksik etkilerinin Cr(VI) metabolizması sırasında ROS'un açığa çıkmasıyla oluşan oksidatif stresin olduğu bilinir. Kuersetin, çeşitli terapötik etkilere sahip olan ve antioksidan etki gösteren bir polifenolik flavonoid türevidir. Deney hayvanlarıyla oluşturulan hastalık ve toksikasyon modellerinde QUE'nin antioksidan sistemi destekleyerek oksidatif stresi azalttığı ve böylelikle tedavilere katkı sağlayabildiği anlaşılmaktadır. İnsanlık tarihinin en eski dönemlerinden beri tedavi amacıyla bitkilerin kullanılmasıyla başlayan serüvende, biyoflavonoidler günümüz tıbbının da konusu olmuştur. Hipokrat tarafından 2000 yılı aşkın bir süre önce "Besinler ilacınız, ilacınız besininiz olsun" sözüyle ifade edilen ve doğal gıda ürünlerinin sağlığa olan faydaları düşünülerek yola çıkılan bu çalışmada; sıklıkla tüketilen meyve ve sebze içerisinde en bol miktarda bulunan, antioksidan madde QUE'nin, bulunduğumuz ekosistem üzerinde yer alan, insani faaliyetleri neticesinde her geçen gün kontaminasyonunun arttığı görülen ve maruz kalınan Cr(VI)'nin neden olduğu, bir çok hastalığın temelinde yatan oksidatif stres ve inflamatuvar cevap üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında toksisite oranı yüksek olan PDK'ya maruz kalma sonucu açığa çıkan oksidatif stres ile ilgili pek çok çalışmalar yapılmış ve koruyucu olarak farklı antioksidanlar kullanılmıştır [10,12,49]. Ancak PDK'nın neden olduğu oksidatif strese karşı QUE'nin etkisini araştıran çalışmalar sınırlı [126] sayıda olup, inflamatuvar cevap üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada PDK'ya maruz kalan ratlarda bazı biyokimyasal ve oksidatif stres parametreleri ile inflamatuvar cevap üzerine QUE'nin olası koruyucu etkileri araştırılmıştır.

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Demirbaş ve Sarf Malzemeler

Çalışma süresince kullanılan demirbaş ve sarf malzeme listesi çizelge 3.1. ve 3.2. de verildi.

**Çizelge 3.1.** Demirbaş malzeme listesi

<b>Cihazlar</b>	<b>Markaları</b>
Buzdolabı	Arçelik 5080F, Türkiye
Cam Homojenizatör	
Derin Dondurucu	Bosch GSN24V22 A+, Almanya
Derin Dondurucu (-80)	Nüve DF-490, Türkiye
Distile Su Cihazı	Tetra Zeneer RO 180, Almanya
Hassas Terazi	Radwag, PS510.R1, Polonya
Mikroplate Okuyucu	Thermo Scientific, Multiskan GO, Finlandiya
Otomatik Pipet	Eppendorf Research® Plus, Almanya
Otoanalizör	Gesan Chem 200, İtalya
Santrifüj	Hettich Universal 32R, Almanya
Su Banyosu	Julabo SW22, Almanya
Soğutmalı Santrifüj	Nüve NF 800R, Türkiye
Ultrasonik Homojenizatör	Bandelin, Sonopuls, ABD
Vortex	Velp Scientifico-ZX3, ABD

**Çizelge 3.2. Sarf malzeme listesi**

<b>Sarf Malzeme</b>	<b>Markaları</b>
Alanin Aminotransferaz (ALT) test kiti	C3800650A, Gesan, İtalya
Aspartat Aminotransferaz (AST) test kiti	C3700650A, Gesan, İtalya
Kreatinin test kiti	C2701220A, Gesan, İtalya
Üre test kiti	C4800650A, Gesan, İtalya
Trigliserit test kiti	C4730650A, Gesan, İtalya
Total Kolesterol test kiti	C4500650A, Gesan, İtalya
Total Protein test kiti	C4500650A, Gesan, İtalya
Albümin test kiti	C1200620A, Gesan, İtalya
Total Antioksidan Status test kiti	RL0017, Rel Assay®, Türkiye
Total Oksidan Status test kiti	RL0024, Rel Assay®, Türkiye
Total Thiol test kiti	RL0192, Rel Assay®, Türkiye
Native Thiol test kiti	RL0185, Rel Assay, Türkiye
Rat Interleukin (IL)- 6 ELISA test kiti	E0135Ra, BT Lab, Çin
Rat Tumor Necrosis Factor (TNF)- $\alpha$ ELISA kiti	E0764Ra, BT Lab, Çin
Sodyum Bikarbonat	K30661723, Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit	1310-73-2, Carlo Erba, Fransa
Sodyum-Potasyum Tartarat	A302485 Merck, Almanya
Bakır Sülfat	7768-888, Carlo Erba, Fransa
Folin Ciacolta Fenol Ayracı	1.09001, Merck, Almanya
Sığır Albümini (BSA)	A2153, Sigma, ABD
Fosfat Tamponu	P4417, Sigma, ABD
Potasyum Dikromat	7778-50-9, Merck, Almanya
Kuersetin	849061-97-8, Cayman, Almanya
Tiyobarbitürik Asit	1.08180.0025, Merck, Almanya
Triklorasetik Asit	1.00810.1000, Merck, Almanya
Butylhydroxytoluol	8.17074.1000, Merck, Almanya
Hidroklorik Asit	1.00317.2500, Merck, Almanya
Fosfat Tamponu (PBS)	MFCD00131855, Sigma, ABD

### **3.1.2. Hayvan Materyali**

Bu çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi'nden gerekli izin ve onay alınarak (2022/03, Karar No:09) Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı. Çalışmada kullanılan 2-3 aylık ve 250-300 gr ağırlıklarında 40 adet Wistar ırkı erkek ratlar, deney hayvanları üreten laboratuvardan temin edildi.

### 3.1.3. Barınma ve Yetiştirme Koşulları

Yem ve su yönünden *ad libitum* olarak beslenen hayvanlar, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, oda sıcaklığında ( $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), nem oranı %50-60 olan ortamlarda ve üst kısmı tel ızgaralı, refaha uygun, sert ve şeffaf polikarbonat kafeslerde randomize bir şekilde 5'er hayvan olacak şekilde tutuldu. İki haftalık adaptasyon sürecine tabii tutulan hayvanlar, daha sonrasında tartılarak, her bir grupta canlı ağırlık ortalamaları yönünden fark olmaksızın 10'ar hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.



Şekil 3.1. Hayvanların bakım ve beslemesi.

### 3.1.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

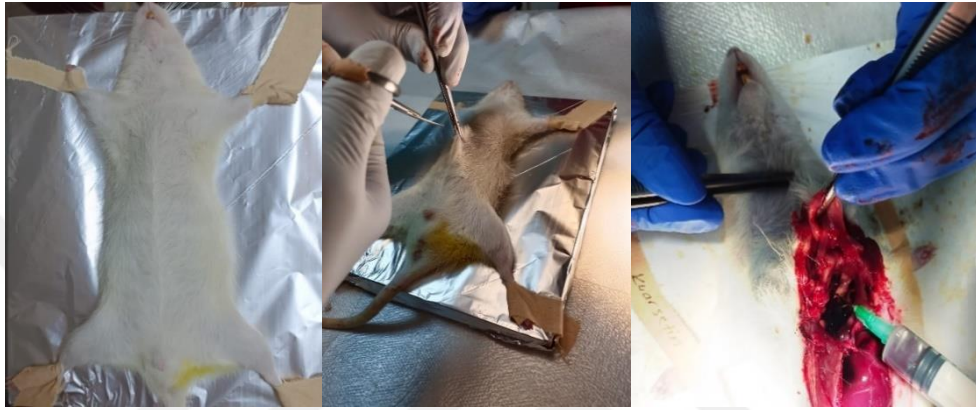
Standart şartlarda bakım ve beslemesi yapılan hayvanlardan, adaptasyon süresi sonunda Çizelge 3.3.'deki gibi deneme grupları oluşturuldu.

Çizelge 3.3. Deney Gruplarının oluşturulması ve uygulanması

Grup	Madde Uygulamaları	Rat sayısı (n)
Kontrol (K)	28 gün boyunca oral olarak fizyolojik tuzlu su (FTS) verildi.	10
Kuersetin (QUE)	28 gün boyunca 100 mg/kg canlı ağırlık/gün oral olarak QUE süspansiyonu (Cayman, 849061-97-8, Almanya) verildi [127,128].	10
Potasyum Dikromat (PDK)	28 gün boyunca 15 mg/kg canlı ağırlık/gün oral olarak PDK çözeltisi (Merck, 7778-50-9, Almanya) verildi [129,130].	10
Potasyum Dikromat+Kuersetin (PDK+QUE)	28 gün boyunca 15 mg/kg PDK çözeltisi ve 100 mg/kg QUE süspansiyonu canlı ağırlık/gün oral olarak verildi. İki uygulama arası 30 dk ara verildi.	10

### 3.1.5. Numunelerin Toplanması

Yirmi sekiz gün süren denemenin sonunda sakrifiye edilen hayvanlar işlem öncesi 10 saat aç bırakılarak, i.p. yolla Ksilazin (10 mg/kg, Rompun®, Bayer, Almanya) ve Ketamin (90 mg/kg, Ketazol®, İnterhas, Türkiye) anestezi maddeleri uygulanarak anestezi altına alındı. Anestezi altındaki tüm ratların karın ve göğüs boşlukları açılarak kardiyak ponksiyon ile alınan kan numuneleri antikoagülanlı (heparin) ve antikoagülanlı tüplere alındı.



**Şekil 3.2.** Anestezi altındaki ratın sabitlemesi, karın boşluğunun açılması, ötenazi işlemi ve numunelerin toplanması.

Serum örnekleri için antikoagülanlı tüplere alınan kan numuneleri oda sıcaklığında 45 dk inkübasyon sonrası, antikoagülanlı tüplere alınan kanlar ise bekletilmeden 3000 *rpm* 'de, 10 dk, 4 °C de santrifüj edilerek serum ve plazmalarına ayrıldı. Elde edilen serum ve plazma numuneleri eppendorf tüplere konuldu. Karaciğer dokuları %0,9'luk Sodyum Klorür (NaCl) ile yıkanarak kan artıklarından arındırıldı ve sargı bezi ile kurulandı, doku numuneleri küçük parçalara ayrılarak 2 mL'lik eppendorf tüplere alındı. Serum, plazma ve doku örnekleri analizleri yapılncaya kadar derin dondurucuda (-80) muhafaza edildi.

### 3.1.6. Doku Numunelerinin Hazırlanması

Karaciğer numunesi; buz soğukluğunda %0,9 NaCl ile temizlendi, sargı bezinde hafifçe kurutuldu, tartıldı (~0.5 g), 15 mL'lik falkonlara alındı ve fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.4, Sigma, MFCD00131855, ABD) eklendi. Cam homojenizatör ile manuel olarak homojene edilen dokular sonrasında PBS solüsyonu ile bir buz kabı içerisinde 10 sn süre ile, 30 sn soğutmalı, 2 döngülü ve %90 güçte 5 tekrarlı sonike (Bandelin Sonopuls, ABD) edildi [131]. Sonikasyon işlemi sonrasında numuneler, +4°C de,

10.000 g' de, 15 dakika santrifüj edildi [132]. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar 3 ayrı eppendorf tüpüne alınarak analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-80) muhafaza edildi.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi**

Elde edilen serum numunelerinde AST ve ALT aktiviteleri ve üre, kreatinin, total protein, albümin, total kolesterol ve trigliserit düzeyleri ticari test kitleri (Gesana, İtalya) kullanılarak otoanalizör (Gesana, Chem 200, İtalya) cihazı ile belirlendi.

### **3.2.2. Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Belirlenmesi**

Plazma ve karaciğer doku süpernatında oksidatif stres biyobelirteçlerinden TOS ve TAS plazma TT, NT düzeyleri ticari test kitleri (Rel Assay Diagnostik, Türkiye) ile, plazma ve doku süpernatında MDA düzeyleri Buege ve Aust [133]'un yöntemiyle mikropate spektrofotometre (Thermo, Multiskan GO, Finlandiya) cihazında okutulularak belirlendi.

#### **3.2.2.1. Total Oksidan Durumun Belirlenmesi**

Metot, numune içerisinde bulunan oksidanların demirli iyon-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitlemesi prensibine dayanmaktadır. Asidik ortamda renkli kompleks oluşturan ferrik iyon ve kromojen aracılığı ile otomatik kolorimetrik yöntem kullanılarak ölçüm yapıldı [134]. Hidrojen peroksit ile kalibre edilen test 530 nm dalga boyunda okutuldu. Ölçümler test kitinin (Rel Assay®, RL0024, Türkiye) içerisinde çıkarılan prosedüre [135] uygun olarak yapıldı, birimi plazmada  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv/L, dokuda nmol/mg protein olarak verildi.

#### **3.2.2.2. Total Antioksidan Durumun Belirlenmesi**

Metodun prensibi, numune içerisindeki antioksidanlar ile renkli bir radikal olan 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)'in renksiz redükte bir forma redüksiyonuna dayanmaktadır [136]. Trolox (E vitamini analogu) ile kalibre edilen, standart ve örneklerin absorbansı 660 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Ölçümler test kitinin (Rel Assay®, RL0017, Türkiye) içerisinde çıkarılan prosedüre



[137] uygun olarak yapıldı, birimi plazmada mmol Trolox Equiv/L, dokuda  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein olarak verildi

### 3.2.2.3. Oksidatif Stres İndeksin Hesaplanması

Total oksidan kapasitenin, TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edilir. Hesaplama için, elde edilen TAS birimi mmol/L'ye çevrildi ve OSI değeri (OSI = TOS ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$ ) / TAS (mmol Trolox Eq/L) olarak hesaplandı [138].

### 3.2.2.4. Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi

Metodun prensibi, tiyobarbitürik asit (TBA) ile lipid peroksidasyon ürünü olan çoklu doymamış yağ asitleri içeren MDA'nın reaksiyon vererek 536 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi esasına dayanmaktadır. Plazma ve doku MDA düzeyinin belirlenmesinde Buege ve Aust [133] tarafından geliştirilen yöntem kullanılmış olup, aşağıda belirtilen adımlar sırasıyla uygulandı:

#### Ayırıcılar:

*Tiyobarbitürik asit (TBA, Merck, 1.08180.0025, Almanya) ayırıcı (0,375 m/V):*

Tiyobarbitürik asitten 0,1872 gr alındı, 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

*Triklorasetik asit (TCA, Merck, 1.00810.1000, Almanya) ayırıcı (%15 w/V):*

Triklorasetik asitten 4,5 gr alındı, distile su ile 30 mL'ye tamamlandı.

*Butylhydroxytoluol (BHT, Merck, 8.17074.1000, Almanya) ayırıcı:*

Butylhydroxytoluol'den 20 mg alındı, 1 mL'ye absolut etanol ile tamamlandı.

*Hidroklorik asit (%37) (HCl, Merck, 1.00317.2500, Almanya) ayırıcı (0,25 N):*

Hidroklorik asitten 5,18 mL alındı, 250 mL'ye distile su ile tamamlandı.

#### Yapılışı:

1. Tiyobarbitürik asit, TCA ve HCl ayırıcıları 1:1:1 oranında karıştırıldı (A karışımı).
2. Plazma ve doku süpernatantlarından 500'er  $\mu\text{l}$  alınarak karyotüplere konuldu, 10  $\mu\text{l}$  BHT üzerlerine eklenerek karıştırıldı ve 1000  $\mu\text{l}$  A karışımından ilave edilerek karyotüpler vortekslendi.
3. Tüpler 95 °C de su banyosunda 25 dakika inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonrasında tüpler soğutulduktan sonra 14.000 rpm, 5 dk, 4 °C de santrifüj edildi.
5. Üstte toplanan süpernatantları alınarak absorbansları 536 nm'de köre (A karışımı)

karşı mikropate spektrofotometre okuyucusu (Thermo, Multiskan GO, Finlandiya) ile belirlendi. Malondialdehit düzeyleri TBA-MDA bileşiminin absorbanans katsayısına ( $1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) göre hesaplanarak belirlendi.

### 3.2.2.5. Tiyol-Disülfid Dengesinin Belirlenmesi

Erel ve Neşelioğlu [70] tarafından geliştirilen metot kullanılmış ve sonuçlar kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Prensibi; disülfid bağları sodyum borohidrit ( $\text{NaBH}_4$ ) ile redükte olarak serbest fonksiyonel tiyol grupları üretimini sağlar. Kullanılmayan indirgen  $\text{NaBH}_4$ , DTNB 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) ile indirgenmesini önlemek için formaldehit tarafından tüketilir ve elimine edilir. İndirgen ve NT dahil tüm tiyol grupları DTNB ile reaksiyona girerek ölçülür. Total tiyol ve NT düzeylerin arasındaki farkın ikiye bölünmesi DD düzeyini belirler. Ölçümler test kitlerinin (Total Tiyol, Rel Assay®, RL0192, Türkiye; Native Tiyol, Rel Assay®, RL0185, Türkiye) içerisinden çıkan prosedüre uygun olarak yapıldı, birimi  $\mu\text{mol/L}$  olarak verildi.

### 3.2.2.6. Doku Protein Tayini

Karaciğer dokularındaki protein konsantrasyonları, sığır serum albümini (BSA) kullanılarak, Lowry ve arkadaşları [139] tarafından geliştirilen yöntem ile tespit edildi, aşağıda bildirilen adımlar sırasıyla uygulandı.

#### Reaktiflerin Hazırlanması:

**Lowry A ayracı:** 100 mL olarak hazırlanan 0,1 N sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ) içerisinde çözdürülen, 2 gr sodyum bikarbonat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck, K30661723, Almanya) ile elde edildi.

**Lowry B ayracı:** 1 gram sodyum potasyum tartarat,  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  (Merck, A3024854, Almanya) ile 0,5 gr bakır sülfat,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Carlo Erba, 7768-888, Fransa) karıştırılarak 100 mL'lik distile suda çözdürüldü.

**Lowry C ayracı (çalışma reaktifi):** 50 birim A solüsyonu ile 1 birim B solüsyonunun karıştırılmasından elde edildi.

**Lowry D ayracı:** 1 birim distile suya 1 birim ticari olarak satın alınan Folin Ciocolta Fenol Ayracı (Merck, 1.09001, Almanya) kaşımı ile elde edildi.

**Standart (Bovine Serum Albumin):** 1 mL distile suda çözdürülen 1 mg BSA (Sigma, A2153, ABD), 5 farklı konsantrasyona denk gelecek şekilde seri dilüsyon

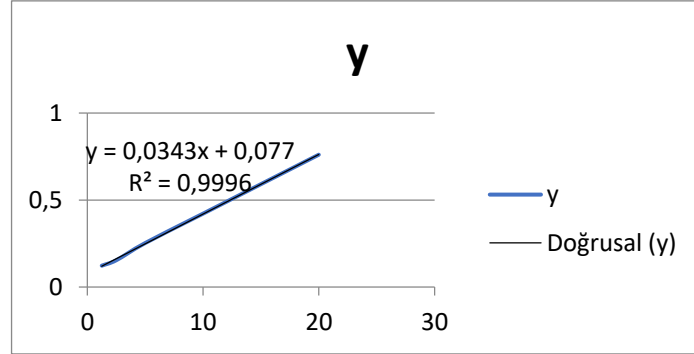
işlemine tabii tutuldu.

### **Dokuda Protein Ölçümü:**

Yapılan analiz çalışmalarında daha önce yıkanıp asitten geçirilip uygun şekilde kurutulan cam deney tüpleri kullanıldı.

- I. Hazırlanan standart tüplerine 10 µl standart çözelti, numune tüplerine 10 µl karaciğer doku homojenatlarından elde edilen süpernatant ve blank tüpüne ise 10 µl saf su pipetlendi.
- II. Tüplerin üzerine 2500 µl çalışma reaktifi eklendi.
- III. Hazırlanan tüpler vortekslendi (Velp Scientifico- ZX3, ABD) ve karanlık ortamda, laboratuvar sıcaklığında 10 dk inkübasyona bırakıldı.
- IV. İnkübasyon sonrası tüm tüplere 250 µl D reaktifinden eklendi ve vorteks ile karıştırıldı ve ardından oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 30 dk boyunca inkübe edildi.
- V. İnkübasyon sonrası örnekler mikropate spektrofotometre (Thermo, Multiskan GO, Finlandiya) cihazında 700 nm'de blank'a karşı okundu.

Numunelerin total protein konsantrasyonu standart kalibrasyonundan yararlanılarak hesaplandı (Şekil 3.3). Protein konsantrasyonu mg/mL olarak ifade edildi.

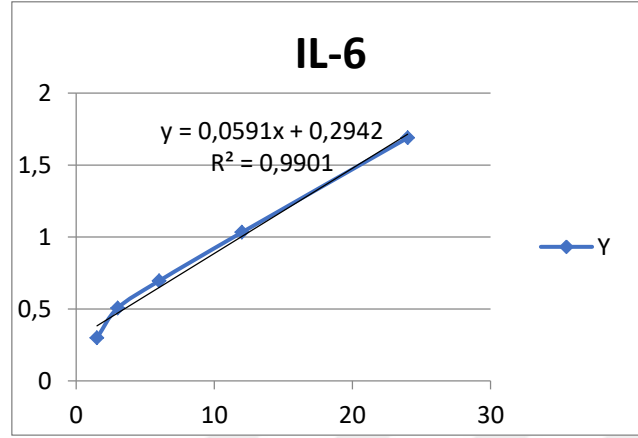


**Şekil 3.3.** Total Protein Standart Kalibrasyon Eğrisi

### **3.2.3. Plazma ve Doku İnterlökin-6 Konsantrasyonlarının Belirlenmesi**

Plazma ve karaciğer dokusunda IL-6 konsantrasyonları, Rat IL-6 spesifik antikorlar ile kaplı, sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (Rat Interleukin 6, E0135Ra, BT Lab, Çin) içerisinde tedarik ettiği protokole [140] uygun şekilde uygulandı. Test sonunda sonuçlar, 450 nm dalga boyunda okutuldu. Dikey (Y) ekseninde her standart için ortalama optik yoğunluğu (OD) çizerek standart bir eğri oluşturuldu ve yatay (X)

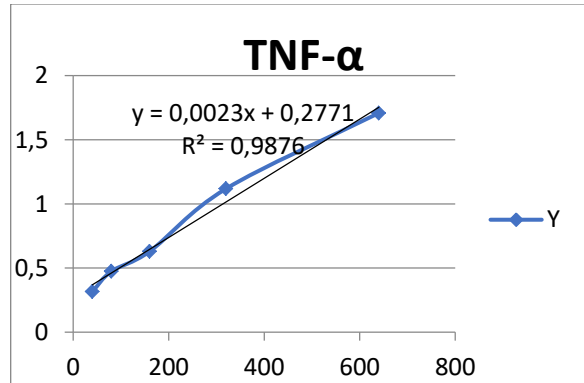
eksenindeki konsantrasyona karşı ve eksenindeki noktalardan en uygun bir eğri çizilerek değerler belirlendi. Ölçümler test kitinin içerisinde çıkan prosedüre uygun olarak yapıldı. Birimi plazmada pg/mL, dokuda pg/mg doku olarak verildi.



Şekil 3.4. İnterlökin-6 OD eğrisi

### 3.2.4. Plazma ve Doku Tümör Nekroz Faktörü- $\alpha$ Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Plazma ve karaciğer dokusunda TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ticari test kiti (BT Lab, E0764Ra, Çin) kullanılarak belirlendi. Rat TNF- $\alpha$  spesifik antikorlar ile kaplı, sandiviç ELISA prensibine dayanan ticari kit, içerisinde tedarik ettiği protokole [141] uygun şekilde uygulandı. Analiz sonunda sonuçlar, 450 nm dalga boyunda okutuldu. Dikey (Y) ekseninde her standart için ortalama optik yoğunluğu (OD) çizilerek standart bir eğri oluşturuldu ve yatay (X) eksenindeki konsantrasyona karşı ve eksenindeki uygun bir eğri çizilerek değerler belirlendi. Birimi plazmada pg/mL dokuda pg/mg doku olarak verildi.



Şekil 3.5. Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  OD eğrisi

### 3.2.5. İstatistiksel Analizler

Analizler sonrasında veriler SPSS 20.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Tüm veriler önemlilik testlerinden önce normallik yönünden parametrik test varsayımlarından Shapiro Wilk testi ile varyansların homojen dağılımları yönünden değerlendirildi. Parametrik dağıldığı belirlenen tüm verilerin gruplar arası farklılığın önem kontrolü ANOVA ile belirlendi. F değerine bakılarak anlamlı olduğu durumda Duncan's Multiple Range testi uygulandı. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi. Değerlendirmede elde edilen veriler  $P < 0,05$  düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Sunulan çalışmada kontrol grubu ve deneme gruplarına ait bazı serum biyokimyasal parametrelerinin düzeyleri Çizelge 4.1., plazma ve karaciğerde TOS, TAS, OSI ve MDA düzeyleri Çizelge 4.2., plazma TT, NT ve DD değerleri Çizelge 4.3. ve plazma ile karaciğerde IL-6 ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonları Çizelge 4.4.'de verildi.

### 4.1. Bazı Serum Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri

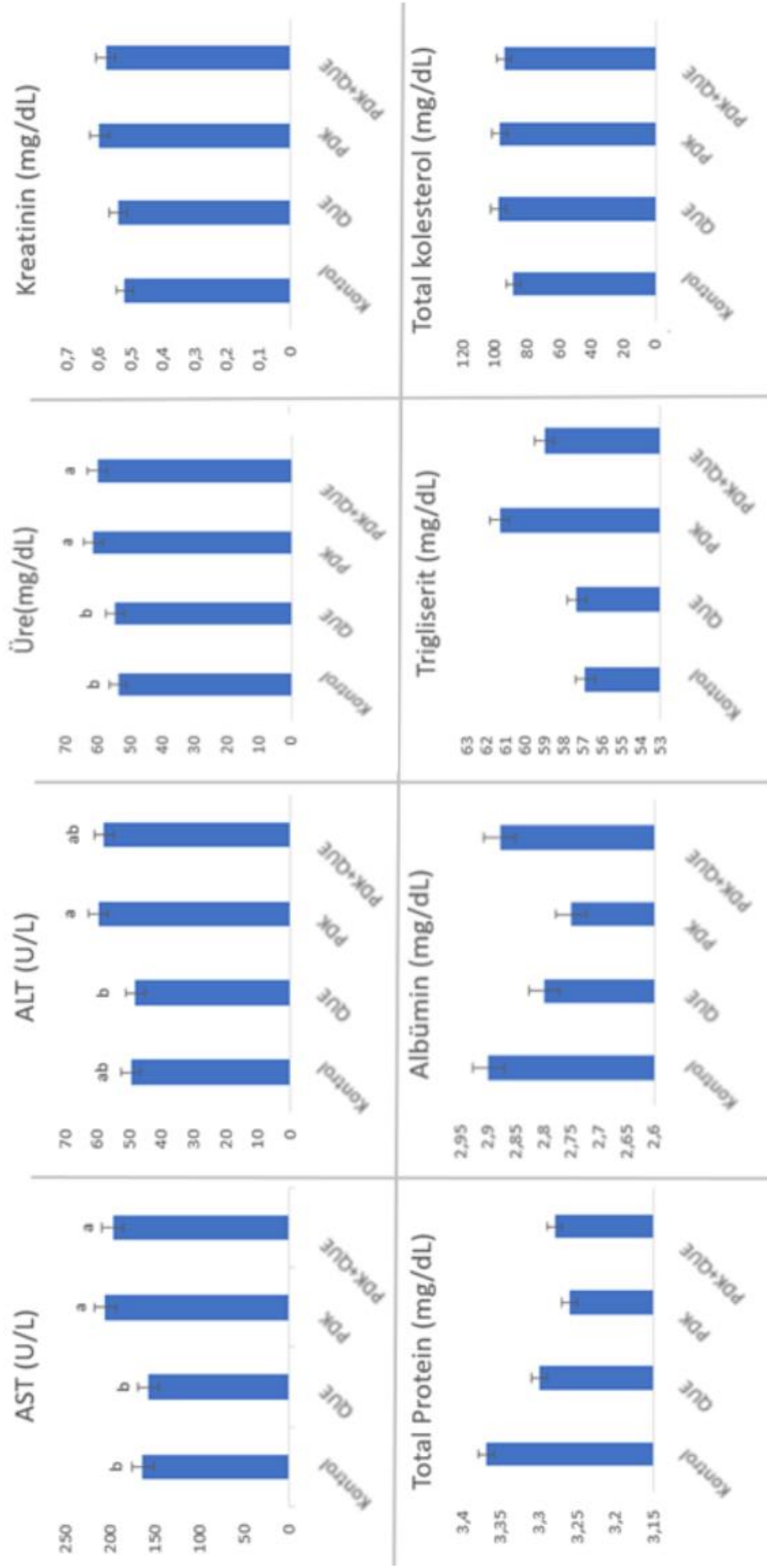
Serum AST aktivitelerinin PDK ve PDK+QUE verilen gruplarda kontrol ve QUE gruplarına göre yüksek olduğu saptandı ( $P<0,01$ ). Serum ALT aktiviteleri PDK grubunda QUE grubuna göre yüksek bulundu ( $P<0,05$ ). Serum üre ( $P<0,01$ ) ve kreatinin ( $P>0,05$ ) düzeylerinin PDK ve PDK+QUE verilen gruplarda kontrol ve QUE gruplarına göre yüksek olduğu tespit edildi. PDK verilen gruplarda kontrol ve QUE gruplarına göre serum total protein ve tüm deneme gruplarına göre albümin düzeylerinde sayısal olarak azalışlar, trigliserit düzeylerinde ise artışlar gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $P>0,05$ ). Serum total kolesterol düzeylerinde kontrol grubuna göre tüm deneme gruplarında sayısal artışlar olduğu saptandı ( $P>0,05$ ). Kuersetin uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerinde etkili olmadığı tespit edildi ( $P>0,05$ ). (Çizelge 4.1.)

**Çizelge 4.1.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda bazı serum biyokimyasal parametreler ( $\bar{x} \pm SH$ ) (n=9)

Parametreler	Kontrol	QUE	PDK	PDK+QUE	P
AST (U/L)	164,06±9,27 <sup>b</sup>	157,79±6,93 <sup>b</sup>	206,07±12,25 <sup>a</sup>	197,30±10,16 <sup>a</sup>	<0,01
ALT (U/L)	49,78±1,35 <sup>ab</sup>	48,33±1,22 <sup>b</sup>	59,89±1,87 <sup>a</sup>	58,11±6,25 <sup>ab</sup>	<0,05
Üre(mg/dL)	53,67±1,21 <sup>b</sup>	54,67±0,83 <sup>b</sup>	61,44±2,41 <sup>a</sup>	60,11±1,72 <sup>a</sup>	<0,01
Kreatinin (mg/dL)	0,52±0,02	0,54±0,03	0,60±0,03	0,58±0,04	>0,05
Total Protein (mg/dL)	3,37±0,05	3,30±0,05	3,26±0,04	3,28±0,04	>0,05
Albümin (mg/dL)	2,90±0,09	2,80±0,06	2,75±0,08	2,88±0,09	>0,05
Trigliserit (mg/dL)	56,89±3,11	57,33±2,05	61,33±2,67	59,00±5,10	>0,05
Total kolesterol (mg/dL)	88,80±9,46	98,10±2,78	97,48±3,02	94,63±8,94	>0,05

\*a,b : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P<0,05; P<0,01)

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz



\*Sütun üzerindeki farklı harf taşıyan değerler önemlidir (P<0,05; P<0,01).

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz.

**Şekil 4.1.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda bazı serum biyokimyasal parametreler.



## **4.2. Plazma ve Karaciğer Dokusunda Oksidan-Antioksidan Durum**

Plazma TOS ( $P<0,05$ ) ve OSI ( $P<0,001$ ) düzeylerinin kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda yüksek olduğu ve istatistiki olarak anlamlı düzeyde fark bulunduğu saptandı. Oksidatif stres indeksinin PDK + QUE grubunda PDK grubuna göre azaldığı ( $P<0,001$ ), TOS düzeylerinin ise değişmediği gözlemlendi. Potasyum dikromat verilen grupta plazma TAS düzeylerinde kontrol ve QUE gruplarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma olduğu tespit edildi ( $P<0,01$ ). Kuersetin'in PDK ile birlikte uygulanmasının TOS düzeylerini etkilemezken, PDK grubuna göre TAS düzeylerini sayısal olarak artırdığı, OSI ( $P<0,001$ ) değerlerini ise istatistiki olarak önemli düzeyde azalttığı saptandı.

Karaciğer dokusunda TOS ve OSI düzeylerinin PDK grubunda kontrol ve QUE gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği belirlendi ( $P<0,001$ ). Kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda TAS düzeylerinin azalırken ( $P\leq 0,001$ ) OSI değerlerinin ( $P<0,001$ ) arttığı, PDK grubuna QUE uygulamasının TOS düzeylerini etkilemezken, TAS düzeylerini artırdığı ve OSI değerlerini ise azalttığı tespit edildi ( $P<0,001$ ).

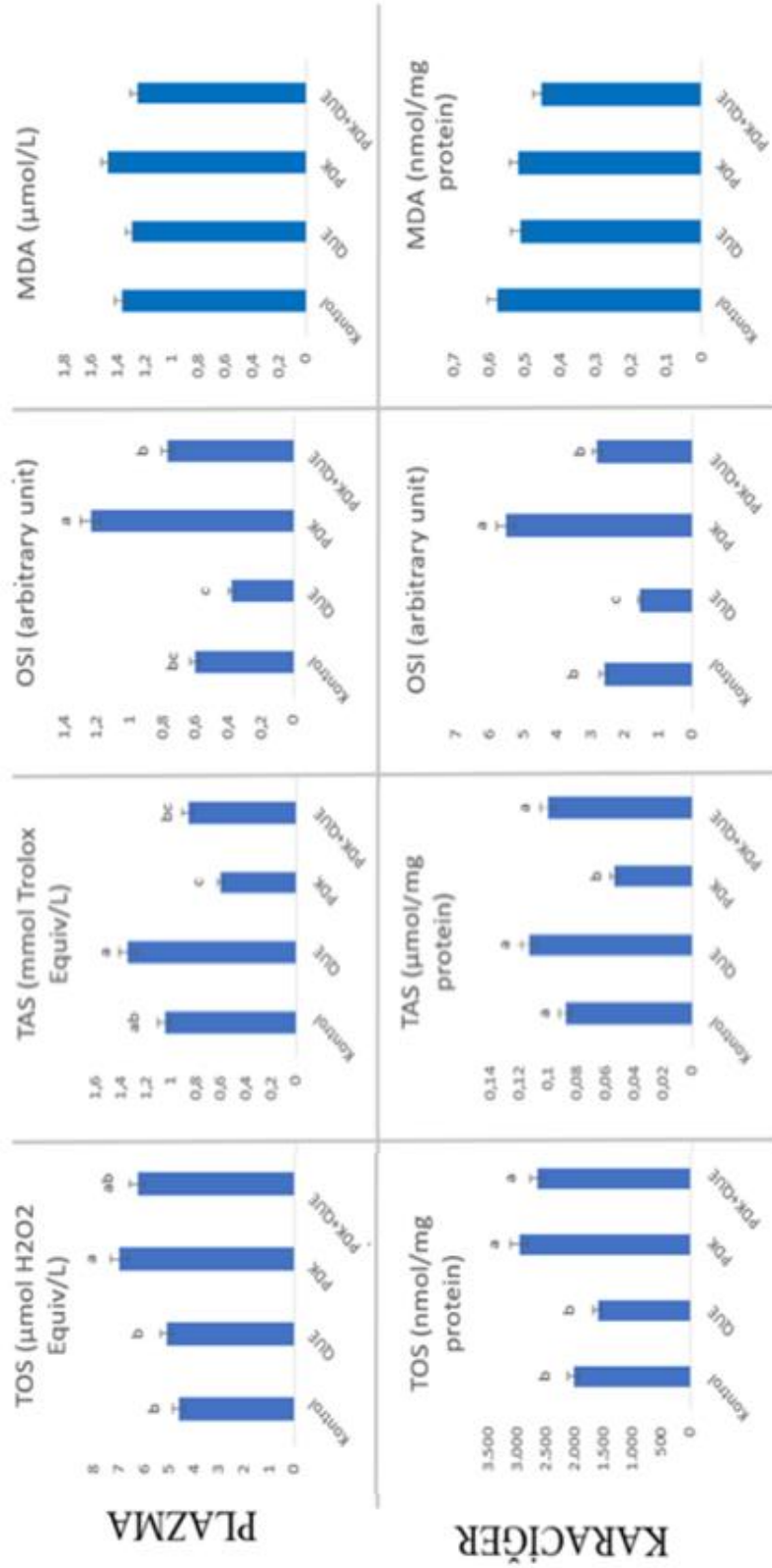
Plazma ve karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre QUE uygulanan gruplarda sayısal olarak azaldığı ( $P>0,05$ ), PDK uygulanan grupta ise sayısal olarak arttığı görüldü ( $P>0,05$ ). (Çizelge 4.2)

**Çizelge 4.2.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer TOS, TAS, OSI ve MDA düzeyleri ( $x \pm SH$ ) (n=9)

<b>PLAZMA</b>					
<b>Parametreler</b>	<b>Kontrol</b>	<b>QUE</b>	<b>PDK</b>	<b>PDK+QUE</b>	<b>P</b>
TOS ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L)	4,601 $\pm$ 0,256 <sup>b</sup>	5,093 $\pm$ 0,854 <sup>b</sup>	6,979 $\pm$ 0,409 <sup>a</sup>	6,251 $\pm$ 0,684 <sup>ab</sup>	<0,05
TAS (mmol Trolox Equiv/L)	1,05 $\pm$ 0,182 <sup>ab</sup>	1,342 $\pm$ 0,147 <sup>a</sup>	0,600 $\pm$ 0,051 <sup>c</sup>	0,862 $\pm$ 0,060 <sup>bc</sup>	<0,01
OSI (arbitrary unit)	0,600 $\pm$ 0,125 <sup>bc</sup>	0,378 $\pm$ 0,043 <sup>c</sup>	1,24 $\pm$ 0,138 <sup>a</sup>	0,770 $\pm$ 0,099 <sup>b</sup>	<0,001
MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )	1,372 $\pm$ 0,068	1,296 $\pm$ 0,035	1,477 $\pm$ 0,056	1,304 $\pm$ 0,042	>0,05
<b>KARACİĞER</b>					
<b>Parametreler</b>	<b>Kontrol</b>	<b>QUE</b>	<b>PDK</b>	<b>PDK+QUE</b>	<b>P</b>
TOS (nmol/mg protein)	2,032 $\pm$ 0,182 <sup>b</sup>	1,606 $\pm$ 0,090 <sup>b</sup>	2,973 $\pm$ 0,282 <sup>a</sup>	2,658 $\pm$ 0,247 <sup>a</sup>	<0,001
TAS ( $\mu\text{mol/mg}$ protein)	0,088 $\pm$ 0,012 <sup>a</sup>	0,113 $\pm$ 0,012 <sup>a</sup>	0,054 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup>	0,100 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	$\leq$ 0,001
OSI (arbitrary unit)	2,606 $\pm$ 0,379 <sup>b</sup>	1,536 $\pm$ 0,167 <sup>c</sup>	5,511 $\pm$ 0,456 <sup>a</sup>	2,814 $\pm$ 0,364 <sup>b</sup>	<0,001
MDA (nmol/mg protein)	0,506 $\pm$ 0,032	0,487 $\pm$ 0,034	0,535 $\pm$ 0,037	0,495 $\pm$ 0,043	>0,05

\*a,b,c : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P<0,05; P<0,001).

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, TAS: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan kapasite, OSI: Oksidatif stres indeksi ve MDA: Malondialdehit.



\*Sütun üzerindeki farklı harf taşıyan değerler önemlidir ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ;  $P < 0,001$ ).

\*\* QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, TAS: Potasyum dikromat, TOS: Total antioksidan kapasite, OSI: Total oksidan kapasite, OSI: Oksidatif stres indeksi ve MDA: Malondialdehit.

**Şekil 4.2.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer TOS, TAS, OSI ve MDA düzeyleri

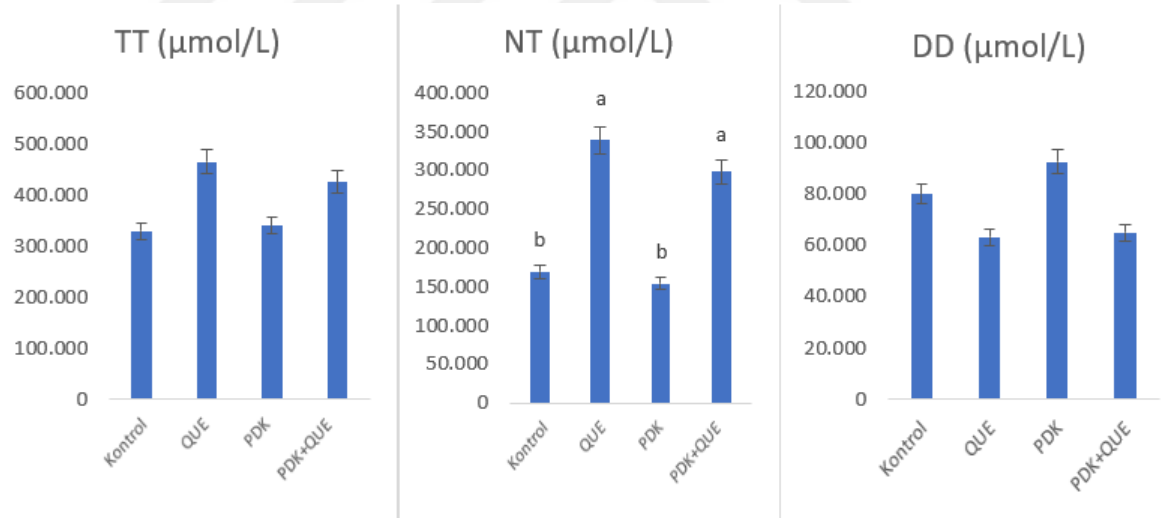
Kontrol ve PDK gruplarına göre QUE ve PDK+ QUE gruplarında plazma TT düzeylerinde sayısal artışlar, DD düzeylerinde ise sayısal azalışlar gözlenirken ( $P>0,05$ ), plazma NT düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ( $P<0,001$ ). Kuersetin'in PDK ile birlikte uygulanması PDK grubuna göre TT ve DD düzeylerini önemli düzeyde etkilemezken, NT düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı artırdığı saptandı ( $P<0,001$ ). (Çizelge 4.3)

**Çizelge 4.3.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma TT, NT ve DD düzeyleri ( $x \pm SH$ ) (n=8)

Parametreler	Kontrol	QUE	PDK	PDK+ QUE	P
TT ( $\mu\text{mol/L}$ )	329,177 $\pm$ 25,628	465,133 $\pm$ 40,434	340,344 $\pm$ 45,933	425,836 $\pm$ 51,546	$>0,05$
NT ( $\mu\text{mol/L}$ )	169,019 $\pm$ 18,969 <sup>b</sup>	338,764 $\pm$ 39,227 <sup>a</sup>	154,054 $\pm$ 7,646 <sup>b</sup>	297,921 $\pm$ 40,951 <sup>a</sup>	$<0,001$
DD ( $\mu\text{mol/L}$ )	80,044 $\pm$ 10,418	63,138 $\pm$ 5,522	92,430 $\pm$ 8,250	64,911 $\pm$ 8,740	$>0,05$

\* Tabloda aynı satırda farklı harf taşıyan (a,b) değerler arasındaki fark önemlidir ( $P<0,001$ ).

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, TT: Total tiyol, NT: Native tiyol, DD: Dinamik disülfid.



\* Sütun üzerindeki farklı harf taşıyan değerler önemlidir ( $P<0,001$ ).

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, TT: Total tiyol, NT: Native tiyol, DD: Dinamik disülfid.

**Şekil 4.3.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma TT, NT ve DD düzeyleri.

### 4.3. Plazma ve Karaciğer Dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ Konsantrasyonları

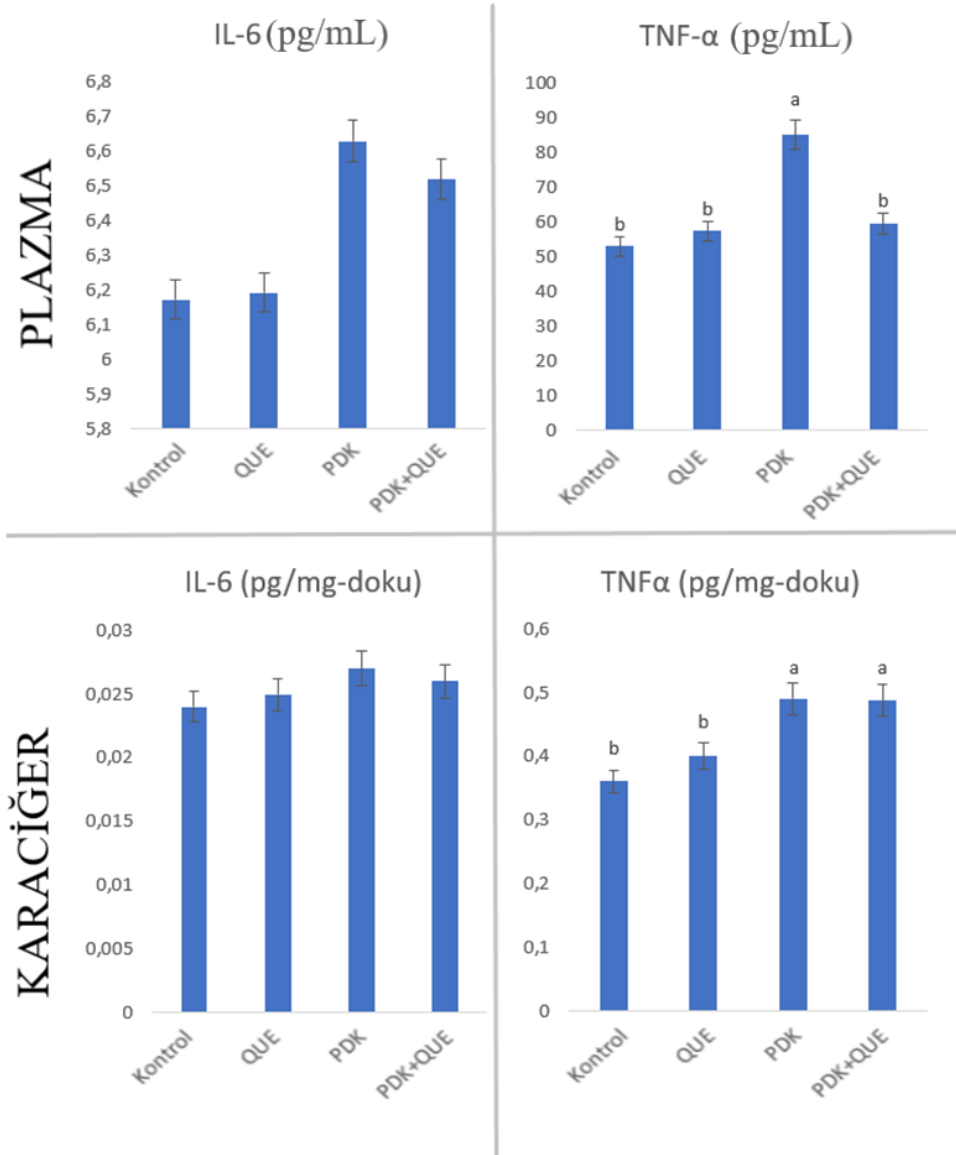
Plazma ve karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre deneme gruplarında QUE ve PDK uygulamaları IL-6 konsantrasyonlarını etkilemedi ( $P>0,05$ ). Potasyum dikromat verilen grupta diğer gruplara göre plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının istatistiksel olarak önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) yüksek olduğu, PDK grubuna QUE uygulamasının TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarını azalttığı tespit edildi. Karaciğer dokusunda IL-6 konsantrasyonlarının uygulamalardan etkilenmediği saptandı. Karaciğer dokusunda TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının kontrol ve QUE gruplarına göre PDK ve PDK+ QUE gruplarında istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi ( $P<0,01$ ). (Çizelge 4.4)

**Çizelge 4.4.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer IL-6 ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ( $x \pm SH$ ) (n=9)

PLAZMA					
Parametreler	Kontrol	QUE	PDK	PDK+QUE	P
IL-6 (pg/mL)	6,172 $\pm$ 0,385	6,191 $\pm$ 0,729	6,629 $\pm$ 0,857	6,518 $\pm$ 0,502	>0,05
TNF $\alpha$ (pg/mL)	52,877 $\pm$ 0,369 <sup>b</sup>	57,299 $\pm$ 9,75 <sup>b</sup>	84,988 $\pm$ 3,505 <sup>a</sup>	59,360 $\pm$ 5,120 <sup>b</sup>	<0,01
KARACİĞER					
Parametreler	Kontrol	QUE	PDK	PDK+QUE	P
IL-6 (pg/mg-doku)	0,024 $\pm$ 0,002	0,025 $\pm$ 0,001	0,027 $\pm$ 0,001	0,026 $\pm$ 0,000	>0,05
TNF- $\alpha$ (pg/mg-doku)	0,361 $\pm$ 0,015 <sup>b</sup>	0,401 $\pm$ 0,017 <sup>b</sup>	0,491 $\pm$ 0,017 <sup>a</sup>	0,488 $\pm$ 0,042 <sup>a</sup>	<0,01

\*a,b : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ( $P<0,01$ )

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, IL: İnterlökin, TNF: Tümör nekroz faktörü.



\*Sütun üzerindeki farklı harf taşıyan değerler önemlidir (P<0,01).

\*\*QUE: Kuersetin, PDK: Potasyum dikromat, IL: İnterlökin, TNF: Tümör nekroz faktörü.

**Şekil 4.4.** Potasyum dikromat ve kuersetin uygulanan ratlarda plazma ve karaciğer IL-6 ve TNF-α konsantrasyonları

## 5. TARTIŞMA

Zehirli ağır metaller arasında Cr(VI), memeli canlı sağlığını riske atması nedeniyle önemlilik arz eder. Birçok endüstriyel sistemde kullanım alanı olan Cr(VI)'nın kontaminasyon riski yüksektir [142]. İnsanların Cr(VI)'ya maruz kalması, genotoksitite, nefrotoksitite, karsinojenite ve hepatotoksitite gibi çeşitli olumsuzluklara neden olur [143-145]. Kromun ortamdaki değeri oksidasyon durumuna bağlıdır; Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi, oksidatif doku hasarına ve hücrel hasara yol açan reaktif ara maddelerin oluşumuyla sonuçlanır [146]. Kuersetin, çeşitli terapötik etkilere sahip olan ve flavonoid ailesinin diyetle alınan üyeleri arasında yer alan bir polifenolik flavonoid türevidir [18]. İyi bir metal iyonoforu olan QUE, antioksidan, antinflamatuar, antimikrobiyal, ve antitümör aktivite gösterir. Bu özellikler, QUE'yi oksidatif stresin neden olduğu birçok hastalığı ve vücuttaki proinflamatuar maddelerin salınmasını önlemek/tedavi etmek için önemli bir terapötik ajan yapar [20]. Yapılan literatür taramalarında ratlarda PDK ve QUE'nin ayrı ve birlikte kullanımının bazı serum biyokimyasal parametreler ile plazma ve karaciğer dokusunda oksidan/antioksidan durumu ve antiinflamatuar cevabı yansıtan parametreler üzerindeki etkileriyle ilgili araştırmalar sınırlıdır [10-12,49,126]. Bu nedenle bu çalışma PDK uygulanan ratlarda bazı biyokimyasal, oksidatif stres ve inflamatuar cevap parametreleri üzerine QUE'nin olası koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

### 1.1. Potasyum Dikromat ve Kuersetin'in Bazı Serum Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Kan, hastalıklara ve toksik maddelere maruz kalan hayvanların durumunun bir yansıtıcısı olarak işlev görür [147]. Kan parametrelerinde oluşan değişiklikler; metabolizma durumunu ve organların fonksiyonlarını göstermesi açısından hekimlere ve tüm araştırmacılara bilgiler vermektedir [148].

Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan AST enzimi hem

sitoplazmada hem de mitokondride bulunurken, ALT enzimi sitoplazmada bulunur. Aspartat aminotransferaz ve ALT gibi hepatik enzimlerin aktivitesindeki artışlar, hepatositlerin hücre zarının geçirgenliğindeki değişiklikler ya da hücre bütünlüğünün kaybolmasına bağlı olarak gerçekleşmektedir [149,150].

Akinwumi ve ark. [151] 12 mg/kg dozda 1 hafta boyunca PDK'ya maruz kalan ratlarda serum AST ve ALT aktiviteleri, kreatinin düzeylerinde önemli ölçüde artışlar olduğunu saptamışlardır. Ratlara 28 gün boyunca oral olarak verilen 30 mg/kg PDK'nın ALT ve AST aktivitelerini artırdığını ve bu artışın olası karaciğer fonksiyonlarının zayıflamasının göstergesi olabileceği bildirilmiştir [152]. Yine bu çalışmada silmarin ve *Picrorhiza kurroa* hidroalkolik ekstraktı uygulamasının PDK'nın artırdığı enzim aktivitelerini azalttığı gözlenmiştir.

Saha ve ark. [153] yaptıkları çalışmada erkek albino ratlara 90 gün boyunca oral olarak 0,25, 0,5 ve 1 mg/kg PDK vermişlerdir. Bu araştırmacılar 0,5 mg/kg PDK'nın ratlarda plazma ALT ve AST aktivitelerinde, glukoz ve total kolesterol seviyelerindeki artışla birlikte plazma protein ve albümin düzeylerinde bir azalma olduğunu, bu durumun ağır metallerin ratlar üzerindeki genel ve sistemik toksik etkisine işaret ettiğini belirtmişlerdir.

Krim ve ark. [12] 30 gün boyunca oral olarak 15 ve 25 mg/kg dozda PDK verilen ratlarda; serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinde, üre, kreatinin, total lipid, total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde artış olduğunu, bir flavanoid olan zencefil ilavesinin kromattan dolayı artan enzim aktivitelerinde ve lipid profilinde önemli bir azalışa neden olduğunu ve zencefil bileşenlerinin dokuları ve hücrelerin bütünlüğünü korumadaki önemli rolünü gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Soudani ve ark. [154] farelerde kromat intoksikasyonunda, plazma total kolesterol ve trigliserit düzeylerinin önemli olarak arttığını ve bu artışın olası kromatların neden olduğu oksidatif stres ile açıklanabileceğini vurgulamışlardır. Sunulan çalışmada Krim ve ark.'nın [12] bulgularına uyumlu olarak kontrol grubuna göre PDK grubunda serum AST ( $P<0,01$ ) ve ALT ( $P<0,05$ ) aktiviteleri ile üre ( $P<0,01$ ) düzeylerinde istatistiki olarak önemli düzeyde artışlar ve total kolesterol, trigliserit ve kreatinin ( $P>0,05$ ) düzeylerinde sayısal artışlar olduğu gözlenmiştir. Plazma veya serumdaki karaciğer enzimlerindeki (ALT ve AST) aktivitelerindeki artışın, karaciğer, böbrek ve kalpteki doku hasarından veya hücre zarının geçirgenliğindeki değişikliklerden ve



transaminazların sentezinin artması ya da yıkımının azalmasından [155] kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca karaciğer hücrelerinde hem mitokondriyal hem de sitoplazmik membranlarda hasarın olduğu infiltratif bozukluklarda, AST aktivitelerinde ALT'den orantılı olarak daha fazla artış olduğu bilinmektedir [156]. Böbrek dokusu, böbrek hasarı oluşturan toksik maddelerin etkilerine karşı duyarlıdır [157]. Üre karaciğerde bikarbonat ve amonyaktan sentezlenen, böbrekler yoluyla atılan suda çözünen bir moleküldür [158]. Üre böbrekler yoluyla atıldığından dolayı klinikte böbrek fonksiyon testi olarak kullanılmaktadır [159]. Kreatinin, kastaki kreatin fosfatın parçalanma ürünüdür ve genellikle kas kütesine bağlı olarak vücut tarafından sabit bir oranda üretilir [158,159]. Birçok çalışmada [126,160,161] Cr maruziyeti ve böbrek hasarı arasında güçlü bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir. Serum üre düzeylerinin böbrek hastalıklarında arttığı ve bunun yanı sıra renal perfüzyonun azalması ile birlikte dolaşımdaki kan hacminin de düştüğü ifade edilmiştir [158]. Sunulan çalışmada serum üre ve kreatinin düzeylerindeki artışın; ratlarda Cr'nin böbrek toksisitesine neden olması [126,161], renal filtrasyondan sorumlu yapılar olan glomerullerin işlev bozukluğuna [87] ve bu parametrelerin böbrekler vasıtası ile atılmasından dolayı [163] ileri gelebileceğini düşündürmektedir. Üredeki artış, üre üretimine müdahale eden arginaz enziminin yüksek sentezi nedeniyle proteinlerin katabolizmasındaki artışla da açıklanabilir [87].

Yine sunulan çalışmada Saha ve ark.'nın [153] bulgularına paralel olarak PDK verilen grupta kontrol grubuna göre serum total protein ve albümin düzeylerinde azalışlar gözlenmiş, ancak istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Albümin spesifik bir proteindir, albüminin azalması proteinlerdeki azalma ile ilişkilendirilebilir ve bu azalmanın hepatositlerdeki hasarı yansıttığı bilinmektedir [87].

Lipid, hücre zarlarını, çeşitli hormonları oluşturmak için kullanıldığı ve diğer hücresel işlevler için gerekli olduğu için sağlıklı bir vücudun önemli bir parçasıdır. Çeşitli lipid formları kanda çözünemez ve hücrelere ve hücrelerden düşük yoğunluklu ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler tarafından taşınmalıdır. Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C), kolesterolü arterlerden karaciğere geri taşıma eğilimindedir. Bu nedenle, yüksek serum kolesterol düzeyi karaciğer

fonksiyon bozukluğuna bağlı olabilir [164]. Younan ve ark. [165] 90 gün boyunca farklı dozlarda PDK (0,12, 0,24, 0,36 mg/kg) uygulanan ratlarda serum total kolesterol ve trigliserit düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir. Ratlara 7gn boyunca, 0,5 mg/100g dozda (i.p.) PDK uygulanan çalışmada [164]; serum total kolesterol ve trigliserit düzeylerinin PDK verilen grupta kontrole göre önemli düzeyde arttığını ve bu artışın olası kan damarlarında trigliseridi parçalayan lipoprotein lipazın hipoaktivitesinden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir. Aynı alışmada PDK grubuna sarımsak uygulamasının, trigliserit düzeyi dışında lipid profilinde tatmin edici bir gelişme göstermediği vurgulanmıştır. Sunulan çalışmada bazı araştırıcıların [12,160,164,165] bulgularına paralel olarak serum trigliserit düzeylerinde PDK verilen gruplarda kontrol ve QUE grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada sayısal artışlar grlmştir. Serum total kolesterol düzeylerinde kontrol grubuna göre tüm deneme gruplarında sayısal olarak olsa bile artmasının nedeni bu besinlerin doku seviyesinde daha az kullanılmasından [153] ya da krom intoksikasyonunda sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesinin azalmasına [164] bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Sunulan alışmada PDK uygulanan gruba QUE ilavesinin bazı serum biyokimyasal parametreleri (AST, ALT, kreatinin, üre, total protein, albümin, trigliserit, total kolesterol) düzeylerini etkilememiş olmasının; ratlara verilen OUE'nin formu ile dozundan ve QUE'nin verilme yolundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

## **1.2. Potasyum Dikromat ve Kuersetin'in Plazma ve Karaciğer Dokusunda Oksidan-Antioksidan Durum zerine Etkileri**

Krom(VI) maruziyeti, hüresel redoks durumunun, protein ve lipid oksidasyonunun bozulmasına ve ayrıca hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidanların aktivitelerinde azalmaya yol açarak oksidatif hasar oluşturur [166]. Oksidatif stres i organlarda hasara sebep olabilir ve başlıca katkısı karaciğer hasarını başlatmak ve ilerletmektir [167]. Karaciğer, ksenobiyotiklerin ve bunların metabolitlerinin metabolizması, detoksifikasyonu, depolanması ve atılımı için önemli bir organdır, çoğu toksik maddeyi daha az toksik ve suda daha fazla çözünür hale getiren ancak bazen biyoaktivasyona yol açabilen metabolize edici enzimler içerir ve oksidatif strese karşı hassastır [168,169].

Çeşitli çalışmalarda [88,146,152,170-172] ROS'un Cr(VI) ile indüklenen hücre hasarında rol aldığı öne sürülmüştür. Wang ve ark. [170] içme suyu ile 30, 100 ve 300 mg/L PDK'ya maruz kalan ratlarda plazma MDA düzeylerinde doza bağlı artma, GPx aktivitelerinde ise azalma olduğunu bildirmişlerdir. Shati [171], 8 hafta boyunca oral olarak 8 mg/kg PDK verilen ratlarda karaciğerde TBARS seviyelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek, GSH düzeylerinin ve SOD enzim aktivitelerinin ise düşük olduğunu bildirmiştir. Yapılan bir çalışmada [152] 28 gün boyunca 30 mg/kg dozda oral olarak PDK'ya maruz kalan ratlarda lipid peroksidasyonunun ve protein karbonil grubunun önemli seviyede arttığı, aynı zamanda SOD ve CAT enzim aktivitelerinin ise azaldığı bildirilmiştir. Patlolla ve ark [146] yaptıkları bir çalışmada, ratlara günde 2,5, 5, 7,5 ve 10 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında 5 gün i.p. olarak PDK uygulamışlar, Cr(VI) uygulamasının, karaciğer dokusunda SOD ve CAT aktivitelerinde doza bağlı bir artışla birlikte, 5 günlük maruziyetten sonra ROS seviyesinde önemli bir artışa neden olduğunu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin arttığını saptamışlardır. Sonuç olarak bu çalışmada karaciğerin antioksidan enzim aktivitelerini artırarak Cr'nin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma gösterdiği ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada lipid peroksidasyonunda gözlenen artışın, Cr tarafından katalize edilen bir Fenton/Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla OH•'nin oluşmasından kaynaklanabileceği, bu radikalin lipid peroksidasyonu arttıran çoklu doymamış yağ asitlerinin bir metilen grubundan bir hidrojen atomu ayırma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Kalayarasan ve ark. [173] ratlarda 17 mg/kg tek doz i.p. olarak uygulanan PDK'nın karaciğer dokusunda SOD, CAT ve GPx aktivitelerini azalttığını saptamışlardır. Sedik ve ark. [174] ratlarda 20 mg/kg dozda tek doz s.c. olarak PDK uygulamasının karaciğer dokusunda MDA düzeylerini artırdığını, GSH ve CAT aktivitelerini ise azalttığını tespit etmişlerdir. Gupta ve ark. [175] 0,5 g/100g dozda PDK'nın hepatik lipid peroksidasyonu artırdığını, GSH düzeylerini ise azalttığını bildirmişlerdir. Khalaf ve ark. [176] 60 gün boyunca 10 mg/kg (oral) PDK'ya maruz bıraktıkları ratlarda çalışma sonunda karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin arttığını, GSH düzeylerinin ise azaldığını ifade etmişlerdir.

Yukarıda bildirilen araştırmalara zıt olarak, Türkmen ve ark. [177] yaptıkları bir çalışmada ratlarda tek doz, i.p. 15 mg/kg dozda PDK'nın kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında serum ve karaciğer dokusunda MDA düzeylerinde anlamlı bir

değişiklik yapmadığını tespit etmişlerdir. García-Niño ve ark [172] ratlarda 15 mg/kg dozda tek doz i.p. PDK'nın plazma, böbrek, mide ve akciğerde MDA düzeylerinde kontrole göre sayısal olarak artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Türkmen ve ark. [177]'nin bulgularına uyumlu olarak PDK verilen grupta kontrol grubuna göre plazma ve karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin sayısal olarak arttığı, ancak anlamlı değişiklikler olmadığı görüldü ve bunun sebebinin kullanılan toksik metalin doz ve süresinin lipid peroksidasyonu için yetersiz olabileceğini düşündürmektedir.

Krom(VI) maruziyeti, hücre içi indirgenmesinde antioksidan moleküllerin tüketilmesinden, bu enzimlerin Cr(VI) indirgenmesi sırasında oluşan türlerle etkileşimi yoluyla antioksidan enzimlerin biyolojik etkilerinin bozulmasına kadar çeşitli düzeyde antioksidan sistemi etkileyebilir [178]. Kısa yarı ömürleri nedeniyle ROS'un doğrudan ölçülmesi zordur, bu nedenle; oksidatif stresin dolaylı belirteçlerini araştırmak ve belirlemek tercih edilir. Son yıllarda araştırmalarda vücuttaki total antioksidan ve oksidan durumun saptanmasında TAS ve TOS düzeyleri ile OSI değerleri kullanılmaktadır. Total antioksidan durum, tüm antioksidanların aktivitesini gösteren bir belirteçtir. Total oksidan durum, ROS'un göstergesi olan bir belirteçtir ve TOS'ın TAS'a oranı OSI'yi bildirir. Total antioksidan durum ve OSI, oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki redoks dengesini yansıtan anahtar faktörlerdir [179]. Potasyum dikromat toksisitesinde TAS ve TOS düzeylerini gösteren çalışmaya rastlanmadığı için, bir ağır metal olan Cd ve Pb toksisitelerinde plazma ve karaciğer dokusunda bu parametrelerde gözlenen değişikliklerden bahsedildi.

Ratlara 6 ay boyunca kadmiyum (5 mg Cd/L) uygulamasının serum TAS düzeylerini istatistiksel olarak etkilemezken, TOS düzeylerini ve OSI değerlerini anlamlı olarak artırdığı gözlenmiştir [180]. Andjelkovic ve ark. [181] Cd (30 mg/kg) ve Pb (150 mg/kg)'ye maruz kalan ratlarda kontrol grubuna göre plazma TOS düzeylerinin anlamlı olarak arttığını ve TAS düzeylerinin ise azaldığını, Cd grubunun yanı sıra Pb grubunun plazmasında kontrole kıyasla OSI değerlerinin önemli ölçüde yükseldiğini, 150 mg/kg Pb uygulanan gruplarda karaciğer dokusunda TAS düzeylerinin azaldığını, en yüksek OSI değerinin bu grupta olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada TAS ve TOS düzeylerinde gözlemlenen değişikliklerin nedeninin, antioksidan

sistemle toksik metal etkileşimi ve buna bağlı olarak artan serbest radikal yükünün olduğunu vurgulamışlardır. Mitra ve ark. [182] 14 gün boyunca 0,44 mg/kg dozda Cd uygulanan ratlarda, karaciğer dokusunda TOS düzeylerinin ve OSI değerlerinin istatistiksel olarak arttığını, TAS düzeyinin ise azaldığını tespit etmişlerdir. Oksidatif stres indeksi, TAS ve TOS durumlarından belirlenir, oksidan ve antioksidan arasındaki redoks dengesini yansıtır [134]. Aynı araştırmacılar karaciğer dokusunda OSI değerlerinin artmasının Cd'nin redoks dengeleme yeteneğini değiştirmesi ve dolayısıyla oksidatif stres oluşturmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada artan OSI'nin DNA da dahil olmak üzere hücrelerdeki biyomoleküllerle reaksiyona girerek DNA'da oksidatif hasara neden olan Cd'den dolayı artan hücre içi ROS üretimini gösterdiği vurgulanmıştır [182].

Sunulan çalışmada plazma ve karaciğer dokusunda TOS düzeylerinin ve OSI değerlerinin kontrol ve QUE gruplarına göre PDK uygulanan grupta yüksek olmasının; TOS değerinin ROS'un göstergesi olan bir belirteç olması, Cr'nin redoks dengesini değiştirmesi yani, hücre içinde Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi sırasında zararlı serbest radikallerin üretilmesinden ve dolayısıyla oksidatif stres oluşturmasından ileri gelebileceği [146] söylenebilir. Plazma ve karaciğer dokusunda kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda TAS düzeylerinin azalmasının; antioksidan enzimleri eksprese eden hücrelerin kaybına ve/veya ROS'un bu enzimler üzerindeki doğrudan inhibe edici etkilerinden [183] kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte Cr(VI) maruziyeti ile Cr(VI)'nın hücre içerisinde indirgenmesi sırasında antioksidan moleküllerin tüketilmesinden dolayı TAS düzeylerinin azalabileceği [178] söylenebilir.

Kimyasalların neden olduğu toksikasyonları engellemek amacıyla birçok doğal ürün kullanılmıştır [161]. Yapılan bir çalışmada [184] 42 gün boyunca 10 mg/kg dozda ratlara oral olarak uygulanan PDK'nın karaciğer dokusunda LPO düzeylerini artırdığı, GPx ve SOD aktivitelerini ise azalttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada Cr'nin neden olduğu hepatik hasarın, hücre içinde Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi sırasında zararlı serbest radikallerin üretilmesinden kaynaklanabileceği ortaya konulmuştur. Hidroksil radikalının, Cr'ye indirgeme ara maddeleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile birleştiğinde oluştuğu ve sonuçta proteinler, DNA ve zar lipidleri gibi biyomoleküllere zarar vererek hücre işleyişi ve hücre bütünlüğünü etkilediği

düşünülmektedir. Çoğu antioksidan enzim, ya ağır metallerin enzim aktif bölgesinin -SH grubuna doğrudan bağlanması ya da metal kofaktörlerinin aktif bölgeden yer değiştirmesi nedeniyle Cr(VI)'ya maruz kaldıktan sonra etkisiz hale gelmektedir [184]. Aynı çalışmada Cr uygulanmasıyla azalan karaciğer SOD ve GPx aktivitelerinin 500 mg/kg askorbik asit ve 500 mg/kg C.melo meyve ekstraktının ilavesi ile arttığı belirlenmiştir. Kroma maruz kalan hayvanlarda antioksidan enzim aktivitelerindeki düşüşün, bu enzimleri eksprese eden hücrelerin kaybına ve/veya ROS'un bu enzimler üzerindeki doğrudan inhibe edici etkilerine bağlı olabileceği ifade edilmiştir [183]. García-Niño ve ark [172], 15 mg/kg dozda tek doz i.p olarak PDK uygulanan ratlarda PDK'nın lipid peroksidasyonunu ve hepatik oksidatif hasarı yansıtan oksitlenmiş proteinleri arttırdığını, polifenolik bileşiklerden olan 400 mg/kg kurkuminin artan parametreleri kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını ifade etmişlerdir ve PDK kaynaklı karaciğer oksidatif hasarına karşı kurkuminin yararlı etkilerini, mitokondriyal disfonksiyonun önlenmesi ile ilişkilendirmişlerdir. El-Demerdash ve ark. [183] 2 mg/kg PDK'nın i.p olarak 3 hafta uygulanması ile ratlarda, karaciğer homojenatında enzimatik olmayan antioksidan (GSH) içeriğinde ve enzimatik antioksidan (SOD, CAT, GPx) aktivitelerinde azalma ile birlikte protein karbonil, TBARS ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerinde önemli bir artış sergilediğini saptamışlardır. Aynı çalışmada ratlara 0,5 mL/kg dozda fenolik bileşikler içeren rosemary bitkisinin verilmesinin Cr uygulaması ile artan ve azalan parametrelerin kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını tespit etmişlerdir. Mandalina (*Citrus reticulata*) kabuğunun su ekstraktının, PDK hepatotoksitesine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada [10], 8 hafta boyunca oral olarak 15 mg/kg PDK verilen ratlarda serum MDA düzeylerinin arttığı ve TAS düzeylerinin ise azaldığı, karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin artarken GSH düzeylerinin ve SOD aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar mandalina kabuğu uygulamasının serum ve karaciğerde artan MDA düzeylerini azalttığını ve serum TAS düzeyleri ile karaciğer GSH düzeylerini ve SOD aktivitelerini ise artırdığını da ifade etmişlerdir. Aynı çalışmada mandalina kabuğu ekstraktındaki flavonoidler, fenolikler ve steroidler gibi biyoaktif bileşiklerin [185], hepatorenal fonksiyonun ve antioksidan savunma sisteminin düzeltilmesinde hayati bir rol oynayabileceği vurgulanmıştır [10]. Flavonoidlerin biyolojik sistemlerdeki koruyucu etkileri, oksidatif stresi ve LPO'yu inhibe etme etkinliklerine bağlanır [186].

Becerra-Torres ve ark. [126] yaptıkları çalışmada QUE'nin tedavi edici ve toksisiteyi önleyici etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla yaptıkları çalışmada ratlara 5 gün boyunca 15 mg/kg dozda (i.p) PDK maruziyeti sonrası tek doz 5. gün 50 mg/kg dozda QUE uygulaması yapmışlardır (tedavi edici etkisi). Aynı çalışmada hayvanlara 5 gün boyunca 50 mg/kg dozda QUE uygulayıp 5. günde tek doz 15 mg/kg dozda (i.p) PDK vermişlerdir (önleyici etkisi). Bu çalışmada kontrol grubuna göre PDK verilen grupta kan MDA düzeyinin daha yüksek olduğu, tedavi amaçlı QUE uygulanan gruptaki MDA düzeylerinin önleme amaçlı QUE uygulanan gruptakinden daha yüksek olduğunu ve önlem amaçlı alınan QUE'nin peroksidasyona karşı koruyuculuğunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir [126].

Kuersetin, çeşitli terapötik etkilere sahip olan ve flavonoid ailesinin diyetle alınan üyeleri arasında yer alan bir polifenolik flavonoid türevidir [187]. Sunulan çalışma Bashandy ve ark.'nın [10] bulgularına uyumlu olarak PDK grubuna flavanoid ailesinden olan QUE ilavesinin, plazma ve karaciğer dokusunda PDK grubunda artan OSI değerlerini azalttığı ve azalan TAS düzeylerini ise artırdığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçların QUE'nin metal iyonlarını şelatlayarak, oksijen radikallerini temizleyerek, oksidatif hasar ve hücre ölümlerinin önlenmesi ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksitlenebilirliğini ve sitotoksik etkilerini azaltması yönünde antioksidan etki göstermesinden ileri gelebileceği [11,188,189] söylenebilir.

Oksidatif stresin biyobelirteçleri, hastalık durumunun ve antioksidanların iyileştirici etkilerinin değerlendirilmesinde önemlidir ve günümüzde oksidatif stres biyobelirteçlerinin kullanılması için birçok yöntem mevcuttur [190]. Araştırmacılar tarafından TDH, son zamanlarda oksidatif stresin yeni bir belirteci olarak ilgi görmektedir [71,72,201]. Tiyol seviyelerinin ölçümü son zamanlarda Erel ve Neşelioğlu [70] tarafından geliştirilmiş olan yeni otomatik metot ile yapılmaktadır. Geliştirilen bu metotta, disülfid seviyeleri ile birlikte native tiyol seviyeleri de belirlenip, disülfid ve native tiyol seviyelerinin toplamı total tiyol olarak literatüre kazandırılmıştır [71]. Tiyollerin disüfidlere indirgenmesi oksidatif stresin dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilir [191].

Tiyol-disülfid hemoastazı, çeşitli biyokimyasal süreçlerle ilişkili önemli bir parametredir [71]. Geliştirilen yeni bir metot olmasından dolayı bu alanda yapılan çalışmalar kısıtlı olmak beraber, TDH bozukluklarının, kanser [72,192,193]

burucellosis [194], migren [195], parkinson [196], sarılık [197], endometris [198], diyabet [199], hepatit C [200] gibi çeşitli hastalıkların patogenizindeki rolü incelenmiş, fakat kromat ya da herhangi bir başka ağır metal toksikasyonuna karşı QUE'nin TDH etkisi üzerine çalışmaları sınırlıdır [100].

Auwal ve ark. [201] subkronik toksisitesi çalışmasında ratlara 60 ve 90 gün boyunca tiyametoksama karşı 50 mg/kg dozda oral olarak verilen QUE'nin etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmacılar karaciğer dokusunda tiyametoksaminin artırdığı MDA ve protein karbonil düzeylerini QUE'nin azalttığını, yine tiyametoksaminin sebep olduğu SOD aktiviteleri ve TT seviyelerindeki düşüşe karşı QUE kullanımının bu parametreleri artırdığını ve açığa çıkan oksidatif strese karşı QUE'nin iyileştirici etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Al Zharani ve ark. [100] 8 hafta boyunca 80 mg/kg Pb verilen ratlarda antioksidan belirteçlerden olan serum TT, GSH düzeylerinin ve CAT aktivitelerinin azaldığını, 350 mg/kg dozda QUE'nin azalan bu parametrelerin düzeylerini artırdığını ortaya koymuşlardır. Total tiyoller (-SH grubu), hücre dışı ve hücre içi RNS/ROS'un detoksifikasyonunda önemli bir rol oynar ve bu nedenle hücrel antioksidan savunmanın vazgeçilmez bir bileşenidir. [202].

Tiyol disülfid homeostazisi oksidan ve antioksidanlardan meydana gelen bir denge durumudur. Bu dengenin antioksidan kısmını NT düzeyi, oksidan tarafını ise DD düzeyi yansıtmaktadır. Sunulan çalışmada kontrol grubuna göre PDK grubunda DD düzeyinde istatistiki olarak önemli düzeyde bir fark çıkmaması, muhtemelen krom kaynaklı serbest radikallerin tiyol içeren proteinlerde oksidatif değişiklikler oluşturarak hepatosit hasarına veya işlev bozukluğuna neden olmadığını düşündürmektedir. Plazma NT düzeylerinin kontrol grubuna göre QUE grubunda ve PDK grubuna göre QUE+ PDK grubunda artmasının nedeni; bir polifenol bileşiği olan QUE'nin antioksidan özelliğe sahip olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

### **1.3. Plazma ve Karaciğer Dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi**

Karaciğer, redoks döngüsünde ve oksidatif enzimlerin oluşumunda yer alan birincil organdır [203]. Oksidanlar ve antiinflamatuvar moleküller hayvanların ve insanların



diyetinin bir parçası olarak hücrenin etkili bir düzenleyicisidir [204]. Oksidatif stres ve inflamasyonun birbiri ile ilişkili olduğu söylenebilir [127]. İnflamatuvar süreç sırasında, oksidatif stres, endojen antioksidanların buna karşı kabiliyetini aşan bir oranda artar [205]. Hem oksidatif stres hem de sitokinlerin anormal üretimi hastalıkların patogeneğinde etiyolojik rol oynar [206]. Sitokinler arasında IL-6 proinflamatuvar mediatör olup, hücrenin hayatta kalması ve onarımı için önemliken; TNF- $\alpha$  birçok hastalıkta immun ve inflamatuvar cevapta önemli rol oynayan bir polipeptittir [127]. Toksik metaller oksidatif stres mekanizmaları yoluyla hepatositlerdeki inflamatuvar sitokinleri uyarır. Tümör nekroz faktörünün düşük konsantrasyonlarda akut faz tepkilerini aktive edebildiği, hepatosit proliferasyonunu indükleyebildiği ve karaciğerde koruyucu bir rol oynadığı bildirilmektedir [203]. Yapılan bir çalışmada [10], 2 ay boyunca 15 mg/kg dozda oral olarak PDK'ya maruz kalan ratlarda hepatik ve renal TNF- $\alpha$  seviyelerinde önemli artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Türkmen ve ark. [177] tek doz, i.p. 15 mg/kg dozda PDK'nın kontrol grubuna göre karaciğerde TNF- $\alpha$  ve serumda IL-6 konsantrasyonlarında anlamlı artışlar olduğunu, serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonunun ise değişmediğini tespit etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada [88], 7 gün boyunca oral olarak PDK'nın düşük (8,84 mg/kg) ve yüksek (17,68 mg/kg) dozlarda Cr(VI) maruziyeti sonrası kontrole göre TNF- $\alpha$  üretiminin belirgin bir şekilde arttığı saptanmıştır. Sunulan çalışmada Türkmen ve ark.'nın [177] bulgularına zıt olarak 15 mg/kg dozda oral olarak PDK'ya maruz kalan ratlarda kontrol grubuna göre plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonları istatistiksel olarak önemli düzeyde artarken IL-6 konsantrasyonları değişmemiştir. Karaciğer dokusunda ise Bashandy ve ark. [10] ile Türkmen ve ark. [177]'nin bulgularına uyumlu olarak PDK uygulaması ile TNF- $\alpha$  konsantrasyonları artarken IL-6 konsantrasyonları değişmemiştir. İnflamasyon sırasında pek çok sitokin üretilir ve karaciğerde birikir [10]; bunların arasında TNF- $\alpha$ 'nın renal toksisite [166] ve hepatik hasar [207] için kritik bir aracı olduğu ima edilmiştir. Sunulan çalışmada TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarındaki yükselmenin, endotel hücrelerin TNF- $\alpha$ 'ya bağlı aktivasyonu ile ilişkili artan ROS üretimi ile ilişkili olabileceğini [208] düşündürmektedir. Kimyasalların neden olduğu toksisiteyi önlemek ve korumak için birçok doğal ürün kullanılmaktadır [161]. Fakat kromat maruziyetine karşı QUE'nin inflamatuvar cevap üzerine etkisinin incelendiği bir literatür çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle elde ettiğimiz bu sonucun kıyaslaması başka ağır metaller üzerine QUE'nin etkisi ile karşılaştırılmıştır.

Abdelazeim ve ark. [208], 2 hafta boyunca günlük 100 mg/kg dozda bakır oksit nano partikülleri (CuO-Nps)'ne maruz kalan ratlarda 150 µg/kg dozda i.p. olarak uygulanan QUE'nin etkisini incelemişler ve QUE'nin, CuO-Nps kaynaklı plazmada artan TFN-α konsantrasyonları üzerinde etkisini azalttığını ve bu azalışın QUE'nin lipopolisakkarit ile uyarılan kupffer hücrelerinde TFN-α üretimine karşı güçlü bir inhibitör aktiviteye sahip olmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir [208,209]. Alshammari ve ark [210], 20 hafta boyunca içme sularında 10 mg/L CdCl<sub>2</sub>'ye maruz kalan ratlarda 50 mg/kg dozda oral olarak verilen QUE'nin sitokinler üzerine etkisini araştırmışlar, CdCl<sub>2</sub>'nin sebep olduğu karaciğerde sitokin seviyeleri ve inflamatuvar artışa karşın QUE uygulamasının bu parametrelerin düzeylerini azalttığını saptamışlardır. Bahar ve ark. [211] 8 gün boyunca 15 mg/kg dozda MnCl<sub>2</sub> (i.p) uygulanan ratlarda 25 ve 50 mg/kg (i.p) dozlarda verilen QUE'nin beyin dokusundaki antiinflamatuvar etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmacılar QUE'nin TNF-α ve IL-6 konsantrasyonlarını önemli derecede azalttığını ve inflamatuvar belirteçlerin seviyelerini normal düzeye getirdiğini tespit etmişlerdir, QUE uygulamasının TNF-α IL-1β, IL-6, COX gibi inflamatuvar belirteçlerin ekspresyonunu inhibe ederek Mn kaynaklı nöroinflamasyonda önemli bir azalmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Sunulan çalışmada karaciğer dokusunda Alshammari ve ark [210]'nın, plazmada Abdelazeim ve ark [208]'nin bulgularına paralel olarak karaciğer dokusu ve plazmada PDK verilen grupta diğer gruplara göre TNF-α konsantrasyonlarının yüksek olduğu, PDK grubuna QUE uygulamasının TNF-α konsantrasyonlarını azalttığı görülmüştür. Elde edilen bu bilgiler ışığında QUE'nin ağır metaller üzerinde antiinflamatuvar etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Kuersetin'in PDK toksisitesi üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu nedenle bu çalışma, PDK toksisitesinden dolayı oluşabilecek oksidatif stres ve inflamatuvar cevap üzerine QUE'nin olası koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

Sunulan çalışmada ratlarda PDK verilen gruplarda kontrol ve QUE gruplarına göre serum AST aktivitelerinin ve üre düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu görüldü. Karaciğer hücrelerinde hem mitokondriyal hem de sitoplazmik membranlarda hasarın olduğu infiltratif bozukluklarda, AST aktivitelerinde ALT'den orantılı olarak daha fazla artış olduğu bilinmektedir. Serum üre düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olması, olası PDK'nın hafif derecede böbrek hasarı oluşturabileceğini düşündürmektedir. Potasyum dikromatın diğer biyokimyasal parametreler (ALT, kreatinin, total protein, albümin, trigliserit, total kolesterol) üzerinde anlamlı düzeyde etkisinin olmamasının nedeni; olası PDK dozu ile uygulama yolu ve süresine bağlı olabileceği söylenebilir. Potasyum dikromat uygulanan gruba QUE ilavesinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin olmamasının, QUE'nin formu, veriliş yolu ve dozuna bağlı olabileceği düşünülmektedir. Potasyum dikromat ve QUE'nin karaciğer ve böbrek parametreleri üzerinde tam olarak etkisini görebilmek için PDK ve QUE'nin ratlarda farklı doz ve sürelerde ve farklı uygulama yolları ile fazla sayıda çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Mevcut çalışmada plazma ve karaciğer dokusunda kontrol ve QUE gruplarına göre PDK grubunda TOS ve OSI düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde, MDA düzeylerinde sayısal olarak artışların, TAS düzeylerinde anlamlı azalışlar görülmesi; Cr (VI)'nin indirgenmesi sırasında antioksidan moleküllerin tüketilmesinden dolayı oluşabilecek oksidatif stresin bir göstergesidir. Potasyum dikromat uygulaması ile istatistiksel olarak önemli düzeyde artan OSI (plazma ve karaciğer), azalan TAS (karaciğer) düzeyleri ile sayısal olarak artan TOS (plazma ve karaciğer) ve MDA (plazma ve karaciğer) düzeylerinin, QUE uygulaması ile kontrol grubuna yakın

düzelere gelmesinin; QUE'nin antioksidan aktivitesine bağı olabileceği söylenebilir.

Kontrol ve PDK gruplarına göre QUE ve PDK+QUE gruplarında plazma TT düzeylerinde sayısal artışlar, DD düzeylerinde ise sayısal azalışlar gözlenirken istatistiki olarak önemli bir fark olmaması, olası Cr kaynaklı serbest radikallerin tiyol içeren proteinlerde oksidatif değişiklikler oluşturmadığını göstermektedir. Plazma NT düzeylerinin kontrol grubuna göre QUE grubunda ve PDK grubuna göre PDK+QUE grubunda artmasının; bir polifenol bileşici olan QUE'nin antioksidan özelliğe sahip olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Potasyum dikromatın TDH dengesi üzerindeki etkisini araştıran alternatif çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sunulan çalışmada plazma ve karaciğer dokusunda PDK'nın IL-6 konsantrasyonlarında etki göstermeyip, TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarında artış göstermiş olmasının; olasılıkla uygulanan dozun ve sürenin TNF- $\alpha$  salınımını artırabilecek kadar inflamasyon şekillendirdiği fakat, IL-6 cevabı oluşturmakta yetersiz kalabileceğini düşündürmektedir. Sadece plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonunun PDK+QUE grubunda PDK'ya göre azalmış olması QUE'nin antiinflamatuvar etkisini kısmen sergilemiş olabileceği ile ilişkilendirilebilir. Potasyum dikromat toksisitesinde QUE'nin antiinflamatuvar etkisini net olarak görebilmek için PDK ve QUE'nin ratlarda farklı doz ve sürelerde ve farklı uygulama yolları ile fazla sayıda çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, elde edilen veriler ışında ratlara 15 mg/kg dozda oral olarak verilen PDK'nın oksidatif stres oluşturduğu ve kısmen inflamatuvar etkisinin olduğu, bir antioksidan olan QUE'nin süspansiyon halinde oral olarak 100 mg/kg dozda ilavesinin PDK'ya bağı oluşan oksidatif strese karşı etkili olduğu ancak antiinflamatuvar etkisinin kısmen olduğu görüldü. Bu çalışmanın sonuçlarının PDK toksikasyonuna karşı polifenolik bir bileşik olan QUE'nin bazı biyokimyasal parametreler, oksidatif stres ve inflamatuvar cevap üzerine etkilerini araştıran çalışmalara ışık tutabileceği, özellikle PDK ve QUE'nin kombine şekilde kullanımının PDK toksisitesi üzerine etkilerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için bu maddelerin farklı süre, doz, form ve uygulama şekli ile kullanılabileceği daha detaylı çalışmaların yapılmasının kanaatine varıldı.

## KAYNAKLAR

- [1] Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy Metals Toxicity and the Environment. *EXS*, 101, 133-164. [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)
- [2] López-Botella, A., Sánchez, R., Paul, R., Aizpurua, J., Gómez-Torres, M. J., & Todolí-Torró, J.-L. (2023). Analytical Determination of Heavy Metals in Human Seminal Plasma—A Systematic Review. *Life*, 13(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/life13040925>
- [3] Yiğit, A. A., & Kabakçı, R. (2018). Çevre kirleticilerden ağır metallerin hayvanlarda hematopoetik sistem üzerine etkileri. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 4(1), 9-15.
- [4] Alnashiri, H. M. (2022). A Brief Review on Heavy Metal Bioaccumulation Studies from Red Sea. *Adsorption Science & Technology*, 2022, e6201299. <https://doi.org/10.1155/2022/6201299>
- [5] Vardhan, K. H., Kumar, P. S., & Panda, R. C. (2019). A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 290, 111197. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111197>
- [6] Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.643972>
- [7] Jan, A. T., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., & Haq, Q. M. R. (2015). Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>
- [8] Sun, H., Chen, J., Xiong, D., & Long, M. (2023). Detoxification of Selenium Yeast on Mycotoxins and Heavy Metals: A Review. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-023-03576-5>
- [9] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. N., & Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*, 39(9), 949-961.
- [10] Bashandy, S. A., Salama, A., Fayed, A.-H. M., Omara, E. A., El-Toumy, S. A., & Salib, J. Y. (2020). Protective Effect of Mandarin (*Citrus Reticulata*) Peel Extract on Potassium Dichromate Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats.
- [11] Bu, T., Mi, Y., Zeng, W., & Zhang, C. (2011). Protective effect of quercetin on cadmium-induced oxidative toxicity on germ cells in male mice. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)*, 294(3), 520-526. <https://doi.org/10.1002/ar.21317>

- [12] Krim, M., Messaadia, A., Maldi, I., Aouacheri, O., & Saka, S. (2013). Protective effect of ginger against toxicity induced by chromate in rats. *Annales De Biologie Clinique*, 71(2), 165-173. <https://doi.org/10.1684/abc.2013.0806>
- [13] İriş, C. ve Çınar, M. (2019). Antioksidan vitaminler ve ağır metal toksisitesi üzerine etkileri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 10(3), 135-151.
- [14] Sarker, S., Akter, T., Parveen, S., Tushar Uddin, Md., Kanti Mondal, A., & Asaduzzaman Sujon, S. M. (2023). Microalgae-based green approach for effective chromium removal from tannery effluent: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 105085. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105085>
- [15] Stohs, S. J., Bagchi, D., Hassoun, E., & Bagchi, M. (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 19(3), 201-213.
- [16] KARAKAN, M., & NAZLIKUL, H. (2017). Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi*, 11(2), 7-11.
- [17] Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (2004). The Interaction of Flavonoids with Membranes: Potential Determinant of Flavonoid Antioxidant Effects. *Free Radical Research*, 38(12), 1311-1320. <https://doi.org/10.1080/10715760400016105>
- [18] Khan, F., Niaz, K., Maqbool, F., Ismail Hassan, F., Abdollahi, M., Nagulapalli Venkata, K. C., Nabavi, S. M., & Bishayee, A. (2016). Molecular Targets Underlying the Anticancer Effects of Quercetin: An Update. *Nutrients*, 8(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/nu8090529>
- [19] Wang, G., Wang, Y., Yao, L., Gu, W., Zhao, S., Shen, Z., Lin, Z., Liu, W., & Yan, T. (2022). Pharmacological Activity of Quercetin: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2022/3997190>
- [20] Imran, M., Thabet, H. K., Alaql, S. I., Alzahrani, A. R., Abida, A., Alshammari, M. K., Kamal, M., Diwan, A., Asdaq, S. M. B., & Alshehri, S. (2022). The Therapeutic and Prophylactic Potential of Quercetin against COVID-19: An Outlook on the Clinical Studies, Inventive Compositions, and Patent Literature. *Antioxidants*, 11(5), 876. <https://doi.org/10.3390/antiox11050876>
- [21] Guertin, J., Jacobs, J. A., Avakian, C. P., & Independent Environmental Technical Evaluation Group (Edt.). (2005). *Chromium (VI) handbook*. CRC Press.
- [22] Taşlıgil, N. ve Şahin, G. (2015). Ekonomik Coğrafya Açısından Türkiye’de Krom. *Eurasian Academy of Sciences Social Sciences Journal*, 4(1), 86-108.
- [23] ICDA. (2023). History of chrome and how much chrome is produced annually. *ICDA - International Chromium Development Association*. <https://www.icdacr.com/about-chrome/chromes-colourful-history/>

- [24] McDowell, L. R. (2003). Minerals in animal and human nutrition. *Minerals in Animal and Human Nutrition.*, Ed.2. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053041640>
- [25] Burrows, D. (Ed.). (2019). *Chromium: Metabolism and Toxicity.*, Ed.1. Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9780429261015>
- [26] Katre, S. (2020). Recent Advances in the Oxidation Reactions of Organic Compounds using Chromium (VI) Reagents. *RESEARCH JOURNAL OF CHEMISTRY AND ENVIRONMENT*, 24, 130-151.
- [27] Acar, B. Ç., ve Yüksekdağ, Z. (2023). Deri Endüstrisinde Krom Kullanımı ve Biyolojik Yöntemlerle Krom Giderimi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.47495/okufbed.1089874>
- [28] Khan, A., Khan, S., Khan, M. A., Qamar, Z., & Waqas, M. (2015). The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13772-13799. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4881-0>
- [29] ATSDR. (2012). *ATSDR Chromium ToxGuide*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-7.pdf>
- [30] Sun, H., & Costa, M. (2021). Chapter 8—Chromium. İçinde *Handbook on the Toxicology of Metals: Volume II: Specific Metals* (5. bs, ss. 197-220). Academic Press.
- [31] Rahman, Z., Thomas, L., Chetri, S. P. K., Bodhankar, S., Kumar, V., & Naidu, R. (2023). A comprehensive review on chromium (Cr) contamination and Cr(VI)-resistant extremophiles in diverse extreme environments. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26624-y>
- [32] ICDA. (2023). Market Insights: Chromium market overview and analysis. *ICDA - International Chromium Development Association*. <https://www.icdacr.com/market-insights/>
- [33] MTA. (2023). *MTA Genel Müdürlüğü*. <https://www.mta.gov.tr/v3.0/metalik-madenler/krom>
- [34] Pal, S., & Shil, K. (2018). Metabolic toxicity and alteration of cellular bioenergetics by hexavalent chromium. *Handbook of Environmental Materials Management*, 1-28.
- [35] Wexler, P. (2014). Chromium. İçinde *Encyclopedia of Toxicology* (3. bs, ss. 952-958). Academic Press.
- [36] Chatterjee, S. (2015). Chromium Toxicity and its Health Hazards. *International Journal of Advanced Research, Volume 3*, 167-172.
- [37] Hossini, H., Shafie, B., Niri, A. D., Nazari, M., Esfahlan, A. J., Ahmadpour, M., Nazmara, Z., Ahmadimanesh, M., Makhdoumi, P., Mirzaei, N., & Hoseinzadeh, E.

(2022). A comprehensive review on human health effects of chromium: Insights on induced toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(47), 70686-70705. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22705-6>

[38] DesMarais, T. L., & Costa, M. (2019). Mechanisms of Chromium-Induced Toxicity. *Current opinion in toxicology*, 14, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.05.003>

[39] Tao, Y. (2019, September). Progress in chromium research and related diseases. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2154, No. 1). AIP Publishing.

[40] Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2011). Chapter 31: Vitamins and Trace Elements. İçinde *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics—E-Book* (5. bs, ss. 944-947). Elsevier Health Sciences.

[41] Moukarzel, A. (2009). Chromium in Parenteral Nutrition: Too Little or Too Much? *Gastroenterology*, 137(5, Supplement), S18-S28. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.08.048>

[42] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A. M. (2013). Biyoelementler, *Biyokimya* (5. bs, s. 51). Nobel Tıp Kitapevleri.

[43] Maret, W. (2019). Chromium Supplementation in Human Health, Metabolic Syndrome, and Diabetes., *Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic* (C. 19, ss. 232-248). De Gruyter. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/9783110527872/html>

[44] Afzal, S., & Ocasio Quinones, G. A. (2023). Chromium Deficiency. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582150/>

[45] Iskra, R. Y., & Fedoruk, R. S. (2022). Chromium, its properties, transformation, and impact on humans. *Fiziologichnyi Zhurnal*, 68(4), 89-97. <https://doi.org/10.15407/fz68.04.089>

[46] Raj, M., Mathumitha, Sangeetha, George, S., & Ragumaran. (2021). A Review on the Effect of Heavy Metal Contamination and its Impact on the Environment. *International Journal of Zoological Investigations*, 7, 762-771. <https://doi.org/10.33745/ijzi.2021.v07i02.061>

[47] Andleeb, S. (2014). A comprehensive review on chromium: Toxicities and detoxification. *Punjab University Journal of Zoology*, 29, 41-62.

[48] Ben Hamida, F., Troudi, A., Sefi, M., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2016). The protective effect of propylthiouracil against hepatotoxicity induced by chromium in adult mice. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 235-245. <https://doi.org/10.1177/0748233713498446>

[49] Balakrishnan, R., Satish Kumar, C. S., Rani, M. U., Srikanth, M. K., Boobalan, G., & Reddy, A. G. (2013). An evaluation of the protective role of  $\alpha$ -tocopherol on free radical induced hepatotoxicity and nephrotoxicity due to chromium in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 45(5), 490-495. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.117778>



- [50] Chen, P., Zhu, Y., Wan, H., Wang, Y., Hao, P., Cheng, Z., Liu, Y., & Liu, J. (2017). Effects of the Oral Administration of K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> and Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> on Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, and Zn Contents in the Heart, Liver, Spleen, and Kidney of Chickens. *Biological Trace Element Research*, 180(2), 285-296. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0999-x>
- [51] Wang, Y., Wang, L., Wang, X., Cheng, G., Xing, Y., Zhang, M., Zhang, P., & Liu, J. (2022). Inflammatory Injury and Mitophagy in the Cock Heart Induced by the Oral Administration of Hexavalent Chromium. *Biological Trace Element Research*, 200(3), 1312-1320. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02715>
- [52] Zhu, Y., Chen, P., Wan, H., Wang, Y., Hao, P., Liu, Y., & Liu, J. (2018). Selenium–Chromium(VI) Interaction Regulates the Contents and Correlations of Trace Elements in Chicken Brain and Serum. *Biological Trace Element Research*, 181(1), 154-163. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1038-7>
- [53] Kumar, K. M., Aruldas, M. M., Banu, S. L., Sadasivam, B., Vengatesh, G., Ganesh, K. M., Navaneethabalakrishnan, S., Navin, A. K., Michael, F. M., Venkatachalam, S., Stanley, J. A., Ramachandran, I., Banu, S. K., & Akbarsha, M. A. (2017). Male reproductive toxicity of CrVI: In-utero exposure to CrVI at the critical window of testis differentiation represses the expression of Sertoli cell tight junction proteins and hormone receptors in adult F1 progeny rats. *Reproductive Toxicology*, 69, 84-98. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.02.007>
- [54] Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126.
- [55] Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- [56] Bentz, A. B. (2009). A Review of Quercetin: Chemistry, Antioxidant Properties, and Bioavailability. *Journal of Young Investigators*. <https://www.jyi.org/2009-april/2017/10/15/a-review-of-quercetin-chemistry-antioxidant-properties-and-bioavailability>
- [57] Anand David, A. V., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84-89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
- [58] Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.
- [59] Deepika, & Maurya, P. K. (2022). Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules*, 27(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/molecules27082498>
- [60] Bakonyi, T., & Radak, Z. (2004). High Altitude and Free Radicals. *Journal of Sports Science & Medicine*, 3(2), 64-69.
- [61] Ayala, A., Muñoz, M., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-

Nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>

[62] Mercan, U. (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), Article 1.

[63] Gianazza, E., Brioschi, M., Fernandez, A. M., & Banfi, C. (2019). Lipoxidation in cardiovascular diseases. *Redox Biology*, 23, 101119. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101119>

[64] Gürdöl, F. (2019). (Edt.) Hücrede Oksijen Kullanımı: Aktif Oksijen Türleri, Metabolik Etkileri ve Hücreyel Savunma—Bölüm 36. *Tıbbi Biyokimya* (4. bs, ss. 662-664). Nobel Tıp Kitapevleri.

[65] Eken, A. (2016). Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 69-73.

[66] Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş. ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumlarında Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp Fak Dergisi*, 26(3), 362-369.

[67] Dündar, Y. (2000). Aslan R. *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyon.

[68] Kireççi, O. A. (2018). Bitkilerde Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 473-483. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.463251>

[69] Kundi, H., Ateş, I., Kızıllıtuñ, E., Çetin, M., Çicekciođlu, H., Neşelioğlu, S., Erel, O., & Örneđ, E. (2015). A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; thiol/disulphide homeostasis. *The American Journal of Emergency Medicine*, 33(11), 1567-1571. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2015.06.016>

[70] Erel, O., & Neselioglu, S. (2014). A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochemistry*, 47(18), 326-332.

[71] Erel, O., & Erdoğan, S. (2020). Thiol-disulfide homeostasis: an integrated approach with biochemical and clinical aspects. *Turkish journal of medical sciences*, 50(10), 1728-1738.

[72] Solakhan, M., Çiçek, H., Orhan, N., & Yildirim, M. (2019). Role of native Thiol, total Thiol and dynamic Disulphide in diagnosis of patient with prostate cancer and prostatitis. *International braz j urol*, 45, 495-502.

[73] Giles, G. I., Tasker, K. M., & Jacob, C. (2002). Oxidation of biological thiols by highly reactive disulfide-S-oxides. *General Physiology and Biophysics*, 21(1), 65-72.

[74] Gul, A. Z., Atakul, N., Selek, S., Atamer, Y., Sarıkaya, U., Yıldız, T., & Demirel, M. (2022). Maternal serum levels of zinc, copper, and thiols in preeclampsia patients: a case-control study. *Biological Trace Element Research*, 200(2), 464-472.

- [75] Balcerczyk, A., & Bartosz, G. (2003). Thiols are Main Determinants of Total Antioxidant Capacity of Cellular Homogenates. *Free Radical Research*, 37(5), 537-541. <https://doi.org/10.1080/1071576031000083189>
- [76] Nagy, P. (2013). Kinetics and Mechanisms of Thiol–Disulfide Exchange Covering Direct Substitution and Thiol Oxidation-Mediated Pathways. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(13), 1623-1641. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4973>
- [77] Hu, G., Zheng, P., Feng, H., & Jia, G. (2017). Imbalance of Oxidative and Reductive Species Involved in Chromium(VI)-Induced Toxic Effects. *Reactive Oxygen Species*. <https://doi.org/10.20455/ros.2017.803>
- [78] Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T. (2004). Mechanisms of the inflammatory response. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 18(3), 385-405. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2003.12.002>
- [79] Tisoncik, J. R., Korth, M. J., Simmons, C. P., Farrar, J., Martin, T. R., & Katze, M. G. (2012). Into the Eye of the Cytokine Storm. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 16-32. <https://doi.org/10.1128/mnbr.05015-11>
- [80] Umare, V., Pradhan, V., Nadkar, M., Rajadhyaksha, A., Patwardhan, M., Ghosh, K. K., & Nadkarni, A. H. (2014). Effect of Proinflammatory Cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$ ) on Clinical Manifestations in Indian SLE Patients. *Mediators of Inflammation*, 2014, e385297. <https://doi.org/10.1155/2014/385297>
- [81] Naka, T., Nishimoto, N., & Kishimoto, T. (2002). The paradigm of IL-6: From basic science to medicine. *Arthritis Research & Therapy*, 4(3), S233. <https://doi.org/10.1186/ar565>
- [82] Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest*, 117(4), 1162-1172. <https://doi.org/10.1378/chest.117.4.1162>
- [83] Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2017). Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10, a028456. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028456>
- [84] Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255-2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>
- [85] Bonaventura, P., Lamboux, A., Albarède, F., & Miossec, P. (2018). Differential effects of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  on the control of metal metabolism and cadmium-induced cell death in chronic inflammation. *PLoS ONE*, 13(5), e0196285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196285>
- [86] Postal, M., & Appenzeller, S. (2011). The role of Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine*, 56(3), 537-543. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.08.026>
- [87] Mary Momo, C. M., Ferdinand, N., Omer Bebe, N. K., Alexane Marquise, M. N., Augustave, K., Bertin Narcisse, V., Herve, T., & Joseph, T. (2019). Oxidative Effects of Potassium Dichromate on Biochemical, Hematological Characteristics,

and Hormonal Levels in Rabbit Doe (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Sciences*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/vetsci6010030>

[88] Zhong, X., Zeng, M., Bian, H., Zhong, C., & Xiao, F. (2017). An evaluation of the protective role of vitamin C in reactive oxygen species-induced hepatotoxicity due to hexavalent chromium in vitro and in vivo. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 12(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12995-017-0161-x>

[89] Chang, H.-R., Tsao, D.-A., & Tseng, W.-C. (2011). Hexavalent chromium inhibited the expression of RKIP of heart in vivo and in vitro. *Toxicology in Vitro*, 25(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.06.012>

[90] Cao, X., Wang, S., Bi, R., Tian, S., Huo, Y., & Liu, J. (2019). Toxic effects of Cr(VI) on the bovine hemoglobin and human vascular endothelial cells: Molecular interaction and cell damage. *Chemosphere*, 222, 355-363. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.137>

[91] Lv, Y., Zhang, P., Guo, J., Zhu, Z., Li, X., Xu, D., & Zeng, W. (2018). Melatonin protects mouse spermatogonial stem cells against hexavalent chromium-induced apoptosis and epigenetic histone modification. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 340, 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.12.017>

[92] Banerjee, S., Joshi, N., Mukherjee, R., Singh, P. K., Baxi, D., & Ramachandran, A. V. (2017). Melatonin protects against chromium (VI) induced hepatic oxidative stress and toxicity: Duration dependent study with realistic dosage. *Interdisciplinary Toxicology*, 10(1), 20-29. <https://doi.org/10.1515/intox-2017-0003>

[93] Patlolla, A. K., Barnes, C., Hackett, D., & Tchounwou, P. B. (2009). Potassium Dichromate Induced Cytotoxicity, Genotoxicity and Oxidative Stress in Human Liver Carcinoma (HepG2) Cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(2), 643-653. <https://doi.org/10.3390/ijerph6020643>

[94] Boşgelmez, İ. İ. & Güvendik, G. (2017). N-Acetyl-L-Cysteine Protects Liver and Kidney Against Chromium(VI)-Induced Oxidative Stress in Mice. *Biological Trace Element Research*, 178(1), 44-53. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0901-2>

[95] Barhoma, R. A. E. (2018). The role of eugenol in the prevention of chromium-induced acute kidney injury in male albino rats. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 711-715. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2018.05.006>

[96] Lou, J., Jin, L., Wu, N., Tan, Y., Song, Y., Gao, M., Liu, K., Zhang, X., & He, J. (2013). DNA damage and oxidative stress in human B lymphoblastoid cells after combined exposure to hexavalent chromium and nickel compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 533-540. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.053>

[97] Karaulov, A. V., Renieri, E. A., Smolyagin, A. I., Mikhaylova, I. V., Stadnikov, A. A., Begun, D. N., Tsarouhas, K., Buha Djordjevic, A., Hartung, T., & Tsatsakis, A. (2019). Long-term effects of chromium on morphological and immunological parameters of Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110748. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110748>

- [98] Banu, S. K., Stanley, J. A., Sivakumar, K. K., Arosh, J. A., & Burghardt, R. C. (2016). Resveratrol protects the ovary against chromium-toxicity by enhancing endogenous antioxidant enzymes and inhibiting metabolic clearance of estradiol. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 303, 65-78. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.04.016>
- [99] Aruldas, M. M., Subramanian, S., Sekar, P., Vengatesh, G., Chandrahasan, G., Govindarajulu, P., & Akbarsha, M. A. (2005). Chronic chromium exposure-induced changes in testicular histoarchitecture are associated with oxidative stress: Study in a non-human primate (*Macaca radiata* Geoffroy). *Human Reproduction*, 20(10), 2801-2813. <https://doi.org/10.1093/humrep/dei148>
- [100] Al-Zharani, M., Mubarak, M., Rudayni, H. A., Al-Doaiss, A. A., Abd-Elwahab, M. M., & Al-Eissa, M. S. (2023). Quercetin as a Dietary Supplementary Flavonoid Alleviates the Oxidative Stress Induced by Lead Toxicity in Male Wistar Rats. *Nutrients*, 15(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/nu15081888>
- [101] Hossain, M., Abdal Dayem, A., Han, J., Yingfu, Y., Kim, K., Saha, S., Yang, G.-M., Choi, H., & Cho, S.-G. (2016). Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 569. <https://doi.org/10.3390/ijms17040569>
- [102] Lakhanpal, P. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2. <https://doi.org/10.4314/ijmu.v2i2.39851>
- [103] Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H., & Yin, Y. (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- [104] Lawson, M. K. (2023). Improvement of Therapeutic Value of Quercetin with Chitosan Nanoparticle Delivery Systems and Potential Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3293. <https://doi.org/10.3390/ijms24043293>
- [105] Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*, 20. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1354017>
- [106] Nguyen, T. L. A., & Bhattacharya, D. (2022). Antimicrobial Activity of Quercetin: An Approach to Its Mechanistic Principle. *Molecules*, 27(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/molecules27082494>
- [107] Larson, A. J., Symons, J. D., & Jalili, T. (2012). Therapeutic Potential of Quercetin to Decrease Blood Pressure: Review of Efficacy and Mechanisms. *Advances in Nutrition*, 3(1), 39-46. <https://doi.org/10.3945/an.111.001271>
- [108] Abdelnour, S. A., Sindi, R. A., Abd El-Hack, M. E., Khalifa, N. E., Khafaga, A. F., Noreldin, A. E., Samir, H., Tufarelli, V., Losacco, C., Gamal, M., Imam, M. S., & Swelum, A. A. (2023). Quercetin: Putative effects on the function of cryopreserved sperms in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(2), 191-206. <https://doi.org/10.1111/rda.14291>

- [109] Colunga Biancatelli, R. M. L., Berrill, M., Catravas, J. D., & Marik, P. E. (2020). Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, *11*, 1451. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01451>
- [110] Michala, A.-S., & Pritsa, A. (2022). Quercetin: A Molecule of Great Biochemical and Clinical Value and Its Beneficial Effect on Diabetes and Cancer. *Diseases*, *10*(3), 37. <https://doi.org/10.3390/diseases10030037>
- [111] Kasprzak, M. M., Erxleben, A., & Ochocki, J. (2015). Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC Advances*, *5*(57), 45853-45877. <https://doi.org/10.1039/C5RA05069C>
- [112] Xu, D., Hu, M.-J., Wang, Y.-Q., & Cui, Y.-L. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*, *24*(6), 1123. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
- [113] Maurya, P. K., Kumar, P., Nagotu, S., Chand, S., & Chandra, P. (2016). Multi-target detection of oxidative stress biomarkers in quercetin and myricetin treated human red blood cells. *RSC Advances*, *6*(58), 53195-53202. <https://doi.org/10.1039/C6RA05121A>
- [114] Salehi, B., Machin, L., Monzote, L., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Salem, M. A., Merghany, R. M., El Mahdy, N. M., Kılıç, C. S., Sytar, O., Sharifi-Rad, M., Sharopov, F., Martins, N., Martorell, M., & Cho, W. C. (2020). Therapeutic Potential of Quercetin: New Insights and Perspectives for Human Health. *ACS Omega*, *5*(20), 11849-11872. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01818>
- [115] Hemmati, M., Mostafavi, S. E., Zarban, A., & Hoshyar, R. (2018). Protective Effects of Quercetin on Hyperglycemia and Stress Proteins Expression in Rats with Streptozocin-Induced Diabetes. *Modern Care Journal*, *15*(2), Article 2. <https://doi.org/10.5812/modernc.64964>
- [116] Bahattab, O., & Shaikhomar, O. (2021). *Physiological Effect of Quercetin as a Natural Flavonoid to be used as Hypoglycemic Agent in Diabetes Mellitus Type II Rats*. *6*, 10-17.
- [117] Abdelmoaty, M. A., Ibrahim, M. A., Ahmed, N. S., & Abdelaziz, M. A. (2010). Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *25*(2), 188-192. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0034-x>
- [118] Karuppagounder, V., Arumugam, S., Thandavarayan, R. A., Pitchaimani, V., Sreedhar, R., Afrin, R., Harima, M., Suzuki, H., Nomoto, M., Miyashita, S., Suzuki, K., Nakamura, M., & Watanabe, K. (2015). Modulation of HMGB1 translocation and RAGE/NFκB cascade by quercetin treatment mitigates atopic dermatitis in NC/Nga transgenic mice. *Experimental Dermatology*, *24*(6), 418-423. <https://doi.org/10.1111/exd.12685>
- [119] Mamani-Matsuda, M., Kauss, T., Al-Kharrat, A., Rambert, J., Fawaz, F., Thiolat, D., Moynet, D., Coves, S., Malvy, D., & Mossalayi, M. D. (2006). Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate

with decreased macrophage inflammatory mediators. *Biochemical Pharmacology*, 72(10), 1304-1310. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.08.001>

[120] Denny Joseph, K. M., & Muralidhara, null. (2013). Enhanced neuroprotective effect of fish oil in combination with quercetin against 3-nitropropionic acid induced oxidative stress in rat brain. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 40, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.08.018>

[121] Parekh, N., Garg, A., Choudhary, R., Gupta, M., Kaur, G., Ramniwas, S., Shahwan, M., Tuli, H. S., & Sethi, G. (2023). The Role of Natural Flavonoids as Telomerase Inhibitors in Suppressing Cancer Growth. *Pharmaceuticals*, 16(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ph16040605>

[122] Warren, C. A., Paulhill, K. J., Davidson, L. A., Lupton, J. R., Taddeo, S. S., Hong, M. Y., Carroll, R. J., Chapkin, R. S., & Turner, N. D. (2009). Quercetin May Suppress Rat Aberrant Crypt Foci Formation by Suppressing Inflammatory Mediators That Influence Proliferation and Apoptosis. *The Journal of Nutrition*, 139(1), 101-105. <https://doi.org/10.3945/jn.108.096271>

[123] Granado-Serrano, A. B., Martín, M. A., Bravo, L., Goya, L., & Ramos, S. (2012). Quercetin modulates Nrf2 and glutathione-related defenses in HepG2 cells: Involvement of p38. *Chemico-Biological Interactions*, 195(2), 154-164. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.12.005>

[124] Chen, B. H., Park, J. H., Ahn, J. H., Cho, J. H., Kim, I. H., Lee, J. C., Won, M.-H., Lee, C.-H., Hwang, I. K., Kim, J.-D., Kang, I. J., Cho, J. H., Shin, B. N., Kim, Y. H., Lee, Y. L., & Park, S. M. (2017). Pretreated quercetin protects gerbil hippocampal CA1 pyramidal neurons from transient cerebral ischemic injury by increasing the expression of antioxidant enzymes. *Neural Regeneration Research*, 12(2), 220-227. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.200805>

[125] Hu, X.-T., Ding, C., Zhou, N., & Xu, C. (2015). Quercetin protects gastric epithelial cell from oxidative damage in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 754, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.02.007>

[126] Becerra-Torres, S. L., Rodríguez-Vázquez, M. L., Medina-Ramírez, I. E., & Jaramillo-Juárez, F. (2009). The flavonoid quercetin protects and prevents against potassium dichromate-induced systemic peroxidation of lipids and diminution in renal clearance of para-aminohippuric acid and inulin in the rat. *Drug and Chemical Toxicology*, 32(1), 88-91. <https://doi.org/10.1080/01480540802449951>

[127] Chaturvedi, S., Malik, Mohd. Y., Rashid, M., Singh, S., Tiwari, V., Gupta, P., Shukla, S., Singh, S., & Wahajuddin, M. (2020). Mechanistic exploration of quercetin against metronidazole induced neurotoxicity in rats: Possible role of nitric oxide isoforms and inflammatory cytokines. *NeuroToxicology*, 79, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.03.002>

[128] Renuka, M., Yeguvapalli, S., & Reddy, M. S. (2017). Cadmium Induced Oxidative Stress in Wistar Rats: Ameliorative Effect of Quercetin and Embilica Officinalis Plant Extracts. *Toxicology and Forensic Medicine - Open Journal*, 2(1), 26-35. <https://doi.org/10.17140/TFMOJ-2-114>

- [129] Khan, M. R., Siddiqui, S., Parveen, K., Javed, S., Diwakar, S., & Siddiqui, W. (2010). Nephroprotective action of tocotrienol-rich fraction (TRF) from palm oil against potassium dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)-induced acute renal injury in rats. *Chemico-biological interactions*, 28(38). <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.04.025>
- [130] Sahu, B. D., Koneru, M., Bijargi, S. R., Kota, A., & Sistla, R. (2014). Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in rats: Involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chemico-Biological Interactions*, 223, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.09.009>
- [131] Özdemir, D. S., Başpınar, N., & Akalın, P. P. (2015). Effects of ultrasound homogenisation on the activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and levels of lipid peroxide in liver homogenates. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 31(1), 16-19.
- [132] Pinafo, M. S., Benedetti, P. R., Gaiotte, L. B., Costa, F. G., Schoffen, J. P. F., Fernandes, G. S. A., Chuffa, L. G. A., & Seiva, F. R. F. (2019). Effects of *Bauhinia forficata* on glycaemia, lipid profile, hepatic glycogen content and oxidative stress in rats exposed to Bisphenol A. *Toxicology Reports*, 6, 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.03.001>
- [133] Buege, J. A. ve Aust, S. D. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52(C), 302-310
- [134] Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
- [135] <https://www.relassay.com/uploads/TOSinsert.pdf>
- [136] Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
- [137] <https://www.relassay.com/uploads/TASinsert.pdf>
- [138] Rabus, M., Demirbağ, R., Sezen, Y., Konukoğlu, O., Yıldız, A., Erel, O., ... & Yakut, C. (2008). Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 36(8), 536-40.
- [139] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-275.
- [140] <https://www.bt-laboratory.com/Upload/manual/kit/E0135Ra.pdf>
- [141] <https://www.bt-laboratory.com/Upload/manual/kit/E0764Ra.pdf>
- [142] Sarker, S., Akter, T., Parveen, S., Tushar Uddin, Md., Kanti Mondal, A., & Asaduzzaman Sujon, S. M. (2023). Microalgae-based green approach for effective chromium removal from tannery effluent: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 105085. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105085>



- [143] Das AP, Mishra S (2008) Hexavalent chromium (VI): environment pollutant and health hazard. *J Environ Research and Development* 2:386–392
- [144] Saber TM, Farag MR, Cooper RG (2015) Ameliorative effect of extra virgin olive oil on hexavalent chromium-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rat. *Rev. Med. Vet.* 166:11-19
- [145] Sahu B, Meghana K, Shriharsh R (2014) Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in rats: involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chem. Biol. Interact* 223:69–79.
- [146] Patlolla, A. K., Barnes, C., Yedjou, C., Velma, V. R., & Tchounwou, P. B. (2009). Oxidative stress, DNA damage, and antioxidant enzyme activity induced by hexavalent chromium in Sprague-Dawley rats. *Environmental Toxicology*, 24(1), 66-73. <https://doi.org/10.1002/tox.20395>
- [147] Alasmari, A. F. (2021). Cardioprotective and nephroprotective effects of Quercetin against different toxic agents. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25(23), 7425-7439. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_202112\\_27440](https://doi.org/10.26355/eurrev_202112_27440)
- [148] Etim, N. N., Williams, M. E., Akpabio, U., & Offiong, E. E. (2014). Haematological parameters and factors affecting their values. *Agricultural Science*, 2(1), 37-47.
- [149] Karagül H., Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T, 2000. *Klinik Biyokimya*, 1. Baskı, Medisan Yayınevi, Dışkapı-ANKARA, s.1-419
- [150] Tiftik A.M., 1996. *Klinik Biyokimya*, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya s.1-419
- [151] Akinwumi, K. A., Osifeso, O. O., Jubril, A. J., Adedoja, A. W., Ogunbiyi, E. T., Adebo, F. M., Adesina, I. O., & Odunola, O. A. (2016). Potassium Dichromate Toxicities: Protective Effect of Methanol Extract of *Corchorus olitorius* in Albino Rats. *Journal of Medicinal Food*, 19(5), 457-465. <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.0116>
- [152] K, N., G, P. K., Y, C., & KR, A. (2018). Evaluation of Potassium Dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)-Induced Liver Oxidative Stress and Ameliorative Effect of *Picrorhiza kurroa* Extract in Wistar Albino Rats. *Biological Trace Element Research*, 184(1), 154-164. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1172-2>
- [153] Saha, J., Choudhuri, S., & Choudhuri, D. (2017). Effect of subchronic exposure to chromium on hematological and biochemical parameters of male albino rat. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10, 345. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i5.17468>
- [154] Soudani, N., Troudi, A., Bouaziz, H., Ben Amara, I., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2011). Cardioprotective effects of selenium on chromium (VI)-induced toxicity in female rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(3), 513–520. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.06.009>

- [155] Farag, A., Elhalwagy, M., & Farid, H. (2010). Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97, 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.03.007>
- [156] Akila, G. (1998). Effects of curcumin on lipid profile and lipid peroxidation status in experimental hepatic fibrosis. *Hepatology Research*, 11(3), 147-157. [https://doi.org/10.1016/S1386-6346\(98\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S1386-6346(98)00026-6)
- [157] Ayşe, Ç. (2018). Kurşun zehirlenmesi oluşturulan ratlarda levamizolün oksidatif stres ve sitokinler üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.
- [158] Mert, N. ve Mert, H. (2023) *Veteriner Klinik Biyokimya*, 1. Baskı Marmara Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, s.1-356
- [159] Mehmetoğlu, İ. (Edt.), *Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı*, 3. Baskı, Yelken Basın Yayın, Konya, s.1-406
- [160] Soudani, N., Sefi, M., Ben Amara, I., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2010). Protective effects of Selenium (Se) on Chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(4), 671-678. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.10.002>
- [161] Hassan, M., Zaghoul, D., Mahmoud, M., Nasrallah, Z., & Toghan, R. (2021). Protective Effect of Lactoferrin against Chromium Induced Adverse Renal Changes in Rats: Oxidative Stress Theory. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 17, 181-191. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2021.181.191>
- [162] Fatima, S., & Mahmood, R. (2007). Vitamin C attenuates potassium dichromate-induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 386(1-2), 94-99. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.08.006>
- [163] Pedraza-Chaverri, J., Barrera, D., Medina-Campos, O. N., Carvajal, R. C., Hernández-Pando, R., Macías-Ruvalcaba, N. A., Maldonado, P. D., Salcedo, M. I., Tapia, E., Saldívar, L., Castilla, M. E., & Ibarra-Rubio, M. E. (2005). Time course study of oxidative and nitrosative stress and antioxidant enzymes in K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-induced nephrotoxicity. *BMC Nephrology*, 6(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-6-4>
- [164] Gupta, A. D., Das, S. N., Dhundasi, S. A., & Das, K. K. (2008). Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Heavy Metal (Nickel II and ChromiumVI) Induced Alteration of Serum Lipid Profile in Male Albino Rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijerph5030147>
- [165] Younan, S., Sakita, G. Z., Coluna, J. G. Y., Rufino, M. N., Keller, R., & Bremer-Neto, H. (2019). Probiotic mitigates the toxic effects of potassium dichromate in a preclinical study: A randomized controlled trial. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 183-190. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9159>

- [166] Ghosh, P., Dey, T., Majumder, R., Datta, M., Chattopadhyay, A., & Bandyopadhyay, D. (2023). Melatonin attenuates cardiac injury caused by chromium-mediated oxidative stress in male Wistar rats: Involvement of antioxidative mechanisms. *Melatonin Research*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.32794/mr112500143>
- [167] Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y (2015) The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci* 16:26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- [168] Gu, X., & Manautou, J. E. (2012). Molecular mechanisms underlying chemical liver injury. *Expert reviews in molecular medicine*, 14, e4. <https://doi.org/10.1017/S1462399411002110>
- [169] Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y (2015) The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci* 16:26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- [170] Wang, Y., Wu, W., Yao, C., Lou, J., Chen, R., Jin, L., Wu, N., Gao, M., Song, P., Tan, Y., & Liu, K. (2016). Elevated tissue Cr levels, increased plasma oxidative markers, and global hypomethylation of blood DNA in male Sprague-Dawley rats exposed to potassium dichromate in drinking water. *Environmental Toxicology*, 31(9), 1080-1090. <https://doi.org/10.1002/tox.22117>
- [171] Shati, A. A. (2014). Ameliorative effect of vitamin E on potassium dichromate-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of King Saud University - Science*, 26(3), 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.12.001>
- [172] García-Niño, W. R., Tapia, E., Zazueta, C., Zatarain-Barrón, Z. L., Hernández-Pando, R., Vega-García, C. C., & Pedraza-Chaverri, J. (2013). Curcumin Pretreatment Prevents Potassium Dichromate-Induced Hepatotoxicity, Oxidative Stress, Decreased Respiratory Complex I Activity, and Membrane Permeability Transition Pore Opening. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, e424692. <https://doi.org/10.1155/2013/424692>
- [173] Kalayarasan, S., Sriram, N., Sureshkumar, A., & Sudhandiran, G. (2008). Chromium (VI)-induced oxidative stress and apoptosis is reduced by garlic and its derivative S-allylcysteine through the activation of Nrf2 in the hepatocytes of Wistar rats. *Journal of Applied Toxicology*, 28(7), 908-919. <https://doi.org/10.1002/jat.1355>
- [174] Sedik, A., Hassan, A., & Salama, A. (2023). Synergistic effect of arginine and *Lactobacillus plantarum* against potassium dichromate induced-acute liver and kidney injury in rats: Role of iNOS and TLR 4/ NF-κB signaling pathways. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2023.68855.15108>
- [175] Gupta, A.D., Dhara, C.P., Dhundasi S. A. & Das, K. K. (2009). Effect of garlic (*Allium sativum*) on nickel II or chromium VI induced alterations of glucose homeostasis and hepatic antioxidant status under sub-chronic exposure conditions. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 20(1), 1-14. <https://doi.org/10.1515/JBCPP.2009.20.1.1>

- [176] Khalaf, A. A., Hassanen, E. I., Ibrahim, M. A., Tohamy, A. F., Aboseada, M. A., Hassan, H. M., & Zaki, A. R. (2020). Rosmarinic acid attenuates chromium-induced hepatic and renal oxidative damage and DNA damage in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(11), e22579. <https://doi.org/10.1002/jbt.22579>
- [177] Turkmen, R., Demirel, H. H., Akosman, M., & Fırat, F. (2022). An investigation of the effect of chlorogenic acid on potassium dichromate-induced oxidative stress in rats.
- [178] Abreu PL, Ferreira LMR, Alpoim MC, Urbano AM (2014) Impact of hexavalent chromium on mammalian cell bioenergetics: phenotypic changes, molecular basis and potential relevance to chromateinduced lung cancer. *Biometals* 27:409–443
- [179] Kozak, H., Kılınç, I., & Özkürkçüler, A. (2020). Biochemical Evaluation of the Effects of Quercetin On Experimental Acute Methanol Intoxication in Rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32, 195-201. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2020/v32i2030742>
- [180] Brzóska, M. M., Kozłowska, M., Rogalska, J., Gałazyn-Sidorczuk, M., Roszczenko, A., & Smereczkański, N. M. (2021). Enhanced Zinc Intake Protects against Oxidative Stress and Its Consequences in the Brain: A Study in an In Vivo Rat Model of Cadmium Exposure. *Nutrients*, 13(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/nu13020478>
- [181] Andjelkovic, M., Buha Djordjevic, A., Antonijevic, E., Antonijevic, B., Stanic, M., Kotur-Stevuljevic, J., Spasojevic-Kalimanovska, V., Jovanovic, M., Boricic, N., Wallace, D., & Bulat, Z. (2019). Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/ijerph16020274>
- [182] Mitra, E., Basu, A., Ghosh, D., Ghosh, A., Chattopadhyay, A., Pattari, S., Datta, S., Bandyopadhyay, D., & Tagore, R. (2013). Ameliorative effect of aqueous tulsi leaf (*Ocimum sanctum*) extract against cadmium-induced oxidative stress in rat liver. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
- [183] El-Demerdash, F. M., El-Sayed, R. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Hepatoprotective potential of *Rosmarinus officinalis* essential oil against hexavalent chromium-induced hematotoxicity, biochemical, histological, and immunohistochemical changes in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(14), 17445-17456. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12126-8>
- [184] Malathi, G., Vadivelu, J., & Rajeshkumar, S. (2021). Antioxidant Revival of *Cucumis melo* L. Modulates the Oxidant-antioxidant Status on Chromium VI Toxicity Induced Male Albino Rats. *Indian Journal of Science and Technology*, 14(36), 2815-2825. <https://doi.org/10.17485/IJST/v14i36.1688>
- [185] Natesan, G., Justin, J. S., & Milton, A. (2014). Phytochemical evaluation of peel of *Citrus reticulata* blanco using various solvent extracts.
- [186] Zielińska, M., Kostrzewa, A., Ignatowicz, E., & Budzianowski, J. (2001). The flavonoids, quercetin and isorhamnetin 3-O-acylglucosides diminish neutrophil

oxidative metabolism and lipid peroxidation. *Acta Biochimica Polonica*, 48(1), 183-189.

[187] Xiao, X., Shi, D., Liu, L., Wang, J., Xie, X., Kang, T., & Deng, W. (2011). Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling. *PloS One*, 6(8), e22934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022934>

[188] Flora, S. J. S. (2009). Structural, Chemical and Biological Aspects of Antioxidants for Strategies Against Metal and Metalloid Exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(4), 191-206. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.4.9112>

[189] Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., Orčić, D., & Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*, 40, 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.047>

[190] Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, e6501046. <https://doi.org/10.1155/2017/6501046>

[191] Ersoy, R., Erel, Ö., İpteç, B. Ö., Biçer, C., Yılmaz, G., & Balık, A. R. (2021). Examination of fasting and postprandial dynamic thioldisulfide homeostasis and oxidative stress. *International Journal of Medical Biochemistry*, 4(3), Article 3. <https://doi.org/10.14744/ijmb.2021.53825>

[192] Çiçek, H., Savaş, H., Yıldırım, M., & Gürbüz, H. (2022). Cancer Plus Native Thiol, Total Thiol, and Dynamic Disulfide Profile in Patients with Gastrointestinal System Cancer. *Cancer Plus*, 4, 24-30. <https://doi.org/10.18063/cp.v4i2.340>

[193] Koc, C., Akbulut, S., Sarici, K. B., Uremis, M. M., Dogan, U. G., Kucukakcali, Z., Garzali, I. U., Karabulut, E., Turkoz, Y., & Yilmaz, S. (2023). Measurement of Heavy Metal and Antioxidant-Oxidant Levels in Tissues Obtained From Three Different Localizations of Explant Hepatectomy of Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Transplantation Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2022.11.013>

[194] Karsen, H. (2019). Oxidative Stress and Brucellosis. İçinde S. Chakraborti, T. Chakraborti, D. Chattopadhyay, & C. Shaha (Ed.), *Oxidative Stress in Microbial Diseases* (ss. 315-327). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8763-0\\_17](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8763-0_17)

[195] Alagöz, A. N., Taşdemir, S. S., Yazar, H., Güzey, Y., & Uçaroğlu Can, N. (2019). Thiol disulfide homeostasis as oxidative stress marker in migraine patients. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*.

[196] Alagöz, A. N., Uçaroğlu Can, N., Yazar, H., & Taşdemir, S. S. (2020). Thioldisulfide Homeostasis in Idiopathic Parkinson's Disease. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 10(1), 39-45. <https://doi.org/10.5505/kjms.2020.03743>

[197] Haydar, F. G., Otal, Y., Avcioğlu, G., Özkaya, S. K., Şener, A., Gökhan, S., ... & Erel, Ö. (2021). A NEW BIOMARKER OF OXIDATIVE STRESS IN

OBSTRUCTIVE JAUNDICE: DYNAMIC THIOLDISULPHIDE HOMEOSTASIS. *Ankara Medical Journal*, 21(4).

[198] Emre, B., Korkmaz, Ö., Koyuncu, I., Comakli, S., Akcay, A., Zonturlu, A. K., & Erel, O. (2021). Determination of thiol/disulphide homeostasis as a new indicator of oxidative stress in dairy cows with subclinical endometritis. *Vet. arhiv*, 91, 137-148.

[199] Kalayci, M., Cetinkaya, E., Yigit, K., Sabaner, M. C., Duman, R., Balik, A. R., & Erel, Ö. (2021). Ischemia-Modified albumin levels and thiol-disulphide homeostasis in diabetic macular edema in patients with diabetes mellitus type 2. *Current Eye Research*, 46(5), 683-688.

[200] Damar Çakırca, T., Ceylan, M. R., Koyuncu, İ., & Çakırca, G. (2021). Thiol- disulphide balance and total oxidant- antioxidant status in patients with chronic hepatitis C. *International Journal of Clinical Practice*, 75(5), e13988.

[201] Auwal, M., Vinod, K., Isa Salihu, S., Vinay, K., & Aryan, B. (2021). The effect of thiamethoxam and ameliorative property of quercetin on oxidative stress and antioxidant parameters in liver of male rats. *Science Forum (Journal of Pure and Applied Sciences)*, 21, 10. <https://doi.org/10.5455/sf.62406>

[202] Mahajan, L., Verma, P. K., Raina, R., Pankaj, N. K., Sood, S., & Singh, M. (2018). Alteration in thiols homeostasis, protein and lipid peroxidation in renal tissue following subacute oral exposure of imidacloprid and arsenic in Wistar rats. *Toxicology reports*, 5, 1114-1119.

[203] Dong, W., Simeonova, P. P., Gallucci, R., Matheson, J., Flood, L., Wang, S., Hubbs, A., & Luster, M. I. (1998). Toxic Metals Stimulate Inflammatory Cytokines in Hepatocytes through Oxidative Stress Mechanisms. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151(2), 359-366. <https://doi.org/10.1006/taap.1998.8481>

[204] Tripathi, A., Rathi, V., Singh, S., & Varshney, R. (2021). *Quercetin: A Potential Flavonol with Multiple Health Benefits*. 1(1).

[205] Valério, D. A., Georgetti, S. R., Magro, D. A., Casagrande, R., Cunha, T. M., Vicentini, F. T. M. C., Vieira, S. M., Fonseca, M. J. V., Ferreira, S. H., Cunha, F. Q., & Verri, W. A. Jr. (2009). Quercetin Reduces Inflammatory Pain: Inhibition of Oxidative Stress and Cytokine Production. *Journal of Natural Products*, 72(11), 1975-1979. <https://doi.org/10.1021/np900259y>

[206] Anandasadagopan, S., Sundaramoorthy, C., Pandurangan, A., Nagarajan, V., Srinivasan, K., & Ganapasam, S. (2017). S-Allyl cysteine alleviates inflammation by modulating the expression of NF-κB during chromium (VI)-induced hepatotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 36(11), 1186-1200. <https://doi.org/10.1177/0960327116680275>

[207] Gressner, A. M. (2001). The up-and-down of hepatic stellate cells in tissue injury: Apoptosis restores cellular homeostasis. *Gastroenterology*, 120(5), 1285-1288. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.23439>

[208] Abdelazeim, S. A., Shehata, N. I., Aly, H. F., & Shams, S. G. E. (2020). Amelioration of oxidative stress-mediated apoptosis in copper oxide nanoparticles-induced liver injury in rats by potent antioxidants. *Scientific Reports*, *10*(1), 10812. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67784-y>

[209] Ginis, I., Hallenbeck, J. M., Liu, J., Spatz, M., Jaiswal, R., & Shohami, E. (2000). Tumor Necrosis Factor and Reactive Oxygen Species Cooperative Cytotoxicity Is Mediated via Inhibition of NF- $\kappa$ B. *Molecular Medicine*, *6*(12), 1028-1041. <https://doi.org/10.1007/BF03402054>

[210] Alshammari, G. M., Al-Qahtani, W. H., AlFaris, N. A., Alzahrani, N. S., Alkhateeb, M. A., & Yahya, M. A. (2021). Quercetin prevents cadmium chloride-induced hepatic steatosis and fibrosis by downregulating the transcription of miR-21. *BioFactors*, *47*(3), 489-505. <https://doi.org/10.1002/biof.1724>

[211] Bahar, E., Kim, J.-Y., & Yoon, H. (2017). Quercetin Attenuates Manganese-Induced Neuroinflammation by Alleviating Oxidative Stress through Regulation of Apoptosis, iNOS/NF- $\kappa$ B and HO-1/Nrf2 Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(9), 1989. <https://doi.org/10.3390/ijms18091989>