



T.C.

BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE FUMONİSİN B₁ İNDÜKLÜ KARACİĞER
TOKSİSİTESİNE KARŞI RESVERATROL'ÜN KORUYUCU
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Vet. Hek. Rıza YALÇIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Asım KART

BURDUR-2019

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE FUMONİSİN B₁ İNDÜKLÜ KARACİĞER
TOKSİSİTESİNE KARŞI RESVERATROL'ÜN KORUYUCU
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Vet. Hek. Rıza YALÇIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Asım KART

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0483-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR – 2019

KABUL ve ONAY SAYFASI

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Rıza YALÇIN tarafından *Prof. Dr. Asım KART* yönetiminde hazırlanan “*Farelerde Fumonisin B₁ indüklü karaciğer toksisitesine karşı Resveratrol’ün koruyucu etkisinin araştırılması*” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.08.2019



Doç. Dr. Oktay ÖZKAN

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji AD

Başkan



Prof. Dr. Asım KART

Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji AD

Jüri



Doç. Dr. Fatma KOCASARI

Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji AD

Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 24.09. / 2019 Tarih ve ...39...sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğa TEMİZSOYLU

Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince sabrı ve bilgileriyle bu tezi hazırlamamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Asım KART'a, bilgileri, destekleri ve katkılarından dolayı değerli hocam Doç. Dr. Fatma KOCASARI'ya, fikirleri ve bilgileriyle destek olan Dr. Öğr. Üyesi Hidayet TUTUN'a, desteklerinden dolayı Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı hocalarıma, çalışmamıza yardım ve katkı sağlayan Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e, çalışma esnasındaki uygulamalara ve analizlere yardımlarından dolayı Vet. Hek. Merve TAŞBAŞ'a, yardımlarından dolayı Vet. Hek. Zeki EROL'a ve Öğr. Görevlisi Orhan YAVUZ'a, beni yalnız bırakmayan ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma, bugünlere gelmemde büyük emekleri bulunan ve eğitim hayatım boyunca her türlü destekleriyle yanımda olan annem Fatma YALÇIN'a, babam Süleyman YALÇIN'a ve kardeşim Hacer YALÇIN'a sonsuz teşekkür ederim.



ETİK BEYAN

“Farelerde Fumonisin B₁ indüklü karaciğer toksisitesine karşı Resveratrol’ün koruyucu etkisinin araştırılması” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Asım KART danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Rıza YALÇIN

Tarih: 21.08.2019

İmza: *R. Yalçın*

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	<i>i</i>
KABUL VE ONAY SAYFASI	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
BEYAN SAYFASI	<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER	<i>v</i>
ŞEKİLLER	<i>viii</i>
TABLOLAR	<i>ix</i>
SİMGELER ve KISALTMALAR	<i>x</i>
TÜRKÇE ÖZET	<i>xi</i>
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	<i>xii</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mikotoksinler	3
2.2. Fumonisinler	4
2.2.1. Fumonisinlerin Kimyasal Yapıları	5
2.2.2. Fumonisinlerin Bulunduğu Ortamlar ve Oluşum Koşulları	6
2.2.3. Fumonisinlerin Sfingolipit Metabolizmasına Etkileri	7
2.2.3.1. Sfingolipitlerin Biyolojik Görevleri	7
2.2.3.2. Sfingolipitlerin Sentezi	8
2.2.3.3. Fumonisinlerin Sfingolipitlere Etkileri	11
2.2.4. Fumonisinlerin İnsan Sağlığına Etkileri	12
2.2.5. Atların Leukoencefalomalazi (ELEM)	13
2.2.6. Domuzların Pulmoner Ödemi (PPE)	13
2.2.7. Yasal Limitler	14
2.3. Resveratrol	14
2.3.1. Resveratrol Sentezi	15
2.3.2. Resveratrolün Fizikokimyasal Yapısı ve Derivasyonları	16
2.3.3. Resveratrol Kaynakları	17
2.3.4. Resveratrolün Farmakokinetiği	18
2.3.5. Resveratrolün Biyolojik ve Farmakolojik Etkileri	19
2.3.5.1. Anti-Kanser Etkileri	19

2.3.5.2. Kardiyovasküler Koruyucu Etkileri	20
2.3.5.3. Yangı Önleyici Etkileri	21
2.3.5.4. Obezite Üzerine Etkileri	22
2.3.5.5. Hücre Koruyucu ve Oksidatif Stres Karşıtı Etkileri	22
2.3.5.6. Nöroprotektif Etkileri	23
2.3.5.7. Antimikrobiyal Etkileri	24
2.4. Oksidatif Stres	24
2.5. Sialik Asit	27
2.5.1. Sialik Asit Yapısı	29
2.5.2. Karaciğer Hastalıklarında Sialik Asit	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30
3.1.1. Kimyasal Maddeler	30
3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Etik	31
3.2.2. Deney Hayvanları	31
3.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Uygulaması	31
3.2.4. Örneklerin Toplanması	32
3.2.5. Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) Analizleri	32
3.2.6. Dokuların Homejenizasyonu	32
3.2.7. Total Antioksidan Durum ve Totat Oksidan Durum	33
3.2.7.1. Total Antioksidan Durum (TAS) Analizi	33
3.2.7.2. Total Oksidan Durum (TOS) Analizi	33
3.2.8. Total Sialik Asit (TSA) Analizi	33
3.2.9. Histopatolojik İnceleme	35
3.3. İstatistiksel Hesaplamalar	35
4. BULGULAR	36
4.1. Deney Gruplarında Serum AST ve ALT Seviyeleri	36
4.2. Deney Gruplarında Karaciğer Doku TAS Seviyeleri	36
4.3. Deney Gruplarında Karaciğer Doku TOS Seviyeleri	37
4.4. Deney Gruplarında Serum TSA Seviyeleri	38
4.5. Histopatolojik Bulgular	39
5. TARTIŞMA	42

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	62



ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Fumonisinlerin genel yapısı	5
Şekil 2.2.	Sfingolipitlerin sentez yolları	9
Şekil 2.3.	FB ₁ 'in seramit sentezini engellediği noktalar	11
Şekil 2.4.	Resveratrol sentezi	16
Şekil 2.5.	Resveratrolün trans ve cis yapıları	17
Şekil 2.6.	Reaktif oksijen türlerinden bazıları	26
Şekil 2.7.	Gangliositlerden GM1 ve içerdği yapılar	28
Şekil 2.8.	Sialik asit yapıları	29
Şekil 3.1.	Total sialik asit standart grafiği	34
Şekil 4.1.	Kontrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü	39
Şekil 4.2.	FB ₁ grubundan bir farenin karaciğer görünümü	40
Şekil 4.3.	Resveratrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü	40
Şekil 4.4.	FB ₁ +resveratrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü	41

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresinin (FDA) hayvanlarda fumonisinler için belirlediği güvenli limitler	14
Tablo 4.1.	Deney gruplarında serum AST ve ALT seviyeleri	36
Tablo 4.2.	Deney gruplarında karaciğer doku TAS seviyeleri	37
Tablo 4.3.	Deney gruplarında karaciğer doku TOS seviyeleri	38
Tablo 4.4.	Deney gruplarında serum TSA seviyeleri	38



SİMGELER ve KISALTMALAR

ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ATA	Alimenter toksik alöki
a_w	Su aktivitesi
C1P	Seromit-1-fosfat
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
ELEM	Atların leukoensafolamazisi
FB	Fumonisin B
FB₁	Fumonisin B ₁
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
FFSC	Fusarium Fujikuroi tür kompleksi
GPx	Glutasyon peroksidaz
GRx	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
HE	Hematoksilen eozin
i.p.	İntraperitoneal
LOX	Lipoksijenaz
LT	Lökotrien
MCP-1	Monosit kemotaktik proteini
MDA	Malonaldehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
Nox	NADPH oksidaz
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2
PGD₂	Prostaglandin D ₂
PGE₂	Prostaglandin E ₂
PPARgamma	Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamma
PPE	Domuzların pulmoner ödemi
ppm	Milyonda bir
RNS	Reaktif azot türü
ROS	Reaktif oksijen türü
S1P	Sfingozin-1-fosfat
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Total antioksidan durum
TNFα	Tümör nekroz faktör alfa
TOS	Total oksidan durum
TSA	Total sialik asit
XO	Ksantin oksidaz

ÖZET

Farelerde Fumonisin B₁ indüklü karaciğer toksisitesine karşı Resveratrol'ün koruyucu etkisinin araştırılması

Bu araştırmada farelerde fumonisin B₁ (FB₁) indüklü karaciğer toksisitesine karşı resveratrolün etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 40 adet BALB/c fare rastgele kontrol, FB₁, resveratrol ve FB₁+resveratrol gruplarına ayrıldı. Kontrol grubuna 14 gün boyunca serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. FB₁ grubuna 14 gün boyunca gün aşırı olmak üzere 2,25 mg/kg FB₁ intraperitoneal yolla uygulandı. Resveratrol grubuna 14 gün boyunca 10 mg/kg resveratrol intraperitoneal olarak uygulandı. FB₁+resveratrol grubuna 14 gün boyunca 2,25 mg/kg FB₁ gınaşırı ve 10 mg/kg resveratrol her gün intraperitoneal olarak uygulandı. Araştırma sonunda fareler ötenazi edilerek kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Elde edilen serum örneklerinde *alanin aminotransferaz* (ALT), *aspartat aminotransferaz* (AST) ve total sialik asit (TSA) analizleri yapıldı. Karaciğer doku örneklerinde total antioksidan durum (TAS), total oksidan durum (TOS) analizleri ve bu doku örneklerinde histopatolojik inceleme yapıldı. FB₁ grubunda, AST, ALT, TSA seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek tespit edildi ($p<0,05$). FB₁+resveratrol verilen grupta AST, ALT seviyeleri FB₁ grubuna göre düşük tespit edilirken bu seviyeler kontrol grubundan farklı değildi. TSA değerleri FB₁ grubu ile FB₁+resveratrol grubu arasında bir fark tespit edilmedi ancak FB₁+resveratrol grubunun değerleri kontrol grubunun değerlerinden de farklı değildi. FB₁ grubuna ait karaciğer TAS seviyesi kontrol grubuna göre düşük tespit edilirken, FB₁ grubuna ait TOS seviyesi kontrole göre yüksek bulundu ($p<0,05$). FB₁+resveratrol grubu TAS ve TOS seviyeleri FB₁ grubuna göre istatistiksel olarak fark göstermezken, kontrol ve FB₁+resveratrol grubu arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi. Histopatolojik incelemede FB₁'in karaciğerde hiperemi ve infiltrasyonlarla karakterize patolojik bulgulara sebep olduğu gözlenmiştir. Ayrıca bu grupta bazı hepatositlerde çekirdeklerde aşırı büyümelere (megakaryozis) rastlanmıştır. Kontrol, resveratrol ve FB₁+resveratrol grubunda patolojik bulgu saptanmamıştır. Sonuç olarak elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik bulgulara göre resveratrolün FB₁'in neden olduğu karaciğer hasarına ve oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca FB₁ kaynaklı toksisite durumlarında serum total sialik asit seviyesinde görülen artış FB₁ için biyobelirteç olarak kullanılabilir. Resveratrolün, FB₁'in toksik etkilerine karşı koruyucu ve tedavi edici teröpotik bir ajan olarak kullanılabileceğini sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fumonisin B₁, Karaciğer hasarı, Oksidatif stres, Resveratrol, Total sialik asit

ABSTRACT

Protective effect of Resveratrol on Fumonisin B₁- induced hepatotoxicity in mice

In this study, the effect of resveratrol against fumonisin B₁ (FB₁) induced liver toxicity in mice was investigated. For this purpose, 40 BALB/c mice were randomly assigned to control, FB₁, resveratrol and FB₁+resveratrol groups. Control group was received saline intraperitoneally for 14 days, FB₁ group was received 2,25 mg/kg FB₁ intraperitoneally every other day for 14 days, resveratrol group was received 10 mg/kg resveratrol intraperitoneally for 14 days, FB₁+resveratrol group were administered intraperitoneally 2,25 mg/kg FB₁ every other day and 10 mg/kg resveratrol daily for 14 days. At the end of the study, mice were euthanized and blood and liver tissue samples were taken. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and total sialic acid (TSA) analyzes were performed in serum samples obtained. Total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) analysis of liver tissue samples and histopathological examination of these tissue samples were also performed. AST, ALT, TSA results of FB₁ group were higher than control group ($p<0.05$). In the FB₁+resveratrol group, AST and ALT levels were found to be low compared to the FB₁ group, but these levels were not different from the control group. TSA values in FB₁ group were not different from FB₁+resveratrol group but FB₁ + resveratrol group values were not also different from those of control group. TAS values in the liver of FB₁ group were lower than in control and TOS values were higher than in control ($p<0.05$). The TAS and TOS values of the FB₁ + resveratrol group were not different from those of the control group. Histopathological examination revealed that FB₁ causes pathological findings characterized by hyperemia and infiltrations in the liver of FB₁ group. In addition, in this group, some hepatocytes showed megalocaryosis in the nuclei. There were no pathological findings in the control, resveratrol and FB₁+resveratrol groups. According to the biochemical and histopathological findings, resveratrol has protective effect against liver damage and oxidative stress caused by FB₁. In addition, the increase in serum total sialic acid levels can be used as a biomarker for FB₁ toxicity. It was concluded that resveratrol can be used as a therapeutic agent against the toxic effects of FB₁.

Anahtar Kelimeler: Fumonisin B₁, Liver injury, Oxidative stress, Resveratrol, Total sialic acid

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, kötü hasat uygulamaları, uygun olmayan kurutma, depolama, taşıma ve işleme esnasında küf mantarları tarafından üretilen, insan ve hayvan sağlığına tehdit oluşturabilen toksik sekonder metabolitlerdir (Alshannaq ve Yu, 2017; Bhat ve ark, 2010).

Mikotoksinlerin sağlık üzerine olumsuz etkileri hakkındaki eksik ve yetersiz bilgiler; hasat öncesi ve sonrası sayısız noktada kontaminasyonunun dikkate alınmaması; tarım, sağlık ve ekonomi gibi sektörler arası yaklaşımın kapsamlı olmaması mikotoksinlerin kontrol edilmesini güçleştirmektedir (Wild ve Gong, 2010).

Mikotoksinlerden bazıları insan ve hayvanlar için toksik veya kanserojen olabilir hatta bitkiler için de zararlı etkileri vardır (Escrivá ve ark., 2015). Mikotoksinler, çoğunlukla ağız yolu olmak üzere solunum ve dermal yollar ile alındığında sebep olduğu hastalıklar mikotoksikozis olarak adlandırılır ve doğal yollarla zehilenmenin bir örneğidir. Primer veya fırsatçı patojen mantarların, canlılarda lokalize veya sistemik enfeksiyonlara yol açtığı hastalıklara ise mikozis denir (Bennett ve Klich, 2003).

Mikotoksinler içerisinde yer alan ve *Fusarium moniliforme* tarafından üretilen fumonisinler, ilk kez mısır kültüründen izole edilip kimyasal yapısı açıklanmış ve sıçanlarda toksik etkilerle birlikte kanser aktivitesinde artışa yol açtığı bulunmuştur (Gelderblom ve ark., 1988). Fumonisinlerin, atlarda lökoensefalomalaziye ve domuzlarda pulmoner ödeme sebep olduğu bildirilmiştir (Marasas ve ark., 1988; Smith ve ark., 2000; Wilson ve ark., 1990). Farelerde, sıçanlarda ve tavşanlarda görülen karaciğer ve böbrek toksisitesi, karsinojenite gibi diğer etkilerde zaman içerisinde rapor edilmiştir (Gelderblom ve ark., 1988; He ve ark., 2004; Orsi ve ark., 2009; Voss ve ark., 1998). İnsanlarda ise fumonisinler kanser ve nöral tüp defektinin artışıyla ilişkilendirilmiştir (Marasas ve ark., 1981; Sun ve ark., 2007; Voss ve Riley, 2013). Farklı toksisite mekanizmaları ileri sürülmekle birlikte fumonisinler başlıca ökaryotik hücre zarının yapısında bulunan sfingolipitlerin biyosentezini engelledikleri gösterilmiştir (He ve ark., 2006).

Fumonisinlerin oksidatif stresi ve hücresel hasarı arttırdığına ilişkin kanıtlar mevcuttur (Ferrante ve ark., 2002). Reaktif oksijen türleri (ROS), hücresel antioksidan savunma sistemini baskılandığında ROS seviyelerinde bir artış gözlenir ve hücresel antioksidan kapasitede bir azalma sonucu oksidatif stres ortaya çıkar. Doğrudan veya dolaylı oksidatif stres nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipidlerin zarar görmesine neden olur (Ray ve ark. 2012).

Sialik asitler, dokuz karbonlu bir omurgaya sahip negatif yüklü monosakarit ve genellikle hücre yüzeyinde yer alan glikoproteinlerin ve glikolipitlerin terminal bölgelerinde yer alan yapılardır (Adak ve ark., 2013).

Polifenolik bir bileşik olan resveratrol, diyetel kaynaklardan üzümde, yerfıstığında, bazı bitkilerde ve şarapta bolca bulunur ve antikanser, antioksidan, antiinflatuar etkilere sahip olduğu kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Kurşvietienė ve ark., 2016). Bu tez çalışmasında fumonisin B₁ verilen farelerde resveratrolün karaciğer toksisitesi üzerine koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikotoksinler

Mantarlar, bitkilerle benzerlik gösterebilir de fotosentetik olmayan, DNA, beslenme yöntemi ve hücre duvarının farklı oluşuyla hayvan ve bitkilerden bağımsız bir alem oluşturan ökaryot canlılardır (Cannon ve ark., 2018). Mantarlar genellikle 10-40 °C arasındaki sıcaklıklarda, pH 4-8 aralığında ve 0,7'nin üstündeki su aktivitesine (a_w) sahip ortamlarda büyüyebilir (Bhat ve ark., 2010).

İnsan ve hayvan sağlığı açısından önemli mikotoksin türlerini üreten mantar cinsleri *Aspergillus*, *Alternaria*, *Claviceps*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Stachybotrys*'dir. Tanımlanan mikotoksinlerin toksik etkileri dikkate alındığında aflatoksinler, fumonisinler, trikotesenler, okratoksinler, patulin ve zearalenon en önemli olanlarıdır ve *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* tarafından üretilirler (Milićević ve ark., 2010; Pereira ve ark., 2014). Toksikolojik olarak diğer önemli mikotoksinlerden bazıları ergot alkaloidleri, alternaria toksinleri, sitrinin, moniliformin, beauverisin'dir (Didwania ve Joshi, 2013; Marin ve ark., 2013).

Tarihin birçok döneminde mikotoksikosis olayları görülmüştür. Orta Çağ döneminde *Claviceps purpurea*'nın ürettiği ergot alkaloidlerinin neden olduğu ve ergotizm olarak tanımlanan zehirlenmeler bilinmektedir. Avrupa'daki binlerce insanın felç olmasına veya ölümüne yol açan ergotizm, ignis sacer (kutsal ateş) veya St Anthony'nin ateşi olarak da bilinir (Peraica ve ark., 1999). Trikotesenlerin sebep olduğu alimenter toksik alöki (ATA), 19. yüzyıldan itibaren görülmüş ve özellikle 1942-1947 yılları arasında Orenburg bölgesinde 100.000 kişinin öldüğü salgınlara yol açmıştır. Hastalık açık havada kışlatılan *Fusarium* mikotoksinleriyle bulaşık buğday tüketimiyle ilişkili olarak meydana gelmiştir (Eriksen, 2003). İngiltere'de 1960 yılında hindilerin ölümü ile sonuçlanan vaka sonrası mikotoksin ismi ilk kez gündeme gelmeye başlamıştır. Turkey X disease olarak da bilinen hastalığa *Aspergillus flavus* toksini olan aflatoksin B₁ ile bulaşık yer fıstığı içeren yemlerin sebep olduğu ortaya çıkmıştır (Ismaiel ve Papenbrock, 2015).

2.2. Fumonisinler

Mantarlar içerisinde yer alan *Fusarium* cinsinin ürettiği mikotoksinler evrensel dağılım gösterir. Bu mantar cinsi ılıman ve yarı tropik bölgelerde üretilen mısır, pirinç, buğday ve yulaf gibi çeşitli tahıl bitkilerini enfekte ettikleri ve koloniler kurdukları bilinmektedir. İnsanlar ve hayvanlarda oluşturdıkları toksik etkilerine bağlı sağlık problemleriyle birlikte bitkilerde de zararlı etkileri sonucu ekonomik öneme sahip olduğu vurgulanmıştır. (Jimenez-Garcia ve ark., 2018). *Fusarium* türü mantarlar başlıca fumonisinler, trichotesenler ve zearalenone olarak bilinen mikotoksinleri üretmekle birlikte fusaproliferin, beauverisin, enniatinler ve moniliformin gibi mikotoksinleri de üretmektedir (Chilaka ve ark., 2017).

Günümüzde 28'den fazla fumonisin izole edilmiş ve bunlar A, B, C, P grupları içerisinde yer almıştır. Fumonisin B₁ (FB₁), fumonisinlerin yaklaşık %70-80'ini oluşturarak en çok bulunan üyesidir (Alshannaq ve Yu, 2017).

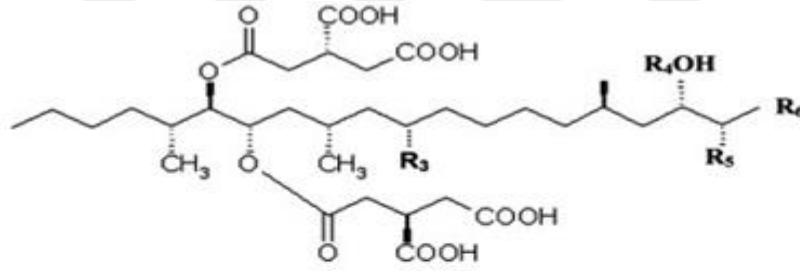
Fusarium Fujikuroi tür kompleksi (FFSC) içinde yer alan *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium fujikuroi* fumonisin B analoglarını üreten türler olarak bildirilmiştir. Bu tür kompleksinin içindeki diğer türlerin fumonisin B analoglarını üretmediği gözlenmiştir (O'Donnell ve ark., 2018). Daha önceleri *Fusarium moniliforme* olarak isimlendirilen mantar günümüzde *F. verticillioides* olarak anılmaya başlanmıştır (Pitt ve ark, 2012). Fumonisin üreticileri *F. verticillioides* ve *F. proliferatum*, mısırdaki sık rastlanmasıyla birlikte yüksek fumonisin üretim seviyeleri ve geniş coğrafyalara dağılımları nedeniyle en önemli türlerdir (Rheeder ve ark., 2003). Fumonisin üreten *F. napiforme*, *F. anthophilum* ve *F. dlamini* gibi *Fusarium* türleri de mevcuttur (Nelson ve ark., 1992).

Ayrıca *Fusarium* türleri dışında *Aspergillus niger*'in FB₂ ve FB₄ ürettiği bilinmektedir (Frisvad ve ark., 2007; Mogensen ve ark., 2009).

2.2.1. Fumonisinlerin Kimyasal Yapıları

Fusarium moniliforme isimli mantar tarafından üretilen FB₁'in ve B₂'in kimyasal yapısı ilk kez 1988 yılında tanımlanmıştır (Bezuidenhout ve ark. 1988). Doğada FB₁, FB₂ ve FB₃ yaygın olarak bulunurken grup üyeleri içerisinde FB₁'e daha yüksek oranda rastlanılır (Alberts ve ark., 2016).

Fumonisinler, doğrusal poliketit türevli omurga üzerinde farklı konumlarda bulunan iki metil (-CH₃), bir amin (-NH₂), bir ile dört hidroksil (-OH) ve iki trikarboksilik ester grubundan oluşur (Kamle ve ark., 2019). A, B, C, P benzer omurgadan oluşsa da C grubunda C20 yerine C19 omurga mevcuttur. P serisinin C-2 konumunda amino grubu mevcut değildir, bunun yerine 3-hidroksipiridinyum (3HP) grubu bulunur (Mogensen, 2012). Fumonisinlerin genel yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Fumonisinler	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlık	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Fumonisin A ₁	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₆	763	OH	OH	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin A ₂	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₅	747	H	OH	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin A ₃	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₅	747	OH	H	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin B ₁	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	721	OH	OH	NH ₂	CH ₃
Fumonisin B ₂	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705	H	OH	NH ₂	CH ₃
Fumonisin B ₃	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705	OH	H	NH ₂	CH ₃
Fumonisin C ₁	C ₃₃ H ₅₇ NO ₁₅	707	OH	OH	NH ₂	H
Fumonisin P ₁	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₆	800	OH	OH	3HP	CH ₃
Fumonisin P ₂	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₅	784	H	OH	3HP	CH ₃
Fumonisin P ₃	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₅	784	OH	H	3HP	CH ₃

Şekil 2.1. Fumonisinlerin genel yapısı (Waśkiewicz ve ark., 2012).

FB₁'in C-14 ve C-15 konumunda bulunan hidroksil grupları trikarboksilik asidin karboksil grubuyla (-COOH) birlikte ester formu oluşturur. FB₂ (C-10) ve FB₃ (C-5) FB₁'in deoksi analoglarıdır (Soriano ve ark., 2005). A grubu, B grubundan farklı

olarak asetillenmiş amin taşır ve bunlar N-asetil analogları olarak ifade edilir (Mogensen, 2012; Tamura ve ark., 2015).

2.2.2. Fumonisinlerin Bulunduğu Ortamlar ve Oluşum Koşulları

Fusarium türü mantarların büyümesi ve fumonisin üretimi çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlerle etkileşime bağlı olarak gerçekleşir. Sıcaklık, su stresi başta olmak üzere ozmotik stres, pH ve fungusitler gibi koşullar bu süreci etkiler (Kamle ve ark., 2019).

Fumonisinlerin üretimi için *F. verticillioides*'in büyüme sıcaklığı en yüksek 32-37 °C, en düşük ise 2,5-5 °C ve optimum sıcaklık 25 °C'dir. Ayrıca en düşük su aktivitesi (a_w) yaklaşık 0,87 olmalıdır. Bu değerler aşağı yukarı *F. proliferatum* için benzerlik göstermektedir (Pitt ve ark., 2012).

Mısırdaki FB₁ üretimi, 25 °C'de 7 haftalık, 20 °C'de ise 9 haftalık inkübasyon sonrası en yüksek değere ulaşmıştır. Yüksek değerler 9. haftadan sonra tespit edilse de anlamlı bir fark bulunmamıştır (Alberts ve ark., 1990).

İran'da mısır örneklerinin %50'sinde, pirinç örneklerinin %40 civarında ve ortalama olarak mısırdaki 223,64; pirinçte ise 21,59 µg/g değerlerinde tespit edilmiştir. Örneklerin toplandığı bölgedeki yüksek yağış ortalamaları ve bağıl nemin görüldüğü iklim *Fusarium* türlerinin neden olduğu enfeksiyon oranlarını artırmıştır (Alizadeh ve ark., 2012). Fumonisinler, mısır dışında buğday, yulaf, arpa, darı gibi tahıllarda da bulunmuştur (Scott ve ark., 2012).

Tahıllar dışında, İtalya'da yapılan bir araştırmada tahıl unları, makarna, ekmek, kahvaltılık tahıl ürünleri, bisküvi gibi marketlerden toplanan numunelerde de FB₁ ve FB₂ tespit edilmiştir (Cirillo ve ark., 2003).

Üzümde yapılan çalışmada, 171-7841 µg fumonisin B₂/kg ve 14-1157 µg fumonisin B₄/kg üretilmiştir. Kuru üzümde ise fumonisin B₂ için 5-6476 µg/kg ve fumonisin B₄ için ise 12-672 µg/kg değerler tespit edilmiştir. Ayrıca düşük su

aktivitesi (Fumonisinin 0,76 a_w'deki üretimi, 0,54 a_w'deki üretiminden fazladır.) ile orantılı olarak üretilen fumonisin azaldığı ifade edilmiştir (Mogensen ve ark., 2009).

Farklı ülkelerde üretilmiş toplam 77 şarap örneğinin 18'inde 1-25 µg/L aralığında FB₂ içerdiği bildirilmiştir (Mogensen ve ark., 2010).

Portekiz'de toplanan 18 siyah çay örneğinden 16'sındaki FB₁ miktarları 80 ile 280 µg/kg arasında saptanmıştır. Portakal ağacının yaprakları, ıhlamur ağacının yaprakları veya çiçekleri, mısır püskülü, sarı papatya gibi medikal bitkilerde de fumonisin bulunmuştur (Martins ve ark., 2001).

Fumonisinler, pişirme ve gıda üretimi süreçlerinin çoğunda mevcudiyetini korur. Pişirme sıcaklığı 60-100 °C arasındaki 20-30 dakikalık pişirme, kaynatma ve pastörizasyon gibi işlemlerde oldukça az kayıba veya hiç kayba uğramadan varlık göstermeye devam ederler. Fumonisinlerin, ayrışması daha yüksek sıcaklıklarda başlar. Kurutulmuş mısır kültüründe ilk ayrışma belirtileri 100 °C'de 175 dakikada gözlenmiştir. Mısırın 60 dakika boyunca 190 °C'de ısıtıldığında %60-80 oranında kaybı gerçekleşirken tamamına yakın kaybı ise 220 °C'de 25 dakika sürede gerçekleşir (Humpf ve Voss, 2004).

2.2.3. Fumonisinlerin Sfingolipit Metabolizmasına Etkileri

2.2.3.1. Sfingolipitlerin Biyolojik Görevleri

Sfingolipitler, omurgasında uzun zincirli veya sfingoid baz (sfingozin) olarak adlandırılan ortak yapısal özelliği bulunduran doğal lipit sınıfıdır (Merrill, 2011; Rao ve ark., 2013). Biyoaktif sfingolipitlerin hücre biyolojisinde önemli roller oynadığı bilinmektedir. Hücre büyümesi, hücre döngüsü, hücre ölümü, hücre yaşlanma, yangı, bağışıklık yanıtı, hücre adhezyonu ve göçü, anjiyogenez, besin alımı, metabolizma, stres uyarıcılarına cevap ve otofaji gibi süreçlerde rol alırlar (Hannun ve Obeid, 2018).

Sfingoid bazlar reseptörleri, protein kinazları ve iyon taşıyıcıları içeren birçok hedefi etkilerler. Yine bu bazlar hücrede önemli biyoaktif rolleri olan seramit, sfingozin-1-fosfat gibi ürünlere metabolize edilirler (Merrill, 2011).

Sfingoid baz biyosentezinin bir ara maddesi olan sfinganin (dihidrosfingosin) küçük miktarlarda da olsa kompleks sfingolipitlerin çoğunda bulunur (Merrill, 2011).

Seramit sinyalizasyonu hücre büyümesi, hücre farklılaşma, yaşlanma, nekroz, proliferasyon ve apoptozun düzenlenmesinde büyük roller üstlenmektedir (Bartke ve Hannun, 2009).

Sfingozin, bir adet üç karbon zincirine bağlı iki alkol ve amin bağlı uzun bir hidrokarbon zincirinden meydana gelir. Hücre büyümesi, hücre morfolojisi, hücre farklılaşması, endotel hücre geçirgenliğinin düzenlenmesi ve apoptoz gibi olaylarda görev alır (Soriano ve ark., 2005).

Sfingozin-1-fosfat (S1P) ve seramit-1-fosfat (C1P), hücre proliferasyonu, göç, transformasyon, inflamasyon ve anjiyogenez gibi olaylarda yer alan tümör oluşumunu artıran lipitler olarak kabul edilir (Rao ve ark., 2013).

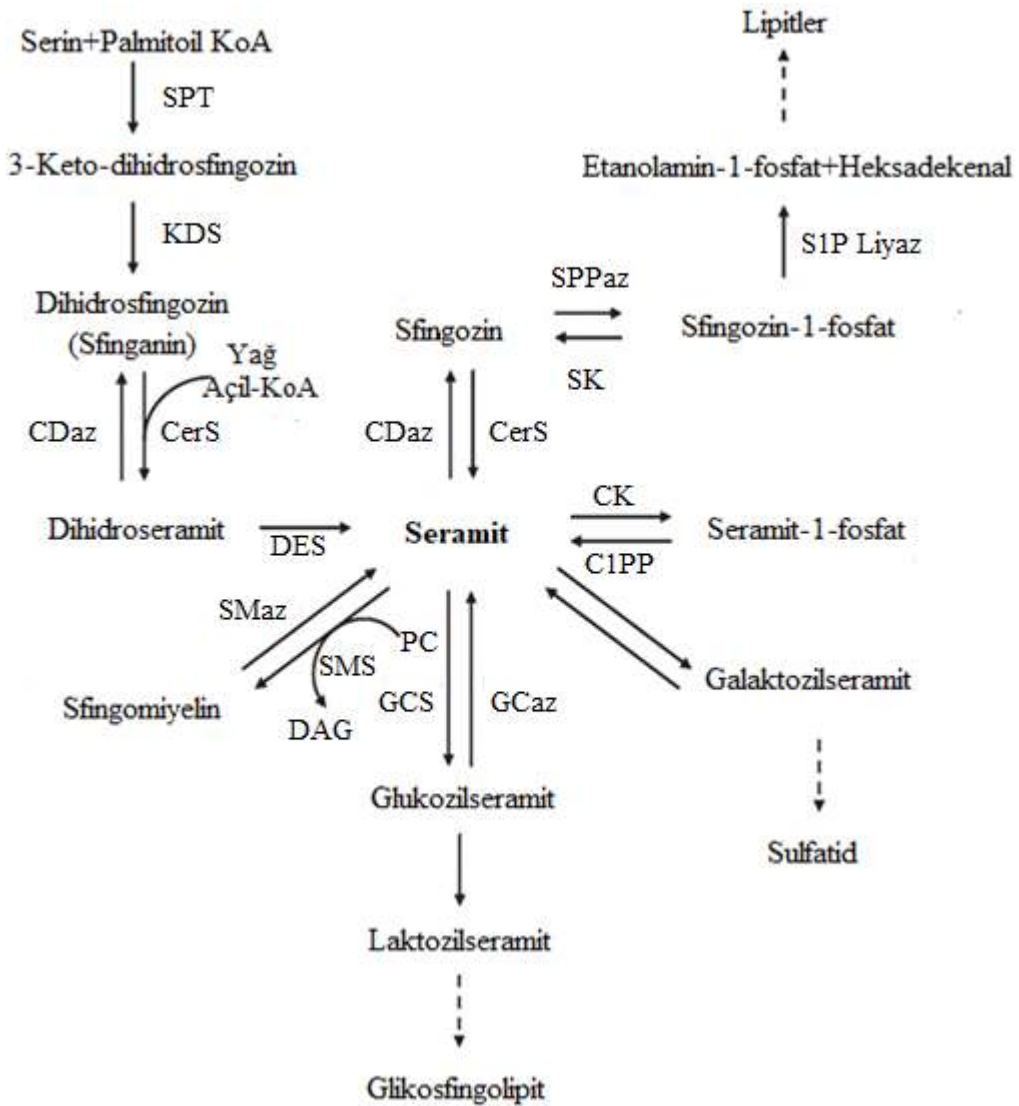
Sfingomiyelin, memeli hücrelerinde en yaygın bulunan ve hayatta kalmak için gerekli kompleks sfingolipittir. Kompleks sfingolipitler, membran yapısını ve belirli fonksiyonel mikro alanları korumak için gereklidir ve en belirgin şekilde sfingomiyelinlerde görülür (Kouzi ve ark., 2018).

2.2.3.2 Sfingolipitlerin Sentezi

Sfingolipit sentezi, endoplazmik retikulumda *de novo* sentezi üzerinden serin ile palmitoil-KoA'nın serin palmitoil transferaz enzimi katalizörlüğünde 3-keto-dihidrosfingozini (3-ketosfinganin) oluşturulmasıyla başlar (Kouzi ve ark., 2018). Öncelikli olarak tercih edilen substratlar serin ve palmitoil-KoA'dır fakat alanin veya glisin ve stearat veya miristat da kullanılabilir (Hannun ve Obeid, 2018). 3-Keto-dihidrosfingozin, dihidrofingozin (sfinganin) oluşturulmak üzere indirgenir ve daha

sonra dihidroseramit üretmek için dihidroseramit sentaz tarafından N-asile edilir. Dihidroseramit, dihidroseramit desatüraz ile desatüre edilerek seramit oluşur (Bartke ve Hannun, 2009). Sfingolipitlerin sentez yolları Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Seramit üretiminin bir başka yolu kompleks sfingolipitlerin hidroliziyle gerçekleşir. Glikosfingolipit ve sfingomiyelinin bulunduğu kompleks sfingolipit havuzundan hidrolitik yollardaki spesifik hidrolazların ve fosfodiesterazların yardımıyla tekrar seramit oluşturulabilir (Rao ve ark., 2013).



Şekil 2.2. Sfingolipitlerin sentez yolları. Bartke ve Hannun (2009), yayınındaki görselden düzenlenmiştir (SPT: serin palmitoil transferaz, KDS: 3-keto-dihidrosfingozin redüktaz, DES: dihidroseramit desatüraz, SPPaz: sfingozin fosfat

fosfataz, CK: seramit kinaz, C1PP: seramit-1-fosfat fosfataz, SMS: sfingomiyelin sentaz, PC: fosfatidilkolin, DAG: diasilgliserol, GCS: glukozilseramit sentaz; GCaz: glukosil seramidaz; CDaz: seramidaz, CerS: seramit sentaz, SK: sfingosin kinaz, SMaz: sfingomiyelinaz).

Seramit, sfingolipit metabolik yolağında sfingolipitlerin sentezinde ara ortak ürün olarak işlev görür (Rao ve ark., 2013). Seramitler, golgi cisimciğinde daha karmaşık sfingolipitlere dönüştürülür. Ayrıca C1P, trans-golgide ve potansiyel olarak plazma membranında seramit kinaz tarafından üretilir. C1P üretilmesi için seramitin fosforile edilmesi gerekir (Gault ve ark., 2010).

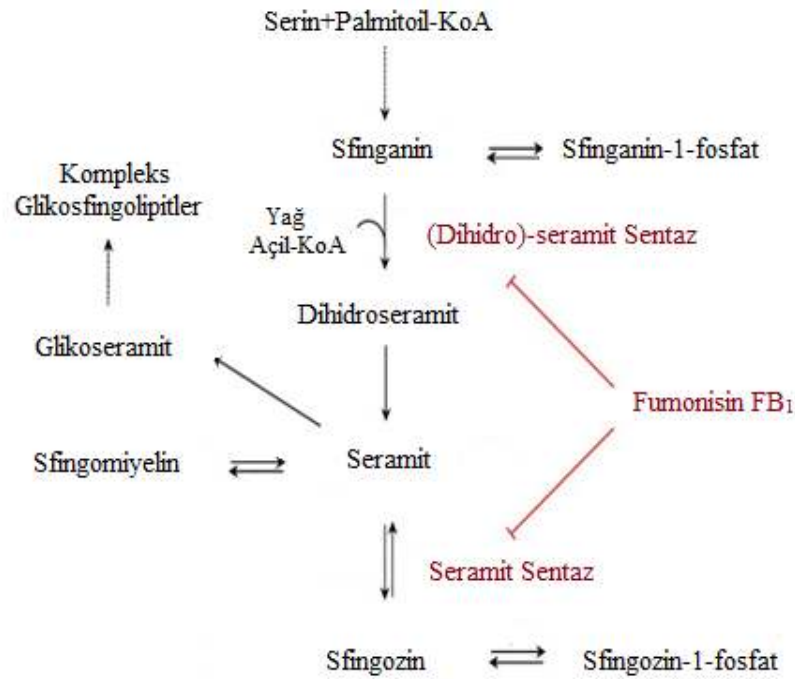
Seramitler, karmaşık sfingolipitler haricinde sfingozin üretiminde de substrat olarak kullanılır (Rao ve ark., 2013). Sfingozin kinaz tarafından fosforilasyon sonucu sfingozin, S1P'ye dönüşür (Soriano ve ark., 2005). S1P liyaz, etanolamin fosfat ve heksadekenal oluşumak üzere S1P'yi metabolize edilebilir (Bartke ve ark., 2009).

Sfingomiyelin sentezi için endoplazmik retikulumda üretilen seramit, seramit transfer proteini aracılığıyla golgiye taşınır. Sfingomiyelin sentazın katalizli tepkimesinde fosfatidilkolinin baş grubu fosfokolini kullanılır ve süreçte diasilgliserol ortaya çıkar (Slotte, 2013). Ayrıca bu sürecin tersine D₃ vitamini ile uyarılan sfingomiyelinaz aktivitesi sfingomiyelin yıkımını gerçekleştirir ve seramit seviyesinde artış gözlenir (Kouzi ve ark., 2018).

Glikolipitler, glikosidik bağlantı yoluyla hidrofobik bir lipit grubuna bağlı bir veya daha fazla karbonhidrat içeren biyomoleküllerdir. Hidrofobik lipit kısmı sfingoid veya seramit içeren glikolipitler, glikosfingolipitler olarak adlandırılır. Glikosfingolipitler, karbonhidrat zincirlerinde ve lipit kısımlarında oldukça heterojen ve çeşitli moleküler yapılar sahiptir. Karbonhidrat kısımlarında bir veya daha fazla sialik asit (N-asetilneuraminik asit veya N-glikoliliniuraminik asit) içeren asidik glikosifingolipitlere gangliositler denir (Yu ve ark., 2011).

2.2.3.3 Fumonisilerin Sfingolipitlere Etkileri

Seromit sentaz enziminin fumonisinler tarafından engellemesi sonucu *de novo* seromit biyosentezi de engellenmiş olur ve buna bağlı olarak seromit ara ürünü oluşmadığı için bu sentez yolağındaki sfinganin ve seramitten geri dönüştürülen sfingozin miktarında artışa neden olur. Ayrıca bu sfingoid bazların (sfinganin ve sfingozin) kinaz fosforilasyonundan dolayı sfinganin-1-fosfat ve sfingozin-1-fosfat olarak dokularda birikir. FB₁'in seromit sentezini engellediği noktalar Şekil 2.3'de gösterilmiştir. Aynı zamanda azalan seromit nedeniyle kompleks sfingolipitler de azalır. Bu etki sonrasında sfingolipite bağımlı sinyal ve fizyolojik fonksiyonlarda bozulmalar ortaya çıkar (Blacutt ve ark., 2018).



Şekil 2.3. FB₁'in seromit sentezini engellediği noktalar. Müller ve ark. (2012), yayınındaki görselden düzenlenmiştir.

Seromit sentazın, FB₁ tarafından inhibe edilmesi FB₁'in C1 pozisyonundaki serbest bir amino grubuna sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Primer bir amino gruba sahip olmayan fumonisinlerin ise seromit sentazı engellemediği sonucuna ulaşılmıştır

(Voss ve Riley, 2013). FB₁'in aminopentol omurgası, seramit sentezinde sfingoid baz substratın bağlanmasına karşı rekabet ederken, anyonik trikarbalilik asitlerin de yağ açıl-KoA'nın bağlanmasını engelleyebilir (Merrill, 2011).

FB₁'in sıçan hepatositlerinde radyoaktif işaretli serinin sfingolipitlere eklenmesini engellediği; radyoaktif işaretli sfingozini, seramite dahil edilmesini azalttığı ve karaciğerdeki mikrozomların seramit sentaz aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Voss ve Riley, 2013).

2.2.4. Fumonisinlerin İnsan Sağlığına Etkileri

FB₁, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansına (IARC) göre insanlarda muhtemel kanserojen Grup 2B kategorisinde yer almaktadır (IARC, 2002). Güney Afrika'nın ve Çin'in bazı bölgelerindeki mısırlarda bulunan yüksek fumonisin konsantrasyonu ile insanlarda özofagus (yemek borusu) kanseri ve Çin'deki karaciğer kanseri artışı arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Marasas ve ark., 1981; Sun ve ark., 2007).

Afrika'nın güneyi, Çin, Meksika ve Guatemala bölgelerinde diyetin büyük bölümünü oluşturan mısırın tüketime bağlı oluşan nöral tüp defekti oranı dünyadaki ortalamadan en az 6 kat veya daha fazla olduğu bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Teksas'ın güneydoğu bölgesinde doğan bebekler arasında görülme sıklığındaki yaklaşık 2 kat artışın fumonisinler ile bağlantılı olabileceği öne sürülmüştür (Voss ve Riley, 2013). Nöral tüp defekti deney modellerinde oluşturulmuştur. FB₁ ile fare embriyosunda oluşturulan nöral tüp defekt ve fasiyal defekt, folik asit uygulaması sonucunda azalma tespit edilmiştir (Sadler ve ark., 2002). Başka bir araştırmada doza bağlı farelerde nöral tüp defektini arttırdığını; folik asit tedavisinin bu artışa engel olduğu gözlenmiştir. Monosialogangliosid GM1 uygulamasının, folik aside oranla daha iyi bir sonuç verdiği görülmüştür (Gelineau-van Waes ve ark., 2005).

2.2.5. Atların Lökoensefalomalazisi (Equine Leukoencephalomalacia, ELEM)

Dünya genelinde doğal olarak ortaya çıkan fumonisin toksisitesine karşı en duyarlı türler atlardır. Toksisiteden kalp, merkezi sinir sistemi ve karaciğer en çok etkilenen organlardır. Beyinde nekrozdan dolayı malazi (yumuşama) ve beyaz maddede dağılımı nedeniyle en belirgin lezyonun tipine göre bu hastalık sendromuna, lökoensefalomalazi denilmiştir. ELEM, 1900'lü yılların başından beri görülmeye ve atların ölümüyle sonuçlanan vakalar bildirilmektedir (Voss ve ark., 2007). Araştırmalar sonucu fumonisinlerin, ELEM etkeni olduğu bildirilmiştir (Kellerman ve ark., 1990; Marasas ve ark., 1988). Günümüzde ELEM görülmekte ve atların öldüğü vakalar bildirilmeye devam edilmektedir (Vendruscolo ve ark., 2016).

Atlarda, fumonisin uygulamasına bağlı gelişen toksisiteye bağlı apati, halsizlik, iştahsızlık, kabızlık ve ikterus gibi klinik semptomlar 8. günden itibaren görülmeye başlanır. Nörolojik bozukluk olarak alt dudakta ve dilde felç görülür. Bu etkiye bağlı olarak ilerleyen zamanlarda zayıflama gözlenir. Histopatolojik incelemelerde beyin dokularında ödem ve hepotozis başlıca bulgulardır (Marasas ve ark., 1998). Bir başka histopatolojik bulgu beyinin beyaz maddesinde görülen likefaksiyon nekrozudur (Wilson ve ark., 1990).

2.2.6. Domuzların Pulmoner Ödemi (Porcine Pulmonary Edema, PPE)

Fumonisinlerin etkilerine karşı atlarla birlikte domuzlar en hassas türlerdir. FB₁'in domuzlarda akut tipik ve türe özgü bulgusu pulmoner ödemdir. Deneysel olarak açıklandıktan bir süre sonra 1989'da fumonisinlerin kirlettiği mısır tüketiminin yol açtığı salgın birkaç domuzun ölümüne neden olmuştur. Başlıca bulgu pulmoner ödem olarak tespit edildi ve bu vaka sonrası domuz pulmoner ödemi (PPE) olarak adlandırılmıştır (Bertero ve ark., 2018). Fumonisin kaynaklı pulmoner ödem patogenezinde akciğerlere ve kardiyovasküler sisteme ilişkin bulgular dikkat çeker. Pulmoner ödem patogenezinde dikkat çeken histolojik bulgular pulmoner interstisyel ödem, pulmoner kapiller endotel değişiklikleridir. Akciğerde ve endotel hücrelerinde sfingoid bazların artışı dikkat çeker (Haschek ve ark., 2001). FB₁ tarafından indüklenen pulmoner ödemin değişmiş endotel geçirgenliğinden kaynaklı olmadığı,

sol taraflı kalp yetmezliğinden dolayı geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca fumonisin uygulanan domuzlarda ve sol ventriküllerinde sfinganin ve sfingosin konsantrasyonları belirgin şekilde artmıştır (Smith ve ark., 2000).

2.2.8. Yasal Limitler

Avrupa Birliği'nde ve Türkiye'de fumonisin (FB₁ ve FB₂) için izin verilen yasal limitler benzerlik taşımaktadır. İnsan tüketimine sunulan mısır ve mısır içerikli ürünlerde 1000 µg/kg, mısır içeren çerezler ve kahvaltılık tahıllar için 800 µg/kg, bebek ve küçük çocuklara yönelik ürünlerde 200 µg/kg olarak belirlenmiştir (EC, 2007; GTHB, 2011). Amerika Birleşik Devletleri'nde fumonisinler (FB₁, FB₂, FB₃) için belirlenen limitler ise kuru öğütülmüş mısır ürünlerindeki yağ içeriği %2,25'den az olanlar için 2 ppm (milyonda bir), yağ içeriği %2,25'den fazla olanlar için 4 ppm ve patlatılabilir mısır için 3 ppm'dir (FDA, 2001). FDA'nın hayvanlarda bazı fumonisinler için belirlediği güvenli limitler aşağıda Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. FDA'nın hayvanlarda fumonisinler için belirlediği güvenli limitler

Hayvan Türleri	Mısır ve mısır ürünlerinde toplam fumonisin düzeyleri (FB ₁ , FB ₂ , FB ₃)
Tek tırnaklılar ve tavşanlar	5 ppm**
Domuzlar	2 ppm***
Ruminantlar, kümes hayvanları, vizon*	3 ppm***
Kasaplık ruminantlar (3 ve 3 aydan büyük)	6 ppm***
Kasaplık kümes hayvanları	100 ppm***

* İnsan tüketimine sunulan süt ve yumurta üreten hayvanlar için, ** Kuru ağırlık bazında diyetin en fazla %20'sinde, *** Kuru ağırlık bazında diyetin en fazla %50'sinde (FDA, 2001).

2.3. Resveratrol

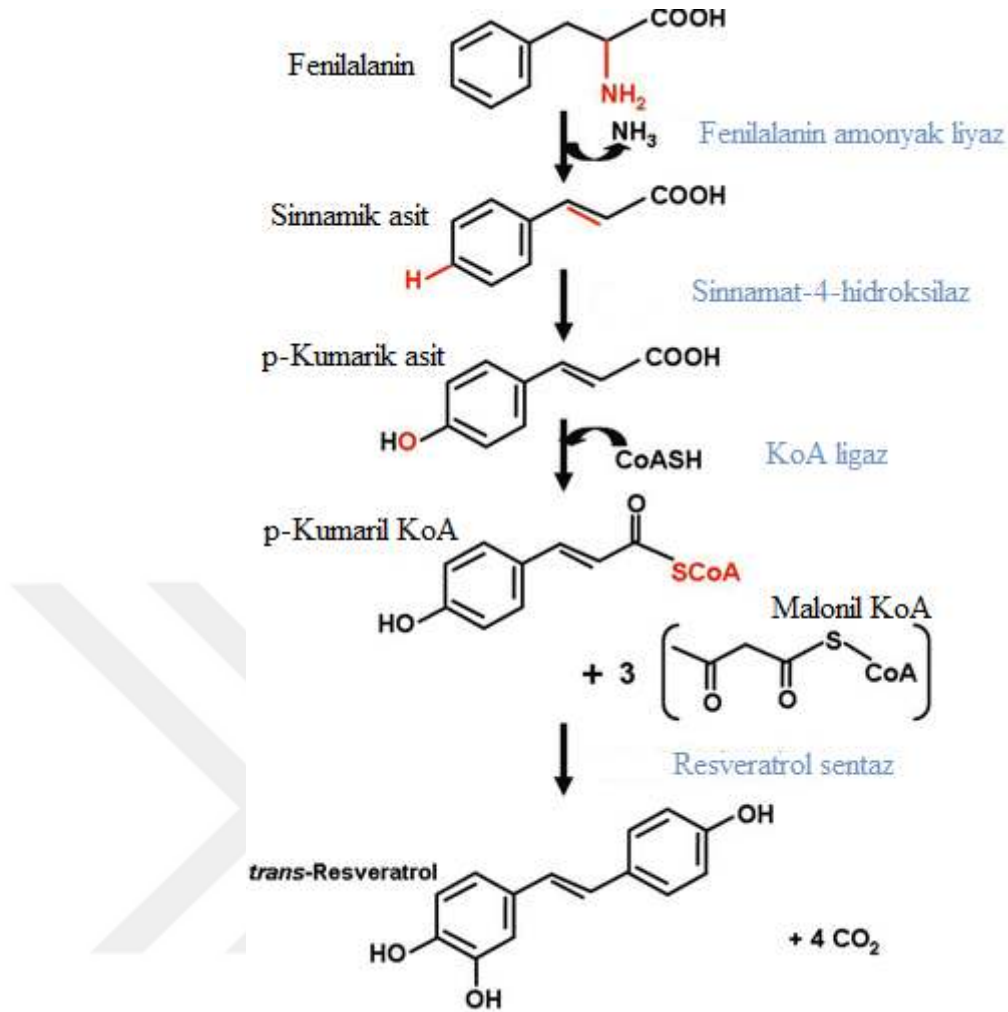
Resveratrol'ün keşfi 1940'lı yıllarda *Veratrum grandiflorum* O. Loes köklerinden elde edilmesiyle gerçekleşmiştir; daha sonra Japon ve Çin geleneksel

tıbbında kullanılan *Polygonum cuspidatum* köklerinde de bulunduğu tespit edilmiştir (Baur ve Sinclair, 2006).

Renaud ve de Lorgeril, 1992'de yayımladıkları çalışma sonrası “Fransız Paradoksu” tabirini kullandılar. Fransa'daki yüksek miktarda doymuş yağ alımına rağmen diğer Avrupa ülkelerine kıyasla koroner kalp hastalığında görülen düşük ölüm oranı çalışmaya göre aykırı görünüyordu. Bu paradoks ile ilgili Fransa'daki düzenli şarap tüketimin koruyucu etkileri olabileceği düşünülmüştür (Opie ve ark., 2011).

2.3.1. Resveratrol Sentezi

Bitkilerde, şekerlerden amino asit sentezinin gerçekleştiği shikimate yolağı ile fenilalanin oluşur. Malonil KoA ise asetil KoA'dan sentezlenmesiyle elde edilir. Fenilalanin, amino fenilalanin amonyum liyaz enzimi ile katalize ettiği oksidatif deaminasyon yoluyla amino grubunu kaybederek sinnamik aside dönüştürülür. Sinnamik asit daha sonra sinnamat-4-hidroksilaz ile enzimatik hidroksilasyona uğrayarak p-kumarik aside dönüşür ve KoA ligaz tarafından serbest koenzimden p-kumaril KoA üretilir. Üç molekül malonil KoA ile bir molekül p-kumaril KoA'dan stilben sentaz ile trans resveratrol sentezlenir ve her bir trans resveratrol sentezi sonucu dört molekül karbon dioksit salınır (Sales ve Resurreccion, 2014). Trans resveratrol sentezi ve basamakları Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Resveratrol sentezi. Sales ve Resurreccion (2014), yayınındaki görselden düzenlenmiştir.

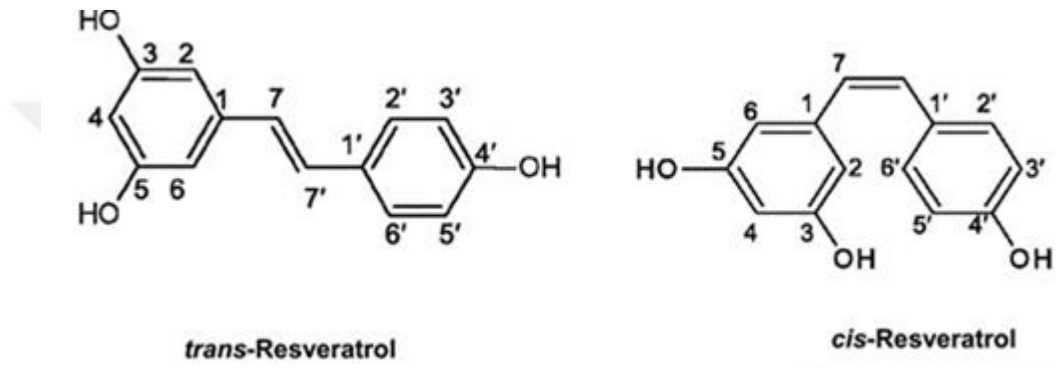
2.3.2. Resveratrolün Fizikokimyasal Yapısı ve Derivasyonları

Resveratrolün, kimyasal yapısı 3,4',5-trihidroksistilben olan polifenolik bir bileşiktir (Kuršvietienė ve ark., 2016). Resveratrolün cis- (Z) ve trans- (E) iki yapısal izomeri mevcuttur ve trans-izomer biyolojik olarak cis izomerinden daha aktiftir (Amri ve ark., 2012). Trans ve cis formu Şekil 2.5'de gösterilmiştir.

Fiziksel-kimyasal özellikleri incelendiğinde moleküler formülü $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$, moleküler ağırlığı 228,25 g/mol ve erime noktası 253-255 °C olan katı, beyazımsı/kırık beyaz renge bir tozdur (PubChem Database). Resveratrol, organik çözücülerde; etanol, dimetil sülfoksit için yaklaşık olarak 65 mg/ml ve dimetil formamid için ise

takriben 100 mg/ml'de çözünür. Phosphate buffered saline'de çözünürlüğü pH 7.2'de yaklaşık 0,1 mg/ml'dir (Cayman Chemical). Suda çözünürlüğü açısından, Avrupa Farmakopesi tanımına göre pratik olarak çözünmez olarak kabul edilir (Amri ve ark., 2012).

Piceid, piceatannol, pterostilbene, arachidin I, II, III gibi birkaç resveratrol derivasyonları üzüm, şarap, yer fıstığı, yaban mersini gibi ürünlerde tespit edilmiştir (Rimando ve ark., 2004; Sales ve Resurreccion, 2014).



Şekil 2.5. Resveratrolün trans ve cis yapıları (Sales ve Resurreccion, 2014).

2.3.3. Resveratrol Kaynakları

Stilben bileşiklerinin, bitkilerde mikrobiyal ve fungal enfeksiyonlara karşı savunma amaçlı etkileri vardır. Bu etkiye paralel olarak resveratrol yaralı, enfekte ve ultraviyole ışınlar maruz kalmış yapraklarda büyük miktarlarda bulunur (Berman ve ark., 2017).

Resveratrol, başlıca üzüm ve üzümün kabuğunda tespit edilmiştir. Üzüm çeşitlerinde resveratrol varlığı 2475-6471 ng/g aralığında bulunmuştur (Rimando ve ark., 2004). Bir çalışmada 21 çeşit kırmızı üzüm çeşidi incelenmiş ve bu üzümlerin kabuğunda bulunan trans-resveratrol 19 ile 508 µg/g arasında değişkenlik göstermiştir. Diğer formları en yüksek trans-piceid 1196 µg/g, cis-piceid, 551 µg/g ve trans-piceatannol 72,1 µg/g değerlerde tespit edilmiştir (Vincenzi ve ark., 2013).

Farklı bölgelerdeki şarap üreticilerinin şarapları incelendiğinde, Fransa’da üretilen kırmızı şarapların diğer şaraplara göre yüksek miktarda resveratrol içerdiği tespit edilmiştir. Resveratrol miktarları üretim yılına, bölgeye ve şarap çeşidine göre değişkenlik göstermektedir (Siemann ve Creasy, 1992). Bir başka araştırmada Yunanistan’da üretilen kırmızı şarapların (0,352-1,99 mg/l), beyaz şarap çeşitlerine (0,005-0,57 mg/l) göre daha fazla konsantrasyonlarda trans-resveratrol bulunduğu rapor edilmiştir (Gerogiannaki-Christopoulou ve ark., 2006).

Yer fıstığında resveratrol bitki çeşidine göre 0,022 µg/g ile 1,792 µg/g arasında bulunmuştur ve diğer yer fıstığı bazlı ürünlerinde de mevcut olduğu bildirilmiştir (Meredith ve Alfred, 2003).

Yaban mersininin kültür ve yabani çeşitlerinde tespit edilen resveratrol değerleri Amerika’da 47-853 ng/g; Kanada örneklerinin çoğu yabani türler olup 768-5884 ng/g aralığında bulunmuştur (Rimando ve ark, 2004).

Bazı bitkilerin köklerinde de resveratrol bulunabilir. Bunlardan *Veratrum grandiflorum* O. Loes ve *Polygonum cuspidatum* gibi bitkilerin köklerinde resveratrol varlığı rapor edilmiştir (Baur ve Sinclair, 2006).

2.3.4. Resveratrolün Farmakokinetiği

Farede oral resveratrol uygulamasından bir buçuk saat sonra kanda, idrarda ve safrada bulunmuştur. Safrada, deney sonuna dek resveratrol aynı seviyelerde gözlenirken, idrarda zamana bağlı yavaşça artmıştır. Uygulamanın üç saat sonrası duodenumda en yüksek konsantrasyonda bulunmuş bunu böbrek, akciğer ve karaciğer izlemiştir. Kolon, dalak, kalp, testis ve beyinde de aktivite gözlenmiştir. Böbrek ve karaciğer dokularında trans resveratrolün glukuronid veya sülfat konjugatından biri görülmüştür (Vitrac ve ark., 2003). İntarevenöz trans resveratrol (20 mg/kg) uygulamasının 5 dakika sonrasında tavşanların plazmasında en yüksek konsantrasyonu 42,8 µM olarak gözlenmiş daha sonra 60 dakikada içerisinde 0,9 µM kadar hızlı bir düşüş sergilemiştir. Aynı dozun oral yolla verilışinden sonra plazmadaki en yüksek konsantrasyon farelerde ortalama 2,6 µM ve tavşanlarda 1,1 µM olarak 2,5

dakika içinde ve sıçanlarda 1,2 μ M ilk 5 dakika içinde bulunmuştur. 60 dakika sonunda değerler oldukça düşük tespit edilmiştir. Deneyde kullanılan hayvanların beyin, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oral uygulama sonrası resveratrole rastlanmıştır (Asensi ve ark., 2002). trans-Resveratrol 20 μ M dozunda inkübasyona bırakılan sıçandan izole edilmiş hepatositler 20 dakikada yaklaşık %80'ini metabolize ettiği rapor edilmiştir (Asensi ve ark., 2002). Moğolistan gerbilinde resveratrol, enjeksiyondan sonra 1 saat içinde serumda glukuronid konjugat formunda tespit edilebilmiş ve serum resveratrol düzeyi 1 saat içinde en yüksek noktada gözlenmiştir. Karaciğerdeki ve beyindeki resveratrol düzeyi ise 4 saatte zirveye ulaşır zamanla düşüş gözlenmiştir (Wang ve ark., 2002).

2.3.5. Resveratrolün Biyolojik ve Farmakolojik Etkileri

2.3.5.1. Anti-Kanser Etkileri

Resveratrolün, Lewis akciğer karsinomu hücrelerinde apoptozu arttırdığı, koloni sayısını azalttığı ve DNA sentezini inhibe ettiği görülmüştür. Neovaskülarizasyonu ve anjiyogenezi inhibe ettiği *in vivo* ve *in vitro* ortamda gözlenmiştir. Bu bulgular ışığında antitümör ve antimetastatik etkiler gösterdiği ileri sürülmüştür (Kimura ve Okuda, 2001).

İnsan primer mide kanseri hücrelerinin fareye nakledilen bir tümör modelinde resveratrol uygulamaları bcl-2 gen ekspresyonunu aşağı doğru ve bax gen ekspresyonunu yukarı doğru düzenlemesi sonucu bcl-2/bax oranının azaldığı ve nakledilen tümör hücrelerinde apoptozisi tetiklediği gözlenmiştir (Zhou ve ark., 2005). Bir başka araştırmada resveratrolün özofagus kanseri hücre hattında bcl-2 ve bax genleriyle ilgili benzer etkiler sonucu apoptozisi uyardığı gözlenmiştir (Zhou ve ark., 2003). Bu verilerle birlikte resveratrolün, mide karsinomu ve özofagus kanseri tedavisinde muhtemel kemoterapötik ilaç olabileceği fikri öne sürülmüştür (Zhou ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2005).

İnsan meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231 üzerinde resveratrolün, hücre çoğalmasını, hücre canlılığını ve koloni oluşumunu önemli ölçüde azalttığı ve meme

kanseri hücre hattında doza bağlı olarak apoptozu tetiklediği belirtilmiştir. Resveratrolün 32 ve 64 μ M konsantrasyonlarda işlem gören hücrelerdeki seramit seviyesi, kontrol grubundaki hücrelere göre 5 ve 10 kat arttığı gözlemlenmiştir. Resveratrol etkilerini, uyardığı sfingomyelinin hidrolizi ve seramit sentezi sonucu artan seramit seviyesi vasıtasıyla yansıttığı sonucuna ulaşılmıştır (Scarlati ve ark., 2003).

2.3.5.2. Kardiyovasküler Koruyucu Etkileri

Resveratrol, farklı deneysel modellerde artan sistolik kan basıncı değerlerinde azaltıcı etki göstermiştir (Bircan, 2014; de Oliveira ve ark., 2012). Renal arterlerde stenoz oluşturarak geliştirilen hipertansif rat modelinde resveratrol uygulaması, kontrol grubuyla kıyaslandığında kardiyak hipertrofi indeksinde ve bazal ROS değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bulgular göz önüne alındığında resveratrol uygulamasının kardiyovasküler sistem üzerindeki koruyucu etkileri vurgulanmıştır (de Oliveira ve ark., 2012). Benzer bir model çalışmasında resveratrol yüksek kan basıncını (>160 mmHg) tek başına düşürmede yetersiz kalmıştır. Fakat anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan kaptopril ile resveratrol kombine uygulanmasının kan basıncını sadece kaptopril uygulamasına göre anlamlı olarak azaltmış ve kontrol grubuna yakın değerler bulunmuştur. Kaptopril ve resveratrol uygulamaları aortun vasküler fibrozisini artırırken, kombine uygulamalar azaltmıştır. Hipertansif ratlarda artan aort kalınlığı, resveratrol ve resveratrol+kaptopril kombine uygulamaları sonucu kontrol grubundakiyle benzer şekilde görülmüştür. Resveratrol, renovasküler hipertansiyonda kaptoprilin vazoprotektif etkileri üzerine sinerjik etkiler göstermiştir (Natalin ve ark., 2016).

Hiperkolesterolemi oluşturulan tavşanlarda *in vitro* olarak trombosit agregasyonu üzerine etkileri incelendiğinde yüksek kolesterol içeren diyetle beslenen hayvanların trombosit agregasyon hızı oldukça yüksek bulunmuştur. Resveratrol ise bu değerleri düşürerek kontrol grubuna yakın değerler elde edilmiştir. Aynı çalışmada sağlıklı bireylerden elde edilen örneklerle yapılan *in vivo* deneyde trombin, fibrinojen ve adenosin difosfat ile indüklenen trombosit agregasyonunu engellediği ifade edilmiştir (Wang ve ark., 2002).

2.3.5.3. Yangı Önleyici Etkileri

Araşidonik asit mediatörlerinin aşırı üretimi insanlarda görülen hastalıkların birçoğunda yangıyla ilişkilidir (Jacob ve ark., 2018). Araşidonik asit, hücre membran fosfolipitlerin içinde bolca bulunan doymamış yağ asididir. Fosfolipaz A2'nin çeşitli uyaranlara karşı aktivasyon sonucu araşidonik asidi serbest bırakır. Bu olay iki ana enzimatik yolak olan siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LOX) vasıtasıyla metabolize edilebilir ve sonrasında proinflatuar mediatörler olan prostanooidler ve lökotrienler (LT) ortaya çıkar (Charlier ve Michaux, 2003; Kuralay ve Çavdar, 2006).

Resveratrol, siklooksijenaz izoformu COX-2'yi inhibe ederek prostaglandin sentezini önlediği bildirilmiştir (Subbaramaiah ve ark., 1998). Benzer şekilde resveratrol prostaglandin D₂ (PGD₂) ve prostaglandin E₂ oluşumunu COX enzimini inhibe ederek göstermiştir. Buna ek olarak K562 hücrelerinde resveratrol (30 mM), 5-lipoksijenaz ve 15-lipoksijenaz seviyesini; prostaglandin H sentez siklooksijenazın ve peroksidazın aktivitesini de düşürmüştür (Maccarrone ve ark., 1999).

Resveratrol meme epitelyum hücrelerinde doza bağlı olarak forbol esterleri ile indüklenmiş COX-2 kaynaklı prostaglandin E₂ artışını inhibe etmiştir. Resveratrolün COX-2 ekspresyonunu baskılaması sadece meme hücrelerinde değil oral epitel hücrelerinde de gösterilmiştir. Resveratrol ve imine analogu IRA, insan nötrofillerinde 5-lipoksijenaz (5-LOX) ürün oluşumunu 1 µM'lik konsantrasyonda, kontrole göre %50 oranında azaltmıştır. Resveratrolün dimerik formu olan ε-viniferin ise 1 µM'lik konsantrasyonda bir varlık gösterememesine rağmen lökotrien oluşumunu 10 µM konsantrasyonunda tamamen ortadan kaldırdığı ve bu etkisiyle 5-LOX aktivitesi üzerinde önemli etkisi olduğu gözlenmiştir. Resveratrol (10µM), PGD₂ ve PGE₂ oluşumunu önemli ölçüde engellerken aksine imine analogu IRA ve ε-viniferin (10 µM) PGD₂ ve PGE₂ oluşumunu ciddi miktarda arttırdığı rapor edilmiştir (Hartung ve ark., 2019).

Fare embriyo fibroblast 3T3-L1 hücrelerinde inflamatuvar marker geni monosit kemotaktik proteini (MCP-1) ekspresyon seviyeleri ε-viniferin ve trans-resveratrol tarafından anlamlı bir biçimde düşürülmüştür. Tümör nekroz faktör alfa (TNFα)

ekspresyonunu ϵ -viniferin'in RAW264.7 hücrelerinde azaltmadığı gözlenmiştir (Ohara ve ark., 2015).

2.3.5.4. Obezite Üzerine Etkileri

Resveratrolün olgunlaşan preadipositlerde hücre canlılığını azalttığı görülmüştür. Resveratrolün, lipit birikimini azaltma etkisi sadece adipogenezi azaltmasıyla değil, hücre canlılığı üzerindeki etkisiyle de bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlarla resveratrolün olgunlaşan preadipositlerde adipogenezi ve canlılığı azaltma üzerindeki etkisinin, adiposit spesifik transkripsiyon faktörlerini ve lipolitik enzimlerin ekspresyonunu azaltmasıyla birlikte mitokondriyal fonksiyonları modüle eden genlerin ekspresyonu üzerindeki etkileriyle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Rayalam ve ark., 2008). Başka bir araştırmada 25 μ M ve 50 μ M ϵ -viniferin uygulaması fare embriyo fibroblast 3T3-L1 hücrelerinde lipit birikimini %36,0 ve %72,3 oranında azaltmasıyla birlikte trans-resveratrol (50 μ M) ise önemli ölçüde lipit birikiminde azaltma başarısı göstermiştir. Adipogenez marker geni peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamma (PPARgamma) ekspresyonu, 50 μ M ϵ -viniferin tarafından belirgin şekilde baskılanmış ancak trans-resveratrol, ϵ -viniferin kadar etki göstermemiştir (Ohara ve ark., 2015).

2.3.5.5. Hücre Koruyucu ve Oksidatif Stres Karşıtı Etkileri

Sığır meme epitel hücresindeki sitotoksosite çalışması sonucunda resveratrolün, aflatoksin B₁ sebepli sitotoksositeyi etkili bir şekilde azaltabileceği ve aflatoksinlere karşı antidot potansiyelinin mevcut olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2019).

Resveratrol rat CTX TNA2 astrosit hücrelerinde *in vitro* ortamda glutamat indüklü ROS patlamalarını baskılamıştır (Lin ve ark., 2014). Diğer bir çalışmada hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynaklı oksidatif strese maruz kalan sığır meme epitel hücresinde, resveratrol ROS oluşumunu azaltmış ve güçlü antiapoptotik etkileri gözlenmiştir. Ayrıca resveratrolün nükleer faktör eritroid 2–ilişkili faktör 2 (Nrf2)'yi uyardığı bildirilmiştir. Resveratrolün sığır meme epitel hücresindeki bu etkiden dolayı

ruminantlarda oksidatif strese karşı potansiyel tedavi uygulamalarında kullanılabileceği düşünülmektedir (Jin ve ark., 2016). Farklı bir çalışmada ise H₂O₂ ile indüklenen insan eritrolösemi K562 hücrelerinin programlı hücre ölümüne karşı doza bağlı bir şekilde korumuş ve resveratrol (30 mM), H₂O₂'nin etkilerinin tamamına yakınıni ortadan kaldırmıştır. Ayrıca hücre mebranında lipit peroksidasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (Maccarrone ve ark., 1999).

2.3.5.6. Nöroprotektif Etkileri

Resveratrolün serebral iskemi/reperfüzyon hasarının erken safhasında nöronal hücre ölümüne karşı koruyabileceğini ve aynı zamanda glial hücre aktivasyonunu inhibe ettiğini gösteren bulgular elde edilmiştir. Resveratrolün kan-beyin bariyerini geçebildiği ve sonrasında beyin dokusuna alındığı saptanmıştır. Resveratrolün iskemik ve nörodejeneratif süreçlerde iyileştirme amaçlı kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Wang ve ark., 2002). Travmatik beyin hasarında resvaretrol, otofajiyi ve apoptozu inhibe ederek astrositleri hücre ölümüne karşı koruyabildiği saptanmıştır. Bu veriler ışığında, resveratrol uygulamasının travmatik beyin hasarlı hastaların klinik tedavisinde terapötik ajan olarak değerlendirilebileceği önerilmiştir (Lin ve ark., 2014).

Farelerde yapılan bir başka çalışmada nöroblastom hücre canlılığındaki azalma ile resveratrolün uygulama dozu ve süresi arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu korelasyonla birlikte resveratrol tümör hücrelerine sitotoksik etki göstererek apoptozisi uyarmıştır (Chen ve ark., 2004). Resveratrol ve derivasyonları olan TMS (3,5,4'-trimethoxystilben) ve pterostilben rat C6 ve insan T98G glioma hücrelerinde tümör baskılayıcı protein olan p53 seviyesinin önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Resveratrolün metoksile edilmiş analoglardan özellikle trimetoksi türevlerinin, sıçan ve insan glioma hücre çoğalmasında inhibitör ve apoptoz indükleyici olabileceği belirtilmiştir. Resveratrolün yüksek biyoyararlanımı, malign glioma tedavisinde uygulanan mevcut ilaçlara yardımcı uygulama olabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Zielińska-Przyjemska ve ark., 2017).

2.3.5.7. Antimikrobiyal Etkileri

Resveratrolün antimikrobiyal etkinliğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada resveratrol bakterilerin gelişmesini %80-90 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir. Resveratrolün bu etkisi *Staphylococcus aureus*'da 171 µg/mL, *Enterococcus faecalis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da 342 µg/mL konsantrasyonunda gözlenmiştir. Mantarlara karşı yapılan çalışmada ise *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* ve *Microsporum gypseum* gibi dermatofitler için etkili dozlarının 25-50 µg/mL arasında olduğu bulunmuştur. Resveratrol ve analoglarının, insan deri enfeksiyonlarına neden olan bakteri ve mantar türlerine karşı antimikrobiyal aktivite nedeniyle potansiyel klinik kullanımına sahip olabileceği yönünde görüş bildirilmiştir (Chan, 2002).

Resveratrolün antiviral etkinliğini değerlendirildiği bir çalışmada 50 µg/mL resveratrol, herpes simpleks virüsünün replikasyonunu engellemiş ve virüs kültür ortamından tespit edilememiştir. Bu etkinin hücreye özgü olmadığını ispat etmek için MRC-5 hücrelerinde test edilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Derivasyonu olan Piceatannol ise replikasyona engel olmamıştır. Resveratrolün replikasyonu inhibe edici etkisinin ilk 6 saatte görüldüğü, 9 saat sonrası resveratrolün bu etkisinin olmadığı tespit edilmemiştir (Docherty ve ark., 1999).

2.4. Oksidatif Stres

Organizmanın antioksidan koruma sistemlerinin, reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) etkilerini önlemekte yetersiz kalmasıyla oluşan dengesizlik durumu oksidatif stres olarak tanımlanır (Pisoschi ve Pop, 2015). Gerek normal metabolizma faaliyetleri sonucu gerekse çevresel oksidanlara maruz kalma nedeniyle iç ve dış kaynaklı serbest radikal oluşumu kaçınılmazdır (Poljsak ve ark., 2013). Aşırı miktarda reaktif oksijen ve azot türü (topluca RONS olarak adlandırılır) üretimi olduğunda, hassas fizyolojik denge bozulur ve oksidatif stres oluşur (Shafi ve ark., 2019).

İnsan hayatı için oksijen önemli bir yer teşkil etmektedir fakat aerobik metabolizma sonrası vücuda zarar verebilecek reaktif oksijen türleri oluşur. Reaktif

oksijen formları yaşlanmayı tetiklediği öne sürülmüştür ve yaşlanma süresince gelişmeye başlayan kalp ve damar hastalıkları, kanser, katarakt, zayıf bağışıklık ve dejeneratif sinir sistemi hastalıkları gibi birçok hastalığın nedeni olabileceğine dair kanıtlar mevcuttur. Aktif oksijen, zararlı etkilerinden dolayı yaşlanma faktörleri arasında yer alabilir (Diplock, 1998).

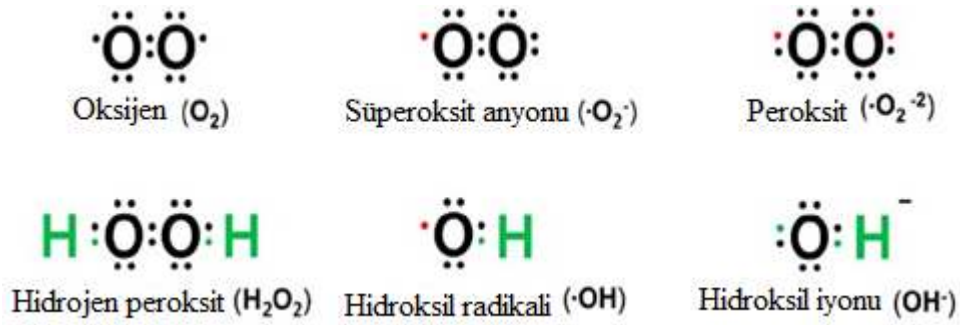
ROS, endojen ve eksojen etkenler sonucu üretilebilir. En önemli endojen serbest radikal kaynağı mitokondridir ve içerisinde gerçekleşen elektron taşıma zinciri ve nitrik oksit sentaz reaksiyonu ile üretilir (Poljsak ve ark., 2013; Valko ve ark., 2006). Fenton reaksiyonu, peroksizomal beta-oksidasyon ve mikrozomal sitokrom P450 enzimleri mitokondriyal olmayan serbest radikal kaynaklarıdır (Poljsak ve ark., 2013).

Mitokondriyal olmayan endojen ROS üretimi nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz (Nox), ksantin oksidaz (XO), endoplazmik retikulumdan sitokrom P450, nitrik oksit sentaz (NOS) ve peroksizomlardan flavin oksidazları vasıtasıyla gerçekleşir. Önemli ROS üreten kaynaklar mitokondriyal solunum zinciri ve NOxx sistemleridir (Song ve Zou, 2015).

Hava ve su kirliliği, sigara dumanı, alkol, ağır veya geçiş metalleri (kadminyum (Cd), civa (Hg), kurşun (Pb), demir (Fe), arsenik (As)), bazı ilaçlar (siklosporin, gentamisin, bleomisin), endüstriyel çözücüler, yemek pişirme (füme et, kullanılmış yağ, yağ), radyasyon eksojen radikal kaynakları olarak yer almaktadır (Pizzino ve ark., 2017).

Serbest radikaller içerisinde hidroksil ($\text{OH}^\bullet$), süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$), nitrik oksit (NO), azot dioksit ($\text{NO}_2^\bullet$), peroksil (ROO) ve lipid peroksil (LOO) bulunur. Ayrıca, hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), hipoklorik asit (HOCl), azotlu asit (HNO_2), peroksinitrit (ONOO), dinitrojen trioksit (N_2O_3), lipid peroksit (LOOH) serbest radikaller yerine genellikle oksidanlar olarak adlandırılırlar ve kolaylıkla canlı organizmalarda serbest radikal reaksiyonlara öncülük edebilirler (Pham-Huy ve ark., 2008). Reaktif oksijen formlarından bazıları Şekil 2.6'da gösterilmiştir. ROS

oluşumunu ve oksidatif stresi artırarak redoks dengesini bozabilecek reaktif demir, bakır ve kükürt türleri mevcuttur (Poljsak ve ark., 2013).



Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinden bazıları. Elektronların eklenmesi sayesinde birbirini izleyen oksijenin indirgenmesi sonucu ROS'un çeşitli yapıları ortaya çıkar. Kırmızı noktalar eşleşmemiş elektronları göstermektedir (Kim ve ark., 2015).

Hücresin moleküler oksijen metabolizması sonrası oluşan ROS'u ve RNS'yi ortadan kaldırmak için organizmalar antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve glutatyon reduktaz (GRx) başlıca enzimatik savunma sistemleri arasında yer alır (Andersson, 2018; Pham-Huy ve ark., 2008). Enzimatik antioksidanlar, radikalleri katalize ederek daha az reaktif veya durağan olan türlere dönüştürerek vücudun ilk savunma hattı olarak görev alırlar (Kunwar ve Priyadarsini, 2011).

Enzimatik olmayan antioksidanlar metabolik ve besin antioksidanlarına olarak ayrılmıştır. Endojen metabolik antioksidanlar, lipoik asit, glutatyon, koenzim Q10, melatonin, ürik asit, bilirubin, metal şelatlayıcı proteinler, transferrin, vb. canlı metabolizması tarafından üretilir (Pham-Huy ve ark., 2008).

Diyet, gerekli besin antioksidanlarını sağlayan antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçasıdır. Temel besin antioksidanları: E vitamini, C vitamini ve β -karoten, antioksidan bitki fenoller ve esansiyel minerallerdir. Minerallerden bakır, çinko, manganez süperoksit dismutaz ve selenyum ise glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidan sistemlerde bulunur (Valko ve ark., 2006; Willcox ve ark., 2004).

Etkili ROS temizleyicileri ve metal şelatörleri olan polifenoller etkilerini içerdiği çoklu hidroksil grupları sayesinde gösterir. Bunlar bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal antioksidanlardır ve flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kurkumin, kafein, kateşinler, gallik asit türevleri, salisilik asit türevleri, klorojenik asit, resveratrol, folat, antosiyaninler ve tanenler gibi polifenolik örnekler mevcuttur (Kunwar ve Priyadarsini, 2011).

2.5. Sialik Asit

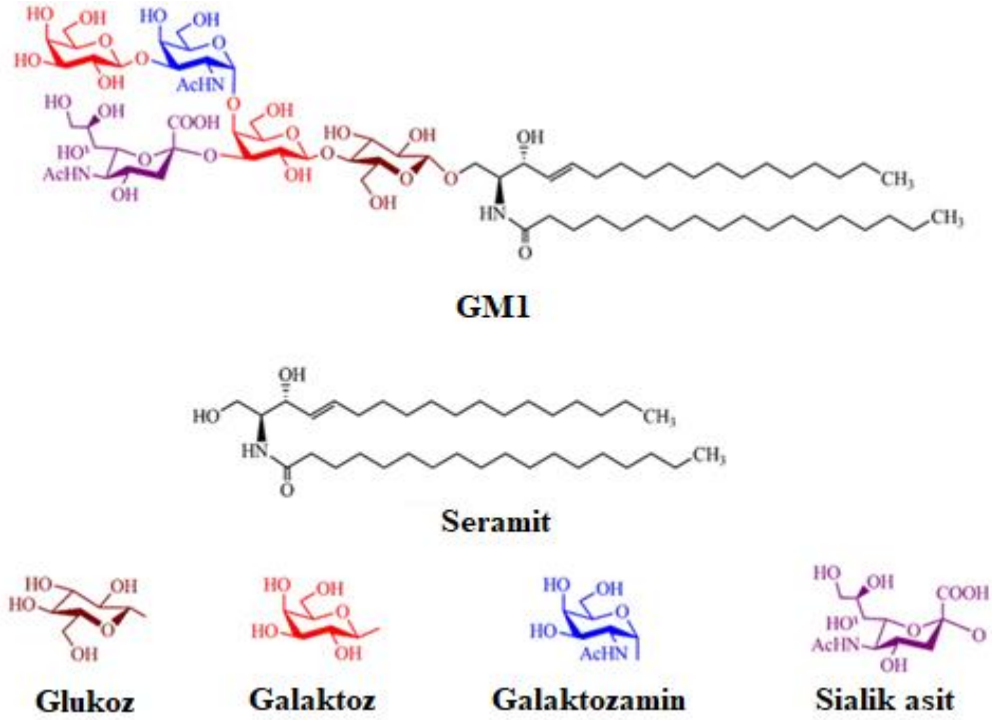
Tabiatta, sialik asit ve onun birçok moleküler formu bulunur ve 1960'lı yıllardan beri üzerinde incelemeler yapılmaktadır. Doğal olarak bulunan sialik asit ailesinin 80'den fazla üyesi mevcuttur. Çeşitli hayvan gruplarında sialik asitler düzenli olarak bulunur. Ancak, beslenme veya mikroorganizmalardan mı kaynaklandığı yoksa hayvanlar tarafından üretilip üretilmediği henüz netlik kazanmamıştır (Schauer ve Kamerlin, 2018).

Nöraminik asit türevlerinin yer aldığı sialik asitler, omurgalılarda ve bazı mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan asidik monosakaritlerdir. Hücrelerin dış yüzeyinde bulunan glikoproteinlerin ve glikolipitlerin (gangliositler) genellikle terminal bileşenler olarak bulunurlar. Sialik asitler, hücrenin iç ve dış iletişimde ve savunmasında görev alır. Musin salgıları içindeki sialik asit, viskoziteyi artırır ve epitelinin zararlı maddelerden ve patojenlerden zarar görmesine karşı korumada yardımcı görev üstlenir (Schauer, 2009). Çoğu bakteri sialik asit üretmemesine rağmen bir takım patojenik suşlar biyosentezleyebilir. Bunun sonucunda memeli hücresi gibi görünerek konakçı bağışıklık sisteminden kaçmasına olanak sağlar (Tanner, 2005).

Sialik asit konsantrasyonu en yüksek memeli merkezi sinir sisteminde mevcuttur. İnsan beynindeki toplam sialik asit konsantrasyonu, sıçan, fare, tavşan, koyun, inek ve domuza göre yaklaşık iki ile dört katı olduğu bulunmuştur (Wang ve Brand-Miller, 2003).

Glikosfingolipitler, hücre plazma zarının dış yüzeyinin ana bileşenleridir ve bir lipit seramidine bağlı bir glikan ve bu glikanların terminal pozisyonlarındaki sialik

asitlerle modifiye edilebilen yapılardan oluşur. Gangliositleri içeren glikosfingolipitler, tipik olarak bir veya birkaç sialik asit taşıyıcı ve reseptör tirozin kinaz (RTK) sinyalini düzenlediği bilinmektedir. Gangliositlerden olan GM1'in ve içerdiği yapıları Şekil 2.7'de gösterilmiştir (Pinho ve Reis, 2015).

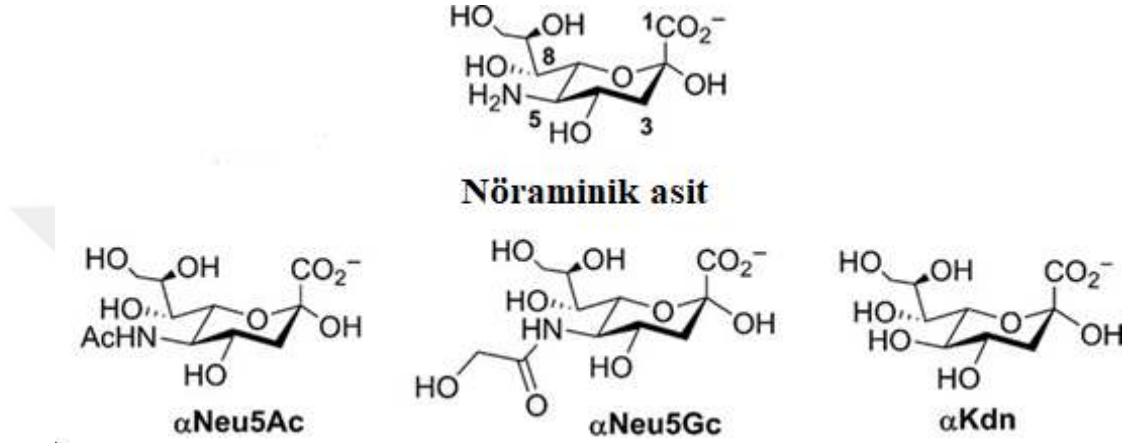


Şekil 2.7. Gangliositlerden GM1 ve içerdiği yapılar (Hossain ve ark., 2012).

Sialik asitler, birçok tümörle ilişkili sialil Tn (sTn), sialil T, sialil LewisX (sLeX) ve sialil Lewis a (sLea) gibi karbonhidrat antijenlerinde bulunur. Bu antijenlerin aşırı ekspresyonu genellikle kötü huylu farklı kanser hücrelerinde görülür ve antijenlerdeki sialik asitler, kanser gelişiminin farklı evrelerinde önemli roller oynadığı düşünülmektedir (Adak ve ark., 2013). Hücre yüzeyindeki sialilasyonunun derecesi ile bazı kanser türlerinde görülen tümör oluşumu ve metastaz arasında korelasyon mevcuttur (Tanner, 2005). Kanserde artan polisialik asit ekspresyonunu da içeren sialilasyon çeşitli kanser türleriyle ve sıklıkla yüksek dereceli tümörlerle ilişkilidir (Pinho ve Reis, 2015).

2.5.1. Sialik Asit Yapısı

Sialik asitler diğer yaygın monosakaridlerden oldukça farklıdır. Yapılarında C-1'de bir karboksilat grubu, C-3'te bir deoksi karbon, C-5 pozisyonunda bir fonksiyonel grup ve C-6'da bir gliserol zincir bulunur (Meo ve Jones, 2018). Canlılarda bulunan sialik asit yapıları Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8. Sialik asit yapıları (Meo ve Jones, 2018).

2.5.2. Karaciğer Hastalıklarında Sialik Asit

Hepatosellüler karsinom (HCC)'dan köken alan kolanjiokarsinom (CCA) tümörlü hastaların serum TSA diğer karaciğer hastalıkları HCC, kronik hepatitise ve siroza göre yüksek olduğu görülmüştür. Serum TSA seviyesi ölçümü CCA teşhisi için yararlı olabileceği öngörülmüştür (Kongtawelert ve ark., 2003). Karaciğer sirozunun ileri ve son dönemlerindeki serum sialik asit seviyelerinin arttığı görülmüştür. Serum TSA, karaciğer sirozunun prognozunu değerlendirmek için önemli bir tanı aracı olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Arif ve ark., 2005).

Bu çalışmada farelerde FB₁ ile karaciğerde oluşturulan hasara karşı resveratrolün serum sialik asit, karaciğer doku total antioksidan durumu, total oksidan durumu ve karaciğer histopatolojisi üzerine etkileri araştırılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Dimetil sülfoksit (DMSO) (Tekkim 201790.01000),
Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) (Merck 106580),
Formaldehit (Merck 103999),
Fumonisin B₁ (AdooQ Bioscience, Amerika Birleşik Devletleri)
Hidroklorik asit (HCl) (Merck 1.00314.2500)
İsofluran (Adeka),
N-Asetilnöraminik asit (Sigma-Aldrich 002076496)
P-dimetilaminobenzaldehid (Sigma-Aldrich 101785787)
Perklorik asit (Merck 1.09065.1000)
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck 104873),
Resveratrol (Cayman Chemical, Amerika Birleşik Devletleri)
Serum fizyolojik (Polifarma)
Total Antioksidan Status kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye)
Totatl Oksidan Status kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye)
Yapıştırıcı (Entellan-Merck 107961).

3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Analitik terazi (Shimadzu AY-220)
Hassas terazi (BX 4200H),
Homojenizatör (IKA),
Işık Mikroskobu (Olympus CX21),
Kamera (Olympus DP26),
Magnetik karıştırıcı (IKA-RH Basic 2),
Mikroplaka spektrofotometre (Biotek Epoch),
Mikrotom (Leica 2155 rotary),
Otoanalizör (gesanChem-200),
Ototeknikon (Leica ASP300S),

pH metre (Metrohm 704),
Soğutmalı santrifüj (Eppendorf-5810R),
Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)
Su banyosu (Memmert WNB 14),
Vorteks (Yellowline TTS2),

3.2. Yöntem

3.2.1. Etik

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 13.09.2017 tarih ve 328 karar no'lu onayı alındıktan sonra deneylere başlandı.

3.2.2. Deney Hayvanları

Hayvanlar, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulamalar gerçekleştirildi.

3.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Uygulaması

Çalışmada ortalama olarak 25-35 gram ağırlığında 8-10 haftalık 40 adet erkek ve dişi BALB/c ırkı fare kullanıldı. Denekler deney süresince 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü içinde ve istedikleri zaman yeme ve suya ulaşacakları şekilde kafeslere konuldu. Her bir grupta dişi ve erkek sayısı diğer gruptakilere eşit olacak şekilde 40 adet fare rastgele 4 gruba dağıtıldı ve doz hesaplamaları için ağırlıkları tartıldı. Deney grupları aşağıda gösterilen şekilde oluşturuldu.

Kontrol Grubu (n=10): Gün aşırı olacak şekilde serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak 14 gün boyunca uygulandı.

Fumonisin B₁ Grubu (n=10): Bu grupta yer alan 10 adet fareye karaciğer toksisitesi oluşturmak için FB₁ 2,25 mg/kg dozunda g naşırı olacak şekilde i.p. olarak 14 gün süresince uygulandı.

Resveratrol Grubu (n=10): Resveratrol 10 mg/kg dozunda 10 adet fareye 14 gün süresince i.p. olarak verildi.

Fumonisin+Resveratrol Grubu (n=10): FB₁ 2,25 mg/kg dozunda g naşırı i.p. olacak şekilde 14 gün boyunca uygulandı. Koruyucu etkisini araştırmak için 10 adet fareye 10 mg/kg dozunda 14 gün boyunca resveratrol i.p. olarak uygulandı.

3.2.4. Örneklerin Toplanması

Deney bitiminin ertesi günü farelerden inhalasyon anestezi (isofluran) altında intrakardiyak yöntemle kan örneklerinden serum elde etmek için hazır olarak alınmış antikoagülsüz tüplere toplandı. Daha sonra fareler servikal dislokasyon yöntemiyle  tenazi edilerek nekropsileri yapıldı. Karın bölgesi açılarak karaciğer örnekleri alındı. Biyokimyasal analizler için dokular %0,9'luk salin solüsyonunda yıkandıktan sonra kaplara konuldu. Histopatolojik incelemeler için dokular %10'luk tamponlu formaldehit içeren kaplara alındı.

3.2.5. Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) Analizleri

Anestezi altında alınan kanlardan elde edilen serumlar Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Hastanesindeki laboratuvarında otoanalizör yardımıyla analizi gerçekleştirildi.

3.2.6. Dokuların Homojenizasyonu

Hayvanlardan elde edilen karaciğer örneklerinin ağırlıkları hassas terazi ile ölçüldü. Her bir farenin karaciğerden 0,5 gr doku alındı. Bu dokulara ağırlıklarının 4 katı pH değeri 7,4 olan fosfat tamponu (m/v) eklendi. Daha sonra homojenizatör ile homejenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Deney tüplerine alındıktan sonra 4000 devirde

10 dakika boyunca santrifüj cihazında santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen süpernatantlar ependorf tüplere mikropipet yardımıyla aktarıldı. Karaciğer homojenatlarını antioksidan ve oksidan seviye analizlerinde kullanılmak üzere -20 °C’de saklandı.

3.2.7. Total Antioxidant Status (TAS) ve Total Oxidant Status (TOS) Analizleri

Dokularda oluşan oksidatif stres ve antioksidan durumunu belirlemek için TAS ve TOS analizleri yapıldı.

3.2.7.1. Total Antioksidan Status (TAS) Analizi

TAS kiti ile toplam antioksidan durumu ölçüldü (Erel, 2004). Yöntem, renkli 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikalini, örnekte bulunan antioksidanlar tarafından renksiz indirgenmiş form oluşmasına dayanır. Renkteki bu değişim 660 nm'de absorbandsa spektrofotometrik olarak ölçüldü. Metot, E vitamini analogu Trolox ile kalibre edildi ve veriler mmol Trolox eq./L olarak ifade edildi.

3.2.7.2. Total Oksidan Status (TOS) Analizi

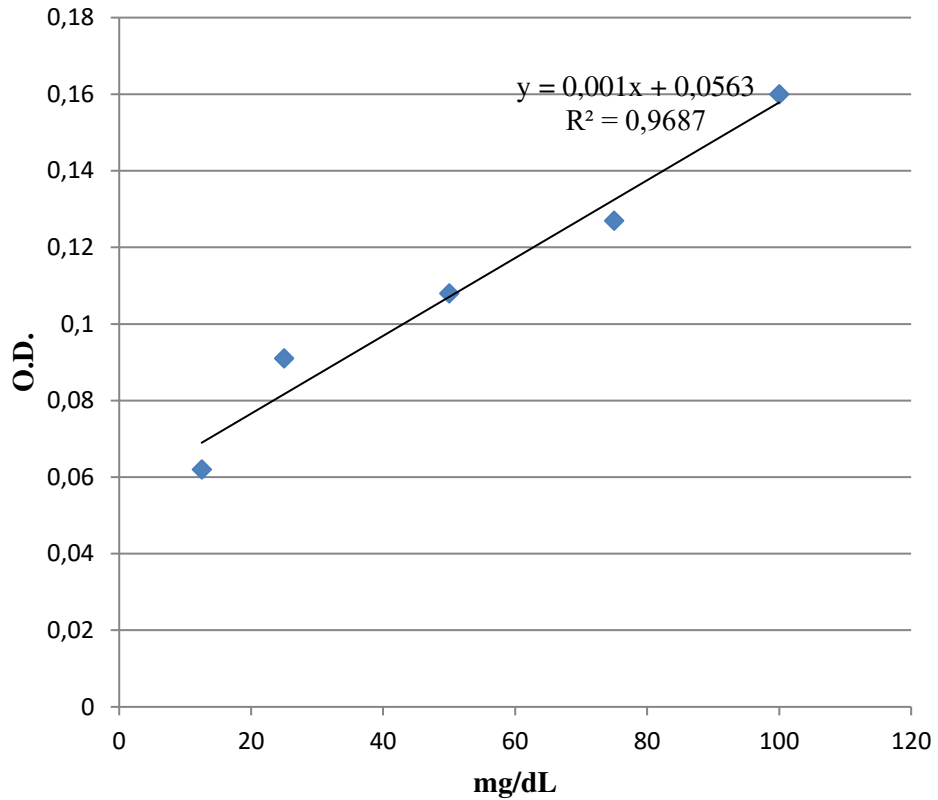
TOS kiti ile toplam oksidan durum ölçüldü (Erel, 2005). Yöntemin ana ilkesi örnekteki oksidanların, şelatöre bağlı ferrik demir iyonlarını ferroz demir iyonlarına okside etmesidir. Asidik ortamda bu ferrik iyonlar, kromojen ile renkli kompleks oluşturdu. Spektrofotometrik olarak renk yoğunluğu, 530 nm dalga boyunda ölçüldü. Deney, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ eq./L olarak ifade edildi.

3.2.8. Total Sialik Asit (TSA) Ölçümü

Perklorik Asit Çözeltilisi (V/V): %5’lik Perklorik asitten 7,04 ml alınarak distile su bulunan balon jojeye eklendi daha sonra hacim olarak 100 ml’ye tamamlandı.

Ehrlich Ayracı: Hassas terazi ile tartılan 5 g P-dimetilaminobenzaldehid 50 ml yoğun hidroklorik asit içinde çözdürüldü ve distile su konularak hacimce 100 ml'ye tamamlandı.

Sydow'un total sialik asit ölçüm metoduna göre yapıldı (Sydow, 1985). Serumlardan 0,2 ml alınarak deney tüplerine konuldu ve sonra 1,5 ml perklorik asit çözeltisi eklendi. Beş dakika süresince 100 °C'da su banyosunda kaynatıldı sonra soğutulma işlemine geçildi. Tüpler 2500 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan temiz tüplere 1 ml aktarıldı. Daha sonra 100 °C'da 15 dakika kaynatılmak üzere 0,2 ml Ehrlich ayracı eklendi. Kaynama sonrası tüpler soğutuldu ve spektrofotometrik okuma için 1 ml distile su eklendi. 525 nm'de optik dansiteleri (OD) okundu ve standart eğri aracılığıyla değerlendirildi.



Şekil 3.1. Total Sialik Asit Standart Grafiği (OD: Optik Dansite, NANA: N-asetil nöraminik asit).

3.2.9. Histopatolojik İnceleme

Nekropsi sırasında toplanan karaciğer %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Doku örnekleri ototeknikon kullanılarak rutin takip prosedüründen geçirilerek parafine bloklandı. Bloklardan 4-5 saat soğutulma sonrasında rotary mikrotom ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Boyama işlemi kesitlerin parafininin uzaklaştırılması için 30'ar dakika süre ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirilmesiyle başladı. Ardından %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden sırasıyla geçirilerek dokulara su verildi. Daha sonra hematoksilinle 15 dakika ve ardından eozinle 3 dakika boyandı. Bunun ardından sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirilen dokuların suyu alındı. Ksilolde parlatılan dokuların üzerine entellan damlatılarak lamel yapıştırıldı ve ışık mikroskobu altında incelendi. Kamera yardımıyla incelenen dokuların görüntüleri alındı daha sonra bilgisayar ortamına aktarıldı.

3.3. İstatiksel Hesaplamalar

İstatistiksel hesaplamalarda SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16.0 programı kullanıldı. Elde edilen verilerin öncelikle normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro testi kullanılarak analiz edildi. Total sialik asit verileri normal dağılım gösterirken $p>0,05$ ve buna göre serum sialik asit verileri için gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arasındaki ikili farklılıklar post hoc 'Tukey' testi ile belirlendi. Bu veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi ve $p<0,05$ değeri anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Gruplarında Serum AST ve ALT Seviyeleri

Deney sonunda elde edilen serum örneklerinde AST seviyesi karşılaştırıldığında FB₁ grubuna ait AST seviyesinin, diğer gruplara göre (kontrol, resveratrol ve resveratrol+FB₁) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$). Buna karşın kontrol, resveratrol ve FB₁+resveratrol grupları arasındaki ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$). Serum AST seviyeleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Serum örneklerinin ALT seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak FB₁ verilen farelerin diğer gruplara göre (kontrol, resveratrol ve FB₁+resveratrol) anlamlı olarak artış gösterdiği görüldü ($p<0,05$). FB₁ haricindeki gruplar ikili karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülemedi ($p>0,05$). Serum ALT seviyeleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deney gruplarında serum AST ve ALT seviyeleri

Gruplar	AST (U/L)	ALT (mg/dl)
Kontrol	89,51±7,87 ^a	51,62±8,99 ^a
Resveratrol	88,30±7,75 ^a	40,66±3,22 ^a
FB₁	623,62±150,52 ^b	368,00±119,16 ^b
FB₁+Resveratrol	207,99±34,93 ^a	121,11±23,50 ^a

Gruplara ait veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. ^{a, b} Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar sütun içerisindeki farklı harflerle gösterilmiştir ($p<0,05$).

4.2. Deney Gruplarında Karaciğer Doku TAS Seviyeleri

Karaciğer dokularından hazırlanan homejenatlar ile yapılan TAS analiz verileri FB₁ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük gözlemlendi ($p<0,05$). FB₁+resveratrol grubunun TAS değerleri, FB₁’e göre yüksek bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$). Ancak FB₁+resveratrol grubunun

TAS değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kontrol grubunun değerleri arasında bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Resveratrol ile kontrol grubu sonuçları birbirine yakın değerlerde bulundu ($p>0,05$). Karaciğer doku TAS seviyeleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Deney gruplarında karaciğer doku TAS seviyeleri

Gruplar	TAS (mmol Trolox eq./L)
Kontrol	2,58±0,33 ^b
FB₁	1,53±0,07 ^a
Resveratrol	2,69±0,25 ^b
FB₁+Resveratrol	2,15±0,20 ^{ab}

Gruplara ait veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. ^{a, b} Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar sütün içerisindeki farklı harflerle gösterilmiştir ($p<0,05$).

4.3. Deney Gruplarında Karaciğer Doku TOS Seviyeleri

Karaciğer dokularından elde edilen homejenatlar ile yapılan TOS analizi verileri kıyaslandığında FB₁ grubu ile kontrol grubu, FB₁ ile resveratrol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü. FB₁ grubunun TOS değerleri kontrol ve resveratrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p<0,05$). FB₁ ile FB₁+resveratrol gruplarının TOS değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$). Ancak, kontrol ile resveratrol ve kontrol ile FB₁+resveratrol grupları arasında ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak bir fark görülmedi ($p>0,05$). Karaciğer doku TOS seviyeleri Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Deney gruplarında karaciğer doku TOS seviyeleri

Gruplar	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eq./L}$)
Kontrol	38,40 $\pm$ 1,20 ^a
FB ₁	49,77 $\pm$ 2,50 ^b
Resveratrol	34,92 $\pm$ 2,88 ^a
FB ₁ +Resveratrol	40,86 $\pm$ 2,71 ^{ab}

Gruplara ait veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. ^{a, b} Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar sütun içerisindeki farklı harflerle gösterilmiştir (p<0,05).

4.4. Deney Gruplarında Serum TSA Seviyeleri

FB₁ grubu serum sialik asit verileri ile kontrol grubu serum sialik asit değerleri karşılaştırıldığında FB₁ grubunda kontrole göre anlamlı bir artış gözlemlendi (p<0,05). Fakat FB₁ grubu sialik asit değerleri ile FB₁+resveratrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05). Kontrol ile FB₁+resveratrol grupları karşılaştırıldığında sialik asit değerleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0,05). Serum sialik asit seviyeleri Tablo 4.4’de gösterilmiştir.

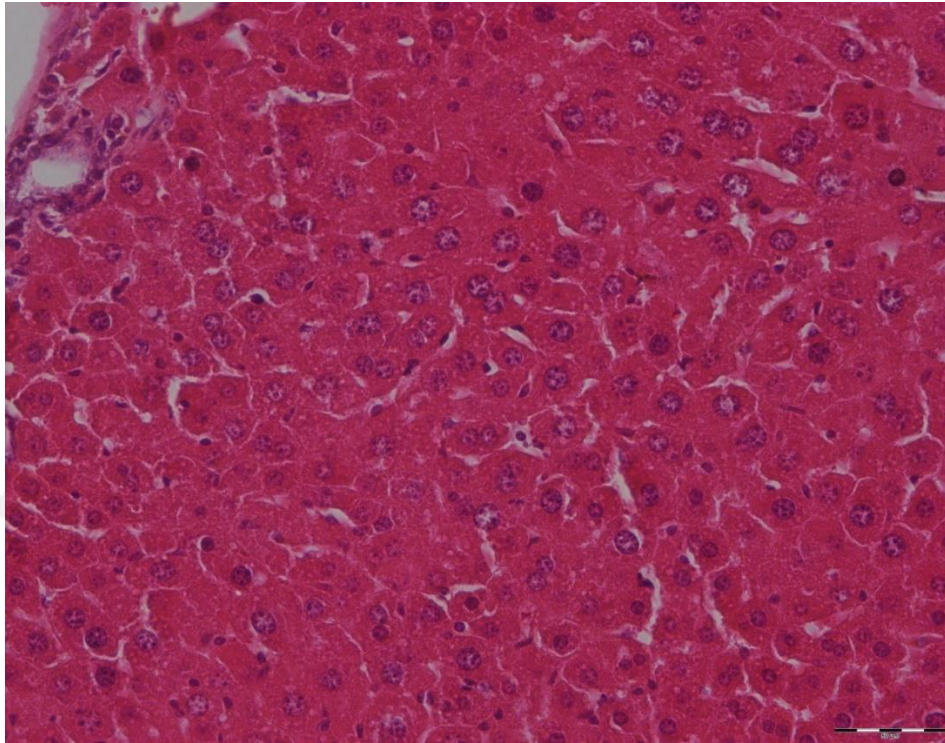
Tablo 4.4. Deney gruplarındaki serum sialik asit seviyeleri

Gruplar	Sialik Asit (mg/dL)
Kontrol	1358,37 $\pm$ 76,38 ^a
FB ₁	1594,99 $\pm$ 33,65 ^b
Resveratrol	1411,41 $\pm$ 37,87 ^a
FB ₁ +Resveratrol	1513,99 $\pm$ 25,95 ^{ab}

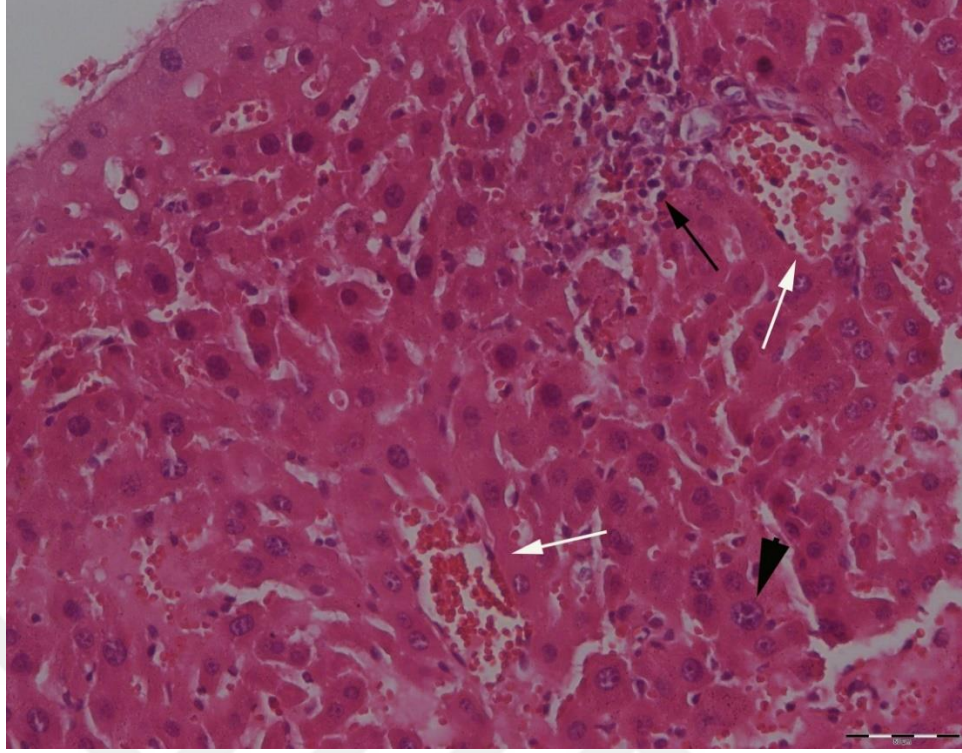
Gruplara ait veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. ^{a, b} Deney grupları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklar sütun içerisindeki farklı harflerle gösterilmiştir (p<0,05).

4.5. Histopatolojik Bulgular

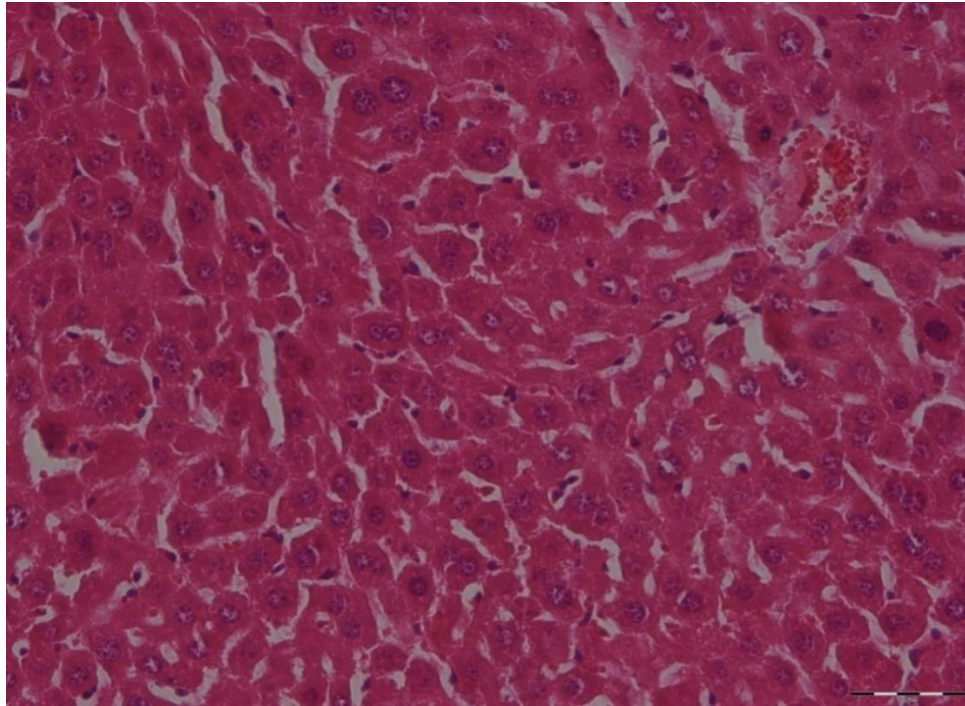
Bu çalışmada FB₁'in karaciğerde hiperemi ve infiltrasyonlarla karakterize patolojik bulgulara sebep olduğu gözlenmiştir. Ayrıca bu grupta bazı hepatositlerde çekirdeklerde aşırı büyümelere (megalkaryozis) rastlanmıştır. Kontrol, resveratrol ve FB₁+resveratrol grubunda patolojik bulgu saptanmamıştır. Gruplara ait histopatolojik görüntüler Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de verilmiştir.



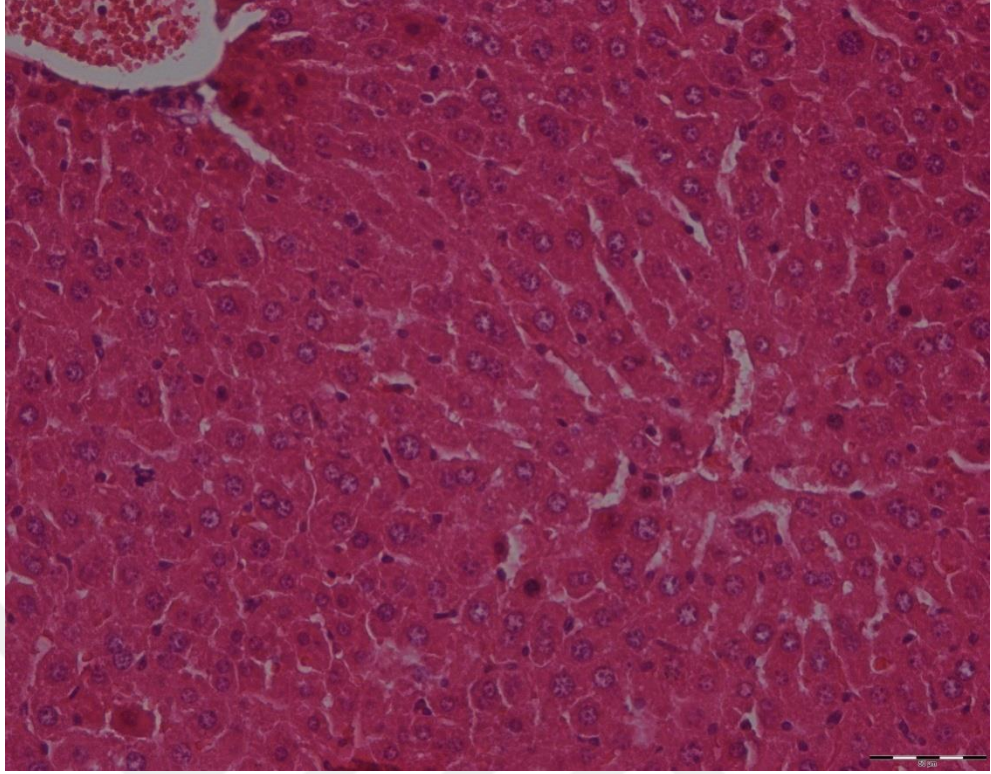
Şekil 4.1. Kontrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü. Normal görünümdeki karaciğeri, HE, Bar=50µm.



Şekil 4.2. FB₁ grubundan bir farenin karaciğer görünümü. Karaciğerde şiddetli hiperemi (beyaz oklar), yangısal hücre infiltrasyonları (siyah ok) ve megalokaryozis (okbaşı), HE, Bar = 50µm.



Şekil 4.3. Resveratrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü. Normal yapıda bir karaciğer, HE, Bar = 50µm.



Şekil 4.4. FB₁+Resveratrol grubundan bir farenin karaciğer görünümü. Normal yapıda karaciğer görünümü, HE, Bar = 50µm.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada BALB/c farelere 2,25 mg/kg dozda intraperitoneal yolla g naşırı 14 gün boyunca uygulanan FB₁ grubunda serum AST ve ALT düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Aminotransferazlar karaciğer hasarında ve hastalıklarında diagnostik olarak yaygın olarak kullanılan biyobelirteçlerdir. Alanin aminotransferaz ve AST karaciğer hasarı tespitinde sıklıkla kullanılır (McGill, 2016). Aminotransferaz artışı, 3 farklı seviyeye göre değerlendirilir. Normalden 15 kat fazla olanlar ciddi, normal değerinin 5-15 kat arası artış görülenler orta ve normale göre 5 katından daha az artış tespit edilenler hafif derece olmak üzere sınıflandırılır. Aminotransferazlar, karaciğer kaynaklı veya bazı karaciğer dışı nedenlerle birlikte bazı ilaçlar, bitkiler, toksinler ve kimyasallarla maruziyet sonucu yükselebilir (Ersoy, 2012). Bu sınıflandırmaya göre FB₁  alışmamızda kontrol grubuna göre 7 kat civarı artışa neden olarak orta derece etki göstermiştir.

 nceki bir çalışmada BALB/c farelerinde, FB₁'in subkutan 2,25 mg/kg uygulama sonucu oluşan hepatotoksisitede ALT değeri, kontrol grubuna kıyasla 33 kat artmıştır. Silymarin uygulaması, FB₁'in neden olduğu ALT yükselmesini %70 oranında azalttığı görülmüştür. Silymarin tedavisi plazma AST yükselmesini kontrol seviyesine yakın bir değere düşürmüştür. Silymarin grubunun ALT ve AST değerleri, kontrol grubuna benzer durumda tespit edilmiştir. Karaciğer hasarı, apoptotik hepatosit sayısındaki artışla doğrulanmıştır (He ve ark., 2004). Bir başka çalışmada C57BL/6N farelerde 5 gün boyunca subkutan 0, 0,75, 2,25, 6,25 mg/kg FB₁ uygulaması sonucu doza bağlı plazma AST ve ALT değerleri yükselmiş ve ALT ve AST aktivitesi 4 ile 20 kat artış gözlenmiştir (He ve ark., 2006). FB₁ ile farelerde yapılan başka bir çalışmada, FB₁ plazma ALT ve AST aktivitelerinde, 32 ve 14 kat bir artışa yol açmıştır. (Sharma ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan dozda (2,25 mg/kg) FB₁ ile 3 gün boyunca BALB/c farelerinde subkutan enjeksiyon sonucu oluşturulan hepatotoksisite deneyinde FB₁ grubunda kontrol grubuna göre plazma AST ve ALT değerlerinde belirgin bir artış saptanmıştır (He ve ark., 2005). Yine çalışmamıza benzer bir araştırmada BALB/c farelerde 2,25 mg/kg FB₁ 3 gün boyunca deri altından enjekte edilerek tetiklenen hepatotoksisite sonucu serum AST ve ALT değerleri kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında FB₁ verilen farelerde yüksek değerlere

ulaşmıştır. (Krupashree ve ark., 2018). Yukarıdaki çalışmalarda 2,25 mg/kg FB₁'in karaciğer hasarına neden olduğu, AST ve ALT değerlerinin FB₁ gruplarında yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda mevcut çalışmalara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu veriler ışığında çalışmamızda 2,25 mg/kg FB₁ ile 14 gün boyunca gün aşırı i.p. uygulaması sonucu yüksek AST ve ALT seviyeleri ele alındığında FB₁ farelerde karaciğer hasarına neden olmuştur.

Çalışmamızda sadece resveratrol (10 mg/kg) uygulanan grubun AST ve ALT seviyelerinde kontrol grubuna göre bir fark tespit edilmedi. Şehirli ve ark. (2008), naftalinin BALB/c farelerinde karaciğer ve böbrek hasarına neden olduğu; 10 mg/kg resveratrolün ise AST ve ALT seviyelerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Resveratrol grubu AST ve ALT değerleri kontrol grubuna benzer bulunarak, kontrol ve resveratrol grubu değerleri birbirine yakın bulunmuştur. Başka bir çalışmada herbisit olarak kullanılan parakuatın karaciğer hasarına neden olduğu farelerde AST ve ALT seviyelerinde artışa yol açmıştır. Resveratrolün 5 mg/kg dozunda uygulaması ALT değerini, kontrol grubuna göre düşürmüştür fakat AST değerinde değişiklik gözlenmemiştir (El-Boghdady ve ark., 2017). Aflatoksin B₁ (25 µg/kg) oral yolla verilmiş sıçanlarda karaciğer hasarına ilişkin ALT ve AST aktivitesinde anlamlı bir artış belirlenmiştir. Sadece resveratrol verilen gruba ait değerler kontrol grubuna yakın değerlerde tespit edilmiştir. Resveratrolün 10 mg/kg uygulaması sonucunda, aflatoksin B₁'e karşı serum AST ve ALT değerlerinde anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (El-Agamy, 2010). Çalışmamızda resveratrolün 10 mg/kg dozu fumonisin B₁ indüklü (2,25 mg/kg) AST ve ALT artışını düşürürken, diğer çalışmada aflatoksin kaynaklı AST ve ALT artışını önleyememiştir. Zhou ve ark. (2019) *in vitro* çalışmalarında resveratrolün sıgır meme epitel hücrelerinde aflatoksin B₁'in neden olduğu oksidatif stres ve apoptozu engellediği, sitotoksitesiteyi önemli ölçüde azalttığını bununla birlikte aflatoksinlere karşı doğal bir antidot olabileceği yönünde görüş bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ticari olarak temin ettiğimiz TAS ve TOS kitleriyle karaciğer total antioksidan ve total oksidan durumları değerlendirildi. FB₁ grubundaki farelerin karaciğer dokusu TAS değerleri, kontrol grubuna göre düşük tespit edildi. Bu veriler sadece FB₁ verilen grupta FB₁'in karaciğer dokusunda antioksidan savunma

mekanizmalarını etkileyip hücrel antioksidan durumu zayıflattığını göstermektedir. Sadece FB₁ verilen grupta karaciğer dokusu TOS değerleri kontrol grubuna göre yüksek olarak tespit edildi. Bu durum FB₁'in karaciğer hücrelerinde oksidatif strese yol açtığı işaret etmektedir. Deneylerde antioksidan ve oksidan seviyeleri ortaya koymak için çeşitli analizler yapılmakla birlikte TAS ve TOS analizleri de kullanılmaktadır. Çeşitli ajanlarla uyarılmış hepatotoksisite deneylerinde total antioksidan ve total oksidan durumlarında değişiklikler gözlenmiştir. Atmaca ve ark. (2014), ratlarda sodyum florür ile oluşturulan hepatotoksisite deneyinde günlük intraperitoneal 12,5 mg/kg resveratrol ile koruyucu etkileri araştırılmıştır. Florür karaciğer TAS değerini, diğer gruplara göre azaltmıştır. Florür, karaciğer TOS değerini ise diğer gruplara göre yükselmesine sebep olmuştur. Resveratrol ve florür+resveratrol grupları TAS ve TOS değerleri kontrol grubuna yakın tespit edilmiştir. Resveratrolün, florüre bağlı oksidatif strese ve doku hasarına karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Diğer araştırmada ratlarda cisplatin ile uyarılmış hepatotoksisitede cisplatin grubundaki karaciğer TAS değerleri, kontrol grubuna göre düşük, TOS değerleri ise kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca cisplatin grubunda malondialdehit (MDA) seviyesi artmış; indirgenmiş glutatyon, GPx ve CAT seviyeleri kontrol grubuna göre düşmüştür (Bilgic ve ark., 2018). TAS ve TOS analizleri haricinde FB₁'in 2,25 mg/kg dozunda oksidatif stres parametrelerinde değişiklikler gözlenmiştir. Farelerde tetiklenmiş hepatotoksisite ve oksidatif stres deneyinde ROS üretimi kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca karaciğer SOD, CAT, GPx, GSH, GRx seviyeleri düşmüş, MDA değerleri artmıştır. (Krupashree ve ark., 2018).

Resveratrol (10 mg/kg) verilen grubun antioksidan kapasitesi bir miktar yükselmiş fakat kontrol grubuna göre bu artış anlamlı bulunmamıştır. Naftalin maruziyeti sonucu antioksidan kapasite önemli ölçüde azalmış fakat resveratrol uygulamasıyla birlikte antioksidan kapasite kontrol grubuna yakın bir değerde rapor edilmiştir. Resveratrol grubundaki akciğer, karaciğer ve böbrek dokuları glutatyon ve MDA değerleri, kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şehirli ve ark., 2008). Parakuat kaynaklı karaciğer hasarında MDA düzeyi artmış, GSH düzeyi azalmıştır. Resveratrolün 5 mg/kg gavaj yöntemiyle uygulanması sonucu

bu düzeyleri kontrol grubu değerlerine yaklaştırmıştır (El-Boghdady ve ark., 2017). Bu çalışmalar resveratrolün toksik ajanlarla indüklenmiş oksidatif stresi baskılayıp doku antioksidan kapasiteyi artırarak koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda FB₁ verilen grupta serum sialik asit seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu. FB₁+resveratrol grubunda serum sialik asit seviyesi, kontrol grubu serum sialik asit seviyesi ile karşılaştırıldığında bu iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Diğer taraftan FB₁+resveratrol verilen farelerde serum sialik asit seviyesi sadece FB₁ alan farelere göre bir miktar düşüş göstermesine rağmen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi. Fakat elde edilen verilere göre resveratrolün FB₁ kaynaklı serum sialik asit artışını normalize ettiği tespit edildi. Total sialik asit seviyelerinin, hepatosellüler, siroz gibi patolojik durumlarda arttığı, karaciğer hastalıklarında tanı ve prognoz amaçlı kullanılabileceği bildirilmiştir (Arif ve ark., 2005; Kongtawelert ve ark., 2003). İlaçlar, kimyasallar gibi çeşitli ajanlarla oluşturulan hepatotoksisite deneylerinde toplam sialik asit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Yapar ve ark. (2007), BALB/c farelerde asetaminofen (parasetamol) uygulaması sonucu gelişen oksidatif stres ve karaciğer hasarında serum total sialik asit düzeyi asetaminofen grubunda yüksek bulunmuştur. Antioksidan olarak bilinen L-karnitin (L-kar), kontrol grubuna göre düşük değerde gözlenmiştir. Sialik asit seviyelerine benzer şekilde AST, ALT, MDA değerleri kontrol grubuna göre asetaminofen grubunda yüksek, GSH değeri düşük bulunmuştur. Ayrıca karaciğer TSA, MDA ve GSH değerleri serum parametrelerine benzer şekilde gözlenmiştir. Bir başka araştırmada ratlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan karaciğer ve oksidatif hasarında, MDA ve GSH düzeylerinde artışla birlikte sialik asit düzeyi de kontrol grubuna göre artmıştır. Antioksidan etkinliği bulunan arı sütünün doza bağlı olarak düşüşe neden olmuştur. Ayrıca artan AST ve ALT değerleri arı sütünün dozlarına bağlı olarak düşmüştür (Cemek ve ark., 2010).

Ökaryotlarda hücre yüzeyi şekerleri, daha önce kompleks karbonhidratlar olarak adlandırılan günümüzde ise glikanlar olarak bilinen glikoproteinler, glikolipitler ve proteoglikanlar olarak bulunurlar. Memelilerde, sialik asitler dokuz karbonlu omurgaya sahip şeker olarak glikoproteinler ve glikolipitlerin terminal uçlarında bulunur. Glikanların hücresel ve moleküler etkileşimlerinde sialik asitlerin

önemli rolleri vardır (Schnaar ve ark., 2014). Kimyasal veya ilaç ile tetiklenen hepatotoksisite olgularında total sialik asit düzeyleri MDA, AST, ALT gibi biyobelirteçlerle eş zamanla yükselmiştir (Cemek ve ark., 2010; Yapar ve ark., 2007). Çalışmamızda FB₁ grubunda da benzer durumlar gözlenmiştir. Bu verilerle birlikte total sialik asit seviyeleri FB₁ kaynaklı karaciğer hasarında biyobelirteç olarak kullanılabilir. FB₁ kaynaklı oksidatif strese bağlı hücre yüzeyinde yer alan glikoprotein ve glikolipitlerin yapılarının bozulduğu ve bunun sonucunda serumda sialik asit seviyesinin artışa neden olduğu düşünülebilir.

Reaktif oksijen türlerine bağlı gelişen makromoleküler hasar ile kanser, nörodejenerasyon, ateroskleroz, diyabet ve yaşlanma gibi hastalıklar veya biyolojik olaylar ilişkilendirilmiştir. Ayrıca gen aktivasyonu ile birlikte tümör metastazını arttırdığı bildirilmiştir (Ray ve ark., 2012). Oksidatif hasar, kanser başlangıcını etkileyebilir. FB₁'in kanser başlatıcı gücü ile hepatotoksisite ve oksidatif hasarın yakın ilişkisi, kanser indüksiyonu süresince önemli bir etken olabilir (Gelderblom ve Marasas, 2012). FB₁'in oksidatif hasarı artırdığı yönünde *in vivo* ve *in vitro* kanıtlar mevcuttur. FB₁'in neden olduğu hepatotoksisite sonucu ROS üretimi önemli ölçüde artmış ve oksidatif hasara ilişkin parametrelerde değişikliklere neden olmuştur (Krupashree ve ark., 2018). Bir başka çalışmada makrofajların membran yapısının bozulması, membran geçirgenliğinin artması, hücre canlılık oranının azalması ve lipid peroksidasyonu ile ilişkili MDA düzeyinin artması gibi etkilerde bulunduğu bildirilmiştir (Ferrante ve ark., 2002). Çalışmamızdaki artan oksidan seviye ve düşen antioksidan seviye FB₁ kaynaklı oksidatif stresi göstermiştir. Hücre membranlarında yer alan yapılarda bulunan sialik asitlerin FB₁ kaynaklı serumda yüksek bulunması hücre membran yapısının bozulduğuna dair bir işaret olabilir.

Oksidatif stres ilişkili yağ asidi/sfingolipit etkileşimli yollara bağlı membran değişiklikleri, hücre sağkalımı sinyal iletim yollarını etkiler. FB₁ kaynaklı lipid ve oksidatif değişiklikler sonucu arazidonik asit aracılığıyla COX-2'yi uyarılır. Uyarılan COX-2 prostoglandin E2 serileri sentezine aracılık eder ve hücre proliferasyonuna olanak sağlar. Seramit sentezi engellenmesi sonucu azalan seramit nedeniyle apoptoz engellenir (Gelderblom ve Marasas, 2012). Fumonisin, sfingolipit metabolizmasını etkileyerek hücre büyümesi, farklılaşma ve hücre hasarına yol açan olaylar zincirinin

içerisinde yer alır (Soriano ve ark., 2005). FB₁'in seramit sentezini engelleyerek seramit seviyesinin azalmasına; sfingozin ve sfinganin miktarının artmasına daha sonrasında kompleks sfingolipitlerin miktarında değişikliklere neden olur (Soriano ve ark., 2005). Resveratrol, seramit sentezini uyararak ve sfingomiyelin hidrolizi sonucu seramit seviyesini artırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada seramitin metastatik kanser hücresinde apoptozu uyardığı ve büyümeyi engellediği bildirilmiştir (Scarlati ve ark., 2003). Ayrıca resveratrol COX-2'yi ve COX-2 aracılı PGE₂ sentezini engellediği rapor edilmiştir (Hartung ve ark., 2019; Maccarrone ve ark., 1999; Subbaramaiah ve ark., 1998). Bu bilgiler ele alındığında FB₁'in sfingolipit metabolizmasına etkilerini ve seramit sentezini engellemesini sonucu oluşan veya oluşabilecek aksaklıkları resveratrolün seramit sentezini uyararak FB₁'in olumsuz etkilerini engelleyebilir veya etkilerini ortadan kaldırabilir. Çalışmamızda FB₁'in neden olduğu karaciğer hasarı ve oksidatif hasara karşı resveratrolün koruyucu etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır. FB₁'in neden olduğu toksik etkilere karşı resveratrolün etkilerine ilişkin bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu konu hakkında detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada FB₁'in karaciğerde histopatolojik inceleme sonucunda hiperemi ve yangısal hücre infiltrasyonları ile karakterize patolojik bulgulara sebep olduğu gözlenmiştir. Ayrıca bu grupta bazı hepatositlerin çekirdeklerinde aşırı büyümeye (megalokaryozis) rastlanmıştır. Kontrol, Resveratrol ve FB₁+Resveratrol grubunda patolojik bulgu saptanmamıştır. He ve ark. (2004), FB₁ maruziyetinde apoptotik hepatositlerin sayısı artış göstermiştir bununla birlikte silymarin uygulaması bu sayıyı büyük oranda azaltmıştır. Başka bir çalışmada BALB/c farelerde FB₁ uygulaması sonucu gelişen hepatotoksiste çalışmada 1,5 mg/kg FB₁ hepatositlerde hafif vakuoler dejenerasyon, safra kanalı hiperplazisi, megalositoz ve mitoz gibi dejeneratif değişiklikler 4,5 mg/kg FB₁ gruplarında daha şiddetli gözlenmiştir (Sozmen ve ark., 2014). Bir başka çalışmada kullanılan farelerde 5 gün boyunca uygulanan 2,25 mg/kg FB₁ sonucu karaciğerde bazı değişiklikler gözlenmiş, histolojik incelemede apoptotik hücreler dikkat çekmiştir (Sharma ve ark., 2006). Bir başka çalışmada FB₁ (0,75, 2,25, 6,25 mg/kg) doza bağlı olarak apoptotik hepatosit sayısında artış görülmüştür (He ve ark. 2006). FB₁'in 2,25 mg/kg ve diğer dozlarına bağlı farelerin karaciğerlerinde çeşitli

patolojik bulgular saptanmıştır. Mevcut çalışmalar ve gerçekleştirdiğimiz çalışma FB₁'in karaciğerde hasara yol açtığı histopatolojik incelemelerde gösterilmiştir.

Araştırmamızda 10 mg/kg resveratrol verdiğimiz farelerde karaciğer dokusunda herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmamış, kontrol grubuna benzer olarak görüntülenmiştir. Şehirli ve ark. (2008), naftalinin farelerde akciğer, karaciğer ve böbrek dokusunda patolojik değişikliklere neden olduğu; 10 mg/kg resveratrol ise bu patolojik değişiklikleri azaltıp dokularda rejenerasyon görüldüğü bildirilmiştir (Şehirli ve ark., 2008). Florür kaynaklı hepatotoksistide karaciğerin histopatolojik incelemesinde kontrol ve resveratrol gruplarında yapılar normal olarak saptanmıştır. Florür+resveratrol grubunda kontrol grubuna benzer bir karaciğer doku histolojisi olduğunu; florür grubundaki patolojik bulgular ise hidropik ve vakuolar dejenerasyonla birlikte bazı nekrozlar tespit edilmiştir (Atmaca ve ark., 2014). Çalışmamızla birlikte farklı deney hayvanlarında farklı dokuların histopatolojik incelemesi sonucu resveratrol grubu, kontrol grubuna benzer şekilde gözlenmiştir. Yine mevcut çalışmalarda resveratrol çeşitli ajanların hasarlarına karşı koruyucu etkiler göstermiştir.

Sonuç olarak elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik bulgulara göre resveratrolün FB₁'in neden olduğu karaciğer hasarına ve oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca FB₁ kaynaklı toksisite durumlarında serum total sialik asit seviyesinde görülen artış FB₁ için biyobelirteç olarak kullanılabilir. Resveratrolün, FB₁'in toksik etkilerine karşı koruyucu ve tedavi edici terapötik bir ajan olarak kullanılabileceğini sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde insan, hayvan ve bitki sağılığı en önemli konuların başında gelmektedir. Artan nüfus gereksinimleri göz önüne alındığında beslenmenin sağılıkla ilişkili olduğı gün geçtikçe daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Tarlada başlayan süreç insan sofralarına, hayvanların beslenmesine kadar uzanmaktadır. Bu zincirin her safhasında mikotoksinler ile maruz kalma riski mevcuttur. Bitki sağılığını etkileyen mikotoksinler daha sonra hayvan ve insan sağılığı üzerine de tehdit oluşturmaktadır. Canlılar üzerine çeşitli etkileri olan mikotoksinler araştırma konusu olmuştur ve olmaya devam edecektir.

Mikotoksinler içerisinde yer alan ve toksikolojik açıdan önemli olan fumonisin B₁ çalışmamızda karaciğer hasarı ve oksidatif strese neden olmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal ve histopatolojik bulgular, resveratrolün bu etkilere karşı koruyucu ve tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermiştir. Resveratrolün çalışmamızda FB1 kaynaklı karaciğer hasarına karşı gösterdiği koruyucu ve terapötik etkinin özellikle moleküler düzeydeki mekanizmalarının aydınlatılması daha ileri araştırmalarla mümkün olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adak AK, Yu CC, Liang CF, Lin CC (2013).** Synthesis of sialic acid-containing saccharides. *Curr Opin Chem Biol.*, **Volume 17, Issue 6**, 1030-1038.
- Alberts JF, Gelderblom WC, Thiel PG, Marasas WF, Van Schalkwyk DJ, Behrend Y (1990).** Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56(6)**, 1729-1733.
- Alberts JF, van Zyl WH, Gelderblom WC (2016).** Biologically Based Methods for Control of Fumonisin-Producing *Fusarium* Species and Reduction of the Fumonisin. *Front. Microbiol.*, **7**, 548.
- Alizadeh AM, Rohandel G, Roudbarmohammadi S, Roudbary M, Sohanaki H, Ghiasian SA, Taherkhani A, Semnani SS, Aghasi M (2012).** Fumonisin B1 contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in northeastern Iran. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **13, 6**, 2625-2628.
- Alshannaq A, Yu JH (2017).** Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int J Environ Res Public Health.*, **14(6)**, 632.
- Amri A, Chaumeil JC, Sfar S, Charrueau C (2012).** Administration of resveratrol: what formulation solutions to bioavailability limitations? *J Control Release*, **158(2)**, 182-193.
- Andersson K (2018).** Oxidative stress and its possible relation to lower urinary tract functional pathology. *BJU Int.*, **121**, 527-533.
- Arif S, Najeeb-ul-Haq, Hanif R, Khan AS, Jamil-ur-Rehman, Mufti TA (2005).** Variations of serum sialic acid level in liver cirrhosis. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, **17, 3**, 54-57.
- Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, Baño MC, Obrador E, Estrela JM (2002).** Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radic. Biol. Med.*, **33(3)**, 387-398.
- Atmaca N, Atmaca HT, Kanici A, Anteplioglu T (2014).** Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.*, **70**, 191-197.
- Bartke N, Hannun YA (2009).** Bioactive sphingolipids: metabolism and function. *Journal of Lipid Research*, **50(Suppl)**, 91-96.
- Baur JA, Sinclair DA (2006).** Therapeutic Potential of Resveratrol: The in Vivo Evidence. *Nat Rev Drug Discov.*, **5**, 493-506.
- Bennett JW, Klich M (2003).** Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.*, **16(3)**, 497-516.

Berman AY, Motechin RA, Wiesenfeld MY, Holz MK (2017). The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. *NPJ Precis Oncol.*, **1**, 35.

Bertero A, Moretti A, Spicer L, Caloni F (2018). Fusarium molds and mycotoxins: Potential species-specific effects. *Toxins*, **10(6)**, 244.

Bezuidenhout SC, Gelderblom WCA, Gorst-Allman CP, Horak RM, Marasas WFO, Spiteller G, Vleggaar R (1988). Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **11**, 743-745.

Bhat R, Rai RV, Karim AA (2010). Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, **9(1)**, 57-81.

Bilgic Y, Akbulut S, Aksungur Z, Erdemli ME, Ozhan O, Parlakpınar H, Vardi N, Turkoz Y (2018). Protective effect of dextran against cisplatin-induced hepatotoxicity. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **16**, 4049-4057.

Bircan FS (2014). *Fruktoz diyeti ile metabolik sendrom oluşturulan sıçanların kalp ve karaciğerinde resveratrolün antioksidan etkisinin incelenmesi*. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, Ankara

Blacutt AA, Gold SE, Voss KA, Gao M, Glenn, AE (2018). *Fusarium verticillioides*: Advancements in understanding the toxicity, virulence, and niche adaptations of a model mycotoxigenic pathogen of maize. *Phytopathology*, **108(3)**, 312-326.

Cannon P, Aguirre-Hudson B, Aimeb MC, Ainswortha AM, Bidartondo MI, Gayaa E, Hawkswortha D, Kirka P, Leitcha IJ, Lücking R (2018). Definition and diversity. In: Willis KJ (eds), *State of the World's Fungi*. Report. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 4–11.

Cayman Chemical. Product Information trans-Resveratrol (CAS 510-36-0). <https://www.caymanchem.com/pdfs/70675.pdf> (Erişim tarihi:18.05.2019)

Cemek M, Aymelek F, Büyükokuroğlu ME, Karaca T, Büyükben A, Yılmaz F (2010). Protective potential of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food Chem. Toxicol.*, **48(10)**, 2827-2832.

Chan MMY (2002). Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochemical Pharmacology*, **63(2)**, 99-104.

Charlier C, Michaux C (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem.*, **38(7-8)**, 645-659.

Chen Y, Tseng SF, Lai H, Chen WJ (2004). Resveratrol-induced cellular apoptosis and cell cycle arrest in neuroblastoma cells and antitumor effects on neuroblastoma in mice. *Surgery*, **136**, 1, 57-66.

Chilaka CA, De Boevre M, Atanda OO, De Saeger S (2017). The Status of Fusarium Mycotoxins in Sub-Saharan Africa: A Review of Emerging Trends and Post-Harvest Mitigation Strategies towards Food Control. *Toxins*, **9(1)**, 19.

Cirillo T, Ritieni A, Visone M, Cocchieri RA (2003). Evaluation of conventional and organic Italian foodstuffs for deoxynivalenol and fumonisins B1 and B2. *J Agric Food Chem.*, **51(8)**, 566-571.

Commission of the European Communities (EC) (2007). Commission Regulation (EC) No. 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize and maize products. *Off J Eur Union L.*, **255**, 14-17.

de Oliveira JC, Antonietto CRK, Scalabrini AC, Marinho TS, Pernomian L, Corrêa JWN, Restini CBA (2012). Antioxidant protective effects of the resveratrol on the cardiac and vascular tissues from renal hypertensive rats. *Open J Med Chem.*, **2**, 61-71.

Didwania N, Joshi M. (2013). Mycotoxins: A critical review on occurrence and significance. *Int J Pharm Pharm Sci.*, **5(3)**, 1014-1019.

Diplock A (1998). *Antioxidant nutrients*. In: Gurr M. (Eds), *Healthy Lifestyles: Nutrition and Physical Activity*. Brussels: ILSI Europe Concise Monograph Series, p: 16-21.

Docherty JJ, Fu MMH, Stiffler BS, Limperos RJ, Pokabla CM, DeLucia AL (1999). Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral Res.*, **43(3)**, 145-155.

El-Agamy DS (2010). Comparative effects of curcumin and resveratrol on aflatoxin B1-induced liver injury in rats. *Arch. Toxicol.*, **84**, 389-396.

El-Boghdady NA, Abdeltawab NF, Nooh MM (2017). Resveratrol and Montelukast Alleviate Paraquat-Induced Hepatic Injury in Mice: Modulation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Oxid Med Cell Longev.*, **2017**, 1–9.

Erel O (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.*, **Volume 37, Issue 4**, 277-285.

Erel O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.*, **Volume 38, Issue 12**, 1103-1111.

Eriksen GS (2003). *Metabolism and Toxicity of Trichothecenes*. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala, Sweden.

Ersoy O (2012). Karaciğer Enzim Yüksekliğinin Değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, **12(3)**, 129-135.

Escrivá L, Font G, Manyes L (2015). In vivo toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review. *Food and Chemical Toxicology*, **78**, 185–206.

Ferrante MC, Meli R, Raso GM, Esposito E, Severino L, Carlo GD, Lucisano A (2002). Effect of fumonisin B1 on structure and function of macrophage plasma membrane. *Toxicology Letters*, **129**, 3, 181-187.

Food and Drug Administration (FDA) (2001). Guidance for industry fumonisin levels in human foods and animal feeds. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-fumonisin-levels-human-foods-and-animal-feeds> (Erişim tarihi: 02.07.2019)

Frisvad JC, Smedsgaard J, Samson RA, Larsen TO, Thrane U (2007). Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*. *J. Agric. Food Chem.*, **55**(23), 9727-9732.

Gault, CR, Obeid, LM, Hannun, YA (2010). An overview of sphingolipid metabolism: from synthesis to breakdown. *Adv Exp Med Biol.*, **688**, 1–23.

Gelderblom WC, Jaskiewicz K, Marasas WF, Thiel PG, Horak RM, Vleggaar R, Kriek NP (1988). Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(7), 1806–1811.

Gelderblom WCA, Marasas WFO (2012). Controversies in fumonisin mycotoxicology and risk assessment. *Human and Experimental Toxicology*, **31**(3), 215-235.

Gelineau-van Waes J, Starr L, Maddox J, Aleman F, Voss KA, Wilberding J, Riley RT (2005). Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: Mechanisms in an in vivo mouse model. *Birth Defects Res. Part A Clin. Mol. Teratol.*, **73**, 487-497.

Gerogiannaki-Christopoulou M, Athanasopoulos P, Kyriakidis NC, Gerogiannaki IA, Spanos M (2006). trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties. *Food Control*, **17**, 700–706.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB) Mevzuatı (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. 29 Aralık 2011 Tarihli ve 28157 Sayılı Resmî Gazete-3.Mükerrer.

Hannun YA, Obeid LM (2018). Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **19**(3), 175-191.

Hartung NM, Fischer J, Ostermann AI, Willenberg I, Rund KM, Schebb NH, Garscha U (2019). Impact of food polyphenols on oxylipin biosynthesis in human neutrophils. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.05.002>.

Haschek WM, Gumprecht LA, Smith G, Tumbleson ME, Constable PD (2001). Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environ. Health Perspect.*, **109**(suppl 2), 251-257.

He Q, Kim J, Sharma RP (2004). Silymarin Protects Against Liver Damage in BALB/c Mice Exposed to Fumonisin B₁ Despite Increasing Accumulation of Free Sphingoid Bases. *Toxicol. Sci.*, **Volume 80, Issue 2**, 335–342

He Q, Riley RT, Sharma RP (2005). Myriocin prevents fumonisin B₁-induced sphingoid base accumulation in mice liver without ameliorating hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol.*, **43(6)**, 969-979.

He Q, Suzuki H, Sharma N, Sharma RP (2006). Ceramide Synthase Inhibition by Fumonisin B₁ Treatment Activates Sphingolipid-Metabolizing Systems in Mouse Liver. *Toxicol. Sci.*, **94(2)**, 388–397.

Hossain DM, Mohanty S, Ray P, Das T, Sa G (2012). Tumor gangliosides and T cells: a deadly encounter. *Front Biosci. (Schol Ed)*, **4**, 502-519.

Humpf H, Voss KA (2004). Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.*, **48**, 255-269.

International Agency for Research on Cancer (IARC) (2002). Summaries & Evaluations, Fumonisin B₁. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* **82**, 301-366.

Ismail AA, Papenbrock J (2015). Mycotoxins: Producing Fungi and Mechanisms of Phytotoxicity. *Agriculture*, **5**, 492-537.

Jacob PJ, Manju SL, Ethiraj KR, Elias G (2018). Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach. *Eur J Pharm Sci.*, **121**, 356-381.

Jimenez-Garcia SN, Garcia-Mier L, Garcia-Trejo JF, Ramirez-Gomez XS, Guevara-Gonzalez RG, Feregrino-Perez AA (2018). *Fusarium Mycotoxins and Metabolites that Modulate Their Production*. In: Askun T. (Eds), *Fusarium-Plant Diseases, Pathogen Diversity, Genetic Diversity, Resistance and Molecular Markers*. London: IntechOpen, p: 23-40.

Jin X, Wang K, Liu H, Hu F, Zhao F, Liu J (2016). Protection of Bovine Mammary Epithelial Cells from Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Cell Damage by Resveratrol. *Oxid Med Cell Longev.*, Volume 2016, Article ID 2572175, 1-15.

Kamle M, Mahato DK, Devi S, Lee KE, Kang SG, Kumar P (2019). Fumonisin: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and their Management Strategies. *Toxins*, **11(6)**, 328.

Kellerman TS, Marasas, WFO, Thiel PG, Gelderblom WC, Cawood M, Coetzer JA (1990). Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *Onderstepoort J Vet Res.*, **57(4)**, 269-275.

Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S (2015). The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol.*, **24(4)**, 325–340.

Kimura Y, Okuda H (2001). Resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* root prevents tumor growth and metastasis to lung and tumor-induced neovascularization in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *The Journal of Nutrition*, **131**, 6, 1844-1849.

Kongtawelert P, Tangkijvanich P, Ong-Chai S, Poovorawan Y (2003). Role of serum total sialic acid in differentiating cholangiocarcinoma from hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, **9**(10), 2178–2181.

Kouzi SA, Nicholas JD, Wright NJD, Dirks-Naylor AJ, Uddin MN (2018). Fumonisin: Effects on Human and Animal Health and Mechanisms of Toxicity. *EC Pharmacol Toxicol.*, **6**(4), 187-208.

Krupashree K, Rachitha P, Jayashree GV, Khanum F (2018). Protective Effects of *Picrorhizakurroa* Against Fumonisin B1 Induced Hepatotoxicity in Mice. *Int J Cur Res Rev.*, Vol 10, Issue 20, 25-31.

Kunwar A, Priyadarsini KI (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J Med Allied Sci.*, **1**(2), 53-60.

Kuralay F, Çavdar Z (2006). İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg.*, **16**(3), 143-152.

Kuršvietienė L, Stanevičienė I, Mongirdienė A, Bernatoniene J (2016). Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, **52**(3), 148-55.

Lin C, Chen T, Yang L, Shih C (2014). Resveratrol protects astrocytes against traumatic brain injury through inhibiting apoptotic and autophagic cell death. *Cell Death and Disease*, **5**, e1147.

Maccarrone M, Lorenzon T, Guerrieri P, Agrò AF (1999). Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity. *Eur. J. Biochem.*, **265**, 27-34.

Marasas WF, Kellerman TS, Gelderblom WC, Coetzer JA, Thiel PG, Lugt JJ (1988). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J Vet Res.*, **55**(4), 197-203.

Marasas WFO, Wehner FC, Van Rensburg SJ, Van Schalkwyk DJ (1981). Mycoflora of corn produced in human esophageal cancer areas in Transkei, southern Africa. *Phytopathology*, **71**(8), 792-796.

Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem. Toxicol.*, **60**, 218-237.

Martins ML, Martins HM, Bernardo F (2001). Fumonisin B₁ and B₂ in black tea and medicinal plants. *J. Food Prot.*, **64**, 8, 1268-1270.

McGill MR (2016). The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI Journal*, **15**, 817–828.

Meo CD, Jones BT (2018). *Chemical Synthesis of Glycosides of N-Acetylneuraminic Acid*. In: Baker DC. (Eds), *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Volume 75, Academic Press, p: 215-316.

Meredith Z, Alfred KA (2003). Peanuts a source of medically important resveratrol. *Natural Product Radiance*, **2(4)**, 182-189.

Merrill AH (2011). Sphingolipid and Glycosphingolipid Metabolic Pathways in the Era of Sphingolipidomics. *Chem. Rev.*, **111**, 6387–6422.

Milićević DR, Skrinjar M, Baltić T (2010). Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins*, **2(4)**, 572–592.

Mogensen JM (2012). *Significance and occurrence of fumonisins from Aspergillus niger*. Doctoral Thesis, Department of Systems Biology, Technical University of Denmark, Copenhagen.

Mogensen JM, Frisvad JC, Thrane U, Nielsen KF (2009). Production of fumonisin B2 and B4 by *Aspergillus niger* on grapes and raisins. *J. Agric. Food Chem.*, **58(2)**, 954-958.

Mogensen JM, Larsen TO, Nielsen KF (2010). Widespread occurrence of the mycotoxin Fumonisin B2 in wine. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 4583-4587.

Müller S, Dekant W, Mally A (2012). Fumonisin B1 and the kidney: Modes of action for renal tumor formation by fumonisin B1 in rodents. *Food Chem. Toxicol.*, **50**, Issue **10**, 3833-3846.

Natalin HM, Garcia AFE, Ramalho LNZ, Restini CBA (2016). Resveratrol improves vasoprotective effects of captopril on aortic remodeling and fibrosis triggered by renovascular hypertension. *Cardiovascular Pathology*, **25(2016)**, 116-119.

Nelson PE, Plattner RD, Shackelford DD, Desjardins AE (1992). Fumonisin B1 production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. *Appl Environ Microbiol.*, **58(3)**, 984–989.

O'Donnell K, McCormick SP, Busman M, Proctor RH, Ward TJ, Doehring G, Geiser DM, Alberts JF, Rheeder JP (2018). Marasas et al. 1984 "Toxigenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology" revisited. *Mycologia*, **110(6)**, 1058-1080.

Ohara K, Kusano K, Kitao S, Yanai T, Takata R, Kanauchi O (2015). ϵ -Viniferin, a resveratrol dimer, prevents diet-induced obesity in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **468(4)**, 877-882.

Opie LH, Lamont K, Lecour S (2011). Wine and heart health: learning from the French paradox. *SA Heart Journal*, **Vol:8, No:3**, 172-177.

Orsi RB, Dilkin P, Xavier JG, Aquino S, Rocha LO, Corrêa B (2009). Acute toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. *Chemico-Biological Interactions*, **179(2-3)**, 351–355.

Peraica M, Radić B, Lucić A, Pavlović M (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull. World Health Organ.*, **77(9)**, 754–766.

Pereira VL, Fernandes JO, Cunha, SC (2014). Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, **36(2)**, 96-136.

Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.*, **4(2)**, 89–96.

Pinho SS, Reis CA (2015). Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nat. Rev. Cancer*, **15**, 540-555.

Pisoschi AM, Pop A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.*, **97**, 55-74.

Pitt JI, Wild CP, Baan RA, Gelderblom WCA, Miller JD, Riley RT, Wu F (2012). *Improving public health through mycotoxin control*. Lyon: IARC Scientific Publication No. 158, p:1-30.

Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. **2017**, Article ID **8416763**, 1-13.

Poljsak B, Šuput D, Milisav I (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, Volume **2013**, Article ID **956792**, 1-11.

PubChem Database. National Center for Biotechnology Information. Resveratrol, CID=445154, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Resveratrol>. (Erişim tarihi:17.05.2019)

Rao RP, Vaidyanathan N, Rengasamy M, Oommen AM, Somaiya N, Jagannath MR (2013). Sphingolipid metabolic pathway: an overview of major roles played in human diseases. *J. Lipids*, Vol **2013**, Article ID **178910**.

Ray PD, Huang BW, Tsuji Y (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, Volume **24**, Issue **5**, 981-990.

Rayalam S, Yang J, Ambati S, Della-Fera MA, Baile CA (2008). Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Phytotherapy Research: PTR*, **22**, 10, 1367-71.

Rheeder JP, Marasas WF, Vismer HF (2002). Production of fumonisin analogs by Fusarium species. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68(5)**, 2101-2105.

Rimando AM, Kalt W, Magee JB, Dewey J, Ballington JR (2004). Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries. *J. Agric. Food Chem.*, **52**(15), 4713-4719.

Sadler T, Merrill AH, Stevens VL, Sullards MC, Wang E, Wang P (2002). Prevention of fumonisin B1-induced neural tube defects by folic acid. *Teratology*, **66**, 169-176.

Sales JM, Resurreccion, AV (2014). Resveratrol in peanuts. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, **54**, 6, 734-770.

Scarlatti F, Sala G, Somenzi G, Signorelli P, Sacchi N, Ghidoni R (2003). Resveratrol induces growth inhibition and apoptosis in metastatic breast cancer cells via de novo ceramide signaling. *The FASEB Journal*, **17**(15), 2339-2341.

Schauer R (2009). Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **19**, 5, 507-514.

Schauer R, Kamerling JP (2018). *Exploration of the Sialic Acid World*. In: Baker DC. (Eds), *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Volume 75, Academic Press, p: 1-213.

Schnaar RL, Gerardy-Schahn R, Hildebrandt H (2014). Sialic acids in the brain: gangliosides and polysialic acid in nervous system development, stability, disease, and regeneration. *Physiological Reviews*, **94**, 2, 461-518.

Scott PM (2012). Recent research on fumonisins: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, **29**(2), 242-248.

Shafi S, Ansari HR, Bahitham W, Aouabdi S (2019). The Impact of Natural Antioxidants on the Regenerative Potential of Vascular Cells. *Front. Cardiovasc. Med.*, **6**, 28, 1-9.

Sharma N, He Q, Sharma RP (2006). Amelioration of fumonisin B1 hepatotoxicity in mice by depletion of T cells with anti-Thy-1.2. *Toxicology*, **223**(3), 191-201.

Siemann EH, Creasy LL (1992). Concentration of the Phytoalexin Resveratrol in Wine. *Am J Enol Vitic.*, **J43**, 49-52.

Slotte JP (2013). Biological functions of sphingomyelins. *Prog. Lipid Res.*, **52**(4), 424-437.

Smith GW, Constable PD, Eppley RM, Tumbleson ME, Gumprecht LA, Haschek-Hock WM (2000). Purified fumonisin B1 decreases cardiovascular function but does not alter pulmonary capillary permeability in swine. *Toxicological Sciences*, **56**(1), 240-249.

Song P, Zou MH (2015). *Roles of reactive oxygen species in physiology and pathology*. In: Wang H, Patterson C. (Eds), *Atherosclerosis: risks, mechanisms, and therapies*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc., p: 379-392.

Soriano JM, Gonzalez L, Catala AI (2005). Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Prog. Lipid Res.*, **44(6)**, 345-356.

Sozmen M, Devrim AK, Tunca R, Bayezit M, Dag S, Essiz D (2014). Protective effects of silymarin on fumonisin B₁-induced hepatotoxicity in mice. *J. Vet. Sci.*, **15(1)**, 51–60.

Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, Jang M, Pezzuto JM, Dannenberg AJ (1998). Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, **273(34)**, 21875-21882.

Sun G, Wang S, Hu XS, Su J, Huang T, Yu J, Tang L, Gao W, Wang J (2007). Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China. *Food Addit Contam.*, **24(2)**, 181-185.

Sydow G (1985). A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomedica Biochimica Acta*, **44(11-12)**, 1721-1723.

Şehirli O, Tozan A, Omurtag, GZ, Çetinel S, Contuk G, Gedik N, Şener G (2008). Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **71**, 301-308.

Tamura M, Mochizuki N, Nagatomi Y, Harayama K, Toriba A, Hayakawa K (2015). Identification and Quantification of Fumonisin A1, A2, and A3 in Corn by High-Resolution Liquid Chromatography-Orbitrap Mass Spectrometry. *Toxins*. **7(2)**, 582-592.

Tanner ME (2005). The enzymes of sialic acid biosynthesis. *Bioorganic Chemistry*, **33, 3**, 216-228.

Valko M, Rhodes CJ, Moncól J, Izakovic M, Mazúr M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, **160(1)**, 1-40.

Vendruscolo CP, Frias NC, de Carvalho, CB, de Sá LR, Belli CB, Baccarin, RY (2016). Leukoencephalomalacia Outbreak in Horses due to Consumption of Contaminated Hay. *J. Vet. Intern. Med.*, **30(6)**, 1879–1881.

Vincenzi S, Tomasi D, Gaiotti F, Lovat L, Giacosa S, Torchio F, Segade SR, Rollè L (2013). Comparative study of the resveratrol content of twenty-one italian red grape varieties. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **34**, 30-35.

Vitrac X, Desmouliere A, Brouillaud B, Krisa S, Deffieux G, Barthe N, Rosenbaum J, Mérillon JM (2003). Distribution of [14C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sciences.*, **72**, 2219-2233.

Voss KA, Plattner RD, Riley RT, Meredith FI, Norred WP (1998). In vivo effects of fumonisin B1-producing and fumonisin B1-nonproducing *Fusarium moniliforme*

isolates are similar: Fumonisin B2 and B3 cause hepato- and nephrotoxicity in rats. *Mycopathologia*, **141**, 45-58.

Voss KA, Riley RT (2013). Fumonisin toxicity and mechanism of action: overview and current perspectives. *Food Safety*, **1(1)**, 2013006.

Voss KA, Smith GW, Haschek WM (2007). Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *J. Anim. Feed Sci.*, **137(3-4)**, 299–325.

Wang B, Brand-Miller J (2003). The role and potential of sialic acid in human nutrition. *Eur J Clin Nutr.*, **57**, 1351-1369.

Wang Q, Xu J, Rottinghaus GE, Simonyi A, Lubahn D, Sun GY, Sun AY (2002). Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. *Brain Research*, **958(2)**, 439-447.

Wang Z, Huang Y, Zou J, Cao K, Xu Y, Wu JM (2002). Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro. *Int. J. Mol. Med.*, **9**, 77-79.

Waśkiewicz A, Beszterda M, Goliński P (2012). Occurrence of fumonisins in food—an interdisciplinary approach to the problem. *Food Control*, **26(2)**, 491-499.

Wild CP, Gong YY (2010). Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, **31(1)**, 71–82.

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, **44(4)**, 275-295.

Wilson TM, Ross PF, Rice LG, Osweiler GD, Nelson HA, Owens DL, Plattner RD, Reggiardo C, Noon TH, Pickrell, JW (1990). Fumonisin B1 levels associated with an epizootic of equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **2(3)**, 213-216.

Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Citil M (2007). Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **59(2)**, 121-128.

Yu RK, Tsai YT, Ariga T, Yanagisawa M (2011). Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides—an overview. *J Oleo Sci.*, **60(10)**, 537–544.

Zhou HB, Chen JJ, Wang WX, Cai JT, Du Q (2005). Anticancer activity of resveratrol on implanted human primary gastric carcinoma cells in nude mice. *World J Gastroenterol*, **11(2)**, 280-284.

Zhou HB, Yan Y, Sun YN, Zhu JR (2003). Resveratrol induces apoptosis in human esophageal carcinoma cells. *World J Gastroenterol*, **9(3)**, 408-411.

Zhou Y, Jin Y, Yu H, Shan A, Shen J, Zhou C, Zhao Y, Fang H, Wang X, Wang J, Fu Y, Wang R, Li R, Zhang J (2019). Resveratrol inhibits aflatoxin B1-induced

oxidative stress and apoptosis in bovine mammary epithelial cells and is involved the Nrf2 signaling pathway. *Toxicon*. **164**, 10-15.

Zielińska-Przyjemska M, Kaczmarek MT, Krajka-Kuźniak VK, Łuczak M, Baer-Dubowska W (2017). The effect of resveratrol, its naturally occurring derivatives and tannic acid on the induction of cell cycle arrest and apoptosis in rat C6 and human T98G glioma cell lines. *Toxicol In Vitro*, **43**, 69-75.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Rıza Yalçın
Doğum Yeri ve Yılı : Merkez/Burdur 1992
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : T.C.
Telefon No : 0 506 558 04 73
Elektronik Posta : yalcin_15@hotmail.com
İletişim Adresi : Şeker Evleri Mah. 38013. Sok. No:2
Merkez/BURDUR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Yüksek Lisans:

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1.

Yayınları (SCI ve diğer makaleler):

1.

Üyesi Olduğu Mesleki Kuruluşlar

1.

