

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN DOKULARININ SİYALİK ASİT İÇERİĞİ
ÜZERİNDEKİ BENOMİL TOKSİSİTESİNE KARŞI
KONDROİTİN-4-SÜLFAT (C4S) VE α -LİPOİK ASİDİN
(ALA) KORUYUCU ETKİLERİ**

Gülhande ARTIKASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman
Prof. Dr. Tülin AKTAÇ**

2009-EDİRNE

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN DOKULARININ SİYALİK ASİT İÇERİĞİ ÜZERİNDEKİ BENOMİL TOKSİSİTESİNE
KARŞI KONDRÖİTİN-4-SÜLFAT (C4S) VE α -LİPOİK ASİDİN (ALA) KORUYUCU ETKİLERİ**

Gülhande ARTIKASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülin AKTAÇ

2009

EDİRNE

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN DOKULARININ SİALİK ASİT İÇERİĞİ ÜZERİNDEKİ BENOMİL TOKSİSİTESİNE
KARŞI KONDROİTİN-4-SÜLFAT (C4S) VE α -LİPOİK ASİDİN (ALA) KORUYUCU
ETKİLERİ**

Gülhande ARTIKASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 15/10/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından kabul
edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin AKTAÇ
(Danışman)

Doç. Dr. Figen ERTAN

Doç. Dr. Hülya YAĞAR

ÖZET

Bu çalışmada, fungusit olarak kullanılan benomil'in doku ve serum sialik asitleri üzerindeki etkileri ile, antioksidan olarak kullanılan α -lipoik asit ve kondroitin-4-sülfat'ın doku ve serum sialik asitleri üzerindeki koruyucu etkileri incelendi.

Benomil (200 mg/kg), α -lipoik asit (200 mg/kg) ve kondroitin-4-sülfat (25 mg/kg) 5 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere intraperitoneal (IP) enjeksiyon yoluyla uygulandı.

Benomil grubuna ait hayvanların dalak ve testis dokularında, sialik asit miktarlarının önemli ölçüde arttığı ($p < 0.05$), karaciğer, böbrek, kalp dokularında ise sialik asit miktarlarında anlamlı bir değişikliğin olmadığı görüldü.

Benomil+ α -Lipoik asit grubundaki hayvanların karaciğer, dalak ve testis dokularında sialik asit miktarının önemli olarak azaldığı ($p < 0.05$), böbrek ve kalp dokularında ise sialik asit miktarında anlamlı bir değişikliğin olmadığı saptandı.

Benomil+Kondroitin-4-sülfat grubuna ait hayvanların böbrek ve kalp dokularında sialik asit miktarında anlamlı bir değişiklik görülmez iken; karaciğer, dalak ve testis dokularında ise anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).

Benomil+ α -Lipoik asit+Kondroitin-4-sülfat grubunda ise karaciğer, böbrek, dalak ve testis dokularında sialik asit miktarlarının önemli olarak azaldığı ($p < 0.05$), kalp dokusunda ise anlamlı bir değişikliğin olmadığı saptandı.

Serum sialik asit miktarının sadece Benomil+ α -Lipoik asit grubundaki hayvanlarda önemli ölçüde arttığı tespit edildi ($p < 0.05$).

Anahtar Kelimeler: Benomil, antioksidan, sialik asit, sıçan.

ABSTRACT

In this study, the effects of benomyl, which is used as fungicide, on tissue and serum sialic acids and, the protective effects of α -lipoic acid and chondroitin-4-sulphate, which are used as antioxidants, on tissue and serum sialic acids are observed.

Benomyl (200 mg/kg), α -lipoic acid (200 mg/kg) and chondroitin-4-sulphate (25 mg/kg) are applied by intraperitoneal (IP) injection once in each week for a period of 5 weeks.

It was determined that in spleen and testis tissues of animals in the group of Benomyl, benomyl has caused a significant increase in the amount of sialic acid ($p < 0.05$), although there wasn't any significant change in the liver, kidney and heart tissues.

It was observed that a significant decrease ($p < 0.05$) in the amount of sialic acid has been seen in liver, spleen and testis tissues of animals in the group of Benomyl+ α -Lipoic acid and that there wasn't any significant change in the kidney and heart tissues.

While there wasn't a significant change in the kidney and heart tissues in the group of Benomyl+Chondroitin-4-sulphate in the liver, spleen and testis tissues the amount of sialic acid significantly decreased ($p < 0.05$).

It was observed that in the liver, kidney, spleen and testis tissues of animals in the group of Benomyl+ α -Lipoic acid+Chondroitin-4-sulphate the amount of sialic acid significantly decreased ($p < 0.05$), there wasn't any significant change in the heart tissue.

It was determined that the amount of serum sialic acid significantly increased only in the Benomyl+ α -Lipoic acid group of animals ($p < 0.05$).

Key Words: Benomyl, antioxidant, sialic acid, rat.

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve yürütülmesinde bana her türlü olanağı sağlayan, zaman ayırarak engin bilgi ve deneyimleri ile her aşamada bana ışık tutan, bilimsel disiplin ve yöntemlerle rehberlik ederek çok değerli emek ve katkılarını benden esirgemeyen çok kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Tülin AKTAÇ'a, çalışmalarım sırasında her türlü imkanı sunan Biyoloji Bölüm Başkanlığına, bilimsel desteklerinden dolayı Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, yardım ve desteklerinden dolayı Arş. Gör. Elvan BAKAR'a, katkılarından dolayı T.Ü. Deney Hayvanları Biriminde görev yapan Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a ve T.Ü. Tıp Fak. Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN'a içtenlikle teşekkür ederim. Maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TÜBAP-898 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PESTİSİTLER	4
2.1.1. Pestisitlerin sınıflandırılması.....	5
2.1.2. Fungusitler	8
2.1.2.1. Benomil.....	9
2.2. SERBEST RADİKALLER	10
2.3. ANTİOKSİDANLAR	13
2.3.1. Alfa lipoik asit	15
2.4. KARBOHİDRATLAR.....	16
2.5. SİYALİK ASİTLER	17
2.6. GLİKOZAMİNOGLİKANLAR	20
2.6.1. Kondroitin-4-sülfat	20
3. MATERYAL ve METOD	22
3.1. MATERYAL	22
3.2. METOD	23
3.2.1. Sialik asit standart grafiklerinin hazırlanışı	23
3.2.2. Serum sialik asit tayini	24
3.2.3. Doku sialik asit tayini	25
3.2.4. İstatistiksel analizler.....	25
3.2.5. Kullanılan çözeltiler	25

4. BULGULAR.....	26
4.1. DOKU TOTAL SİALİK ASİT SONUÇLARI	26
4.2. SERUM TOTAL SİALİK ASİT SONUÇLARI.....	26
5. TARTIŞMA	29
6. KAYNAKLAR	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.2.1.1: Benomil'in kimyasal yapısı	9
Şekil 2.3.1.1: α -Lipoik asit ve Dihidrolipoik asidin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.5.1: <i>N</i> -asetilnöraminik asidin kimyasal yapısı	18
Şekil 2.5.2: Sialik asit formları	18
Şekil 2.6.1.1: Kondroitin-4-sülfatın kimyasal yapısı	21

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.2.1.1. Serum Sialik Asit Standart Grafiği	24
Çizelge 3.2.1.2. Doku Sialik Asit Standart Grafiği.....	24
Çizelge 4.1. Benomil, Benomil+ALA, Benomil+C4S, Benomil+ALA+C4S'ın dokular ve serumdaki sialik asit miktarları.	27
Çizelge 4.2. Doku sialik asit miktarları	28
Çizelge 4.3. Serum sialik asit miktarları	28

KISALTMALAR

ALA	: α -Lipoik asit
C4S	: Kondroitin-4-sülfat
GAG	: Glikozaminoglikan
MDA	: Malondialdehid
TSA	: Total sialik asit
Neu5Ac	: <i>N</i> -asetilnöraminik asit
°C	: Santigrad derece
L	: Litre
ml	: Mililitre
LD ₅₀	: Lethal Doz
kg	: Kilogram
gr	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
M	: Molar

1. GİRİŞ

Son yıllarda, hızlı ve kontrolsüz nüfus artışına karşılık, tarımsal alanların azalması, birim alandan daha fazla ve kaliteli ürün elde edilmesi amacını doğurmuştur. Bu nedenle öncelikli olarak alınan önlem tarım ürünlerine zarar veren böcek, mantar, yabani ot gibi çeşitli zararlılara karşı mücadelede kimyasalların kullanımıdır.

Pestisitler tarımsal ürünlerin üretim aşamasında ve sonrasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisit kullanımının getirdiği olumlu sonuçlar yanında kullanımlarının bilinçsiz, sınırsız ve hatta kontrolsüz olması, öncelikle ekosistemi etkilemekte ve insanlar üzerinde muhtemel toksik etkilere yol açmaktadır. Bu nedenle pestisitlerin çevre ve canlılar üzerindeki olumsuz etkileri, bu etkilerin önlenmesine ve tamir edilmesine yönelik yapılan çalışmalar giderek önem kazanmıştır.

Pestisitler fizikokimyasal, kimyasal özelliklerine ve kullanıldıkları zararlı grubuna göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Benomil, fungisidal etkiye sahip benzimidazol türevi sistemik bir fungusittir. Ülkemizde meyveler, kabakgiller, lahana, turunçgiller, çeltik, mercimek, gül, yerfıstığı ve şekerpancarı üzerinde kullanılmaktadır (Yücer, 2008).

Geniş spektrumlu karbamatlı bir fungusit olan benomil'in toksik etkileri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Bu araştırmalarda, genellikle benomil'in teratojenik (Cummings vd., 1990), sitogenetik (Dane ve Dalgıç, 2005), histopatolojik ve biyokimyasal (Balkan ve Aktaç, 2005) etkileri ile, erkek üreme sistemi üzerindeki etkileri (Lim ve Miller, 1997; Hess ve Nakai, 2000; Sorour ve Larink, 2001) çalışılmıştır. Ayrıca, benomil'in hücre membranları ile etkileşime girdiği (Suwalsky vd., 2000); lipid peroksidasyonuna neden olduğu (Banks ve Soliman, 1997) ve çeşitli antioksidanların sınırlı da olsa bir antioksidatif korumaya neden olabileceği (Banks ve Soliman, 1997; Min ve Kang, 2008) bildirilmiştir.

Son yıllarda, çeşitli dokularda oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkiye sahip antioksidanlar arasında kondroitin-4-sülfat (C4S) ve α -lipoik asidin (ALA) önemi hızla artmaktadır (Ha ve Lee, 2003; Campo vd., 2004; Pires Das Neves vd., 2004; Sung vd., 2005; Çakatay, 2006; Gonzalez-Perez ve Gonzalez-Castaneda, 2006; Duenschede vd., 2007; Manda vd., 2007).

Kondroitin-4-sülfat (C4S) yumuşak bağ dokuda ekstrasellüler matriksin temel sülfatlanmış glikozaminoglikanıdır. Bağ dokuda hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak muhtemelen hücrel adezyon ve göçte önemlidir (Worrall vd., 1994). C4S'ın Fe^{2+} veya Cu^{2+} gibi geçiş metal iyonlarıyla şelat oluşturarak lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri ve antioksidan özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir (Campo vd., 2004).

α -Lipoik asit (ALA) oktanoik asidin disülfid türevidir (Sung vd., 2005). Enerji üretimi ile ilgili mitokondrial multienzim komplekslerinin temel kofaktörüdür (Kofuji vd., 2008). Özellikle son zamanlarda oksidatif stresin neden olduğu patolojik durumların tedavisi ya da korunmasında etkili antioksidan terapötik ajan olarak tanımlanmaktadır (Skibbska vd., 2006).

Sialik asitler, dokuz karbonlu bir şeker olan nöraminik asidin türevlerinden oluşan yaklaşık 50 üyeli bir monosakkarit ailesi olarak tanımlanırlar (Traving ve Schauer, 1998; Schauer, 2004). Memelilerde tipik olarak hücre yüzeyi glikokonjugatları üzerinde terminal bakiyeler olarak bulunurlar ve hücrel kabul ve adezyon olaylarında önemli rol oynarlar (Hao vd., 2005). Sialik asitler, ayrıca tümör biyolojisinde de önemli rol oynarlar (Schauer, 2004) ve çeşitli kanserlerde biyomarker olarak önemlidirler (Babal vd., 2006; Soria vd., 2007).

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda sialik asitlerin membranlardaki lipid peroksidasyonunun bir yıkım ürünü olabileceği ve bir peroksidasyon parametresi olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (Kart vd., 2006; 2007; Yapar vd., 2007).

Bu çalışma, lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinen fungusit benomil'in ve antioksidanlar C4S ve ALA'nın çeşitli sıçan dokuları ve serum sialik asit düzeyleri

arasındaki ilişkilerinin araştırılması ve SA'in bir peroksidasyon parametresi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması için planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Tarım ürünlerini; üretim, hasat, taşıma, depolama ve tüketimleri sırasında ürünlerin besin değerini düşüren, hastalık etmeni oluşturan, ürün ve kalite kayıplarına neden olan böcek, yabancı ot, kemirici, mantar ve çeşitli mikroorganizmalara karşı zirai mücadelede koruma amacıyla kullanılan kimyasal madde ve preparatlar pestisit olarak adlandırılır.

Pestisit olarak kullanılan ilk maddeler kükürt ve arseniktir. İsa'dan önce 1000 yıllarında Homer kükürt fumigasyonundan bahsetmiştir, 900'lü yıllarda ise bahçe böcekleriyle mücadelede arsenik kullanılmıştır. Daha sonra nikotin gibi bitki kökenli maddeler kullanılmaya başlanmıştır. Bu maddeleri civa, kurşun metal bileşikler ve siyanür gibi zehirlerin kullanımı takip etmiştir (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Pestisit özelliği gösteren kimyasalların sentezi ve formülasyonlarının üretimi kimya endüstrisi devrimi ile birlikte başlamıştır (Vural, 2005). 1939 yılında diklorodifenil trikloroetan yani DDT'nin pestisit özellikleri İsviçreli kimyacı Paul Mueller tarafından belirlenmiştir. 1942 yılında piyasaya çıkan DDT hızla yaygın kullanıma girmiştir. II. Dünya savaşında ve sonrasında pestisit üretimi ve kullanımı hızla artmıştır. Pestisitler sadece profesyonel kullanıcılara değil, aynı zamanda küçük paketler halinde normal toplum bireylerinin kullanımına da sunulmaktadır. Pestisit kullanımı 1945 ile 1985 yılları arasında her on yılda bir iki katına çıkmıştır (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Tüm dünyada 700'den fazla ve her yıl 2.2 milyar kg pestisit kullanıldığı kaydedilmiştir (<http://www.atal.tubitak.gov.tr/istanbul/HamideSenyuva.pdf>).

Her zehirli madde pestisit olarak kullanılmaz ve adlandırılmaz. Zehirli özellik gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için taşıması gereken özellikler:

- 1- Biyolojik olarak aktif olmalı,
- 2- Etkili olmalı,

- 3- Güvenilir olmalı,
- 4- Yeteri kadar stabil (kararlı) olmalı,
- 5- Kullanıcılar açısından güvenilir olmalı,
- 6- Üçüncü şahıslar açısından güvenilir olmalı,
- 7- Tüketiciler açısından güvenilir olmalı,
- 8- Besi hayvanları açısından güvenilir olmalı,
- 9- Yabani hayatta zararlı olmamalı,
- 10- Faydalı organizmalara zararlı olmamalı,
- 11- Çevre için kabul edilebilir olmalı,
- 12- Ticarete probleme sebep olmamalı,

Bir formülasyon'da bulunması gereken özellikler FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından belirlenerek belli esaslara bağlanmış ve bu özelliklerin tayin edilebilmesi için de standart metotlar geliştirilmiştir (<http://ekutup.dpt.gov.tr/imalatsa/kimya/oik603.pdf>).

2.1.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

- **Kullanıldıkları zararlı grubuna göre;**
 - 1- Böcekleri öldürenler (**İnsektisit**)
 - 2- Fungusları öldürenler (**Fungusit**)
 - 3- Fungusların faaliyetini durduranlar (**Fungustatik**)
 - 4- Yabancı otları öldürenler (**Herbisit**)
 - 5- Örümcekleri öldürenler (**Akarisit**)
 - 6- Bakterileri öldürenler (**Bakterisit**)
 - 7- Yaprak bitlerini öldürenler (**Afisit**)
 - 8- Kemirgenleri öldürenler (**Rodentisit**)
 - 9- Nematodları öldürenler (**Nematosit**)
 - 10- Salyangozları öldürenler (**Molluskisit**)
 - 11- Algleri öldürenler (**Algisit**)
 - 12- Kuşları öldüren veya kaçırınlar (**Avenisit**)
 - 13- Kaçırıcılar (**Repllent**)

14- Çekiciler (**Atrakant**)

(<http://ekutup.dpt.gov.tr/imalatsa/kimya/oik603.pdf>)

- **Fizikokimyasal özelliklerine göre;**

- 1- Toz ilaçlar
 - 2- Islanabilir ilaçlar
 - 3- Kuru tohum ilaçları
 - 4- Suda çözünen tozlar
 - 5- Solüsyonlar ya da sulu çözeltiler
 - 6- Emülsiyon konsantre ilaçlar
 - 7- Yazlık kışlık yağlar (beyaz ve sarı yağlar)
 - 8- Granüller
 - 9- Pelletler
 - 10- Aerosoller
 - 11- Zehirli yemler
 - 12- Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar
 - 13- Yağ konsantreleri ve yağ solüsyonları
 - 14- Akıcı konsantreler
 - 15- Çok düşük hacimli ilaçlamaya uygun ya da sulandırılmadan kullanılan formülasyonlar
 - 16- Gübre karışımları
- (Dökmeci ve Dökmeci, 2005)

- **Kimyasal tiplerine göre;**

- 1- Organofosfatlar
- 2- N-metil karbamatlar
- 3- Klorlu hidrokarbonlar
- 4- Bisditiyokarbamatlar
- 5- Organotinler
- 6- Botanik kökenli maddeler
- 7- Arsenikler

8- Fenoksialifatik asitler

9- Piretroidler

10- Fenol türevleri

11- Mikrobiyaller

(Güler ve Çobanoğlu, 1997)

- **Kalıcılıklarına göre;**

1- **Kalıcı olmayanlar:** Birkaç günden-12 haftaya kadar etkisini sürdürenler.

2- **Orta derecede kalıcı:** 1-18 ay arasında dayanabilenler.

3- **Kalıcı olanlar (persistent):** Bir çok klorlu hidrokarbon bu gruba girmektedir. DDT, aldrin, dieldrin gibi maddeler 20 yıl kadar dayanabilmektedir.

4- **Sürekli kalıcılar (permanent):** Civa, kurşun, arsenik.

(Güler ve Çobanoğlu, 1997)

- **Pestisitlerin toksikolojik sınıflandırılması;**

Pestisitler toksikolojik açıdan çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Aşağıdaki örnekte insanlar ve sıcakkanlı hayvanlar üzerinde toksisite bakımından dört sınıfa ayrılmıştır:

	SIVI İLAÇLAR		KATI İLAÇLAR	
	Ağız yoluyla LD ₅₀ değeri	Deri yoluyla LD ₅₀ değeri	Ağız yoluyla LD ₅₀ değeri	Deri yoluyla LD ₅₀ değeri
Çok zehirli	<20 mg/kg	<40 mg/kg	<5 mg/kg	<10 mg/kg
Zehirli	20-200 mg/kg	40-400 mg/kg	5-50 mg/kg	10-100 mg/kg
Orta dereceli zehirli	200-2000 mg/kg	400-4000 mg/kg	50-500 mg/kg	100-1000 mg/kg
Az zehirli	>2000 mg/kg	>4000 mg/kg	>500 mg/kg	>1000 mg/kg

Tabloda yer alan değerler, sıçanlarda akut değerleri cinsinden verilmiştir.

(<http://www.itkb.gov.tr/files/zirai.pdf>).

Her pestisit belirli derecelerde toksisiteye sahiptir ve sağlık açısından “tam guvenceli” bir pestisit yoktur (Vural, 2005). ABD’deki bir yasada pestisitler “ekonomik zehirler” olarak tanımlanmaktadır. Pestisitlerin insanlar üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Yaş, cins, ırk, sağlığın durumu, beslenme düzeni, sosyoekonomik durum, etkilenim sresinin uzunluğu ve biçimi, pestisit konsantrasyonu gibi çeşitli etmenler pestisitlerin etkisi altında kalan kişilerin etkilenimlerini ve sonuçlarını oldukça değiştirmektedir (Güler ve obanoğlu, 1997).

Bitki koruma ilaçlarıyla temas (kazayla karşılaşmalar dışında), imalat sırasında, kullanma sırasında ve ilaç artığı bulunan ürünlerin tüketimi sırasında gerçekleşir. Ağız, deri ve solunum yolları ile insan vücuduna girerler (Gürpınar, 1988).

Pestisitler akut ve kronik etkiye sahiptirler. Pestisitlerin akut etkileri irritasyondan dermatite, sistemik emilişe bağlı olarak lme kadar değişmektedir. Kronik etkileri ise kanser, doğum kusurları, nörotoksisite, nörodavranışsal bozukluklar, nörofizyolojik değişiklikler, üreme ve fertilitte üzerindeki olumsuz etkileri olarak sıralanabilir (Güler ve obanoğlu, 1997).

Pestisitlerin kullanım amaçları genelde bitkileri ve tarım ürünlerini zararlılardan korumak olduğu için bu bitkilerin bulunduğu, insanın ve diğer canlıların yaşadığı çevrede uygulanmaktadırlar (<http://ekutup.dpt.gov.tr/imalatsa/kimya/oik603.pdf>). Pestisitler kullanıldıkları yerlerde toprağı, havayı ve suyu kirleterek ekolojik dengenin bozulmasına neden olmakla beraber, çevrede dayanıklı olanlar (biyolojik parçalanma hızları yavaş olanlar) ve lipide çözünenler, biyoekosistemlerde birikerek tüm canlılar için zararlı olmaktadır (Vural, 2005).

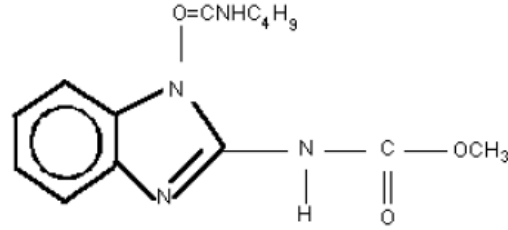
2.1.2. Fungusitler

Fungusitler parazit mantarları ve kfleri yok etmekte ve tohumları, keresteleri, sebzeleri, kağıt ve deri stoklarını korumada kullanılırlar. *Antimikozikler* ya da *antikriptogamikler* olarak da adlandırılırlar (Dökmeci ve Dökmeci, 2005).

Çok kullanılan fungusitlere; civalı bileşikler, bakır bileşikleri, pentaklorofenol, ditiyokarbamatlar, tetrametilthiuram disülfür (thiram), heksaklorobenzen (HCB) örnek gösterilebilir (Vural, 2005).

2.1.2.1. Benomil

Benomil (Metil 1-(butilkarbamoil)-2-benzimidazolkarbamat), sentetik benzimidazol olup, yaygın olarak kullanılan sistemik fungusittir (Igbedioh ve Akinyele, 1992; Min ve Kang, 2008). Antikolinesterazik etkisi olmayan karbamatların imidazol'lü türevidir (Dökmeci ve Dökmeci, 2005). Benzimidazol türevi bileşiklerin fungisidal özellikleri ilk kez Klopping tarafından 1960 yılında bildirilmiştir (Douch, 1973). Dünya Sağlık Örgütü istatistiklerine göre 1988 yılında 70 ürün tipi üzerinde 50 ülkede yaklaşık 1700 ton benomil kullanılmıştır (Min ve Kang, 2008). EPA (Çevre Koruma Ajansı) tarafından teratojenik olarak sınıflandırılan pestisitlerden biridir (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Benomil'in neden olduğu fitotoksik problemlerden dolayı 2002 yılında Amerika'da kullanımı durdurulmuştur (Ho vd., 2007).



Şekil 2.1.2.1.1: Benomil'in kimyasal yapısı.

(Çatalgöl ve Alpertunga, 2008)

Benomil'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Ticari adları ve sinonimleri: Benlate, Tersan, Fungicide 1991, Fundazol

Moleküler formülü: C₁₄H₁₈N₄O₃

Molekül ağırlığı: 290.3 g/mol

Fiziksel hali: Kristalize katı

Densite: 0.38 g/cm³

Çözünürlük: Sudaki çözünürlüğü 25 °C ve pH 5’de 3.6 mg/L

Erime derecesi: 140 °C

(Çatalgöl ve Alpertunga, 2008; <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc148.htm>)

Benomil çevrede yıkım ürünü olan karbendazime hızla indirgenir aynı zamanda biyolojik sistemler de, benomil’i hızla karbendazime metabolize etmektedir (Lim ve Miller, 1997). Karbendazim de ürün korunmasında kapsamlı olarak kullanılmaktadır (Garcia-Reyes vd., 2003). Benomil ve karbendazim, deney hayvanlarında ağız ve solunum yolu maruziyet sonrası hızla, dermal maruziyet sonrası ise kısmen yavaşça absorbe edilmektedir (Çatalgöl ve Alpertunga, 2008). Benomil normalde hayvanlarda 5-hidroksi-2-benzimidazol karbamat (5-HBC)’a kadar metabolize edilir, bu ürün daha sonra idrar veya dışkı yolu ile konjuge ve elimine edilebilmektedir (Igbedioh ve Akinyele, 1992).

2.2. Serbest Radikaller

Normal metabolizmanın bir parçası olarak insanlar, serbest radikal adı verilen ve hücresel elemanlara (özellikle mebran lipidleri ve genetik materyallere) zarar veren kimyasal olarak reaktif maddeler üretirler (Trilling ve Jaber, 1996). Serbest radikaller in vivo, normal metabolik ürün olarak açığa çıkmasının yanında organizmanın oksitleyici özellik taşıyan ajanlara, iyonize edici radyasyona ve doğal durumunda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiyotiklere maruz kalmasıyla da oluşurlar (Özelçi-Kavas, 1989).

Serbest radikaller, atomik ya da moleküler orbitallerinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektrona sahip moleküller ya da moleküler parçalardır. Bu eşlenmemiş elektron ya da elektronlar serbest radikale oldukça önemli derecede reaktivite kazandırır (Valko vd., 2007). Lipid, protein ve nükleik asitler gibi önemli molekülleri tahrip edecek reaksiyonları başlatabilirler. Bir bileşik ilave bir elektron alarak ya da bir elektron kaybederek serbest radikal oluşabilir. Ayrıca homolitik bağ yıkımı ile de

oluşabilmektedirler. Serbest radikaller negatif veya pozitif yüklü veya nötral olabilirler (Delibaş ve Özcankaya, 1995).

Oksijen radikalleri gen transkripsiyonu, hücrelerde çözünür guanilat siklaz aktivitesinin regülasyonu ve sinyal transdüksiyonu gibi kritik etkiler gösterir (Fang vd., 2002). Buna rağmen serbest radikaller proteinler, DNA, lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar verirler. Oksijen radikalleri proteinlerde enzimatik aktivite kaybına ve amino asitlerin karbonil türevlerine dönüşmesine yol açar (Çakatay vd., 2000).

Çoğu dejeneratif hastalık temelini zararlı serbest radikal reaksiyonlarından almaktadır. Bu hastalıklara ateroskleroz, iltihapla bağlantılı hastalıklar, kanser, demans, diabetes, astım ve dejeneratif göz hastalıkları örnek gösterilebilir (Trilling ve Jaber, 1996).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) normal hücresel metabolizmanın ürünleri olan serbest radikallerdir (Valko vd., 2007).

Reaktif oksijen türleri (ROS)

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (Özelçi-Kavas, 1989). Oksijenden türetilen radikaller, canlı sistemlerde üretilen radikal türlerinin en önemli sınıfını temsil eder. Moleküler oksijen (dioksijen) eşlenmemiş elektron konfigürasyonuna sahiptir bu nedenle kendisinde bir radikaldır (Valko vd., 2007). Moleküler oksijen suya kadar indirgenir (Sies, 1997), suya indirgenmesi ardışık univalan basamaklarda gerçekleşir. Bundan dolayı oksijenin bir elektron redüksiyonu mümkündür (Delibaş ve Özcankaya, 1995).

Oksijenin univalan redüksiyonu ve oksijenin suya dönüşümü sırasında oldukça reaktif maddeler ve birçok serbest radikal ürünü meydana gelir (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Dioksijen formlara bir elektron ilavesiyle süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$) oluşur ve süperoksit üretimi genellikle mitokondride gerçekleşir, mitokondrial elektron taşıma sistemi süperoksit için kaynak teşkil eder. Süperoksit radikalının spontan ya da enzimatik dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir. Hidrojen peroksit gerçek bir radikal olmamakla birlikte, hidroksil radikali oluşumuna yol

açabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır. Hidrojen peroksit (H_2O_2)'e bir elektron ve bir proton eklenmesiyle hidroksil radikali ($OH^\bullet$) meydana gelir. Hidroksil radikali ($OH^\bullet$) oluşumu metal iyon bağımlı bir reaksiyondur. Serbest transisyon metalleri (Mn, Cu, Fe) varlığında oluşturulabilir. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak adlandırılır. Süperoksit radikali varlığında, transisyon metalleri Haber Weiss reaksiyonu katalizörleri olarak davranabilirler. Bu reaksiyonda da hidroksil radikalleri oluşur. Hidroksil radikali ($OH^\bullet$) yüksek reaktiviteye sahip olmasından dolayı çok tehlikeli bir radikaldır, in vivo yarı ömrü çok kısadır yaklaşık 10^{-9} sn. (Özelçi-Kavas, 1989; Delibaş ve Özçankaya, 1995; Fang vd., 2002; Valko vd., 2007). Reaktif oksijen türleri için mitokondriler en önemli hücre içi kaynak ve hedeftir (Arivazhagan vd., 2001).

Singlet oksijen oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Işık enerjisinin transferi, nötrofillerin solunum reaksiyonları ya da lipid peroksidasyonu tarafından üretilir (Ames vd., 1993).

Canlı sistemlerde, oksijenden türetilen diğer reaktif radikallere, peroksil radikalleri ($ROO^\bullet$), hidroperoksil ya da perhidroksil radikali ($HOO^\bullet$) ve alkoksil radikali ($RO^\bullet$) örnek gösterilebilir (Delibaş ve Özçankaya, 1995; Valko vd., 2007). Fizyolojik koşullarda vücut tarafından tüketilen oksijenin yaklaşık olarak %1 ile %3'ü süperoksit ve diğer reaktif oksijen türlerine dönüşür (Fang vd., 2002).

Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Nitrik oksit radikali ($NO^\bullet$) yüksek organizmalarda, L-arjinin'in terminal guanido nitrojen atomlarının oksidasyonu ile üretilmektedir. Bu süreç nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile katalizlenir. NOS enzimi L-arjinin'i, sitrüllin ve NO 'e çevirir. Nitrik oksit sentaz (NOS)'ın nöronal NOS (nNOS), uyarılabilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS) olmak üzere üç izoformu vardır. Mikroçevre koşullarına bağlı olarak nitrik oksit radikali ($NO^\bullet$), nitroksil anyonu (NO^-), peroksinitrit ($ONOO^-$) ya da nitrosonyum katyonu (NO^+) gibi diğer reaktif nitrojen türlerine dönüşebilir (Delibaş ve Özçankaya, 1995; Nordberg ve Arner, 2001; Dröge, 2002).

ROS ve RNS düşük ve makul konsantrasyonlarda infeksiyon ajanlarına karşı savunma, birkaç hücrel sinyal yolağı fonksiyonlarında ve mitojenik cevabın indüksiyonu gibi hücrel cevaplarda fizyolojik rollere sahiptirler (Valko vd., 2007).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinin neden olduğı biyolojik hasarlar oksidatif stres ve nitrozatif stres olarak adlandırılır (Valko vd., 2007).

2.3. Antioksidanlar

Halliwell ve Gutteridge antioksidanı, okside olabilir bir substratla kıyaslandığında, düşük konsantrasyonlarda bulunan, anlamlı olarak bu substratın oksidasyonunu geciktiren veya durduran, herhangi bir madde olarak tanımlamışlardır (Aksoy vd., 2005).

Organizmalar çeşitli kaynaklar yoluyla serbest radikallere maruz kalmaktadırlar. Serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif strese karşı antioksidan savunma sistemleri geliştirilmiştir (Valko vd., 2007).

Antioksidanlar, oksijeni uzaklaştırarak ya da lokal oksijen konsantrasyonunu düşürerek; katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak; hidrojen peroksit ve süperoksit gibi anahtar reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak; alkoksil, peroksil ve hidroksil türleri gibi başlatıcı serbest radikalleri temizleyerek; başlatılan dizinin zincirini kırarak; singlet oksijeni baskılayarak ya da temizleyerek etki eder (Gutteridge, 1995).

Normal koşullar altında antioksidanların aktiviteleri ve intrasellüler seviyeleri dengededir. Bu denge organizmaların sağlıkları ve hayatta kalması için gereklidir (Valko vd., 2007).

Antioksidan koruma hücre içinde, radikal oluşumunun önlenmesi; oluşan radikalın durdurulması; radikaller tarafından meydana getirilen oksidatif hasarın onarılması; hasar görmüş moleküllerin eliminasyonunun arttırılması ve mutasyon

başlangıçlarını en aza indirmek için aşırı hasar görmüş moleküllerin onarımlarının yapılmaması gibi çeşitli kademelerde iş görürler (Gutteridge, 1995).

Antioksidanların sınıflandırılması

- İntrasellüler ve ekstrasellüler antioksidanlar
- Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar
- Eksojen ve endojen antioksidanlar
- Lipidde çözünen ve suda çözünen antioksidanlar olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılırlar (Rautalahti ve Huttunen, 1993).

Bazı Önemli Antioksidanlar

❖ Vücutta Sentezlenen Antioksidanlar (Endojen)

- **Enzimatik Antioksidanlar**
 - Süperoksit dismutaz
 - Katalaz
 - Glutasyon peroksidaz
- **Nonenzimatik Antioksidanlar**
 - Bilirubin
 - Lipoik Asit
 - Koenzim Q
 - Ürik Asit
 - Melaninler
 - Albumin
 - Serüloplazmin
 - Transferrin

❖Dışarıdan Diyetle Alınan (Eksojen)

- Askorbik asit (Vitamin C)
- α -Tokoferol (Vitamin E)

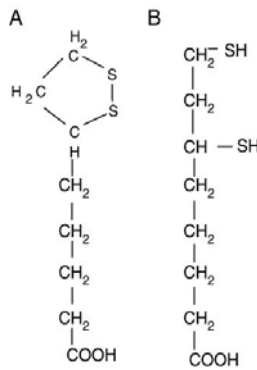
β-Karoten
Flavonoidler
Likopen

(Rautalahti ve Huttunen, 1993; Aksoy vd., 2005)

2.3.1. Alfa lipoik asit

Alfa lipoik asit oktanoik asidin disülfid türevidir. Kimyasal yapısı 1,2-ditiolan-3-valerik asit, ya da 1,2-ditiolan-3-pentanoik asit, ya da 6,8-ditiooktanoik asit, ya da DL-tioktik asit olarak tanımlanır (Sung vd., 2005; Çakatay, 2006). Alfa lipoik asit hem yağda hem de suda çözünür. Erime sıcaklığı 59-62 °C'dir. Sıcaklık ya da ışık altında kararsızdır. ALA enerji üretimi ile ilgili piruvat dehidrogenaz, ketoglutarat dehidrogenaz gibi mitokondrial multienzim komplekslerinin temel kofaktörüdür (Kofuji vd., 2008; Inoue vd., 2009).

İnsan diyetinde normalde yeterli miktarlarda olmasına rağmen lipoik asit sentaz tarafından mitokondride de novo sentezlenir. Diyetten hızla absorbe edilen alfa lipoik asit dokulara taşınarak hücreler tarafından alınır ve hızla dihidrolipoik aside (DHLLA) indirgenir. Barsaklardan absorbe edildikten sonra çeşitli dokularda metabolik değişimler geçirir ve vücuttan atılır. Karaciğer alfa lipoik asit ve metabolitlerinin yapısında tutulması ve biriktirilmesi için en yüksek kapasiteye sahip organdır (Çakatay vd., 2000; Çakatay, 2006).



Şekil 2.3.1.1: α-Lipoik asit (A) ve Dihidrolipoik asidin (B) kimyasal yapısı.

(Gonzalez-Perez ve Gonzalez-Castaneda, 2006)

Alfa lipoik asit çeşitli hücrel enzimatik komplekslerin çok önemli prostetik grubu olmasının yanı sıra oksidatif stresin neden olduğu patolojik durumların tedavisi ya da korunmasında etkili antioksidan terapötik ajan olarak tanımlanmıştır (Skibbska vd., 2006).

Alfa lipoik asidin antioksidan kapasitesi oksidan radikallerle reaksiyona giren tiyol grubunda bulunur. Ayrıca koenzim Q10, glutatyon ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi diğer antioksidan sistemlerinin etkilerini artırarak; vitamin C ve E gibi diğer antioksidanların onarımını yaparak katkı sağlar (Gonzalez-Perez ve Gonzalez-Castaneda, 2006).

ALA veya redüklenmiş formu olan DHLA, lipid ve akuatik fazda bir takım oksijen serbest radikal türlerini baskırlar, geçiş metalleriyle şelat oluşturlar, C vitamini ve glutatyon ile birlikte etki ederek membranları lipid peroksidasyonuna ve protein hasarına karşı korurlar, ALA ayrıca nonenzimatik glikasyonu engeller (Manda vd., 2007).

2.4. Karbohidratlar

Tüm yaşam biçimlerinde yapı, destek maddesi olarak ve enerji değişiminde iş görürler (Karaçalı ve Deveci, 2007). Karbohidratlar monosakkaritler, oligosakkaritler ve polisakkaritler olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Monosakkaritler veya basit şekerler karbon atomlarının arasında oluşan bir glikozidik bağ ile birleşirler. Birkaç şeker molekülünün birleşmesiyle oluşan polimer oligosakkarit olarak adlandırılır. Yüzler veya binlerce şeker söz konusu ise oluşan polimer polisakkaritler olarak adlandırılan makromoleküllerdir.

Glukoz gibi basit şekerler hücrelerin temel besin maddesidir, bunların yıkılımı hem hücrel enerji kaynağını, hem de diğer hücre bileşenlerinin sentezi için başlangıç materyalini sağlarlar. Polisakkaritler ise şekerlerin depo formu ve hücrelerin yapısal bileşenini oluşturlar. Polisakkaritler ile şekerlerin daha kısa polimerleri, proteinlerin uygun intrasellüler hedeflere taşınmaları ve hücrelerin komşularına adezyonu gibi

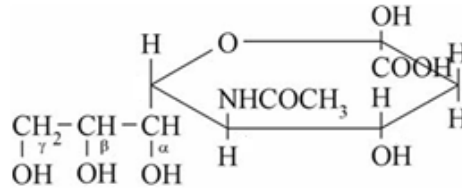
birçok hücrel tanımayı gerektiren olaylarda “marker” belirteç olarak işlev yaparlar (Sakızlı ve Atabey, 2006).

Karbohidratlar lipid ve proteinlerle birleşerek glikokonjugat adı verilen hibrit molekülleri oluştururlar. Glikokonjugatları oluşturan glikoproteinler, proteoglikanlar ve glikolipitlerde oligosakkarit yan zincirleri sırası ile polipeptid ve lipidlere kovalent bağlarla bağlanırlar. Glikokonjugatlar oligosakkarit dizisinde monomerik birimlerin modifikasyonları, sıralanma özellikleri ve glikozilasyon hızlarındaki farklılıklar ile mikroçeşitlilik oluşturarak biyolojik çeşitlilikten asıl sorumlu moleküller olarak iş görürler.

Moleküller ve hücreler arası tanıma olaylarında görev alırlar. Lizozomal enzimlerin veya salgı proteinlerinin yönlendirilmesiyle moleküller ve hücreler arasındaki tanıma olaylarında; embriyonik, otoimmün-alloimmün ilişkiler ve metastazda hücre-hücre tanınmasında, hücre-matriks tanınmasında, zararlıların (virüs, bakteri, protozoa) enfeksiyon ilişkilerinde, hücre göçünde, proteinlerin hücre içi ve hücreler arası trafiğinde görevlidirler. Bazı metabolitlerin belli yerlerde depolanmasında, hücre büyümesinin kontrolünde, sinyal iletiminde rol alırlar (Karaçalı, 2003; Karaçalı ve Deveci, 2007).

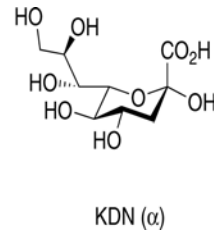
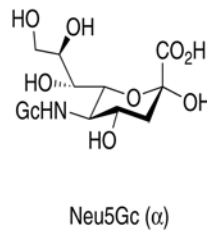
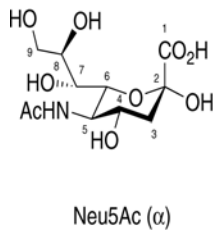
2.5. Sialik Asitler

Sialik asitler dokuz karbonlu şeker nöraminik asidin (5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonic acid) yaklaşık 50 üyelik türevlerini içeren monosakkarit ailesi olarak tanımlanırlar (Traving ve Schauer, 1998; Schauer, 2004). Blix tarafından 1936’da sığır submaksillar bez musininden izole edilmiştir (Iijima vd., 2004). En yaygın formları *N*-asetilnöraminik asit (NeuNAc), 2-keto-3-deoksi-D-gliser-D-galakto-nonulosonic asit (KDN) ve *N*-glikolilnöraminik asittir (NeuNGc) (Hao vd., 2005; Buschiazzo ve Alzari, 2008). Sialik asidin 5. karbonunda amino grubu ve 1. karbonunda karboksil grubu bulunması fizyolojik koşullar altında moleküle negatif yük kazandırır ve kuvvetli organik asit olarak karakterize edilir (Traving ve Schauer, 1998).



Şekil 2.5.1: *N*-asetilnöraminik asidin kimyasal yapısı.

(Di Marco vd., 2006)



Şekil 2.5.2: Sialik asit formları.

(Buschiazzo ve Alzari, 2008)

Sialik asitler doğada her yerde bulunmaz çoğunlukla omurgalılarda ve birkaç patojen bakteride bulunurlar. Memelilerde tipik olarak hücre yüzeyi glikokonjugatları üzerinde terminal bakiyeler olarak bulunurlar, bundan dolayı hücresel tanıma ve adhezif süreçte önemli rol oynarlar. Sialik asit memelilerde her tip dokuda mevcuttur fakat merkezi sinir sisteminde, nöral hücre adezyon molekülleri (NCAM) üzerinde ve polisialik asit polimerleri formunda en yüksek konsantrasyona sahiptir (Hao vd., 2005).

Nöraminik asitlerin çoğu, glikoprotein ve glikosfingolipidlerin N- ve O- bağlı oligosakkaritlerinin en dış kısmında bulunurlar. Glikokonjugatların fonksiyonlarını yerine getirmesinde önemli rol oynarlar (Matsuno ve Suzuki, 2008). Sialik asitler diğer şekerlere α -2,3 ve α -2,6 bağları ve diğer sialik asit moleküllerine α -2,8 bağı ile bağlanırlar (Crocker, 2002). Sialik asitin % 85'i glikokonjugatların protein kısmına, yaklaşık % 15'i lipide bağlı ve çok küçük miktarı da serbest halde bulunur (Merhan ve Özcan, 2004).

Sialik asitler bir takım önemli biyolojik etkilere sahiptir. Biyolojik etkilerdeki çeşitlilik muhtemelen oligosakkarit zincirlerindeki sialik asitlerin konumları, bağ (bağlanma) tipleri ve kimyasal yapıları ile ilişkilidir (Karaçalı vd., 1997).

Sialik asitler negatif yüklerinden dolayı pozitif yüklü moleküllere bağlanarak transportlarını sağlarlar. Hücreler ve moleküller arasında çekme ve itme etkisine sahiptir (Traving ve Schauer, 1998).

Hücrel farklılaşma sırasında hücre yüzeyleri üzerinde sialik asit yoğunluğunda değişiklikler meydana gelir. Sialik asitler oligosakkarit zincirlerin terminal birimleri olarak reseptörlerin tanınmasını önlerler ve onların yıkıma karşı korunmalarını sağlarlar (anti-recognition) (Karaçalı vd., 1997).

Sialik asitlerin moleküller üzerinde ve hücrelerde açığa çıkan konumları ve negatif yüklü olmalarının bir sonucu olarak sialik asitler tanıma alanlarını maskeleyerek ya da hücre tanınmasına ve adezyon sürecine aracılık ederek sinir sistemi embriyogenezi, ya da inflamatuvar ve immün cevap yollarında önemli rol oynarlar (Buschiazzi ve Alzari, 2008).

Sialik asitler, hücrel etkileşimler, membran transportu, glomerüler bazal membran geçirgenliğinin düzenlenmesi için hücrel membranların stabilizasyonunu sağlarlar (Kart vd., 2006).

Sialik asit, bakteriyel ve viral enfeksiyonları engellemek amacıyla mukus viskozitesini artırır. Bir takım in vitro ve hayvan çalışmalarında sialillenmiş oligosakkaritlerin influenza A ve B virüslerinin suşlarını inhibe etmekte antiviral ajanlardan daha etkili oldukları gösterilmiştir. Ayrıca kan koagülasyonunu ve kolesterol düzeylerini etkilerler (Matsuno ve Suzuki, 2008).

Eritrositlerin virüsler tarafından hemaglutinasyonunun inhibisyonunda etkilidir (Merhan ve Özcan, 2004).

2.6. Glikozaminoglikanlar (GAG)

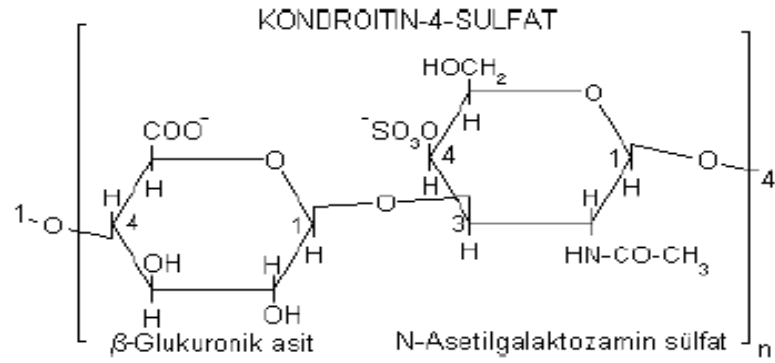
Ekstrasellüler matriksin makromolekülleridir. Glikozaminoglikanlar tekrarlayan disakkarit birimlerinin dallanmamış zincirlerini içeren polisakkaritlerdir. Şekerlerden biri bir amino şekerdir (N-asetilgalaktozamin veya N-asetilglukozamin), diğeri ise bir uronik asittir. Karbonil ve sülfat grubundan dolayı çok fazla negatif yüklüdürler. Hücrelerdeki en anyonik molekulardır (Worall vd., 1994; http://www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/390/Ekstraseluler_Matriks.pdf).

Kondroitin, dermatan, keratan, heperan ve hiyaluronan omurgalı dokularında geniş dağılım gösterirler. Hiyaluronan hariç diğer bütün GAG'lar sülfat grubu taşırlar ve proteoglikanları oluşturmak için çekirdek proteinlerine nötral trisakkaridler yolu ile kovalent olarak bağlanırlar (Worall vd., 1994). Proteoglikanlar hücre dışı matris bileşeni olmalarının yanı sıra, bazı proteoglikanlar hücrelerin adezyonunda ve integrinlerle birlikte sinyal iletiminde rol alırlar. Kollajenler ve diğer matris proteinleriyle etkileşerek, jelimsi ağlar oluştururlar (Sakızlı ve Atabey, 2006).

2.6.1. Kondroitin-4-sülfat

Tekrarlayan ünite β -glukuronik asit ve N-asetilgalaktozamindir. Sülfat kökünün 4. veya 6. karbonlara bağlanmasına göre kondroitin-4-sülfat ve kondroitin-6-sülfat olmak üzere iki formu vardır. Kondroitin sülfat kıkırdak dokusunun en önemli ara maddesidir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/M057a.ppt>), kıkırdak, kornea, kemik, kalp ve arterde bulunur (http://www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/390/Ekstraseluler_Matriks.pdf).

CS artiküler kıkırdak proteoglikan elemanıdır ve artiküler kıkırdağın elastikiyet fonksiyonlarında önemli rol oynar (Ha ve Lee, 2003).



Şekil 2.6.1.1: Kondroitin-4-sülfatın kimyasal yapısı.

(<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/M057a.ppt>)

Kondroitin-4-sülfat (C4S) yumuşak bağ dokuda ekstrasellüler matriksin temel sülfatlanmış glikozaminoglikanıdır. Kondroitin-4-sülfat, dermatan sülfat (DS) ve kondroitin-6-sülfat predominant formlardır; doğal olarak meydana gelen sülfatlanmamış ve fazla-sülfatlanmış formları bilinir. Kondroitin sülfat ve hiyaluronan doku bütünlüğünü korumak için fibröz ağ boşluklarını doldururlar. CS ayrıca bağ dokuda hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak muhtemelen hücrel adezyon ve göçte önemlidir. C4S, DS ve C6S sınırlı ve karakteristik doku dağılımı gösterir. C4S ve DS kollajenöz interstisyel matrikste, lenfosit adezyonunda etkili olmasından dolayı venül endotellerinde bulunur (Worrall vd., 1994). C4S plateletlerde bulunur, bununla birlikte platelet aktivasyonu sırasında serbest kalır (Donato vd., 1996). CS artiküler kıkırdak ekstrasellüler matriksinin temel bileşenidir. C4S, malarya ile infekte olmuş alyuvarların adezyonunda rol alır (Lauder vd., 2000).

Kıkırdaktaki proteoglikanların büyük bir bölümünü oluşturan agrekan, bir protein çekirdeğe kovalent bağlarla bağlanmış olan kondroitin-4-sülfat, kondroitin-6-sülfat ve keratan sülfat molekülerini içerir (Turhanoğlu ve Erdoğan, 2001). Hiyaluronik asit ve C4S'ın, Fe^{2+} veya Cu^{2+} gibi geçiş metal iyonlarıyla şelat oluşturarak lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri ve GAG'ların antioksidan özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir (Campo vd., 2004).

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Materyal

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 18.02.2008 tarih ve 2008/02.01 sayılı karar ile onaylanmıştır. Bu çalışmada, ergin *Wistar albino* (200-350 gr.) erkek sıçanlar kullanıldı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Biriminden temin edilen hayvanlar, deney için her biri on hayvan içeren beş gruba ayrıldı. Bakım ve beslenmeleri T.Ü. Deney Hayvanları Biriminde yapılan hayvanlar, deney süresi boyunca içilebilir çeşme suyu ve standart pellet yem ile beslendi, 21°C sıcaklıkta ve 12 saat gündüz 12 saat gece ışık periyodunda barındırıldı.

Deney grupları aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı:

1. **Grup: Kontrol Grubu**
2. **Grup: Benomil Grubu:** Beş hafta süreyle haftada bir kez olmak üzere intraperitoneal (IP) enjeksiyon yoluyla, benomil (Cornell) 200 mg/kg'lık dozda (Banks ve Soliman, 1997) mısır yağı (1.5 ml/kg) içerisinde (Lim ve Miller, 1997) çözülerek hayvanlara uygulandı.
3. **Grup: Benomil + α -Lipoik asit (ALA) Grubu:** Beş hafta süreyle haftada bir kez olmak üzere intraperitoneal (IP) enjeksiyon yoluyla α -Lipoik asit (Fluka) 200 mg/kg'lık dozda (Manda vd., 2007) serum fizyolojik (1.0 ml/kg) içerisinde (Campo vd., 2004) çözülerek hayvanlara uygulandı. Uygulamadan 30 dk. sonra (Rybak vd., 1999), benomil (Cornell) 200 mg/kg'lık dozda (Banks ve Soliman, 1997) mısır yağı (1.5 ml/kg) içerisinde (Lim ve Miller, 1997) çözülerek uygulandı.
4. **Grup: Benomil + Kondroitin-4-Sülfat (C4S) Grubu:** Beş hafta süreyle haftada bir kez olmak üzere intraperitoneal (IP) enjeksiyon yoluyla Kondroitin-4-sülfat (Fluka) 25 mg/kg'lık dozda serum fizyolojik (1.0 ml/kg) içerisinde (Campo vd., 2004) çözülerek hayvanlara uygulandı.

Uygulamadan 30 dk. sonra (Rybak vd., 1999), benomil (Cornell) 200 mg/kg'lık dozda (Banks ve Soliman, 1997) mısır yağı (1.5 ml/kg) içerisinde (Lim ve Miller, 1997) çözülerek uygulandı.

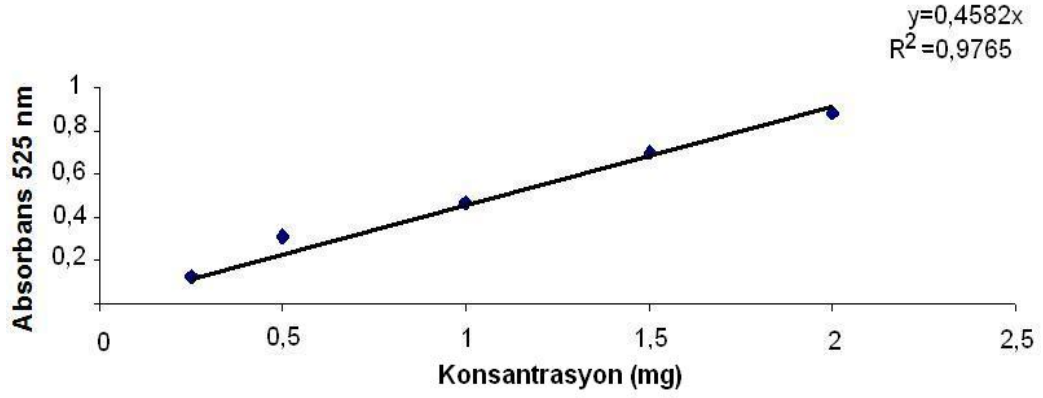
- 5. Grup: Benomil + ALA + C4S Grubu:** Beş hafta süreyle haftada bir kez olmak üzere intraperitoneal (IP) enjeksiyon yoluyla α -Lipoik asit (Fluka) 200 mg/kg'lık dozda (Manda vd., 2007) serum fizyolojik (1.0 ml/kg) içerisinde çözülerek hayvanlara uygulandı. Daha sonra kondroitin-4-Sülfat (Fluka) 25 mg/kg'lık dozda serum fizyolojik (1.0 ml/kg) içerisinde (Campo vd., 2004) çözülerek uygulandı. ALA ve C4S uygulamasından 30 dk. sonra (Rybak vd., 1999), benomil (Cornell) 200 mg/kg'lık dozda (Banks ve Soliman, 1997) mısır yağı (1.5 ml/kg) içerisinde (Lim ve Miller, 1997) çözülerek uygulandı.

5 haftalık deney süresi sonunda, Rompun (5mg/kg) ve Ketazol %10 (1 ml/kg) kullanılarak anestezi altına alınan hayvanların kalp kanı alındı, karaciğer, dalak, böbrek, testis ve kalp dokuları çıkarıldı. Kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi (Balkan ve Aktaş, 2005). Kan serumu ve serum fizyolojik içerisine alınan dokular analizleri yapılana kadar -80 °C' de saklandı.

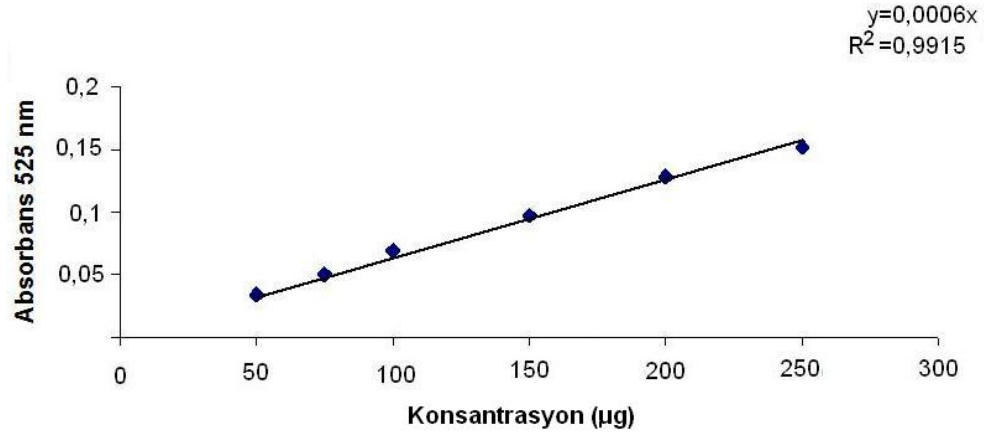
3.2. Metod

3.2.1. Sialik asit standart grafiklerinin hazırlanışı

Fosfat tamponu (pH 7.4, 0.1 M) kullanılarak 0,3 mg/10 ml *N*-asetil nöraminik asit çözeltisi hazırlanmış, hazırlanan bu stok çözelti seyreltilerek belli konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanarak doku ve serum sialik asit standart grafikleri elde edilmiştir.



Çizelge 3.2.1.1. Serum Sialik Asit Standart Grafiği.



Çizelge 3.2.1.2. Doku Sialik Asit Standart Grafiği.

3.2.2. Serum sialik asit tayini

- Serumdan alınan 0.2 ml örnek üzerine 1.5 ml %5'lik perklorik asit eklendi.
- 100 °C'de 5 dakika inkübe edildi.
- Soğutulduktan sonra 2500x g'de 4 dakika santrifüj edildi.
- Alınan 1 ml süpernatant üzerine 0.2 ml Ehrlich's reaktifi eklendi.
- 100 °C'de 15 dakika inkübe edildi.
- Soğutulduktan sonra 525 nm'de spektrofotometrik (Shimadzu UV-VIS) ölçümleri yapıldı.

- Serum sialik asit miktarları hazırlanan standart grafiklere göre değerlendirildi (Sydow, 1985; Karaçalı vd., 1995).

3.2.3. Doku sialik asit tayini

- Doku örnekleri, fosfat tamponu (pH 7.4, 0.1 M) içerisinde Glas-Col marka cam-cam homojenizatörde 500 rpm'de 5 dk. homojenize edildi.
- Homojenattan alınan 0.2 ml örnek üzerine 1.5 ml %5'lik perklorik asit eklendi.
- 100 °C'de 5 dakika inkübe edildi.
- Soğutulduktan sonra 2500x g'de 4 dakika santrifüj edildi.
- Alınan 1 ml süpernatant üzerine 0.2 ml Ehrlich's reaktifi eklendi.
- 100 °C'de 15 dakika inkübe edildi.
- Soğutulduktan sonra 525 nm'de spektrofotometrik (Shimadzu UV-VIS) ölçümleri yapıldı.
- Doku sialik asit miktarları hazırlanan standart grafiklere göre değerlendirildi (Sydow, 1985; Karaçalı vd., 1995).

3.2.4. İstatistiksel analizler

İstatistiksel değerlendirme, SN: AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA 7.1 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk normallik testleri ile bakıldıktan sonra normal dağılım göstermediği için gruplar arası kıyaslamalarda Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak Median (Min-Max) değerleri verildi. Tüm istatistikler içim anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak seçildi.

3.2.5. Kullanılan çözeltiler

<u>Serum Fizyolojik (%0.9 NaCl)</u>	: 9 gr NaCl bir miktar distile suda çözüldü son hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
<u>%5'lik Perklorik Asit</u>	: 8.3 ml Perklorik asit alındı son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
<u>Ehrlich Reaktifi</u>	: 2 gr p-dimetilaminobenzaldehit, %20'lik HCl

4. BULGULAR

4.1. Doku Total Sialik Asit Sonuçları

Karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve testis dokularına ait sialik asit sonuçları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de belirtilmiştir. Benomil grubuna ait hayvanların dokularından dalak ve testislerde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. Diğerlerinde anlamlı olmasa da hafif bir artış görülmektedir. Benomil+ALA; Benomil+C4S ve Benomil+C4S+ALA gruplarında ise, sialik asit miktarı kontrol ve benomil gruplarına göre karaciğerde azalmıştır ($p<0,05$). Böbrekte, Benomil+ALA+C4S grubunda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). Kalpte tüm gruplarda anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür. Dalak ve testislerde ise, benomil grubundaki artışla kıyaslandığında, tüm gruplarda sialik asit miktarı azalmıştır ($p<0,05$).

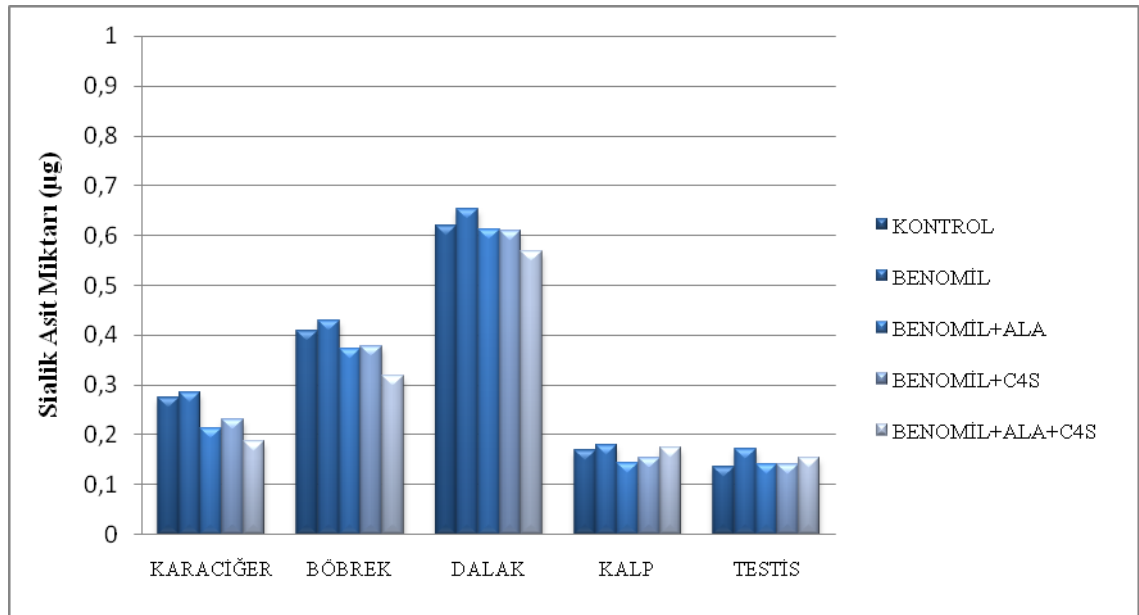
4.2. Serum Total Sialik Asit Sonuçları

Serum TSA miktarlarında Benomil+ALA grubunda kontrole oranla anlamlı bir yükselme gözlenirken, Kontrol-Benomil; Kontrol-Benomil+C4S; Kontrol-Benomil+C4S+ALA gruplarında anlamlı olmasa da bir yükselme gözlenmiştir (Çizelge 4.1. ve 4.3.).

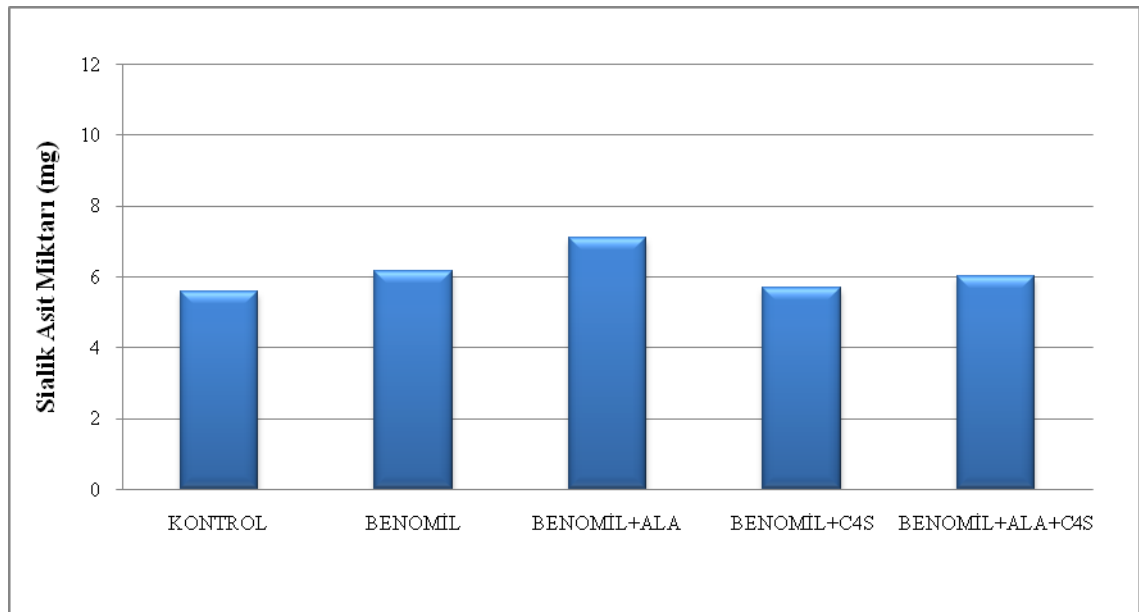
Deney grupları	Karaciğer sialik asit miktarı (µg)	Böbrek sialik asit miktarı (µg)	Dalak sialik asit miktarı (µg)	Kalp sialik asit miktarı (µg)	Testis sialik asit miktarı (µg)	Serum sialik asit miktarı (mg)
Kontrol grubu	0.27460±0.076324 0.23700(0.225-0.416)	0.4081±0.04546 0.4000(0.35-0.48)	0.62060±0.050036 0.63300(0.508-0.683)	0.16800±0.029314 0.15800(0.141-0.233)	0.13540±0.040195 0.12900(0.091-0.241)	5.5840±0.39669 5.5750(4.89-6.20)
Benomil grubu	0.28550±0.051857 0.29550(0.200-0.366)	0.4281±0.06876 0.4330(0.34-0.53)	0.65210±0.048832* 0.66650(0.533-0.691)	0.17890±0.039003 0.18300(0.125-0.241)	0.17220±0.021684* 0.17050(0.150-0.216)	6.1520±1.05826 5.9950(4.53-8.26)
Benomil+ALA grubu	0.21414±0.051181* 0.18300(0.175-0.300)	0.3730±0.10160 0.3705(0.18-0.60)	0.61157±0.020895* 0.60000(0.591-0.641)	0.14371±0.021430 0.14100(0.116-0.183)	0.14143±0.028171* 0.12500(0.116-0.183)	7.1014±1.16159* 7.1400(5.57-9.21)
Benomil+C4S Grubu	0.23088±0.039977* 0.23700(0.166-0.300)	0.3777±0.02828 0.3705(0.34-0.43)	0.61025±0.022569* 0.60400(0.583-0.658)	0.15475±0.016628 0.15400(0.133-0.183)	0.14025±0.011511* 0.14100(0.116-0.150)	5.6713±0.38632 5.7700(4.93-6.11)
Benomil+ALA+C4S grubu	0.18800±0.017000* 0.18300(0.175-0.216)	0.3180±0.02375* 0.3160(0.30-0.36)	0.56800±0.019079* 0.56600(0.550-0.600)	0.17480±0.020413 0.18300(0.150-0.200)	0.15320±0.004382* 0.15000(0.150-0.158)	6.0000±0.44637 6.1900(5.26-6.40)

Çizelge 4.1. Benomil, Benomil+ALA, Benomil+C4S, Benomil+ALA+C4S’ın dokular ve serumdaki sialik asit miktarları.

* (p<0,05) istatistiksel olarak anlamlı, tablo değerleri aritmetik ortalama ± SS(Std. Deviation) ve Median (Min-Max) olarak verilmiştir.



Çizelge 4.2. Doku sialik asit miktarları.



Çizelge 4.3. Serum sialik asit miktarları.

5. TARTIŞMA

İnsanoğlu tarım alanlarında daha fazla ve kaliteli ürün elde etmek için, ürüne zarar verebilecek canlılardan korumak amacıyla pestisitleri kullanmaktadır. Ancak pestisitler ürün için yarar sağlarken besin zinciri yoluyla diğer canlılar ve insanlar tarafından da alınabilmektedir. Bu nedenle, son yıllarda pestisitlerin toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarla birlikte, bu maddelere karşı korunma mekanizmalarının araştırıldığı çalışmalar da önem kazanmıştır.

Çeşitli yollarla organizmaya giren kimyasal maddelerin (ksenobiyotikler) organizmada oluşturabileceği toksik etkiler çeşitli yollarla araştırılabilir. Bu yollardan birisi de bu maddelerin hücrelerde oluşturabileceği oksidatif stresin araştırılmasıdır.

Oksidatif strese bağlı olarak serbest radikal oluşumunun artması lipid peroksidasyonuna neden olur ki bunun sonucu da hücresel membranların yıkımıdır. Membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikallerin temel hedefidir ve bunların saldırısı ile, sonuçta lipid peroksidasyonuna giden zincir reaksiyonlar başlar. Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden biri MDA (Malondialdehid)'dır (De Zwart vd., 1999; Kart vd., 2007; Yapar vd., 2007). MDA'ya ilave olarak, hücre membran glikolipitlerinin terminal bakiyelerinde yer alan sialik asitlerin salgılanmasının da hücre membran yıkımının ve/veya lipid peroksidasyonunun bir sonucu olabileceği Yapar ve arkadaşları tarafından ileri sürülmektedir (Yapar vd., 2007). Bu araştırmacılara göre, salgılanan SA plazmaya geçer ve plazma SA konsantrasyonunda yükselmeye neden olur ve bu yükselme hücresel membranlardaki glikolipitlerin yapısal bütünlüğündeki değişikliği yansıtabilir. Bugüne kadar yapılan pek çok araştırmada, çeşitli hastalıklarda serum SA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Sillanauke vd., 1999; Babal vd., 2006).

Serbest radikallerin zararlı etkilerini yok etmek ve oksidan maddelerin hasarını azaltmak için pek çok antioksidan madde araştırılmıştır. Bunlar arasında kondroitin-4-sülfat (Ha ve Lee, 2003; Campo vd., 2004) ve α -lipoik asit (Skibska vd., 2006; Manda vd., 2007) son yıllarda önem kazanmıştır.

Bu çalışmada, lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinen (Suwalsky vd., 2000) fungusit benomil'e karşı α -lipoik asit ve C4S'in tek başlarına ve birlikte uygulandıklarında oluşabilecek koruyucu etkileri, muhtemel lipid peroksidasyon ürünü olan SA'nın (Kart vd., 2007; Yapar vd., 2007) doku ve serum miktarları ölçülerek araştırıldı.

Yapar ve ark., yağ asit metabolizmasında önemli bir kofaktör olan ve antioksidan özelliğe sahip L-karnitin'in farelerde üç farklı dozunun (100, 250 ve 500 g/kg) serum TSA miktarlarında doza bağlı bir azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (Yapar vd., 2007). Yine, bir başka çalışmada (Kart vd., 2007), kardiotoksik etkili bir antibiyotik olan tilmicosin'e karşı L-karnitin'in çeşitli fare dokularında TSA düzeyinde azalmaya neden olduğu ve antioksidatif özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada da, benzer sonuçlar elde edilmiştir. α -Lipoik asit ve C4S'in benomil'le birlikte tek tek ve birlikte uygulanmalarında karaciğer, dalak ve testis TSA miktarlarında önemli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür.

ALA ve C4S' in birlikte uygulanması halinde TSA'daki azalma bazı dokularda daha fazladır. Bu çalışmada elde edilen serum TSA miktarı sonuçları da, Yapar ve ark.'nın sonuçlarını destekler niteliktedir. Serum TSA miktarı çok anlamlı olmasa da, kontrole oranla artış göstermiştir. Bu artış, araştırmacıların ifade ettiği gibi, dokularda benomil'e bağlı lipid peroksidasyonu sonucunda serbest kalan SA'nın plazmaya geçtiği ve serum TSA miktarında artışa neden olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Sonuç olarak, sialik asitlerin lipid peroksidasyonunun bir yıkım ürünü olabileceği; lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde bir parametre olabileceği; ALA ve C4S'in her birinin antioksidatif özelliğe sahip oldukları ve ikisinin birlikte uygulanması durumunda korunmanın daha kuvvetli olabileceği söylenebilir. Bu sonuçların, konuyla ilgili yapılacak daha ayrıntılı araştırmalar için bir ön çalışma olarak katkı sağlayacağı kuşkusuzdur.

KAYNAKLAR

AKSOY H., AKSOY Ö., GÜN K., KOYUNCU H., GÜN N. (2005) : Osteoartritte antioksidan tedavi. *Hipokrat Lokomotor*, cilt 6 sayı 34: 325-331.

AMES B.N., SHIGENAGA M.K., HAGEN T.M. (1993) : Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 90, pp. 7915-7922.

ARIVAZHAGAN P., RAMANATHAN K., PANNNEERSELVAM C. (2001) : Effect of DL- α -lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria of aged rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12: 2–6.

BABAL P., JANEGA P., CERNA A., KHOLOVA I., BRABENCOVA E. (2006) : Neoplastic transformation of the thyroid gland is accompanied by changes in cellular sialylation. *Acta histochemica*, 108: 133-140.

BALKAN S., AKTAÇ T. (2005) : Study on the liver functions in rats exposed to benomyl. *Journal of Biological Sciences*, 5(5): 666-669.

BANKS D., SOLIMAN M.R.I. (1997) : Protective effects of antioxidants against benomyl-induced lipid peroxidation and glutathione depletion in rats. *Toxicology* 116:177-181.

BUSCHIAZZO A., ALZARI P.M. (2008) : Structural insights into sialic acid enzymology. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12: 565–572.

CAMPO G.M., AVENOSO A., CAMPO S., D’ASCOLA A., FERLAZZO A.M., CALATRONI A. (2004) : The antioxidant and antifibrogenic effects of the glycosaminoglycans hyaluronic acid and chondroitin-4-sulphate in a subchronic rat model of carbon tetrachloride-induced liver fibrogenesis. *Chemico-Biological Interactions* 148:125–138.

CROCKER P.R. (2002) : Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell–cell interactions and signalling. *Current Opinion in Structural Biology*, 12:609–615.

CUMMINGS A.M., HARRIS S.T., REHNBERG G.L. (1990) : Effects of methyl benzimidazolecarbamate during early pregnancy in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 15: 528-535.

ÇAKATAY U., TELCİ A., KAYALI R., SİVAS A., AKÇAY T. (2000) : Effect of α -lipoic acid supplementation on oxidative protein damage in the streptozotocin-diabetic rat. *Res Exp Med*, 199: 243–251.

ÇAKATAY U. (2006) : Pro-oxidant actions of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Medical Hypotheses*, 66:110-117.

ÇATALGÖL S., ALPERTUNGA B. (2008) : Benzimidazol Grubu Pestisidlerden Benomyl ve Carbendazimin Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

DANE F., DALGIÇ Ö. (2005) : The effects of fungicide benomyl (Benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem. *Acta Biologica Hungarica*, 56(1-2): 119-128.

DELİBAŞ N., ÖZCANKAYA R. (1995) : Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2 (3): 11-17.

DE ZWART L.L., MEERMAN J.H.N., COMMANDEUR J.N.M., VERMEULEN N.P.E. (1999) : Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 202–226.

DI MARCO V.B., KAROLY-LAKATOS A., VENZO A., BERTANI R., SERAGLIA R., KISS T. (2006) : The aluminium(III)–sialic acid interaction: A potential role in aluminium-induced cellular membrane degeneration. *Inorganica Chimica Acta*, 359: 4227–4234.

DONATO J.L., MARCONDES S., ANTUNES E., NOGUEIRA M.D., NADER H.B., DIETRICH C.P., RENDU F., DE NUCCI G. (1996) : Role of chondroitin 4-sulphate as a receptor for polycation induced human platelet aggregation. *British Journal of Pharmacology*, 119: 1447-1453.

DOUCH P.G.C. (1973) : The metabolism of benomyl fungicide in mammals. *Xenobiotica*, Vol. 3, No. 6, 367-380.

DÖKMECİ İ., DÖKMECİ A.H. (2005) : Toksikoloji Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Yeniden Düzenlenmiş IV. Baskı. *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, s. 582- 602.

DRÖGE W. (2002) : Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.

DUENSCHÉDE F., ERBES K., RIEGLER N., EWALD P., KIRCHER A., WESTERMANN S., SCHAD A., MIESMER I., ALBRECHT-SCHÖCK S., GOCKEL I., KIEMER A.K., JUNGINGER T. (2007) : Protective effects of ischemic preconditioning and application of lipoic acid prior to 90 min of hepatic ischemia in a rat model. *World J. Gastroenterol*, 13(27): 3692-3698.

FANG Y.Z., YANG S., WU G. (2002) : Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18: 872– 879.

GARCIA-REYES J.F., ORTEGA-BARRALES P., MOLINA-DIAZ A. (2003) : Gel-surface enhanced fluorescence sensing system coupled to a continuous-flow assembly for simultaneous monitoring of benomyl and carbendazim. *Analytica Chimica Acta*, 493: 35–45.

GONZALEZ-PEREZ O., GONZALEZ-CASTANEDA R.E. (2006) : Therapeutic perspectives on the combination of α -lipoic acid and vitamin E. *Nutrition Research*, 26: 1– 5.

GUTTERIDGE J.M.C. (1995) : Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *CLIN. CHEM.* 41/12, 1819-1828.

GÜLER Ç., ÇOBANOĞLU Z. (1997) : Pestisitler. *Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi* No: 52, I. Basım, Ankara, s. 9-43.

GÜRPINAR E. (1988) : 2000 Yılı'nın tehlikelisi pestisitler. *İdare Hukuku ve İlimleri Dergisi*, Sayı 1-3, Yıl 9: 199-207.

HA B.J., LEE J.Y. (2003) : The effect of chondroitin sulfate against CCl₄-induced hepatotoxicity. *Biol. Pharm. Bull.*, 26(5) 622-626.

HAO J., BALAGURUMOORTHY P., SARILLA S., SUNDARAMOORTHY M. (2005) : Cloning, expression, and characterization of sialic acid synthases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338: 1507–1514.

HESS R.A., NAKAI M. (2000) : Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl. *Histol Histopathol*, 15: 207-224.

HO M.H., LIN K.Y., WANG Y.S. (2007) : Formulation factors that can reduce the formation of the phytotoxic impurity, *N,N'*-dibutylurea, from benomyl. *Chemosphere*, 68: 1465–1473.

IGBEDIOH SO., AKINYELE IO. (1992) : Effect of benomyl toxicity on some liver constituents of albino rats. *Archives of Environmental Health*, 47: 314-317.

IJIMA R., TAKAHASHI H., NAMME R., IKEGAMI S., YAMAZAKI M. (2004) : Novel biological function of sialic acid (*N*-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. *FEBS Letters*, 561: 163-166.

INOUE T., SUDO M., YOSHIDA H., TODOROKI K., NOHTA H., YAMAGUCHI M. (2009) : Liquid chromatographic determination of polythiols based on pre-column excimer fluorescence derivatization and its application to α -lipoic acid analysis. *Journal of Chromatography A*, (Baskıda).

KARAÇALI S., DEVECİ R., DEVECİ Ö., ONAT T., GÜRCÜ B. (1995) : Spectrophotometrical determination of sialic acid in the tissues of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *İstanbul Üniv. Fen Fak. Biyoloji Der.*, 58: 59-67.

KARAÇALI S., KIRMIZIGÜL S., DEVECİ R., DEVECİ Ö., ONAT T., GÜRCÜ B. (1997) : Presence of sialic acid in prothoracic glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *Tissue & Cell*, 29 (3) 315-321.

KARAÇALI S. (2003) : Glikobiyoloji Güncel Moleküler Biyoloji. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 27:489-495.

KARAÇALI S., DEVECİ R. (2007) : Biyomoleküller ve Hücre. YILDIRIM A., BARDAKÇI F., KARATAŞ M., TANYOLAÇ B. (Editörler). Moleküler Biyoloji Protein Sentezi ve Yıkımı'nda. 1. Basım. *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, s. 23-28.

KART A., YAPAR K., KARAPEHLIVAN M., TUNCA R., OGUN M., CITIL M. (2006) : Effects of L-Carnitine on kidney histopathology, plasma and tissue total sialic acid, malondialdehyde and glutathione concentrations in response to gentamicin administration in Balb/C mice. *Revue Med. Vet.*, 157, 4:179-184.

KART A., KARAPEHLIVAN M., YAPAR K., CITIL M., AKPINAR A. (2007) : Protection through L-carnitine on tissue oxidant status and sialic acid content in tilmicosin-induced alterations in BALB/c mice. *ACTA VET. BRNO*, 76: 203–207.

KOFUJI K., NAKAMURA M., ISOBE T., MURATA Y., KAWASHIMA S. (2008) : Stabilization of α -lipoic acid by complex formation with chitosan. *Food Chemistry*, 109: 167-171.

LAUDER R.M., HUCKERBY T.N., NIEDUSZYNSKI I.A. (2000) : Increased incidence of unsulphated and 4-sulphated residues in the chondroitin sulphate linkage region observed by high-pH anion-exchange chromatography. *Biochem. J.*, 347: 339-348.

LIM J., MILLER M.G. (1997) : The role of the benomyl metabolite carbendazim in benomyl-induced testicular toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142: 401–410.

MANDA K., UENO M., MORITAKE T., ANZAI K. (2007) : α -Lipoic acid attenuates x-irradiation-induced oxidative stress in mice. *Cell Biol Toxicol*, 23: 129-137.

MATSUNO K., SUZUKI S. (2008) : Simple fluorimetric method for quantification of sialic acids in glycoproteins. *Analytical Biochemistry*, 375: 53–59.

MERHAN O., ÖZCAN A. (2004) : Kazlarda serum seruloplazmin ve total sialik asit düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 10(2): 139-142.

MIN E.Y., KANG J.C. (2008) : Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92: 138–143.

NORDBERG J., ARNER E.S.J. (2001) : Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 31, No. 11, pp. 1287–1312.

ÖZELÇİ-KAVAS G. (1989) : Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*, Cilt 9, Sayı 1: 1-8.

PIRES DAS NEVES R.N., CARVALHO F., CARVALHO M., FERNANDES E., SOARES E., BASTOS M.D.L., PEREIRA M.D.L. (2004) : Protective activity of hesperidin and lipoic acid against sodium arsenite acute toxicity in mice. *Toxicologic Pathology*, 32:527–535.

RAUTALAHTI M., HUTTUNEN J. (1993) : Antioxidants and carcinogenesis. *Annals of Medicine*, 25: 435-441.

RYBAK L.P., HUSAIN K., WHITWORTH C., SOMANI S.M. (1999) : Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. *Toxicological Sciences*, 47: 195-202.

SAKIZLI M., ATABEY N. (2006) : (Çeviri Editörleri). Hücre Moleküler Yaklaşım 3. Baskı. *İzmir Tıp Kitabevi*, İzmir, s. 42, 526.

SCHAUER R. (2004) : Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man. *Zoology*, 107: 49–64.

SIES H., (1997) : Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82: 291-295.

SILLANAUKKEE P., PÖNNIÖ M., JAASKELAINEN I.P. (1999) : Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur. J.Clin. Invest.*, 29:413-425.

SKIBSKA B., JOZEFOWICZ-OKONKWO G., GORACA A. (2006) : Protective effects of early administration of alpha-lipoic acid against lipopolysaccharide-induced plasma lipid peroxidation. *Pharmacological Reports*, 58:399-404.

SORIA E.A., EYNARD A.R., QUIROGA P.L., BONGIOVANNI G.A. (2007) : Differential effects of quercetin and silymarin on arsenite-induced cytotoxicity in two human breast adenocarcinoma cell lines. *Life Sciences* 81: 1397–1402.

SOROUR J., LARINK O. (2001) : Toxic effects of benomyl on the ultrastructure during spermatogenesis of the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 50: 180-188.

SUNG M.J., KIM W., AHN S.Y., CHO C.H., KOH G.Y., MOON S.O., KIM D.H., LEE S., KANG K.P., JANG K.Y., PARK S.K. (2005) : Protective effect of α -lipoic acid in lipopolysaccharide-induced endothelial fractalkine expression. *Circ Res.*, 97: 880-890.

SUWALSKY M., BENITES M., NORRIS B., SOTOMAYOR P. (2000) : Toxic effects of the fungicide benomyl on cell membranes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 125: 111–119.

SYDOW G. (1985) : A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed. Biochim. Acta*, 44 11/12: 1721-1723.

TRAVING C., SCHAUER R. (1998) : Structure, function and metabolism of sialic acids. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 54: 1330-1349.

TRILLING J.S., JABER R. (1996) : Selections from current literature: the role of free radicals and antioxidants in disease. *Family Practice*, Vol. 13, No. 3: 322-326.

TURHANOĞLU A.D., ERDOĞAN F. (2001) : Osteoartritte moleküler belirleyiciler. *T Klin FTR*, 1:183-188.

VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M.T.D., MAZUR M., TELSER J., (2007) : Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44–84.

VURAL N. (2005) : Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* No:73, Ankara, 344-395.

WORRALL J.G., WILKINSON L.S., BAYLISS M.T., EDWARDS J.C.W. (1994) : Zonal distribution of chondroitin-4-sulphate/dermatan sulphate and chondroitin-6-sulphate in normal and diseased human synovium. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 53: 35-38.

YAPAR K., KART A., KARAPEHLIVAN M., CITIL M. (2007) : Dose-dependent effects of L-carnitine on blood sialic acid, MDA and GSH concentrations in BALB/c mice. *Acta Veterinaria* (Beograd), Vol. 57, No. 4, 321-327.

YÜCER M. M., (2008) : Ruhsatlı Tarım İlaçları 2008. *Hasad Yayıncılık*, İstanbul, s. 66-123.

Elektronik Kaynaklar

<http://www.atal.tubitak.gov.tr/istanbul/HamideSenyuva.pdf>

<http://ekutup.dpt.gov.tr/imalatsa/kimya/oik603.pdf>

<http://www.itkb.gov.tr/files/zirai.pdf>

<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc148.htm>

http://www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/390/Ekstraseluler_Matriks.pdf

<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/M057a.ppt>