



Erciyes University Journal of the Institute of Science and Technology
Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

ISSN 1012-2354

Cilt (Volume): 32, Sayı (Issue): 1, Ocak/January-2016

<http://fbe.erciyes.edu.tr/>



Albino Farelerde Dinikanazol Toksisitesine Karşı Üzüm Çekirdeği Özütünün Koruyucu Rolünün Araştırılması

*Emine YALÇIN¹, Betül TAŞLI¹, Figen ÇİÇEK², Güray DEMİRTAŞ¹, Kürşad YAPAR³, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU¹

¹Giresun Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fak. , Biyoloji Bölümü,

²Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetleri ve Teknikleri Bölümü,

³Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Bölümü

ÖZET

Bu çalışmada, Swiss albino farelerde üzüm çekirdeği özütünün dinikanazol toksisitesine karşı koruyucu rolü araştırılmıştır. Bu amaçla canlı ağırlık, organ ağırlığı, Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST), Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeyleri, mikronukleus ve anormal metafaz sayısı belirlenmiş ve mitotik indeks testleri uygulanmıştır. Fareler her bir grupta altı fare olmak üzere altı gruba ayrılmıştır. Üzüm çekirdeği özütü iki doz (50 ve 150 mg/kg), dinikanazol ise tek doz (474 mg/kg) halinde uygulanmıştır. Dinikanazol uygulaması yapılan grupta kontrol grubuna kıyasla yüksek oranda mikronukleus ve anormal metafaz gözlenirken; mitotik indeks oranının kontrol grubundan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca dinikanazol uygulanan grupta AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla sırayla 2.12, 1.6, 1.78 ve 1.6 kat arttığı belirlenmiştir. Karaciğer GSH düzeyinin dinikanazol uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla % 37.8 azaldığı, MDA düzeyinin ise dinikanazol uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla %65.3 arttığı belirlenmiştir. Oral yolla üzüm çekirdeği özütü uygulamasının dinikanazolun oluşturduğu toksisiteyi azalttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar ile üzüm çekirdeği özütünün dinikanazol tarafından oluşturulan toksisiteye karşı koruyucu bir ajan olduğu belirlenmiştir.

Anahtar

Kelimeler:

Dinikanazol,
 Üzüm çekirdeği
 özütü,
 Mikronukleus,
 Mitotik indeks,

Investigation of Protective Effect of Grape Seed Extract Against Toxicity in Albino Mice

ABSTRACT

In the present study, protective effect of grape seed extract against toxic effects of dinicanazole on Swiss albino mice was investigated. For this aim, we used the frequency of micronucleus, abnormal metaphase number and mitotic index, Alanine transaminase (ALT) , Aspartate transaminase (AST), Malondialdehyde (MDA) and Glutathione (GSH) level as indicators of toxicity. Animals were randomly divided into six groups of six animals each. Grape seed extract was applied with two different doses (50 and 150 mg/kg) and dinicanazole was treated with the dosage of 474 mg/kg. Besides AST, ALT, BUN and creatinine levels in dinicanazole treated group were 2.12, 1.6, 1.78, 1.6 times higher compared to control group, respectively. Liver GSH level was decreased as 37.8%, compared to control group; Liver MDA level was increased as 65.3%, compared to control group. Oral treatment with grape seed extract significantly ameliorated the indices of toxicity induced by dinicanazole. The results obtained from this study suggest that grape seed extract is an effective protective agent against dinicanazole induced toxicity.

Key Words:

Dinicanazole,
 Grape seed
 extract,
 Micronucleus,
 Mitotic index

1. Giriş

Pestisitler; zirai mücadele araştırma ve uygulamalarında kullanılan her türlü zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak amacıyla kullanılmakta [1] ve hedef olmayan canlılar üzerinde toksik etkiye neden olabilmektedir. Ayrıca zararlı organizmalarda dayanıklı türlerin ortaya çıkmasına da neden olur [2,3]. Kanser vakalarındaki artış, kronik böbrek rahatsızlıkları, bağışıklık sisteminin baskılanması, kadın ve erkeklerde kısırlıklar, hormonal bozukluklar, özellikle çocuklarda görülen nörolojik ve davranışsal bozukluklar kronik pestisit zehirlenmesine dayandırılmaktadır [4]. Pestisitler; fungusitler, herbisitler ve insektisitler olarak tarımsal savaşta kullanılan anorganik ve organik bileşikler sınıfına ait çok sayıda kimyasal kapsamaktadır [5]. Tarımsal ürün zararlıları ile mücadelede kullanılan pestisitlerin en geniş gruplarından birisi fungusitlerdir. Fungisitler bitki ve hayvanlar üzerinde oluşan mantar ve sporları önlemeye kullanılan pestisitlerdir. Bu ilaçlar arasında en önemli olanı triazole grubu fungusitlerden dinikanazoldur. Dinikanazol; (E)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-yl)-1-pentane-3-ol kimyasal formülüyle bilinen bir fungusittir. Dinikanazol bir sterol demetilasyon inhibitörüdür [6]. Özellikle yaprak ve kıvrılma hastalıkları ile mücadelede, ayrıca bitkilerde külleme, sürme, pas, kabuk gibi hastalıkların önlenmesi ile üzümde külleme, fıstıkta ise yaprak lekeli hastalıklarının kontrolünde kullanılmaktadır. Bu çalışmada dinikanazolün Swiss albino farelerde biyokimyasal ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Bununla birlikte üzüm çekirdeği özütünün bu toksik etkilere karşı koruyucu etkisi de araştırılmıştır.

Üzüm çekirdeği özütü, *Vitis vinifera* bitkisinin çekirdeğinden elde edilmektedir. Üzüm çekirdeği bileşiminde; polifenoller, gallik asit, monomerik flavan-3-ol kateşin, gallokateşin, epigallokateşin, epikateşin ve 3-O-gallat gibi flavonoidler bulunmaktadır [7]. Üzüm çekirdeğindeki polifenollerin farmakolojik ve nutrasötik faydaları ile serbest radikal temizleme kapasitesi, antiviral, antimitojenik, antioksidan özellikleri bulunduğu bildirilmektedir [8]. Hipertansiyon, kalp krizi ve felç olasılığını, DNA hasarını azaltarak, kanser oluşumunu da engellediği bilinen üzüm çekirdeğinde bulunan bileşenlerin kalın bağırsak kanseri olan farelerde tümör kitlesini %44 küçülttüğü saptanmıştır. Özütün bu özelliği hücreleri G1 fazında durdurucu, S fazından mitoz fazına geçişi azaltıcı etkisi ile açıklanabilir [9].

Bu çalışmada Swiss albino farelerde dinikanazolün toksik etkisine karşı üzüm çekirdeği özütünün koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda fizyolojik parametrelerden canlı ağırlık, karaciğer ve böbrek organ ağırlıkları; biyokimyasal parametrelerden Aspartat transaminaz (AST), Alanin transaminaz (ALT), kan üre azotu (BUN), kreatinin, Glutatyon (GSH), Malondialdehit düzeyleri (MDA); genetik parametrelerden ise eritrosit mikronükleus (MN) düzeyi, kromozomal anormallikler (CA), mitotik indeks (MI) ve anormal metafaz sayısı (AMS) incelenmiştir.

2. Materyal ve metod

Hayvanların Temini

Çalışmada 36 adet erkek Mus musculus var. Albinos kullanılmıştır

(12-14 haftalık, 25-30 g c.a.). Sağlıklı fareler Giresun Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Fareler 26cm x 15cm x 50cm veya paslanmaz çelik kafeslerde, 22± 3 °C de, %55 ± 5 bağıl nem içeren laboratuvar şartlarında ve deney boyunca 12 saat ışık / karanlık döngüsü altında tutulmuştur. Hayvanlara çalışmaya başlamadan 1 hafta önce standart pellet diyet yem (Samsun Gıda Sanayi, Samsun, Türkiye) ve ad libitum su verilerek ortam şartlarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmada, farelere uygulanan yöntem ve teknikler Dünya Sağlık Örgütü (Cenevre, İsviçre) ve Giresun Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından belirlenen esaslara göre yürütülmüştür.

Deney Protokolü

Albino fareler her grupta 6 fare olacak şekilde rastgele aşağıdaki şekilde 6 gruba ayrılmıştır:

Grup I: (kontrol); oral yolla çeşme suyu

Grup II: oral yolla 50 mg/kg c.a üzüm çekirdeği özütü,

Grup III: oral yolla 150 mg/kg c.a üzüm çekirdeği özütü,

Grup IV: oral yolla 474 mg/kg c.a Dinikanazol,

Grup V: 474 mg / kg c.a. dozunda Dinikanazol + 50 mg/kg c.a üzüm çekirdeği özütü,

Grup VI: 474 mg / kg c.a. dozunda Dinikanazol + 150 mg/kg c.a üzüm çekirdeği özütü,

Grup V ve VI için, üzüm çekirdeği özütü uygulamasına dinikanazol maruziyetinden 7 gün önce başlanmış ve Dinikanazol uygulamasından sonra ise 10 hafta süresince Dinikanazol ile birlikte devam edilmiştir. Tüm gruptaki fareler 10 haftalık uygulama periyodunun sonunda sakrifiye edilmiştir.

Canlı Ağırlık ve Organ Ağırlıklarının Tespiti

Albino fareler eter anestezisi altında bayıldıktan sonra uygulama periyodu öncesi ve sonrasında hassas terazi yardımıyla canlı ağırlıkları, sakrifiye edildikten sonra ise organ ağırlıkları tespit edilmiştir.

Serum Analizi

Serum izolasyonu için, tam kan örnekleri 20ml/kg eter anestezisi altında farelerden intrakardiyak olarak alınmış, Vacutainer tüplere (BD Vacutainer Systems, San Jose, CA, ABD) alınan kan örnekleri +4 °C'de 10 dakika süreyle 1200 g'de santrifüj edilerek analiz süresine kadar -20 °C'de saklanmıştır. AST (GOT sıvı reaktif, katalog numarası A559-150, TecoDiagnostics) ve ALT (GPT sıvı reaktif, katalog numarası A524-150, TecoDiagnostics) enzim aktiviteleri ile BUN (katalog numarası B549-150, TecoDiagnostics) ve kreatinin (katalog numarası C513-480, TecoDiagnostics) konsantrasyonları ticari olarak satılan kitler ile otoanalizör (Model 99M Chemistry Analyzer, Medispec, Germantown, MD, USA) yardımıyla ölçülmüştür.

Lipid Peroksidasyonu ve Glutatyon Aktivitesi

Hayvanlar eter anestezisi altında kalp eksangunasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiş, her hayvanın karaciğer ve böbrek dokuları çıkarılarak yıkanmış, kurutulacak ve biyokimyasal ölçümler için hazır hale getirilmiştir.

Toplanan dokular soğuk 0.15 M KCl banyosu içinde homojenizatör (Ultraturax tip T25-B, IKA LABORTECHNIK, Staufen, Almanya) ile 16.000 rpm de 3 dakika homojenize edilecek, homojenatlar 4 °C'de 5000 g de 1 saat santrifüj maruz bırakılmış ve süpernatantlar alınmış, analiz edilinceye kadar -40 °C'de saklanmıştır. DokuMDA ve GSH düzeyleri Yoshiko ve ark. (1979) ve Beutler (1963) tarafından bildirilen kolorimetrik yöntem kullanılarak UV-spektrofotometre (UV mini-1240, Shimadzu, Kyoto, Japan) yardımıyla ölçülmüştür [10, 11]

Eritrosit Mikronukleus (MN) Testi

Bu çalışmada kemik iliği polikromatik eritrositlerinde uygulanan geleneksel MN testinin modifiye bir şekli olan fare eritrosit mikronukleus (MN) testi, kullanılmıştır. Bu testte, farelerin kuyruklarından elde edilen dolaşım kanındaki olgun normakromatik eritrositler sayılmıştır. Fare eritrosit MN testi Te-Hsiu ve ark. (1995) bildirdiği yöntemle yapılmıştır [12]. Fareler eter anestezi altında bayıltılarak kuyruk venlerinden küçük bir iğne yardımıyla kan örnekleri alınmıştır. Her bir fareden toplanan periferik kanın yaklaşık 5 µL'si % 3 EDTA çözeltisi ile karıştırılmış ve temiz bir slayt üzerine yayılmıştır. Eritrositler 2 dakika süreyle %70 etanol içinde fiske edilmiş ve hazırlanan slaytlar oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, slaytlar % 5 May-Grünwald Giemsa ile 15 dakika muamele edilerek boyanmıştır. Genellikle üç ya da dört slayt hazırlanmış ve her bir slayttaki MN sıklığı iki farklı gözlemci tarafından art arda iki defa sayılmıştır. Hazırlanan slaytlardan toplam 1000 normakromatik eritrosit binoküler ışık mikroskobu (model BX51, Olympus, Tokyo, Japan) altında X100 büyütme sayılarak MN'li hücrelerin sayısı tespit edilmiş ve X500 büyütme de fotoğrafları çekilmiştir. Bulgular kısmına MN'leri gösteren bir fotoğraf eklenmelidir [13].

Kromozom Analizi İçin Kemik İliği Hücrelerinin Hazırlanması

Farelere sakrifiye edilmeden 2 saat önce İntra peritoneal (ip) yolla 0.025% kolşisin verilmiş ve süre sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Femurdan kemik iliği aspire edilerek serum fizyolojik ile yıkanmış ve 0.075 M KCl ile muamele edilmiştir. Carnoy fiksatifisi ile edildikten sonra % 5'lik Grünwald-Giemsa boyası ile boyanmıştır [14]. Kromozomal anormallikler ışık mikroskobu altında (X100 lens/büyütme ile) tespit edilmiş (Model BX51, Olympus) ve Savage'nin bildirdiği kriterlere göre sınıflandırılmıştır [15].

İstatistiksel Analiz

Çalışmada istatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılmış, gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi için One-way ANOVA ve Duncan testi yapılmıştır

3. BULGULAR

Dinikanazol uygulamasının canlı ağırlık ve organ ağırlıkları üzerine etkileri Tablo 1'de verilmiştir. Tablodaki sonuçlardan da görüldüğü gibi, kontrol grubu ve üzüm çekirdeği özütü uygulanan grupların canlı ağırlıklarında yüksek oranda artış gözlenirken, sadece dinikanazol uygulanan grupta canlı ağırlığındaki artışın belirgin oranda azalmıştır.

Dinikanazol ve üzüm çekirdeği birlikte uygulanan gruplarda ise tekrar canlı ağırlık oranlarında bir artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte dinikanazol uygulanan grupta karaciğer ve böbrek organ ağırlığının, kontrol grubuna kıyasla 1.21 kat azaldığı belirlenmiştir.

Tablo 1. Dinikanazol albino farelerde canlı ağırlık ile karaciğer ve böbrek organ ağırlıkları (gr) üzerine etkileri

Gruplar	Karaciğer Organ Ağırlığı	Böbrek Organ Ağırlığı	Canlı Ağırlık Artışı
Grup I	1.80±0.03 ^a	0.53±0.03 ^a	+7.36
Grup II	1.79±0.03 ^a	0.54±0.03 ^a	+7.38
Grup III	1.81±0.04 ^a	0.54±0.03 ^a	+7.10
Grup IV	1.49±0.04 ^c	0.28±0.03 ^d	+1.08
Grup V	1.55±0.05 ^c	0.35±0.05 ^c	+2.60
Grup VI	1.63±0.06 ^b	0.45±0.05 ^b	+4.07

* Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterilmiş (n=6). Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemli olmuştur (P<0.05)

Tablo 2. Dinikanazol fungusitinin eritrosit hücrelerinde mikronukleus (MN) sıklığı, AMS ve MI üzerine etkileri

Gruplar	Ortalama AMS	Ortalama MI	Ortalama MN
Grup I	1.50±0.55 ^d	785±37.78 ^a	00.81±0.41 ^d
Grup II	1.00±0.63 ^d	783±49.83 ^a	00.69±0.52 ^d
Grup III	0.83±0.41 ^d	795±35.46 ^a	00.50±0.55 ^d
Grup IV	66.33±9.14 ^a	555±70.57 ^c	62.00±10.14 ^a
Grup V	49.83±9.17 ^b	606±80.47 ^{bc}	47.66±9.22 ^b
Grup VI	38.17±8.40 ^c	632±57.93 ^b	36.83±9.50 ^c

*Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6). Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Dinikanazol eritrosit hücrelerinde MN sıklığı, AMS ve MI üzerine etkileri Tablo 2'de verilmiştir. Kontrol grubu ve üzüm çekirdeği uygulanan grupların eritrosit hücrelerinde MN oluşumuna rastlanmazken, dinikanazol uygulanan grubun eritrosit MN sıklığı kontrol grubuna kıyasla 76.5 kat arttığı belirlenmiştir. Dinikanazol ve üzüm çekirdeği özütü birlikte uygulanan gruplarda ise eritrosit MN sıklığında Grup IV'e kıyasla önemli bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma üzüm çekirdeği özütünün koruyucu etkisi ile açıklanabilir.

Bununla birlikte dinikanazol uygulamasının AMS'yi arttırdığı gözlenmiş ve dinikanazol uygulanan gruptaki AM sayılarındaki artışın, diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte yapılan incelemeler sonucunda en düşük MI oranının dinikanazol uygulanan grupta elde edildiği belirlenmiştir.

Tablo 3. Dinikanazol fungusitinin bazı biyokimyasal parametrelerde sebep olduğu değişim

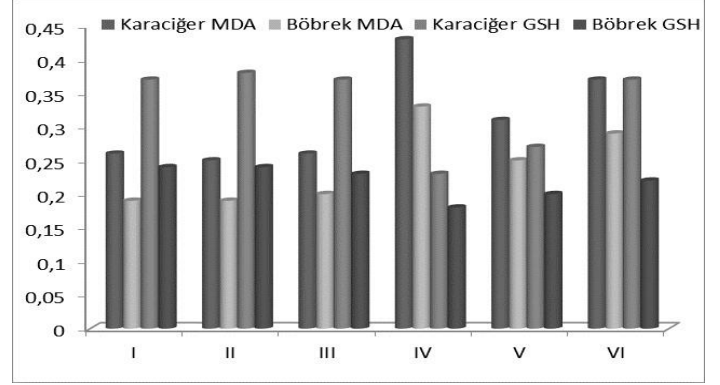
	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/L)	Kreatinin (mg/L)
Grup I	123±15.74 ^{*d}	66±15.27 ^c	140±17.64 ^d	5.22±0.83 ^c
Grup II	124±14.36 ^d	66±11.53 ^c	141±16.42 ^d	5.24±0.80 ^c
Grup III	124±16.09 ^d	64±10.25 ^c	139±11.97 ^d	5.25±0.75 ^c
Grup IV	261±19.62 ^a	107±17.84 ^a	250±18.65 ^a	8.40±1.09 ^a
Grup V	224±26.91 ^b	94±11.96 ^{ab}	211±21.37 ^b	6.05±0.67 ^b
Grup VI	167±18.64 ^c	83±7.25 ^b	186±22.54 ^c	6.92±0.73 ^b

*Sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Dinikanazol bazı biyokimyasal parametrelerde sebep olduğu değişim Tablo 3' de verilmiştir. Kontrol grubu, 50 mg/kg ve 150 mg/kg üzüm çekirdeği özütü uygulanan gruplarda kan parametrelerinden AST, ALT, BUN, kreatinin düzeyleri paralellik gösterirken, dinikanazol uygulaması ile bu düzeylerin kontrol grubuna kıyasla belirgin oranda arttığı gözlenmiştir. Grup V ve VI'da bu değerlerin dinikanazol uygulanan gruptaki değerlere kıyasla düşük olduğu fakat kontrol grubuna kıyasla hala yüksek olduğu belirlenmiştir.

Dinikanazolün doku MDA ve GSH düzeylerine etkisi **Şekil 1**'de verilmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü gibi en fazla MDA ve GSH düzeyleri dinikanazol ile muamele edilen grupta, en az ise kontrol ve sadece üzüm çekirdeği özütü ile birlikte muamele edilen grupta rastlanmıştır. Böbrek dokusunda dinikanazol uygulaması ile MDA artışının karaciğer dokusuna kıyasla daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç ile böbrek dokusunun dinikanazol toksisitesine karşı daha duyarlı olduğu anlaşılmıştır.

Şekil 1. Karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA ve GSH düzeyleri üzerine dinikanazolün etkisi



4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada dinikanazol fungusitinin Swiss albino farelerde fizyolojik, biyokimyasal ve genotoksik etkileri ve bu etkilere karşı üzüm çekirdeği ekstraktının koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla fizyolojik parametreleri değerlendirmek için canlı ağırlığı ve organ ağırlığı, biyokimyasal parametreleri değerlendirmek için ALT, AST, BUN, kreatinin, MDA ve GSH, genetik parametreleri değerlendirmek için MN, MI testleri kullanılmıştır. Dinikanazol maruziyetinin albino farelerde canlı ve organ ağırlıklarında bir azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Albino farelerde gözlenen bu azalma dinikanazol toksisitesi ile açıklanabilir. Dinikanazol sterol biyosentezini inhibe ederek ara basamaktaki ürünlerin birikimine neden olmakta ve hücre metabolizmasında bozunmalara yol açmaktadır [16]. EPA (1999) raporuna göre, triazole grubu fungusitlerin ratlarda ve albinolarda sinir sisteminde nöropatolojik lezyonlara ve beyin ağırlıklarında bir azalmaya neden olduğu bildirilmektedir [17]. Dinikanazolün genotoksik etkilerini belirlemek için AMS, MI oranı ve MN sıklığı incelenmiştir. Dinikanazol uygulaması ile AMS ve MN sıklığının arttığı, MI'in belirgin bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar dinikanazolün albino farelerde 474 mg/kg c.a. dozunda toksik etkiye neden olduğuna işaret etmektedir. Benzer şekilde Demirtaş (2014) *Allium cepa'* da dinikanazol uygulamasının kromatit kırığı, c- mitoz, yapışkan kromozom gibi kromozom hasarlarına ve MI oranında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir[18].

Albino farelerde dinikanazol uygulaması ile biyokimyasal parametrelerde değişim incelenmiş ALT, AST, BUN ve kreatinin düzeylerindeki belirgin artış olduğu gözlenmiştir. Bu artış dinikanazol uygulamasının doku hasarına neden olduğunu göstermektedir. Test edilen parametrelerden ALT ve AST düzeylerindeki artış hepatoselüler hasara, BUN ve kreatinin düzeylerindeki artış ise böbrek hasarına işaret etmektedir. Çalışma devamında karaciğer ve böbrek dokularındaki hasarı ortaya koyabilmek için karaciğer GSH ve MDA düzeyleri incelenmiştir.

Dinikanazol uygulaması ile karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA düzeylerinde artış gözlenirken GSH düzeyinde belirgin azalma olduğu gözlenmiştir. MDA hücrelerde oksidatif stresin önemli bir göstergesidir ve GSH düzeyindeki azalma da hücrede oluşan stresi doğrulamaktadır. Albino farelere ait karaciğer ve böbrek dokularında GSH ve MDA düzeylerindeki değişim, dinikanazolün hücrelerde oksidatif hasara neden olduğuna işaret etmektedir.

Benzer şekilde, Tort ve arkadaşları dinikanazol etken maddesinin bazı kültür bitkilerinde oksidatif strese neden olduğunu rapor etmişlerdir [3]. Belirtilen referanstaki değerleri GSH ve MDA açısından belirtelim.

Farelere 50 ve 150 mg / kg c.a. dozlarında üzüm çekirdeği özütü uygulandığında dinikanazolun neden olduğu toksik etkileri önemli ölçüde azalttığı ve bu etkinin doza bağlı olduğu belirlenmiştir. Bu etki, üzüm çekirdeği ekstraktının içeriğinde bulunan aktif maddelerin antioksidan etkisi ile açıklanabilir. Üzüm çekirdeği polifenoller, gallik asit, monomerik flavan-3-ol kateşin, gallokateşin, epigallokateşin, epikateşin ve 3-O-gallat bakımından oldukça zengindir [7]. Ahn ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada üzüm çekirdeği özütünün güçlü bir antioksidan özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir [19].

Çeşitli klinik çalışmalar da üzüm çekirdeği özütünün antioksidan, terapatik ve farmakolojik özelliklerini ortaya koymuştur. Üzüm çekirdeğinin kalori değeri yüksek, kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir gibi mineral maddeler bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bazı vitaminler (A, B1, B2, Niasin ve C vit.) ve beta-karoten bakımından da yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmüştür [20,21]. Üzüm çekirdeğinin bu özelliği iç ya da dış kaynaklı serbest oksijen radikallerine ve diğer radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmektedir [22]. Hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalarda ise üzüm çekirdeği özütünün kanser tedavisinde kullanılan antrasiklinin yol açtığı akciğer toksisitesini azalttığı belirtilmiştir [9]. İn vitro çalışmalar sonucunda üzüm çekirdeği proantosiyanidinlerinin tümör gelişimini baskıladığı ve göğüs, akciğer, prostat, kolon ve lenf bezlerinde görülen kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir [23].

Bu çalışmada elde edilen veriler, dinikanazolun Swiss albino farelerde fizyolojik, biyokimyasal ve genetik parametrelerde toksisiteye neden olduğunu ve üzüm çekirdeği özütü uygulamalarının da söz konusu kimyasalın teşvik ettiği toksisiteye karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Bu sonuç antioksidan özellikteki bu doğal koruyucu maddelerin yakın gelecekte kimyasal ajanların meydana getirebileceği olumsuz etkileri azaltmak için "toksikite sınırlayıcı bir ajan" olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Kaynaklar

1. T.C Milli Eğitim Bakanlığı, http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Pestisitler, 2014.
2. Suwalsky, M., Benites, M., Narris, B., Sotomayor, P., Toxic effects of the fungicide benomyl on cell membranes, in Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 125, 111-119, 2000.
3. Tort, N., Türkyılmaz, B., Dereboylu, A., Tosun, N., Diniconazole etken maddeli bir fungusitin bazı arpa kültür formları üzerine morfolojik ve fizyolojik etkileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg. 41 (1),169-179 2004.
4. Agnihotri, N.P., Pesticide Safety and Monitoring, All India Coordinated Research Project on Pesticides Residues, Indian Council of Agricultural Research. New Delhi, India 1999.

5. Oraler, G., Gözükırmızı, N., Olgun, A., Bazı Pestisitlerin Farklı Organizmalardaki Mutagenik Etkileri. Doğa Bilim Dergisi, Seri A, 8. 1,106-114, 1984.
6. Kvien, C. S., Csinos, A.S., Ross, L.F., Conkerton, E.J., Styer, C., Diniconazole's effect on peanut (*Arachis hypogae* L.) growth and development. J. Plant Growth Regul. 6, 233-244, 1987.
7. Carpenter, R., O'Grady, M.N., O'Callaghan, Y.C., O'Brien N.M., Kerry, J.P., Evaluation of the Antioxidant Potential of Grape Seed and Bearberry extracts in Raw and Cooked Pork. Meat. Sci.76, 604-10, 2007.
8. Bakkalbası, E., Yemis, O., and Artik, N., Major flavan-3-ol composition and antioxidant activity of seeds from different grape cultivars grown in Turkey. Eur Food Res Technol. 221, 792-797, 2005.
9. Agarwal, C., Singh, R. P., Agarwal, R. P., Grape seed extract induces apoptotic death of human prostate carcinoma DU 145 cells via caspases activation accompanied by dissipation of mitochondrial potential and cytochrome c release. Carcinogenesis. 23,11, 1869-1876, 2002.
10. Yoshiko, T., Kawada, K., Shimada, T., Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. Am. J. Obstet. Gynecol. 135, 372-376, 1979.
11. Beutler, E., Duran, O., Kelly, B. M., Improved Method for the Determination of Blood Glutathione. J. Lab. Clin. Med. 61, 882-888, 1963.
12. Te-Hsiu, M. A., Zhou, X., Loarco, G. F., Arreola, G. G., Lecona, S. U., Mouse-erythrocytemicronucleus (MUS-EMN) assay on theclastogenicity of industrial waste water. Rev.Int. Contam Ambient. 11,95-98, 1995.
13. Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A. M., Smith, M. T., Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: a study of malathion-exposedworkers. Mutat. Res. 388, 85-95, 1997.
14. Beyersmann, D., Hechtenberg, S., Cadmium, gene regulation, and cellular signaling in mammalian cells. Toxicol Appl Pharmacol.144, 247-261, 1997.
15. Savage, J.R., Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. J Med Genet. 13, 103-122,1976.
16. Rahir, A ., Effect of diniconazole on sterol composition of roots and cell suspension cultures of fenugreek. [Phytochemistry](#) (Impact Factor: 3.35), 39(4),883-893, 1995
17. U.S. Environmental Protectin Agency (EPA) Reregistration Eligibility Decision (RED), Captan, EPA-738-R-99-015, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office, Washington, DC.,1999.
18. Demirtas, G., Dinikanazol Fungusitinin *Allium cepa* L. Üzerine Fizyolojik, Sitogenetik Ve Anatomik Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi, Giresun, 2014.

19. Ahn, H.S., Jeon, T.I., Lee, J.Y., Hwang, S.G., Lim, Y., Park, D.K., Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: in vitro and in vivo. *Nutr. Res.* 22, Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., Genel Bağcılık. Sunfidan Mesleki Kitaplar Serisi-1, 253s., 1998.
20. Shi, J., Yu, J., Pohorly, J.E., and Kakuda, Y., Polyphenolics in grape seeds-Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Foods.* 6(4), 291-299, 2003.
21. Ahn, H.S., Jeon, T.I., Lee, J.Y., Hwang, S.G., Lim, Y., Park, D. K., Antioksidative activity of persimmon and grape seed extract, In vivo and in vitro. *Nutrition Research.* 22,1265-1273, 2002.
22. <http://www.bilisimgelisim.com/alternatif-tip-teknikleri/>
23. 1265-1273, 2002.