

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

KRONİK SELÜLOZİK TİNER İNHALASYONU SONRASI
RAT BULBUS OLFACTORIUS’UNDA OLUŞACAK
HASAR ÜZERİNE MELATONİN VE C VİTAMİNİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve ÖNDER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2016-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

KRONİK SELÜLOZİK TİNER İNHALASYONU SONRASI
RAT BULBUS OLFACTORIUS’UNDA OLUŞACAK
HASAR ÜZERİNE MELATONİN VE C VİTAMİNİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve ÖNDER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2015-893 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2016-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Anatomi Programında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 27/12/2016

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurettin OĞUZ
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Fatoş Belgin YILDIRIM
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Elif İnanç GÜRER
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Esat ADIGÜZEL
Pamukkale Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 19/12/2016 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Merve ÖNDER

İmza

Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi birikimlerini, deneyimlerini, hoşgörülerini esirgemeyen; tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasındaki katkılarından dolayı, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nurettin OĞUZ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmalarım süresince büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Fatoş Belgin YILDIRIM'a, Sayın Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ ve Sayın Prof. Dr. Elif İnanç GÜRER'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı arz ederim.

Ayrıca tezimin hazırlanmasında emeği geçen Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı akademik ve idari personeli Sayın Arş. Gör. Esmâ KIRIMLI KONUK'a ve Sayın Biyolog Arife DEMİRTOP'a, tezimde istatistik alanındaki yardımlarından dolayı Tıp Bilişimi ve Biyoistatistik Anabilim Dalı akademik personeli Sayın Arş. Gör. Başak OĞUZ YOLCULAR'a ve tezimde biyokimya alanındaki yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı akademik personeli Sayın Arş. Gör. Gizem Esra GENÇ'e teşekkürlerimi sunarım. Beraber çalıştığım her konuda yardımlarını esirgemeyen, takım arkadaşım Anatomi Anabilim Dalı akademik personeli Arş. Gör. Dr. Sezgi GÜRÇAY'a ve Deney Hayvanları Bakım ve Üretim Ünitesi idari personeli Sayın Sağlık Teknisyeni İbrahim ÇALIŞKAN'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Beraber çalışma fırsatı bulduğum ve tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma da ayrıca teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı Sağlık Bilimleri Enstitüsü akademik ve idari personeline teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, beni yüreklendiren, her koşulda destekleyen fedakar anneme, babama ve ağabeyime çok teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Organik çözücüler günlük yaşantımızda ve endüstride yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. Bu maddelerden tiner uyuşturucu amaçlı kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, selülozik tinerin kronik inhalasyona bağlı olarak rat bulbus olfactorius’unda oluşturacağı hasar üzerine melatonin ve C vitamininin etkilerini incelemektir.

Yöntem: Çalışmamızda yaklaşık 400-450gr ağırlığında 90 adet *Rattus norvegicus wistar* kullanıldı. Sıçanlar 9 gruba ayrıldı. Sıçanlar 6 hafta süre ile günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner inhalasyonu etkisine bırakıldı. Çalışmada selülozik tiner kullanıldı. Tinerin bileşimindeki solventlerin konsantrasyonları gaz dedektörü ile ölçüldü. Tanımlayıcı istatistikler; ortalama (mean), standart sapma (SD) ve medyan (ortanca), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile sunulmuştur. Normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş ve veriler normal dağılım varsayımını sağlamadığı için iki grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın analizinde Mann-Whitney U testi, ikiden fazla sayıda grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Analizler SPSS 20.0 paket programı ile yapılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Deney sonunda; deneklerin tüylerinde sararma, aşırı yalanma, sık göz kırpma gözlemledik. Histolojik ve ultrastrüktürel incelemede; tiner alan grubun bulbus olfactorius katmanlarında diğer gruplara göre incelme; mitokondri, ribozom ve endoplazmik retikulum sayılarında azalma, melatonin, C vitamini ve tiner alan grupta (Grup 5) kontrol grubuna yakın değerler gözlemledik. Tiner alan grubun diğer gruplara göre; GSH-Px, SOD, MDA ve CAT değerlerinde artma saptadık.

Sonuç: Tiner inhalasyonu sonrası melatonin ve C vitamini almanın bulbus olfactorius’da oluşan hasara karşı önleyici; dolayısıyla işçi sağlığı açısından önemli olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: selülozik tiner, C vitamini, melatonin, bulbus olfactorius

ABSTRACT

Objective: Organic solvents are liquids that are widely used in our daily life and industry. Thinner is used for these drugs. The aim of our study is to investigate the effects of melatonin and vitamin C on the damage caused by chronic inhalation of cellulosic thinner in rat bulb olfactorius.

Method: In our study, 90 male young Wistar rats weighing 400-450 gr were used. The rats were divided into 9 groups. Rats were exposed to thinner inhalation for 1 hour, twice daily for 6 weeks. Cellulosic thinner was used in the study. The concentrations of the solvents in the thinner composition were measured with a Drager gas detector. After thinner inhalation, melatonin and vitamin C inhibitor and therapeutic effect will be investigated against damage to bulb olfactorius.

Results: At the end of the experiment; Feathers in the feathers, excessive lie, frequent winking was observed. Histologic and ultrastructural examination; Thinner and other groups of bulb olfactorius layers have changed. In biochemical analysis; GSH-Px, MDA, Catalase and SOD values differed between groups. Group 2 has higher labyrinth values than groups 1 and 5.

Conclusion: After thinner inhalation, the rat bulb olfactorius was damaged and biochemical, ultrastructural and histological levels were determined to prevent melatonin and vitamin C administration against this injury.

Key words: Cellulosic thinner, vitamin C, melatonin, olfactory bulb

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar	vi
ŞEKİLLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Tiner	3
2.1.1. Selülozik Tinerin Kimyasal Yapısı	5
2.1.2. Tinerin Kullanım Alanları	6
2.1.3. Tinerin Toksik Etkileri	6
2.2. Koku Duysu	7
2.2.1. Nervus olfactorius	8
2.2.2. Bulbus olfactorius	9
2.2.3. Tractus olfactorius	11
2.4. Melatonin	12
2.4.1. Melatoninin Görevleri	13
2.5. Serbest Radikaller	14
2.6. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşturduğu Oksidatif Hasar	17
2.6.1. Proteinler Üzerine Etkisi	17
2.6.2. Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	18
2.6.3. Nükleik Asitler Üzerine Etkisi	18
2.6.4. Lipidler Üzerine Etkisi	18
2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	20
2.7.1. Enzimatik Antioksidanlar	22

2.7.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1. Denekler	25
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	25
3.3. Melatonin Uygulaması	26
3.4. C vitamini Uygulaması	27
3.5. Deney Düzenegi	27
3.5.1. Tiner İnhalasyonunun Uygulanması	27
3.6. Bulbus olfactorius Dokusunun Disseksiyonu	29
3.7. Işık Mikroskobi İncelemesi	31
3.8. Elektron Mikroskobi İncelemesi	32
3.9. Biyokimyasal Analiz	34
3.10.İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	
4.1. Kişisel Gözlemler	38
4.2. Denek Ağırlıkları	38
4.3.İşık Mikroskobisi Gözlemleri	39
4.4. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları	44
4.4.1. Kontrol Grubu	44
4.4.2. Tiner İnhalasyonu Alan Grup	44
4.4.3. C Vitamini Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	45
4.4.4. Melatonin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	45
4.4.5. Melatonin, C Vitamini Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	45
4.5. Biyokimyasal Değerlendirmeler	48
4.5.1. Katalaz Enzim Aktivite Tayini	48
4.5.2. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini	49
4.5.3. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini	49
4.5.4. Lipid Peroksidaz Seviyeleri Tayini	50

5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	73



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
3.1. Rat Gruplarının Sayısal Dağılımı	25
4.1. Deney Grubu Hayvanların Ortalama Vücut Ağırlıkları ve İstatistiksel Analizi	39
4.2. Gruplar Arası Doku Katalaz Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi	48
4.3. Gruplar arası Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Aktivitesinin Değerlendirilmesi	49
4.4. Gruplar Arası Doku SOD Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi	50
4.5. Gruplar Arası Doku TBARS Düzeyleri Değerlendirilmesi	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Bulbus olfactorius	9
2.2. Rat bulbus olfactorius	9
2.3. Rat bulbus olfactorius	10
2.4. Rat bulbus olfactorius	10
2.5. Bulbus olfactorius tabakaları	11
3.1. Araştırma ventilasyonu özel cam kafes	28
3.2. Deneklerin kafası gövdesinden ayrıldı	29
3.3. Bulbus olfactorius	30
3.4. Ayrılmış Bulbus olfactorius'lar	30
4.1. Kontrol Grubu	38
4.2. Tiner inhalasyonuna maruz kalmış ratlar	38
4.3. Kontrol grubu Hematoksilen-Eozin boyaması	41
4.4. Tinerli grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	41
4.5. Tiner + C vitamini grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	41
4.6. Tiner + Melatonin grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	41
4.7. Tiner + Melatonin + C vitamini grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	41
4.8. Ethanol + serum fizyolojik grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	42
4.9. C vitamini grubun Hematoksilen-Eozin boyaması	42
4.10. Melatonin grubu Hematoksilen-Eozin boyaması	42
4.11. Su grubu Hematoksilen-Eozin boyaması	42
4.12. Kontrol grubu Galloccyanin boyaması	43
4.13. Tiner grubu Galloccyanin boyaması	43
4.14. Tiner + C vitamini grubu Galloccyanin boyaması	43
4.15. Tiner + Melatonin grubu Galloccyanin boyaması	43
4.16. Tiner + C vitamini + Melatonin grubu Galloccyanin boyaması	43
4.17. Ethanol+ Serum fizyolojik grubu Galloccyanin boyaması	44
4.18. C vitamini grubu Galloccyanin boyaması	44
4.19. Melatonin grubu Galloccyanin boyaması	44

4.20. Su grubu Galloccyanin boyaması	44
4.21. Kontrol grubunun mitral hücresinin elektronmikrografisi	46
4.22 Tiner inhalasyonlu grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	46
4.23. Tiner inhale ettirilen ve C vitamini uygulaması yapılan grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	46
4.24. Tiner inhale ettirilen ve Melatonin uygulaması yapılan grubun grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	46
4.25. Tiner inhale ettirilen ve Melatonin, C vitamini uygulaması grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	46
4.26. Kontrol grubunun mitral hücresinin elektronmikrografisi	47
4.27. Tiner inhalasyonlu grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	47
4.28. Tiner inhale ettirilen ve C vitamini uygulaması yapılan grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	47
4.29. Tiner inhale ettirilen ve Melatonin uygulaması yapılan grubun grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	47
4.30. Tiner inhale ettirilen ve Melatonin, C vitamini uygulaması grubun mitral hücresinin elektronmikrografisi	47

SİMGELER ve KISALTMALAR

6-HMS	6-Hidroksimelatoninsülfat
AFMK	N ₁ -asetil-N ₂ -formil-5-metoksikinüramin
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
APUD	Amine Precursor Uptake Dekarboksilaz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CAT	Katalaz
CBrCl ₃	Bromotriklorometan
CCl ₄	Karbontetraklorür
CY212	Araldite
DDSA	Dodecenylsuccinic Anhydride
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
HIOMT	Hidroksiindol-o-metiltransferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IDO	İndolamin 2,3-dioksijenaz
MDA	Malondialdehit
MEL	Melatonin
NAT	N-asetil transferaz
NO•	Nitrik oksit
NO ₂ •	Azot dioksit
NO ₂ +	Nitronyum iyonu
NO ₂ –	Nitrit
NO ₃ –	Nitrat
O ₂ -	Süperoksit anyonu
OH•	Hidroksil radikali
ONOO–	Peroksinitrit
OsO ₄	Osmium Tetraoksit

PLGSH-Px	Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz
pO ₂	Oksijen basıncı
R•	Organik radikaller
RCOO•	Organik peroksitler
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RS•	Tiyil radikalleri
Se	Selenyum
SFT	Sörensen Fosfat Tamponu
SOD	Süperoksit dismutaz
TAAB	Propilen Oksit
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
Tr.	Tractus
XOD	Ksantin oksidaz

GİRİŞ

Organik çözücüler günlük yaşantımızda, evlerde ve endüstride birçok iş yerinde yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. 1880 yılına kadar ancak 20 kadar çözücü bilinirken, bugün sayıları binleri geçmektedir (Rodgers GC ve ark.,2007). Son yıllarda bu maddelerden tinerin uyuşturucu amaçlı kullanılması da söz konusu olmuştur.

Ülkemizde tiner genellikle boya tineri olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenir. Selülozik ve sentetik olmak üzere iki çeşit tiner bulunmaktadır. İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü tarafından ülkemizdeki selülozik tinerin içeriği gaz kromatografisi metodu ile analiz edilmiştir (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;45380).

Sonuçlara göre ülkemizdeki tinerler, yaklaşık olarak % 63 oranında toluen, % 13 aseton, % 10 izobutil asetat, % 7.5 izobutanol, % 6.5 butilglolikol içermektedir. Günümüzde tinerin uyuşturucu amaçlı kötüye kullanımı ülkemizde de sağlık açısından ve sosyal açıdan giderek önemli bir sorun haline gelmektedir. Bu yüzden tinerin sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gereklidir (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;45380).

Çalışmalarda organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşumu yolu ile gösterdikleri bildirilmiştir (Mattia ve ark., 1991; LeBel ve ark., 1990; Suleiman ve ark., 1987; Stickney ve ark. 1989). Süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Dokularda ROS'un yaptığı hasar lipid peroksidasyonlarının ölçümü ile belirlenmektedir. Melatonin bilinen en güçlü antioksidanlardan biridir (Mattia ve ark., 1993; Pascual ve ark., 2000). Hasara uğrayan hücrenin kendi kendini tamir etmesine yardım eden bir antioksidandır. Melatonin hidroksil ve peroksit radikallerinin güçlü süpürücüsüdür (Ozan ve ark.,2005).

Melatoninin serbest radikaller üzerine dolaylı etkileri vardır. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2^- - radikalini

H₂O₂'ye kataliz eden SOD aktivitesini arttırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek de antioksidan etki göstermektedir.

Melatonin antioksidan enzimleri uyarır, lipid peroksidasyonunu engeller ve beyin dokusunu oksijen kaynaklı serbest radikallerden korur.

C vitamini, insan vücudundaki temel yapı proteini olan kollajenin yapımında görev alan bir antioksidandır (Nishi ve ark., 2000; Sırmalı ve ark., 2014). C vitamininin kollajen metabolizmasındaki görevine ek olarak immün fonksiyonda, sinir dokusundaki transmitterlerin ve hormonların üretiminde çok önemli bir yeri vardır. Ayrıca C vitamini oldukça önemli bir antioksidandır.

Çalışmamızın amacı, selülozik tinerin kronik inhalasyona bağlı olarak rat bulbus olfactorius'unda oluşturduğu hasar üzerine melatonin ve C vitaminin etkilerinin histolojik, ultrastrüktürel, ve biyokimyasal düzeyde incelenmesidir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Tiner

Organik çözücüler günlük yaşantımızda evlerde, endüstride birçok iş yerinde yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. Sayıları her geçen gün artmaktadır. 1880 yılına kadar ancak 20 kadar çözücü bilinirken, bugün sayıları binleri geçmektedir. Bunlardan en az üç yüz tanesi yaygın olarak kullanılmaktadır (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1996;45380). İnsanlar uçucu çözücülere, günlük yaşamlarında birçok aşamada; inhalasyonla, deri yoluyla ve oral yol ile maruz kalmaktadırlar (Rodgers GC ve ark.,2007; Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). 1950'li yıllardan itibaren çocuklar ve ergenler tarafından uyuşturucu amaçlı kullanılmaktadır (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Diğer uyuşturucu maddelerin pahalı, temininin zor ve kullanımının yasak olması nedeniyle, daha çok özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük ve ailevi problemleri olan gençler tarafından tiner tercih edilmektedir (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Uçucu maddelerin sadece sokakta yaşayan çocuklar arasında kullanıldığı düşüncesi son yıllarda ortadan kalkmıştır. Bu maddeler artık her yaşta ve sosyoekonomik düzeyde kullanılan maddeler haline gelmiştir (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Genellikle 6-16 yaş grubunda daha yaygın olmakla birlikte, 20-30 yaş grubunda da uçucu madde kullanan kişilere rastlanmaktadır. Yaklaşık 29 ülkede yürütülen bir çalışmaya göre yaşam boyu en az bir kez uçucu madde kullanımı Hırvatistan'da %14, Danimarka'da %7, Finlandiya'da %5, İtalya'da %9, Polonya'da %11, İsveç'te %14, Litvanya'da %15, Fransa'da %6, Yunanistan'da %8, A.B.D'de %20, İngiltere'de %18 olarak saptanmıştır (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Brezilya'da düşük sosyoekonomik düzeyde olan öğrencilerin %24'ünün uçucu madde kullandıkları belirtilmiştir. A.B.D'de ise öğrencilerin %15.2'sinin uçucu madde kullandığı belirtilmiştir (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Türkiye'de ilk ve orta öğretim öğrencilerinde madde kullanım yaygınlığının saptanmasını amaçlayan araştırma bulgularına göre ilköğretim

öğrencileri arasında yaşam boyu en az bir kez uçucu madde kullanımı oranı % 3.2, ortaöğretim öğrencilerinde ise % 5.2'dir. Çocuk koruma merkezlerinde barınan çocukların % 47.4'ünün madde kullandığı, % 45.6'sının tercih maddesinin tiner, % 1.8'inin tercih maddesinin ise yapıştırıcı olduğu saptanmıştır (<http://www.yeniden.org.tr/sokak/ucucumadde.asp> 15.08.2016), İstanbul'da sokakta yaşayan çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada ise, çocukların %30'unun tiner ve yapıştırıcı kullandığı belirtilmektedir (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996).

Ülkemizde bulunan tiner genellikle boya tineri olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenmektedir. Selülozik ve sentetik olmak üzere iki çeşit tiner bulunmaktadır. Selülozik tiner; bünyesinde hidrokarbonlar, esterler, glikol eterler, ketonlar ile alkoller bulunduran ve nitro-selüloz esaslı her türlü boyaların, verniklerin viskozitelerini düşürerek uygulama kolaylığı sağlamak için kullanılan çözücü karışımdır (Gummin DD ve ark.,2000). Deneysel çalışmalarda gerçek konsantrasyonunun belirlenmesi çok zordur. Boya tinerinin gaz kromatografik analizinde 200'den fazla aromatik ve alifatik maddenin karışımından oluştuğu ortaya çıkmıştır. İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü tarafından ülkemizdeki selülozik tinerin içeriğini gaz kromatografisi metodu ile analiz edilmiştir. Sonuçlara göre ülkemizdeki tinerler, yaklaşık olarak % 63 oranında toluen, % 13 aseton, % 10 izobutil asetat, % 7.5 izobutanol, % 6.5 butilglikol içermektedir (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Uçucu maddelerin inhalasyonu, sıklıkla plastik bir torba veya şişe içinden ya da kumaş üzerine dökülerek yapılmaktadır. Akut intoksikasyondaki etkileri keyif verici olup, öfori, zindelik, disinhibisyon, takiben gevşeme, baş dönmesi, görsel, işitsel halusinasyonlar, yorgunluk ve uyku halidir. Günümüzde tinerin uyuşturucu amaçlı kötüye kullanımı ülkemizde de sağlık açısından ve sosyal açıdan giderek önemli bir sorun haline gelmektedir. Bu yüzden tinerin kötüye kullanılmasının sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gereklidir (Türk Standartları Enstitüsü,TS 9720/ocak 1992; Carabez A ve ark.,1998; Barroso-Moguel R ve ark.,1989).

2.1.1. Selülozik Tinerin Kimyasal Yapısı

Selülozik tiner, yapısında kuvvetli çözücüler bulunan renksiz, berrak bir çözücüdür.

Selülozik tinerin içerikleri:

Toluen: Toluen, benzen halkasına metil grubu eklenmesi ile elde edilen aromatik bir hidrokarbondur. İnhalasyon edilebilir dozun %50 sinin absorbe edildiği gösterilmiştir. Suda az çözülen bir maddedir. 61-500 ppm konsantrasyondaki toluen buharı göz ve solunum mukozası için irritandır. Deri ile temas sonrası enflamasyon gelişir. Sistemik etkisi ise merkezi sinir sisteminde depresyonuna yol açmasıdır. 800 ppm toluenle akut karşılaşma sonrası baş ağrısı, iştahsızlık, yorgunluk, nöromusküler inkoordinasyon, bulantı, vertigo, parestezi, mental konfüzyon ve bilinç kaybı gözlenir. Semptomlar 200-300 ppm toluenle temas sonrası görülmeye başlar, 600 ppm toluen inhalasyonu sonrası belirgin hale gelir. Kronik etkileri ise kalıcı serebellar ataksi, kronik ensefalopati (ataksi, tremor, mental durum değişiklikleri), rekürren baş ağrıları ve kişilik değişiklikleridir (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı, Ankara, 1996;453-80; Ellenhorn MJ ve ark. 1988).

Aseton: Genel olarak izopropil alkolün dehidrojenasyonu sonucu elde edilir (Allen R ve ark.,1992). Akut ve kronik toksisitesi çok nadir olup, yan etkileri azdır. Toksik etkisi sindirim ve inhalasyon yoluyla olur. Bütün vücut sıvılarına yayılır. 15-20 gr aseton alımı toksisite oluşturmaz, 200-400 ml saf asetonun oral alımı merkezi sinir sistemi depresyonu oluşturur ancak uzun dönemde sekele bırakmaz. (Ellenhorn MJ ve ark. 1988). Kronik maruziyet sonucu baş ağrısı, ağız kuruluğu, boğaz ve burun mukozası irritasyonu görülür, ortamdan uzaklaştırıldığında bu yan etkileri geçicidir. Göz ve mukozal irritasyonu yapar. Kronik teması sonucu deride kabuklanma ve kuruma oluşur. Karsinogenik ve mutajenik etkisi gözlenmez (Allen R ve ark.,1992; Ellenhorn MJ ve ark. 1988).

İzobutil-asetat: İzobutil asetat, izobutil alkol ve asetik asitten elde edilir. İzobutil asetatın; yüksek konsantrasyonlarda narkotik etkisi olup gözlerde, burun ve boğazda irritasyon yapar. 200 ppm konsantrasyona maruz bırakıldığında şiddetli boğaz irritasyonu yaptığı rapor edilmiştir. İntoksikasyon şiddetli ise baş ağrısı, bulantı, kusma,

baş dönmesi, santral sinir sistemi depresyonu ve bilinç kaybı gözlenir (Allen R ve ark.,1992).

İzobutanol: İnhalasyonu ve deri emilimi fazla toksik değildir. Ancak göz üzerinde şiddetli toksik etkileri bulunmaktadır. Karaciğer, kalp ve böbreklerde yağ birikimine neden olup, karaciğer üzerinde karbontetraklorürün etkisini artırır. Sıçanlarda intraperitoneal kullanımı sonucu karaciğer, dalak ve mide tümörleri ve sarkomlar oluştuğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (Allen R ve ark.,1992).

2.1.2. Tinerin Kullanım Alanları

Her türlü selülozik sonkat boya, astar ve verniklerin tüm çeşitlerinin inceltilmesinde ve bu uygulamalarda kullanılan aletlerin temizlenmesinde kullanılır. Ayrıca temizlik, leke çıkarma ve boya sökme işlemlerinde de kullanılır (Belchior ve ark., 2016).

2.1.3. Tinerin Toksik Etkileri

Uçucu maddelerin inhalasyonu, sıklıkla plastik bir torba veya şişe içinden ya da kumaş üzerine dökülerek yapılmaktadır. Akut intoksikasyondaki etkileri keyif verici olup, öfori, zindelik, disinhibisyon, takiben gevşeme, baş dönmesi, görsel ve işitsel halusinasyonlar, yorgunluk ve uyku halidir (Ulakoğlu, 1998). Bugüne kadar tinerin santral sinir sistemi, böbrekler, karaciğer, akciğer ve ürogenital sistem üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar yapılmış ve kalıcı hasarlar meydana getirdiği saptanmıştır (Flanagan RJ ve ark.,1990; Meadows R ve ark.,1996; Ulakoğlu EZ, 1998; Ilgazlı ve ark.,2004; Martínez-Alfaro ve ark.,2014; MartínezAlfaro ve ark.,2009; Yılmaz ve ark.,2006; Gotohda ve ark.,2002; Ulakoğlu ve ark.,1998). Tinerin dokular üzerinde yarattığı etki histopatolojik olarak incelendiğinde, santral sinir sisteminde sinaptik mesafede artma, postsinaptik membran dansitesinde ve intrasinaptozomal veziküllerin sayısında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca optik sinir miyelin kılıfında da ayrılmalar bulunmuştur (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı, Ankara, 1996;453-80; Ellenharn MJ ve ark. 1988).

Tiner, ayrıca serebellar disfonksiyon, aritmi, optik nöropati, nöropsikiyatrik bozukluklar, periferik nöropati ve akut kas güçsüzlüğüne yol açmaktadır (Flanagan ve ark.,1990; Meadows ve ark.,1996; Ulakoğlu ve ark.,1996). Ancak farklı uçucularda farklı katkı

maddelerinin de olduğu göz önüne alınmalıdır. Tolerans gelişimi de maddenin etkisini farklılaştırmaktadır. Uçucu maddeler hızla başlayan ve hızla geçen bir iyilik haline neden olurlar. Uçucuların etkisi alkol ve sedatif ilaçların etkilerine benzer (Wu ve ark.,2006).

Kronik uçucu madde kullanımında yorgunluk, tremor, koordinasyon bozukluğu, periferik nöropati, parestezi, serebellar işlev bozuklukları, parkinsonizm, optik nöropati, kranial nöropati (genellikle V. sinir ve VII. sinir) kronik ensefalopati, demans (kurşunlu gazolinin yol açtığı demans veya toluene bağlı beyaz madde demansı) gibi nörolojik belirtiler ve duygudurum bozuklukları görülür. Nöropsikiyatrik işlev bozuklukları beyaz madde hasarıyla uyumludur (Sakai ve ark.,2009; Wu ve ark.,2006). Beyin görüntüleme çalışmaları kronik kullanımda, serebrum, serebellum ve beyin sapında yaygın atrofi, ventriküler dilatasyon ve sulkuslarda genişleme olduğunu göstermiştir (Sakai ve ark.,2009; Wu ve ark.,2006). Uçucu madde bağımlılarında beyin görüntüleme çalışmalarıyla ortaya konan yıkım, diğer madde bağımlılıklarındakilere göre daha fazla ve ağırdır. Uçucu madde kullananların % 70'inde yaşam boyu süren bir duygudurum, anksiyete ve kişilik bozukluğu saptanır. Kronik toluen kullanımı, şizofrenideki psikotik bulgulara benzer değişiklikler oluşturabilir (Sakai ve ark.,2009; Wu ve ark.,2006). Çalışmalarda organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşumu yolu ile gösterdikleri bildirilmiştir (Mattia ve ark.,1991). Süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Dokularda ROS'un yaptığı hasar lipid peroksidasyon düzeyinin ölçümü ile belirlenmektedir. Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açan ROS oluşumu membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır (Lebel ve ark.,1990).

2.2. Koku Duyusu

Koku hücreleri veya reseptörleri adı verilen bipolar ganglion hücreleri concha nasalis superior'un üst kısmı, bunun üstünde kalan dış duvar, burun boşluğu tavanı ve burun bölmesinin üst kısmını örten mukozada (regio olfactoria tunicae mucosae nasi) bulunur. Her bir burun boşluğunda 2,5 cm²'lik bir yer kaplayan bu mukozada destek, koku (reseptör) ve bazal hücreler olmak üzere 3 çeşit hücre bulunur. Destek hücreleri

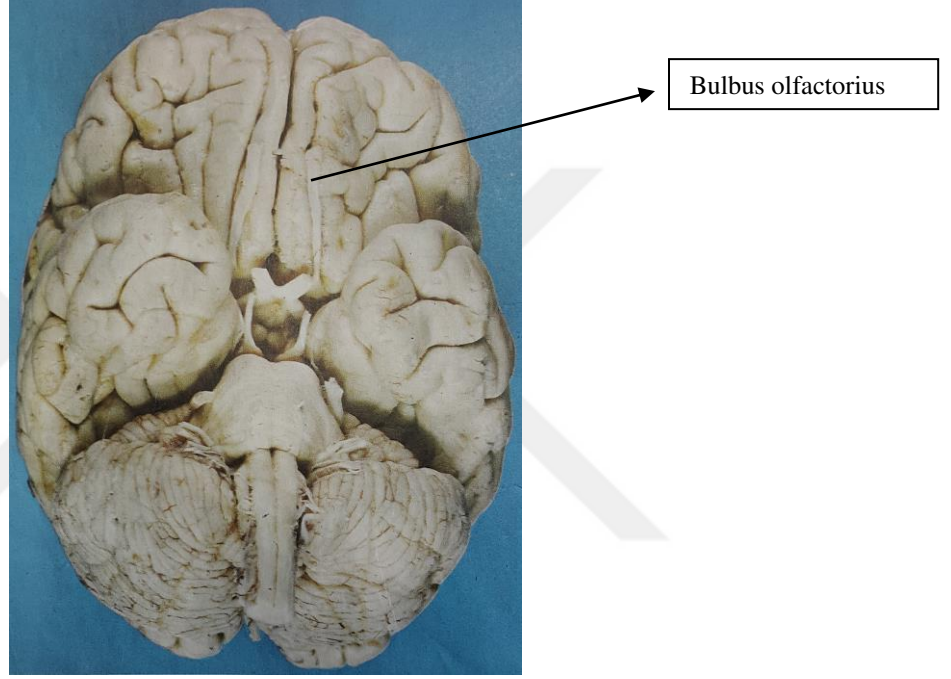
silindirik epitel hücreleridir. Koku (reseptör) hücreleri bipolar nöronlar olup, bunların hücre gövdeleri destek hücrelerinin arasında bulunur ve her bir burun boşluğunda yaklaşık 25 milyon koku hücresi bulunur. Her bir koku hücresinin dentrite uyan periferik uzantısı bir vezikül şeklinde şişlik gösterir ve bu vezikülden yaklaşık 6- 8 adet silia çıkar. Bu silialar burun boşluğuna giren havadaki kokudan etkilenerek hücre gövdesini uyarır. Böylece koku alama işlemi başlamış olur. Her bir yarıda koku hücrelerinin santral uzantılarının birkaçı bir araya gelerek yaklaşık 20 adet olan flia olfactoria'yı oluşturur. Bazal hücreler destek hücrelerinin bazal kısımlarında bulunur ve bu hücrelerden destek hücreleri gelişir. Yaklaşık 2 ayda dökülerek kaybolur ve bazal hücrelerin farklılaşmasıyla yenileri oluşur.

2.2.1. Nervus olfactorius

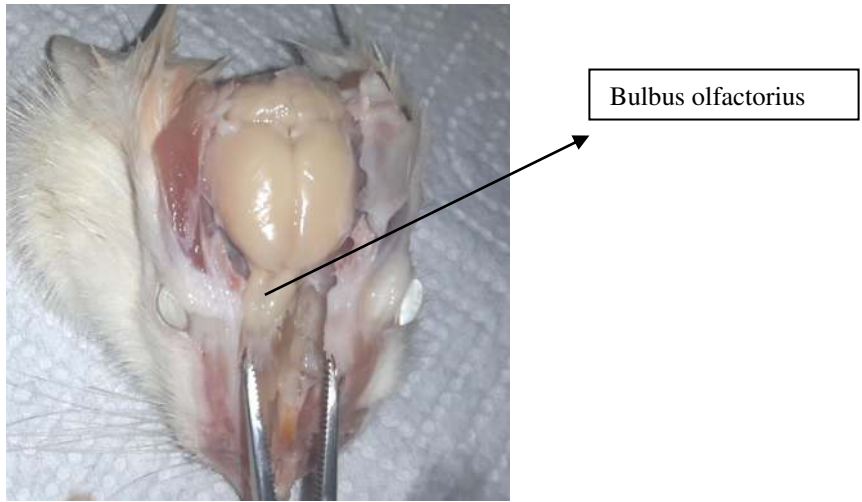
SVA bir duyu olan koku uyarılarını taşıyan, tümüyle duyuşal bir kranial sinirdir. Koku sinirlerinin orijini, burun boşluğunun koku mukozasında yer alan bipolar nöronlar (olfaktör reseptör hücreleri)dir. İğ şeklindeki bipolar olfaktör reseptör hücrelerinin dendrit niteliğindeki periferik uçları epitel yüzeyine; merkezi uzantıları ise lamina propria'ya doğru uzanır. Periferik uzantının ucundan, epitel yüzeyini kaplayan mukus salgısı içine gömülmüş cilialar uzanır (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara). Solunan havadaki koku partikülleri, birer kemoreseptör olarak fonksiyon gören bu nöronlardaki siliaları uyararak bir koku impulsunun doğmasına neden olur. Koku impulsları olfaktör reseptör hücrelerinin merkezi uzantıları olan miyelinsiz aksonlar yolu ile MSS'nin ilgili bölümlerine iletilir. Bir taraf koku mukozasında 25 milyon nörosensorial koku hücresi vardır. Bu hücrelerin miyelinsiz aksonları her burun boşluğunda 18-20 adet koku sinirini (fila olfactoria, nn. olfactorii) oluştururlar. Bu sinirler, etmoid kemiğin lamina cribrosa'sındaki deliklerden geçerek bulbus olfactorius'taki mitral hücrelere ulaşır. Bulbus olfactorius'taki nöronların aksonları tractus olfactorius şeklinde primer olfaktor korteks (periamigdaloid ve prepiriform alanlar, area 34) şeklinde primer olfaktor korteks ile amigdala'ya ulaşırlar (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara).

2.2.2. Bulbus olfactorius

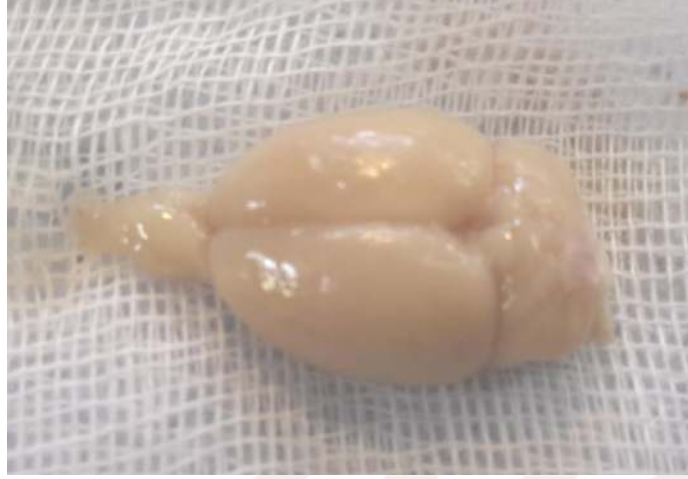
Fossa cranii anterior'da crista galli'nin her iki yanında ve os ethmoidale'nin lamina cribrosa'sı üzerinde bulunan 3 mm eninde, 15 mm boyunda uzun, yassı ve ovalimsi bir sinir yapısı olup çeşitli sinir hücrelerini içerir. Bunların en büyüğü mitral hücrelerdir (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara) (şekil 2.1,2,3,4).



Şekil 2.1. Bulbus olfactorius (Gray's Anatomy 1997)



Şekil 2.2. Rat bulbus olfactorius



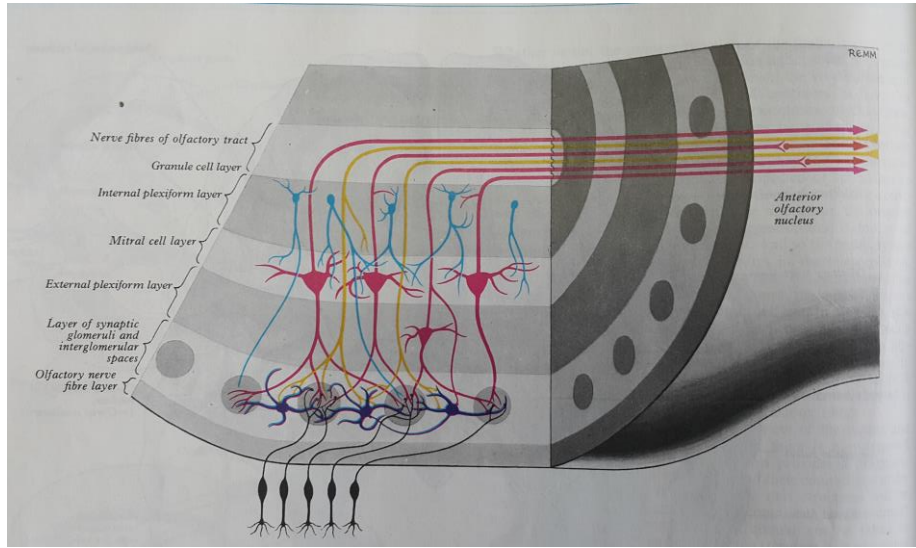
Şekil 2.3. Rat bulbus olfactorius



Şekil 2.4. Rat bulbus olfactorius

Mitral hücreler burun mukozasından gelen sinir uzantıları ile sinaps yaparak glomerül olarak isimlendirilen yuvarlak yapılar oluşturur. Mitral hücreler ayrıca daha küçük olan granüler ve silialı hücrelerle de sinaps yapar. Bulbus olfactorius'un hemen arka bölümünde nuc. olfactorius anterior denilen bir grup küçük hücre kümesi bulunur. Bulbus olfactorius'daki mitral ve silialı hücrelerin aksonlarının kollateral dalları, bu çekirdeklerde sonlanır. Bu çekirdeklerden çıkan lifler ise, stria olfactoria medialis içinde uzanır, commissura anterior'dan karşı tarafa geçerek o tarafın tr. olfactorius'unda geri döner ve bulbus olfactorius'unda sonlanır. Böylece iki tarafın bulbus olfactorius'u arasında bağlantı kurulmuş olur. N. opticus gibi, bulbus ve tr. olfactorius da bir periferik sinirden ziyade beynin bir uzantısı şeklindedir (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara).

Bulbus olfactorius'un arka ucundan başlayan tractus olfactorius, sulcus olfactorius'u örterek frontal lobun alt yüzü üzerinde geriye doğru uzanır. Mitral ve tufted (yumuşak) hücrelerin aksonlarından meydana gelir. Bulbus olfactorius'un arka ucunda mitral ve granüllü hücreler arasında multipolar nöronlar (intermedier nöronlar) görülür. Bu nöronlar tractus olfactorius boyunca görülen nucleus olfactorius anterior'u teşkil ederler (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara). Mitral hücrelerin dendritleri, burun mukozasının koku duyusunu alan bölümündeki (burun boşluğu tavanındaki sarı-kahverengi bölge, koku zarı) koku duyu nöronlarının aksonlarıyla sinapslar yapar. Sinapsların olduğu yerlerde karşı karşıya gelen akson ve dendrit lifleri dallanarak yumakçıklar oluştururlar. Bunlara koku yumakçıkları (koku glomerülleri) denir. Grik madde içinde mitral hücrelerin yanı sıra ufak perikaryonlu (granüllü tip) birleştirici nöronlar da vardır. Ayrıca "tutam hücreleri" denilen değişik türden nöronların perikaryonları koku glomerüllerinin yakınında gözlenirler. Mitral ve tutam hücrelerinin aksonları, koku duyu sinirini yaparak rhinencephalon'da ki çeşitli koku duyu alanlarında sonlanırlar (şekil 2.5) (Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Ankara).



Şekil 2.5. Bulbus olfactorius tabakaları (Gray's Anatomy 1997)

2.2.3. Tractus olfactorius

Bulbus olfactorius'un arka ucundan çıkan dar bir şerit şeklindeki bu yol, beyaz cevher yapısında olup, frontal lobun alt yüzündeki sulcus olfactorius içinde uzanır. İçerdikleri

lifler, bulbus olfactorius'taki mitral ve silialı hücrelerin (2. nöron) santral uzantılardır. Yine karşı taraf bulbus olfactorius'undan gelen liflerde commissura anterior'dan geçerek bu yapıda ön taraf doğru seyrederek ve her iki tarafın bulbus olfactoriusları arasında bağlantı kurar. Tractus olfactorius, substantia perforata anterior'un hemen ön tarafında frontal lobun alt yüzü ile birleşir. Birleşme yerinde oluşan üçgen şeklindeki sahaya trigonum olfactorium denir. Burada tractus olfactorius stria olfactoria lateralis, medialis ve intermedia adı verilen üç şeride ayrılır (Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 2. Cilt 2001, Ankara).

2.4. Melatonin

Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin, pineal bez hücreleri tarafından salgılanan bir hormondur. Melatonin iki enzimin etkisi ile seratoninden sentezlenmektedir (Wurtman ve Axelrod, 1960). Enzimlerden biri N-asetil transferazdır (NAT) ve seratoninin asetile edilmesini sağlarken; diğeri ise hidroksiindol-o-metiltransferaz (HIOMT) olup, indol halkasının metile edilmesinde görevlidir (Claustrat ve ark, 2005). Pineal bezde seratonin miktarı gündüz yüksek gece ise düşüktür, ışık şiddeti ve süresi bezdeki seratonin miktarını değiştirir, bezdeki melatonin miktarı ise seratoninin tersi yöndedir; yani melatonin sentezi gündüz az iken gece çoktur. Gece seratonin miktarının azalması da melatonin sentezinin artmasından dolayıdır. Gece pineal bezde, kanda, serebrospinal sıvıda ve idrarda melatonin miktarında artma meydana gelir (Ratzburg ve ark.,2013; Çam ve ark.,2003; Mollaoğlu ve ark.,2005). Gözde başlayan sinir impulsunun pineal bezden hormon salınması ile sonuçlanmasındaki olaylar dizisi şu şekildedir; gözü etkileyen ışık uyarısı sempatik sinirler aracılığı ile pineal beze ulaşmaktadır. Sempatik sinir uçlarından salınan norepinefrin pineal hücreleri etkiler. Pineal bez hücreleri β -adrenerjik reseptörler yoluyla etkilenince, siklik nükleotid sistemi aktive edilir, N-asetil transferaz enzimi sentezlenir veya aktive edilir ve melatonin sentezi başlar (Wurtman ve Axelrod, 1960). Endojen melatoninin büyük oranda pineal bezde yapıldığı ve yapımından sorumlu tek organın pineal bez olduğu bilinmekle beraber; son yıllarda özellikle diffüz nöroendokrin sistemin bir parçası olarak kabul edilen APUD (Amine Precursor Uptake Deamin) hücrelerinde de önemli miktarlarda melatonin olduğu belirlenmiştir (Ustundag ve Canatan, 1999).

Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ($\text{OH}\cdot$) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin hidroksil serbest radikali ($\text{OH}\cdot$) ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki süperoksit anyon radikalini (O_2^-) tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır, hücrenin hemen bütün organallerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Serbest oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrolün DNA üzerine hasar oluşturunca etkisinin, melatonin tarafından çok etkili şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Melatonin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir.

2.4.1. Melatoninin Görevleri

Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas ve ark (Ianas ve ark., 1991) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro (Reiter, 1993; Tan, 1993; Pahkla, 1998) ve in vivo (Giusti,1996; Yamamoto ve Tang, 1996) çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde MEL'in antioksidan özelliği sıralanırsa;

1. Direkt antioksidan etki: MEL'in $\text{HO}\cdot$, H_2O_2 , O_2^- , HOCl , $\text{NO}\cdot$, ONOO^- gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (Beyer ve ark., 1998; Reiter ve ark., 2000). MEL'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Fizyolojik şartlarda pek çok indol MEL'e benzer şekilde yıkılsa da, O_2^- varlığında, MEL'in pirol halkasının indolamin2,3-dioksijenaz (IDO) ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı, yüksek reaktiviteye sahip, N-1-asetil-N-2-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Hardeland ve ark., 1993). MEL'in H_2O_2 varlığında da AFMK oluşturduğu ve bu metabolitin radikal tutucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Reiter ve

ark., 2000). Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, MEL'in en güçlü antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir. **2. Antioksidan Enzim Aracılı Etki:** Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki MEL'in, SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve g-glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini arttırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (Beyer ve ark., 1998; Reiter ve ark., 2000).

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulundurmaları nedeniyle diğer bileşiklerden farklı kimyasal bileşiklerdir. Bu eşlenmemiş elektron nedeniyle kararsız yapıda bulunan serbest radikal molekülünün kararlı hale geçebilmek için elektronunu başka bir elektron ile eşleştirmesi gerekmektedir. Bu nedenle de serbest radikaller oldukça aktif moleküllerdir. Moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir (Prauchner, 2016).

2.5.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri, hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak asıl toksik etkilerini gösterirler (Bianchi ve ark.,1997; Lebensztejn ve ark. 1985). Lipid peroksit radikalleri, bir yandan hücre membranındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken diğer taraftan açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Katz ve ark.,1996; Sözmén,2002; Bao ve ark., 1998; Maeda ve Akaike, 1991).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir. Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ($HO_2^{\cdot}$) oluşturmak üzere protonlanır. H^+ , Süperoksit radikali ve perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur. Süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin ($NO^{\cdot}$) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 14.06.2015). Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi, süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksitin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş

olduğu nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir. Hidrojen peroksit serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{+2} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının ($O_2^{\cdot-}$) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) oluşur. Süperoksit radikalının lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldır. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe^{+2} içeren membranlarda hasar oluşturabilir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^{\cdot}$), karbon merkezli organik radikaller ($R^{\cdot}$), organik peroksitler ($RCOO^{\cdot}$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Singlet oksijen

Bir radikal oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, delta ve sigma olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Nitrit oksit

Nitrit oksit ($NO^{\cdot}$), tek sayıda elektron içeren renksiz gaz halinde bulunan inorganik bir serbest radikaldir. Hücre içerisindeki nitrit oksit konsantrasyonu arttığı zaman nöron ölümü ile sonuçlanan toksik olaylar meydana gelir. $NO^{\cdot}$ sentezi bazı hücrelerde bir

reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 14.06.2015). Nitrit oksit (NO^*) Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziste rol oynar. Nitrit oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. Böylece nitrit oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Vasküler tonusun düzenlenmesi için süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve nitrit oksit (NO^*) arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Peroksinitrit, nitrit oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2^*), hidroksil radikali (OH^*), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşturduğu Oksidatif Hasar

Serbest radikaller; lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli biyolojik makromoleküllerinin oksidatif hasarına sebep olur. Oksijen toksisitesi; inflamasyon, yaşlanma, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutagenesis, nörolojik, immünolojik, ürolojik hastalıklar ve sindirim sistemi enfeksiyonu, göz, deri, akciğer ve karaciğer hastalıkları serbest radikallerle ilgili oldukları kanıtlanan hastalıklardandır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6.1. Proteinler üzerine etkisi

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde; agregasyon, karşı bağ ve floresan oluşumu gözlenir. Floresan oluşumunun nedeni proteinlerin lizin aminoasidinin epsilon amino grubuna malondialdehitin bağlanmasıyla Schiff bazı protein-protein ya da protein-lipit çapraz bağlarının oluşumudur. Lipit peroksit-protein interaksiyonu üzerine olan çalışmaların çoğu sülfidril gruplarının oksidatif duyarlılığından dolayı sülfür içeren aminoasitlerle in vitro olarak yapılmıştır. Lipid peroksidasyonunun fenil alanin, tirozin, metiyonin, glutamik asit, serin, arginin gibi aminoasitlerde değişik düzeylerde yıkıma neden olabileceği bildirilmektedir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6.2. Karbonhidratlar üzerine etkisi

Fizyolojik pH ve sıcaklıkta glikoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Glikozaminoglikan olan ve synovial sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyaluronik asit, oksijen tarafından depolimerize olarak, bağ dokunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6.3. Nükleik asitler üzerine etkisi

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek nükleik asit modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine bağlı olarak hücrede mutasyona yol açarlar. DNA'ya karşı oksidatif hasar, normal metabolik durumlarda da yüksek oranda meydana gelir. Vücudumuzdaki her bir hücredeki DNA her gün 104 oksidatif hasara maruz kalarak 20'den fazla farklı oksidatif DNA lezyonunun oluşumuna yol açar. Bu lezyonların çoğu mutajenik olarak bilinir. Bu lezyonları iyileştirebilen spesifik glikozilaz, endonükleaz gibi DNA tamir enzimleri vardır. Bununla birlikte bu tamir mekanizmaları mükemmel değildir. Bu mekanizmalar lezyonların %99'unu temizlemesine rağmen % 1'i kalır ve bu da zamanla lezyonların birikimine yol açar. Sonuç olarak oksidatif DNA hasarı ve mutasyonları yaşla artar (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6.4. Lipidler üzerine etkisi

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipidler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır ve üç aşamada incelenebilir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

a) Başlangıç Aşaması

Lipid peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikal süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikale dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksitin de hidroksil radikale dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır.

Radikal, lipid molekülünden bir hidrojen atomu çıkartarak karbon merkezli lipid radikalının oluşmasına yol açmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

b) Zincir Aşaması

Bu aşamada hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü, bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir ve RH'dan yeniden bir H⁺ ayrılmasını sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder. Bir çok olayda bu şekilde oluşan lipid peroksidi, RO⁰ ve OH⁰ verecek şekilde parçalanır ve oluşan bu radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni bir zincir reaksiyonunu başlatacak olan R⁰ radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur. Lipid peroksitleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe⁺³, Cu⁺² gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bu nedenle Fe ve Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını arttırmırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığı ve permeabilitesini arttırarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intraselüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak ya toksiklerdir ve duyarlı aminoasit kalıntılarını okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

c) Zincir uzamasının durması ve ikincil ürünlerin oluşması

Hidroperoksitler ve bunlara bağlı olarak oluşan serbest radikaller ya birbirleriyle reaksiyona girerler, ya inaktif kondenzasyon ürünlerini verirler ve zincir uzaması durur ya da zincir uzamasının durması değişik yapı ve yetenekteki bazı bileşikler tarafından gerçekleştirilir. Düşük konsantrasyonlarda oksitlenmeye karşı etkili ve duyarlı olan istenmeyen değişiklikleri önleyen ya da ortadan kaldıran bu bileşikler oksidasyona karşı

oldukları için antioksidan olarak isimlendirilmiştir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROS'un vücutta meydana getirdiği hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine, antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Serbest oksijen radikalleri ile ilgili teori yaklaşık 50 yıl önceden beri bilinse de, son 20 yılda antioksidanların hastalıklara karşı koruyucu etkisi önem kazanmıştır. Antioksidan olarak hareket edebilen birçok farklı madde bulunmaktadır. Antioksidanlar, okside edilebilen bir substrata göre düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddelerdir (Andre ve Villain, 2016).

Antioksidanlar şu yollarla etki edebilir:

- Biyolojik olarak önemli reaktif oksijen türlerini temizleyerek (scavenger)
- Oluşumlarını önleyerek veya
- Yaptıkları hasarı onararak

Reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli olarak oluşturulur ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu mekanizmalar birtakım enzimler ve antioksidan maddelerdir. Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküllere çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

Antioksidan savunma sistemi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimleri ve

glutasyon, vitaminler (A,C,E), melatonin ve bazı eser elementleri kapsayan enzim olmayan antioksidanları içermektedir (Andre ve Villain, 2016).

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:

1) Süperoksit dismutaz (SOD). 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px). 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST). 4) Katalaz (CAT). 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 6) Hidroperoksidaz. Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Melatonin 2) Seruloplazmin 3) Transferrin 4) Miyogloblin 5) Hemogloblin 6) Ferritin 7) Bilirubin 8) Glutasyon 9) Sistein 10) Metiyonin 11) Ürat 12) Laktoferrin 13) Albümin. Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) α -tokoferol (vitamin E).
- 2) β -karoten.
- 3) Askorbik asit (vitamin C).
- 4) Folik asit (folat).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4) Trolox-C (vitamin E analogu)
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein)
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri
- 9) Sitokinler (TNF ve IL-1)
- 10) Barbitüratlar
- 11) Demir şelatörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Butylated hydroxytoluene (BHT)
- 2) Butylated hydroxyanisole (BHA)
- 3) Sodium benzoate
- 4) Ethoxyquin
- 5) Propylgalate
- 6) Fesuperoxyde dismutase.

2.7.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını arttırmak için yeterince güçlü bir katalisttir. İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur (Andre ve Villain, 2016). SOD'nin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosit edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Cu-Zn SOD'un spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf> 12.07.2016).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutasyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur. GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur. Tiyol

grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Katalaz (CAT)

H₂O₂ 'i suya ve oksijene dönüştüren enzim katalazdır. Tetramerik yapıda olan katalaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. En yüksek oranda karaciğer ve eritrositlerin peroksizomlarında lokalize olmuştur. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂) hidroksil serbest radikali (OH[•]) oluşumunu önler (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.7.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

C vitamini

1790 yılından beri bilinen vitamin C 1933 yılında Cglen King tarafından limondan izole edilmiştir. İzole edilmesinden hemen sonra kimyasal yapısı da açıklanmıştır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Yağda ve organik eriticilerde erimeyen askorbik asit, beyaz kristaller halinde, katı yapıdadır ve suda erir. Askorbik asidin yapısı glikozun okside formu şeklindedir. pH'ın artması ile birlikte gümüş ve bakır iyonları tarafından askorbik asitin oksidatif parçalanması hızlanır. Dehidre formu indirgenmiş formundan daha dayanıklıdır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Normalde hayvanlarda ve yüksek yapılı bitkilerde askorbik asit bulunur. Bu vitamin birçok hayvan türünde D-glikozdan sentezlenir. Askorbik asit sentezinde

mikroorganizmaların varlığına gerek yoktur. Değişik türlerde mesela insan, maymun, kobay, bazı kuşlar ve balıklarda vitamin C sentezi yapılmaz, çünkü bu canlılarda

L-glukonolakton oksidaz enzimi genetik olarak yoktur (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Askorbik asit memelilerde karaciğerde; kuşlarda, kurbağa ve sürüngenlerde ise böbreklerde sentez edilir. En önemli askorbik asit kaynakları yeşil sebzeler, meyveler, domates ve turunçgillerdir. Oksidasyona karşı oldukça duyarlı olan vitamin C pişirme ve depolama sırasında kayba uğrar (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

C Vitamini Emilimi ve Metabolizması

Askorbik asitin bağırsaklardan emilmesi monosakkaritler gibidir. Bu vitamin hücreye girmeden dehidroaskorbik asit şeklindedir, hücreye girdikten sonra askorbik asit şeklini alır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Vitamin C'nin emilimi daha çok midede olmaktadır. Yüksüz olan dehidroaskorbik asit fizyolojik pH'da hücre membranlarını monoanyonik L-askorbattan daha kolay geçerler. Lökosit ve eritrosit gibi hücreler, vitamin C'nin büyük çoğunluğunu basit difüzyonla geçirirler, fakat bazı hücre ve dokularda aktif transport söz konusudur (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Vitamin C çoğu dokuda; hipofiz, adrenal korteks, korpus luteum ve timus gibi bezlerde plazmadaki düzeyinden 20-30 kat daha fazladır. İnsanlarda normal olarak 100 ml kanda 1.0 mg askorbik asit bulunur. Vitamin C'nin yarı ömrü 16 gündür.

Güçlü bir indirgeyici ajan olan vitamin C, oksidasyon ve redüksiyon olaylarında antioksidan olarak görev yapar. Bazı durumlarda demir ve bakır kofaktör olarak kullanılır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denekler

Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen yaklaşık 400-450gr ağırlığında *Rattus norvegicus* türü toplam 90 adet, genç erkek Wistar sıçan kullanıldı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızdaki *Rattus norvegicus* türü 400-450 gr ağırlığında 90 adet genç erkek Wistar sıçan kullanıldı. Denekler toplam 9 gruba ayrıldı (Tablo:1). Denekler üzerinde yapılacak tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Bakım ve Kullanım Kurulunun değerlendirmesine sunulurak onay alındı.

Tablo 3.1. Rat gruplarının sayısal dağılımı

Gruplar	Denek Sayısı	Tiner	C Vitamini	Melatonin	Etanol + Serum Fizyolojik	Distile Su
Grup 1 Kontrol	10	-	-	-	-	-
Grup 2 Tiner inhale	10	+	-	-	-	-
Grup 3 Tiner + C vitamini	10	+	+	-	-	-
Grup 4 Tiner+Melatonin	10	+	-	+	-	-
Grup 5 Tiner+C vitamini+Melatonin	10	+	+	+	-	-
Grup 6 Etanol+Serum Fizyolojik	10	-	-	-	+	-
Grup 7 C vitamini	10	-	+	-	-	-
Grup 8 Melatonin	10	-	-	+	-	-
Grup 9 Distile Su	10	-	-	-	-	+

RAT GRUPLARI

Grup 1 (Kontrol): Bu grupta herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi.

Grup 3: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi ve intraperitoneal olarak C vitamini uygulandı.

Grup 4: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi ve melatonin intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 5: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi, intraperitoneal olarak melatonin ve C vitamini uygulandı.

Grup 6: 6 hafta boyunca intraperitoneal olarak etanol + serum fizyolojik verildi.

Grup 7: 6 hafta boyunca C vitamini intraperitoneal olarak verildi.

Grup 8: 6 hafta boyunca melatonin intraperitoneal olarak verildi.

Grup 9: 6 hafta boyunca distile su intraperitoneal olarak verildi.

Çalışma boyunca ratlara, beslenmeleri için standart ticari sıçan yemi, içme suyu olarak ise çeşme suyu verildi. Denek hayvanlarının beslenme ve su tüketimlerinde herhangi bir sınırlandırma yapılmayıp, ratların istedikleri kadar ticari yem ve çeşme suyu tüketmelerine izin verildi. Ultrastrüktürel, biyokimyasal ve histolojik analizler için sağ ve sol bulbus olfactorius dokusu kullanıldı.

3.3. Melatonin Uygulaması

Tiner inhalasyonu sonrası melatonin 10 mg/kg dozda, 6 hafta boyunca (cumartesi ve pazar dahil) saat 18:00-19:00 saatleri arasında günde bir kez intraperitoneal olarak enjekte edildi. Melatonin (Sigma; M5250) etanol ve serum fizyolojik içinde çözülerek hazırlandı. Ölçülecek parametrelerde melatonini çözdüğümüz etanole ve serum

fizyolojik'e bağımlı olabilecek olası değişimleri bertaraf etmek için, Grup 6'ya her iki madde aynı hacimde olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi.

3.4. C vitamini Uygulaması

Tiner inhalasyonu sonrası C vitamini 6 hafta boyunca (cumartesi ve pazar dahil) saat 18:00-19:00 saatleri arasında günde bir kez C vitamini intraperitoneal olarak enjekte edildi. C vitamini (Sigma; M5250) distile suda çözülerek hazırlandı. Ölçülecek parametrelerde C vitaminini çözdüğümüz distile suya bağımlı olabilecek olası değişimleri bertaraf etmek için, Grup 9'a bu madde aynı hacimde olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi.

3.5. Deney Düzenegi

3.5.1. Tiner İnhalasyonunun Uygulanması

Araştırma Ventilasyonu, özel cam kafeslerde (100x65x72) (Şekil 3.1) , sabit sıcaklık (20-22°C) ve sabit basınçta (deniz seviyesi 760 mmHg) uygulandı. Tiner, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'e ait sıçanlara 6 hafta süre ile günde 2 kez, birer saat uygulandı. Uygulamada tiner, hava ventilasyonlu cam kafeslerde, basınçla püskürtücü pompa düzenegi ile kafes içine pulvarize edildi. Çalışmada sanayide en çok kullanılan selülozik tiner kullanıldı. Kafes içine sabit basınçta pompa ile püskürtülen tinerin bileşimindeki solventlerin solunan havadaki konsantrasyonlarını Ulakoğlu EZ ve ark. 1998 yılında yapmış oldukları çalışmaya göre belirlendi. Drager gaz detektörü (Dragerwerk, Almanya) ile günde iki kez ayrı ayrı ölçtük. Toluene 100/a, Acetone 100/b, Acetaldehyde 100/a ve Alcohol 25/a Drager gaz detektör tüpleri kullanıldı. Solventlerin kafes içindeki konsantrasyonları toluen 1800 ppm, aseton 500 ppm, isobutil asetat 7000 ppm ve isobutanol 6000 ppm olacak şekilde standardize edildi. İşlem sonunda kap içindeki havayı açık alanda atmosfere karıştırıldı. Tinerin yanıcı ve patlayıcı etkisinden dolayı, deney alanına ateşle yaklaşılmadı, deney alanı yakınında elektrik ile çalışan herhangi bir alet bulundurulmadı ve deney süresince tiner veren araştırmacılarda özel giysi, gözlük, eldiven ve maske kullanarak önlem alındı.



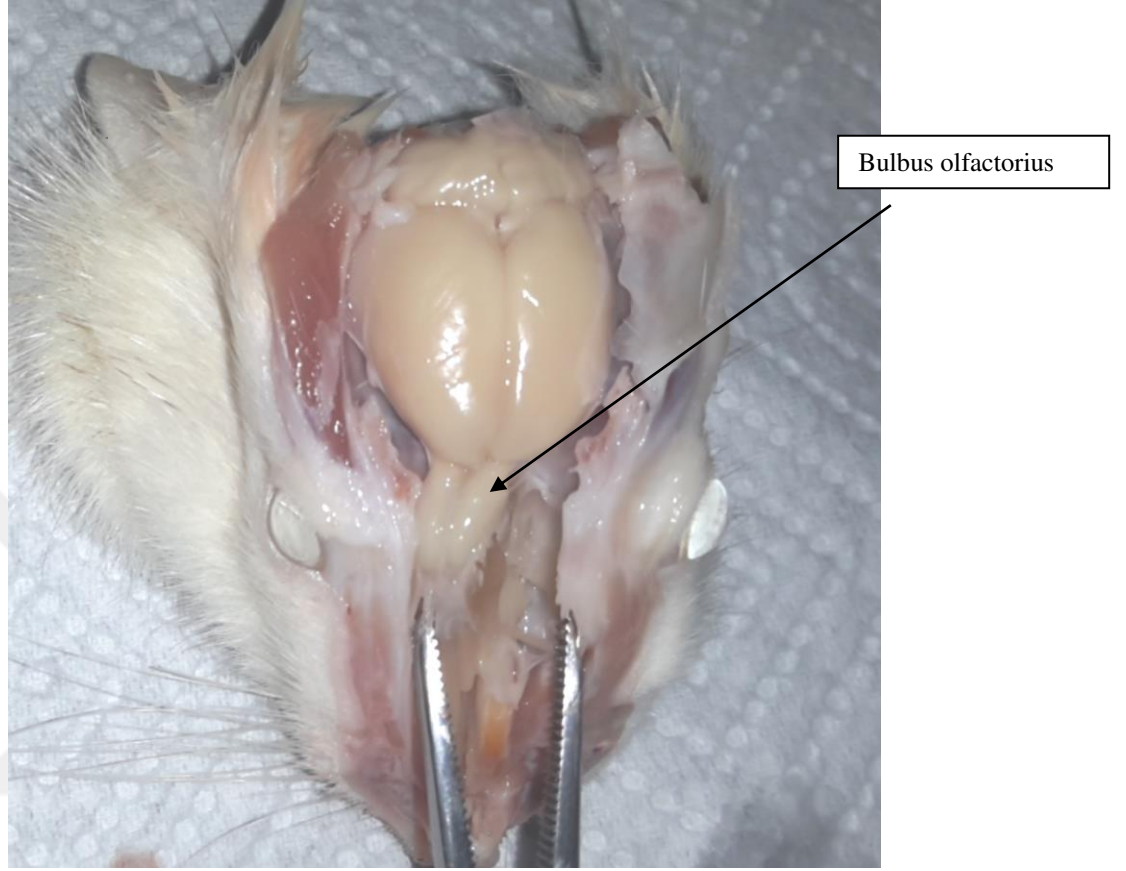
Şekil 3.1. Araştırma ventilasyonu özel cam kafes

Deneklerin Sakrifikasyonu

Deneklerin 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal enjeksiyonu ile yeterli anestezisi sağlandıktan sonra göğüs bölgesi açılarak kalbe ulaşıldı. Transkardiyal perfüzyon işlemi için, kalbin sol ventrikülüne bir kanül yardımıyla girilip sağ atrium'a bir delik açıldı. Transkardiyal perfüzyon için 250 ml heparinize serum fizyolojik ile vasküler yatak yıkanarak temizlendikten sonra aynı yolla tespit solüsyonu verildi. Fiksasyon basamağında her bir hayvan için 250 ml serum fizyolojik kullanıldı.

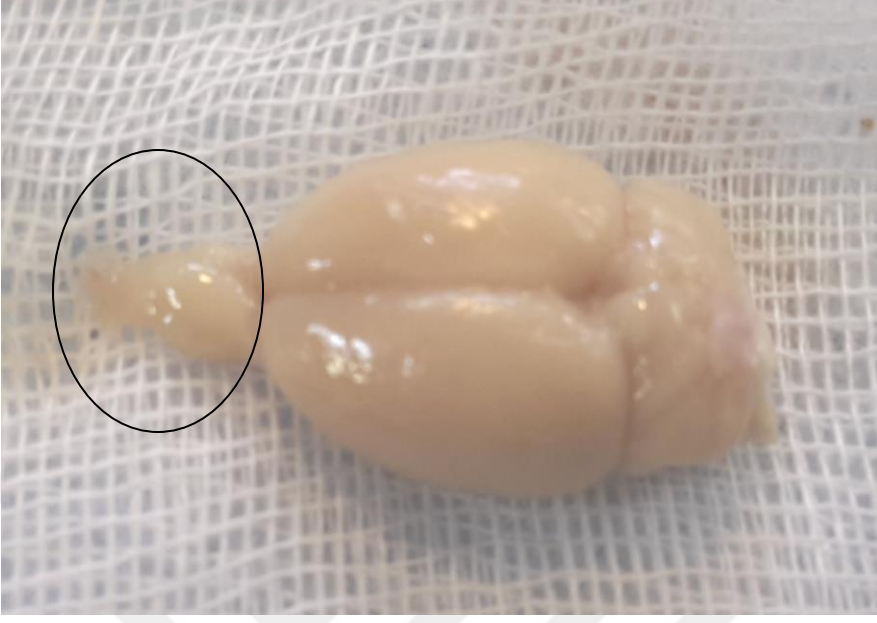
3.6. *Bulbus olfactorius* Dokusunun Disseksiyonu

Tiner inhilasyonunun bittiği 6. hafta sonunda deneklerin anestezisi 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

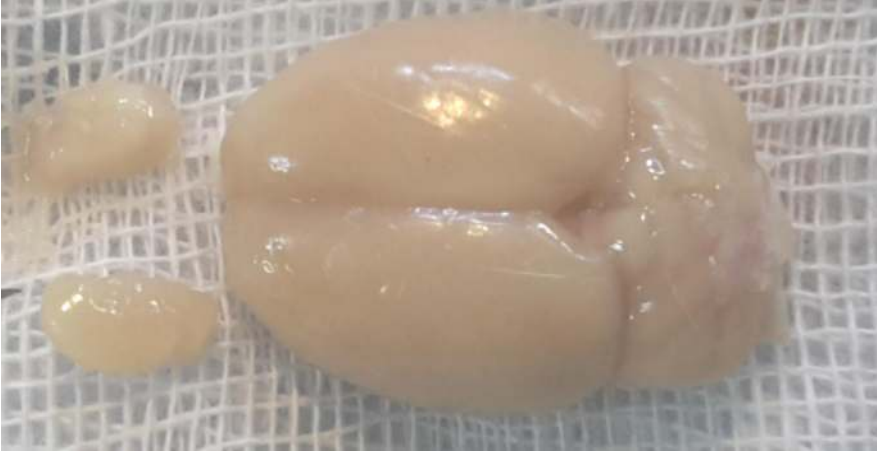


Şekil 3.2. Deneklerin kafası gövdesinden ayrıldı

Foramen occipitale magnum'dan başlayarak bulbus olfactorius dokusunun olduğu yere kadar kafa kemikleri kırıldı ve bulbus olfactorius dokusuna ulaşıldı. Bu işlem sonrasında bulbus olfactorius'ları ayırdık ve % 10 formalin, % 4 gluteraldehit ve PBS fiksatiflerin içine koyuldu. (şekil 3.2,3,4).



Şekil 3.3. .Bulbus olfactorius



Şekil 3.4. Ayrılmış Bulbus olfactorius'lar

Cerrahi işlem sırasında beynin kurumasını engellemek amacıyla dokuyu, serum fizyolojik ile birkaç kez ıslatıldı. Sağ ve sol her iki bulbus olfactorius, ışık mikroskopi, elektron mikroskopi ve biyokimyasal analizler için kullanıldı. Dokular, Elektron mikroskopisi için %4 gluteraldehit, ışık mikroskopi için %10'luk formaldehit, biyokimyasal analizler için ise PBS çözeltisine koyuldu.

3.7. Işık Mikroskopi İncelemesi

Işık mikroskobunda inceleme yapmak için alınan bulbus olfactorius doku örnekleri bir gün boyunca %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Fiksasyondan sonra formalin döküldü ve akan suyun altında 2 saat bırakılarak dokuların fiksatiften arındırılması sağlandı. Dokunun suyu, saflığı derece derece arttırılan etil alkol serilerinden geçirilerek alındı. Doku %100'lük alkolde 3 saat kaldıktan sonra alkol döküldü ve sonra ksilol 1, 2, 3 ve alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra etüvdeki beherlere alınarak üzerlerine parafin 1 döküldü. Bir saatin sonunda parafin 1 atığa dökülerek parafin 2 eklendi ve 1 saat etüvde bekletildi. Bir saatin sonunda parafin 2 döküldü ve parafin 3 de bir saat beklemeye bırakıldı. Bir saat sonra dokular gömülecek kaplara alındı ve üzerlerine kabı tamamen dolduracak kadar parafin 3 eklendi. Parafine gömülen dokular tahta kalıplarla bloklandı. Elde edilen bloklardan mikrotom ile alınmış olduğumuz 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-eosin ve Gallocyanin boyaları ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi ve fotoğraflandı.

Gallocyanin Boyası Protokolü

Fiksasyon: %10'luk formalin

Kesit: 5 µm

Gallocyanin Çözeltisi:

Gallocyanin 0.15 g

Chromium Potassium Sulfate 5 g

Distile Su 100 cc

Chromium Potassium sülfat sıcak suda eritildikten sonra üzerine Gallocyanin ilave edildi ve dikkatli bir şekilde 10 dakika ısıtıcıda kaynatıldı. Daha sonra çözelti soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonar, süzgeç kağıdı yardımı ile süzüldü.

Teknik

1. Suya indirme
2. Kesitler Gallocyanin çözeltisinde 3 saat 56 derecede eritildi
3. Distile suda yıkandı
4. Alkol serilerinden geçirildi
5. Ksilende 1 gece bekletildi

6. Entellan ile kapatıldı

3.8. Elektron Mikroskopi İncelemesi (TEM)

Deneklerin bulbus olfactorius dokusuna zarar vermeden disseke edilerek hazırlanmış %4'lük Gluteraldehit (0.1 M SFT tamponunda hazırlanmış) solüsyonunda +4 °C'da 2 saat (bulbus olfactorius alındıktan sonra 1 saat gluteraldehitte bekletildi daha sonra trimleme yapıp aynı gluteraldehit şişesinde 1 saat daha bekletildi) süreyle fikse edildi. 3x10 dakikalık süreyle oda sıcaklığında 0.1 M SFT (Sörensen fosfat tamponu) 'den geçirildi. Her 10 dakikada bir rotatordan geçirildi. SFT solüsyonu ile yıkama işlemi yapıldı.

Aynı tamponda yıkanan örnekler %1'lik Osmium tetraoksit (OsO₄) solüsyonunda 2 saat süre ile rotatora bırakıldı ve postfiksasyonu sağlandı. 2 saat sonunda SFT solüsyonu ile tekrar 3x10 dakikalık süreyle oda sıcaklığında her 10 dakikada bir rotatordan geçirilerek yıkama işlemi yapıldı. Numuneler %30'dan başlayan ve daha sonra artan alkol serilerinden geçirildi. %30, %50, %70 etil alkol serilerine +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile bırakıldı. Dehidratasyonları sağlanıp %70'lik seri bittikten sonra 1 saat süre ile uranil asetat'a (ön boyama amacıyla) bırakıldı. 1 saat sonunda örnekler tekrar %80, %90, %96 ve %100'lük artan alkol serilerine +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile bırakıldı. Son dehidratasyonları sağlandıktan +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile sonra propilen oksitten geçirildi. Bu esnada karışım hazırlandı. Karışım 1:1 oranında, 1. Araldite ve 1 propilen oksit şeklinde hazırlanmış olup 1. Araldite ise 50 ml araldite ana karışımı ile hızlandırıcı olarak 1 ml BDMA karıştırılarak hazırlandı.

Örnekler 20 dakika karışımında (ara çözeltide) bekletildikten sonra 2-4 saat süre ile rotatora bırakıldı. Süre tamamlandıktan sonra 1. Araldite alındı ve bu aşamada şişeler değiştirildi. Araldite içerisine bulbus olfactorius dokuları konurken önce fikse aralditin gitmesi için tahta bir çubuk yardımıyla filtre kağıdına konulup sonra araldite içerisine alındı ve yeni şişelerin üzerine etiket yapıştırıldı. Yeni kapakları takıldıktan sonra

25 °C'da 1 gün beklemesi için rotatora bırakıldı. Bir sonraki gün Araldite CY212 içine gömülerek bloklama yapıldı. 60 °C'a ayarlı etüvde polimerizasyon için 2 gün süre ile bırakıldı. Elde edilen bloklardan ultramikrotomla alınan 300 nm lik yarı-ince kesitler

toluidine mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta; ince kesitler almak için daha spesifik trimleme yapıldı ve ultramikrotomda 70 nm'lik ince kesitler alındı. Kontrastlama işlemine uranil asetatla başlandı ve kesitler uranil asetatta 5 dakika bekletildi. Önce distile su ile yıkandı, ardından kurşun sitrata alındı. Kurşun sitrat damlaları üzerinde 5 dakika bekletilen kesitler tekrar distile su ile yıkandı. Suyu alınmış kesitler gri renkli kartondan saklama kutusuna alındı ve elektron mikroskobik analiz için uygun hale getirildi. Elde edilen kesitler LEO 906 EM (geçirili electron mikroskop) ile incelenip fotoğraflandırıldı.

Kullanılan Solüsyonlar

1. 0.2 M Sorensen Fosfat Tamponu (SFT)

13.6 gr Kalium Dihidrojen Fosfat, 500 ml bidistile su içerisinde çözüldü (A solüsyonu).

14.2 gr Disodyum Hidrojen Fosfat, 500 ml bidistile su içerisinde çözüldü (B solüsyonu).

Ardından 1 L'lik balon jojede A ve B solüsyonları karıştırıldı, ph 7,3 olacak şekilde ayarlandı.

0.1 M Sörensens Fosfat Tamponu (SFT); 0.2 M SFT stok solüsyonu 1:1 oranında bidistile su ile dilüe edilerek hazırlandı.

2. %4'lük Gluteraldehit

%25'lik stok gluteraldehit'ten 16 ml alınıp, 84 ml 0.1 M SFT eklenerek hazırlanmıştır.

3. Osmium Tetraoksit (OsO₄) (10x100 mg; TAAB)

4. Uranil Asetat

1 gr uranil asetat, 100 ml % 75'lik etil alkol içerisinde çözülerek hazırlandı.

5. Propilen Oksit (TAAB)

6. Araldite Ana Karışımı

91 ml Araldit CY212 (TAAB)

84 ml DDSA (Dodecenylsuccinic Anhydride; TAAB)

3.9. Biyokimyasal Analiz

Lipid Peroksidaz Seviyelerinin Ölçümü

Bütün deney gruplarından 6 haftalık deney bitiminde bulbus olfactorius dokusu biyokimyasal analiz elde edilmek üzere alınmıştır.. Araştırmamızda lipid peroksidaz seviyesini değerlendirmek için, tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) oluşumuna bakıldı. Çalışmamızda OxiSelect™ TBARS Assay Kit (STA-330) kullanıldı. Tiyobarbitürik asit lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) ile etkileşime girmektedir.

Prensip

Bu metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın, 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi ve oluşan bileşiğin butanol fazına ekstrakte edilerek ölçülmesi esasına dayanır. Tiyobarbitürik asit reaktif substrat (TBARS), MDA'nın biyolojik örneklerde ölçülmesi için bir araçtır. Standartlar ve MDA içeriği bilinmeyen örnekler TBA ile +95 °C'de inkübe edilir ve inkübasyondan sonra 532 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılır. MDA standart eğrisi kullanılarak MDA miktarı hesaplandı.

Kit Bileşenleri

1. MDA Standart
2. Thiobarbituric Acid (TBA)
3. SDS Lysis Solüsyonu
4. Sodyum Hidroksit Solüsyonu
5. 2x TBA Asit Diluenti
6. 100x BHT (Butylated hidroksitoluen)

İşlemler

Bulbus olfactorius dokusu homojenitör ile homojenize edildi. Doku PBS ile yıkandı (PBS + Heparin). 1x BHT içeren PBS'de 50-100 mg civarı doku süspanse edildi. 10.000xG'de 5 dakika +4 °C'da santrifüf yapıldı ve süpernatanı alındı. Protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırıldı.

TBARS Düzeylerinin Hesaplanması

Standardı numune gibi çalışmış ve standart grafiği oluşturuldu. Doku ve plazma TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra nmol/g protein olarak rapor edildi.

Antioksidanların Tayini

Bütün deney gruplarından 6 haftalık deney bitiminde bulbus olfactorius dokusu analiz elde edilmek üzere alındı. Sağ ve sol iki adet bulbus olfactorius bulunduğu için sağ ve sol bulbus olfactorius median hatta öneden arkaya iki eşit parçaya ayrılarak incelemeye alındı. Bu numunelerde aşağıda belirtilen şekilde antioksidan enzimlerin ölçümü yapıldı. Bulbus olfactorius dokusunda antioksidanların ölçümü öncesinde numuneler homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 10000xG'de 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlarda antioksidan enzimler analiz edildi.

Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Tetramerik bir enzimdir. Sitozolda bulunur, yapısında dört selenyum (Se) atomu yer alır. Hidrojen peroksit ile hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. Zar fosfolipitlerinden, fosfolipaz A2 tarafından salınan lipid hidroperoksitlere etki eder. Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikimine ve hücre hasarına yol açar. GSH-Px, lipid peroksidasyonunun başlamasını önler. Bir ünite GPx aktivitesi, 1 dakikada kullanılan μmol NADPH olarak hesap edilir. GPx aktivitesi glutasyon redüktaz ile bir çift reaksiyon tarafından indirek olarak ölçülür. Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksitin indirgenmesi ile oluşturulan okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz ve NADPH tarafından tekrar indirgenmiş formuna dönüştürülür. NADPH' ın reaksiyon ortamından kaybı 340 nm'de absorbans azalmasına neden olur ve bu azalma miktarından GPx enzim aktivitesi tayin edilir. Dokular alındıktan sonra PBS (pH:7,4) ile yıkandı. Bulbus olfactorius dokusu 50mM Tris-HCl pH: 7.5, 5 mM EDT ve 1 μM DTT ile homojenize edildi. Gram doku başına 5-10 ml tampon olacak şekilde hazırlandı. 10.000xG'de 15 dakika ve +4 °C 'da santrifüj edildi. Süpernatanı deney için ayrıldı. 100 μl Assay buffer, 50 μl Co-Subsrat Karışımı ve 20 μl örnek eklendi ve daha sonra 20 μl Cumene Hydropexide eklendi. Reaksiyon başladıktan sonra 340 nm'de 1'er dakika arayla 5 dakika ölçüm yapıldı. Deneyimizde Glutathione Peroxidase Assay Kit (Cayman 703102) kullanıldı.

Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivite Tayini

Deneklerden alınan bulbus olfactorius dokuları PBS (pH: 7.4) ile yıkandı. 20 mM Hepes tamponundan (pH:7.2) 5-10 ml ile homojenize edildi. 1500xG'de 5 dakika boyunca +4 °C 'da santrifüj edildi. Süpernatanı ayrıldı ve protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırıldı. Çalışmamızda Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman 706002) kullanıldı.

Katalaz Enzim Aktivite Tayini

Peroksizomlarda ve sitozolde bulunan ve yapısında hem içeren bir protein olan katalaz, H_2O_2 'in moleküler oksijen ve suya çevrilmesini katalizler. Deney gruplarından bulbus olfactorius dokuları alınarak pH: 7.4 de PBS tamponunda yıkandı. 50 mM Potasyum fosfat pH:7.0 'da 1 mM EDTA içeren tamponda homojenize edildi (5-10 µl tamponunda). 10.000x G'de 15 dakika boyunca + 4 °C 'da santrifüj yapılarak süpernatanı alındı ve deney protokol basamaklarına göre yapıldı. Deneyimizde Catalase Assay Kit (Cayman 707002) kullanıldı. Katalaz enzim aktivitesinin hesaplanması oluşturulacak formaldehid standard eğrisiyle yapılır. Bir ünite katalaz aktivitesi, 1 dakikada oluşan µmol formaldehid olarak hesap edildi.

3.8. İstatiksel Analiz

Tüm gruplarda bulbus olfactorius'un genel görünümünün değerlendirilmesinde Hematoksilen-Eozin, Gallocyanin boyamasındaki kesitler kullanıldı. Her 9 grup için rastgele beşer hayvan kesiti seçildi. Her bir kesitte bulbus olfactorius tabakasının katmanları kalitatif olarak gözlemlendi. Morfolojik analizde ışık mikroskopik olarak Hematoksilen-Eozin kesitleri x 20 objektif ile görüntülenirken, Gallocyanin slaytları x 40 objektif ile görüntülendi; her katmanın kalınlığında azalma olup olmadığı değerlendirildi. Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'teki hayvanların bulbus olfactorius dokusunun katmanlarındaki hücreler ultrastrüktürel şekilde analiz edilerek gözlemlendi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama (mean), standart sapma (SD), medyan (ortanca), minimum (min) ve maksimum (max) değerleri ile sunuldu. Biyokimyasal analizde, normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş ve veriler normal dağılım varsayımını sağlamadığı için iki grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın

analizinde Mann-Whitney U testi, ikiden fazla sayıda grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmış ve anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonferroni-Dunn testi uygulandı. Her grup için zamana göre ağırlık değişimlerinin analizinde Wilcoxon testi kullanıldı. Analizler SPSS 20.0 paket programı ile yapılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p < 0,05$).



BULGULAR

4.1. Kişisel Gözlemler

Tiner inhalasyonuna maruz kalan sıçanların klinik olarak ilk ortaya çıkan bulguları, deneklerin birbiri üzerine yatarak yüzlerini saklamaya çalışmaları ve araştırma için yapılan özel cam kafesin (100x65x72) köşelerine kaçma eğilimi olarak gözlemlendi. Tiner verme süresi arttıkça sıçanlarda aşırı yalanma, sık göz kırpma, ağızdan salya akma, kesik nefes alma, kafesin bir başından sonuna kadar hızlı kaçış ve fanusun içi toluenin doygunluk derecesine (1800 ppm) ulaştığında ratların arka bacaklarında tremorlar ve dengede duramama gözlemlendi. Tiner inhalasyonunun sekizinci gününde deneklerde vücut kıllarında sararma meydana geldi (şekil 4.1.a,b). Bu sararmanın tüm deney boyunca devam ettiğini tespit edildi.



Şekil 4.1. Kontrol Grubu



Şekil 4.2. Tiner inhalasyonu alan denek

4.2. Denek Ağırlıkları

Tiner inhalasyonuna maruz kalan deney grubuna ait sıçanlar ile tiner inhalasyonuna maruz kalmamış sıçan grupları arasındaki vücut ağırlığı bulguları karşılaştırıldığında; tiner inhale eden ratların, inhale etmeyen ratlara göre vücut ağırlıklarının anlamlı bir şekilde azaldığını saptadık ($p<0.05$) ve değerler Tablo 4.1 de verildi.

Tablo 4.1. Deney Grubu Hayvanların Ortalama Vücut Ağırlıkları ve İstatistiksel Analizi (gr)

Grup	1. Hafta Ağırlık ortalaması	2. Hafta Ağırlık ortalaması	3. Hafta Ağırlık ortalaması	4. Hafta Ağırlık ortalaması	5. Hafta Ağırlık ortalaması	6. Hafta Ağırlık ortalaması
Grup 1	442	441,23	441,22	441	441	440,38
Grup 2	445	423	386	345	305	258
Grup 3	444	418	396	384	365	342
Grup 4	443	422	416	394	384	368
Grup 5	440	421	415	396	387	372
Grup 6	442	440	438,1	438	435	435
Grup 7	442	442	441	441	440,39	440,28
Grup 8	445	445	445	444,2	443	443
Grup 9	443	443	443	442,78	442,6	442

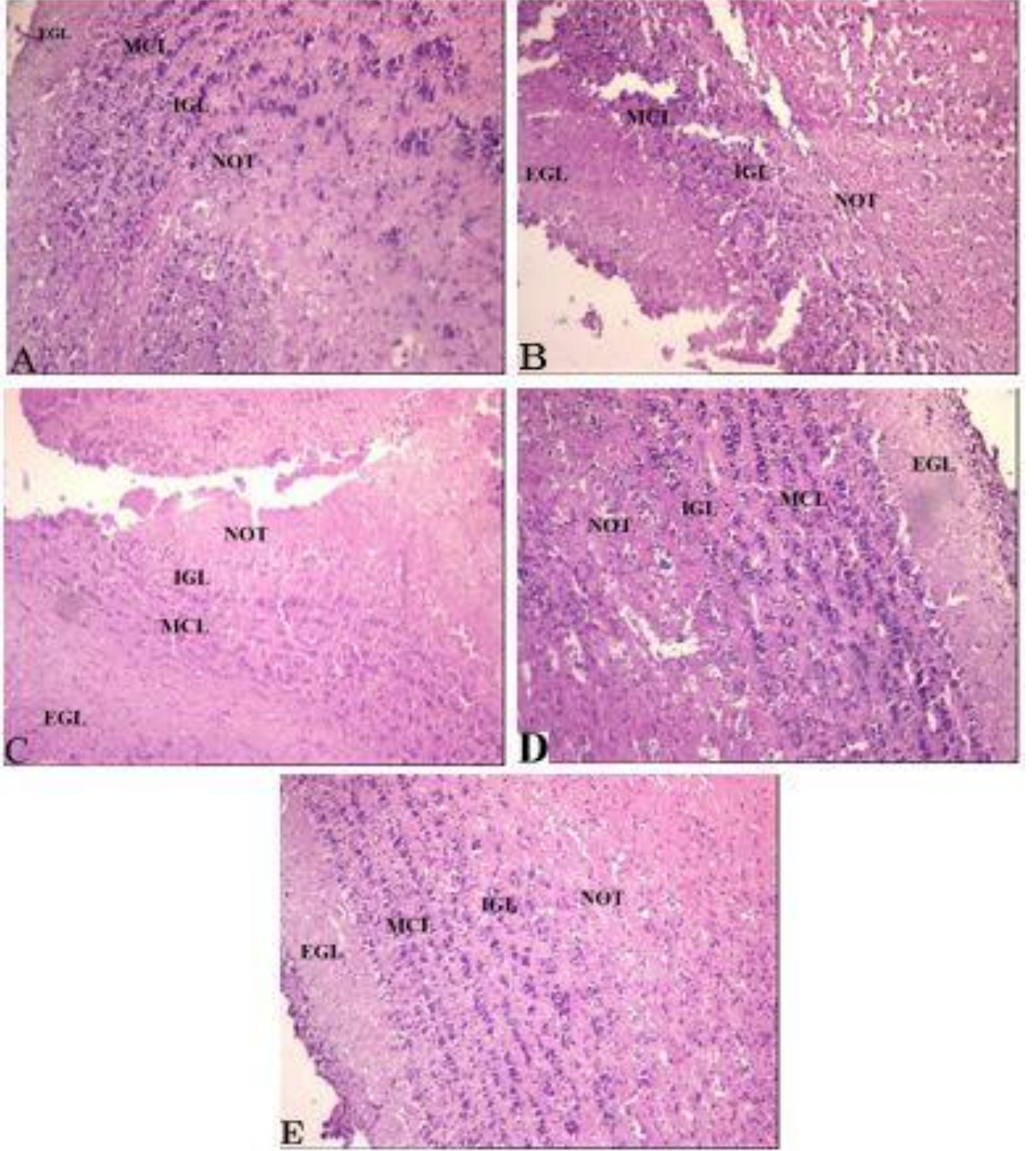
Tiner inhalasyonu yapılan rat gruplarının (Grup 2, 3, 4, 5) deney sonunda vücut ağırlığında istatistiksel olarak bir azalma saptandı ($p<0,05$), Tablo 4.1.

Tiner alan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak en fazla ağırlık kaybının sadece tiner alan grupta (Grup 2), en az ağırlık kaybı olan grubun ise tiner, melatonin ve C vitamini alan grupta (Grup 5) olduğunu saptandı ($p<0,05$), Tablo 4.1.

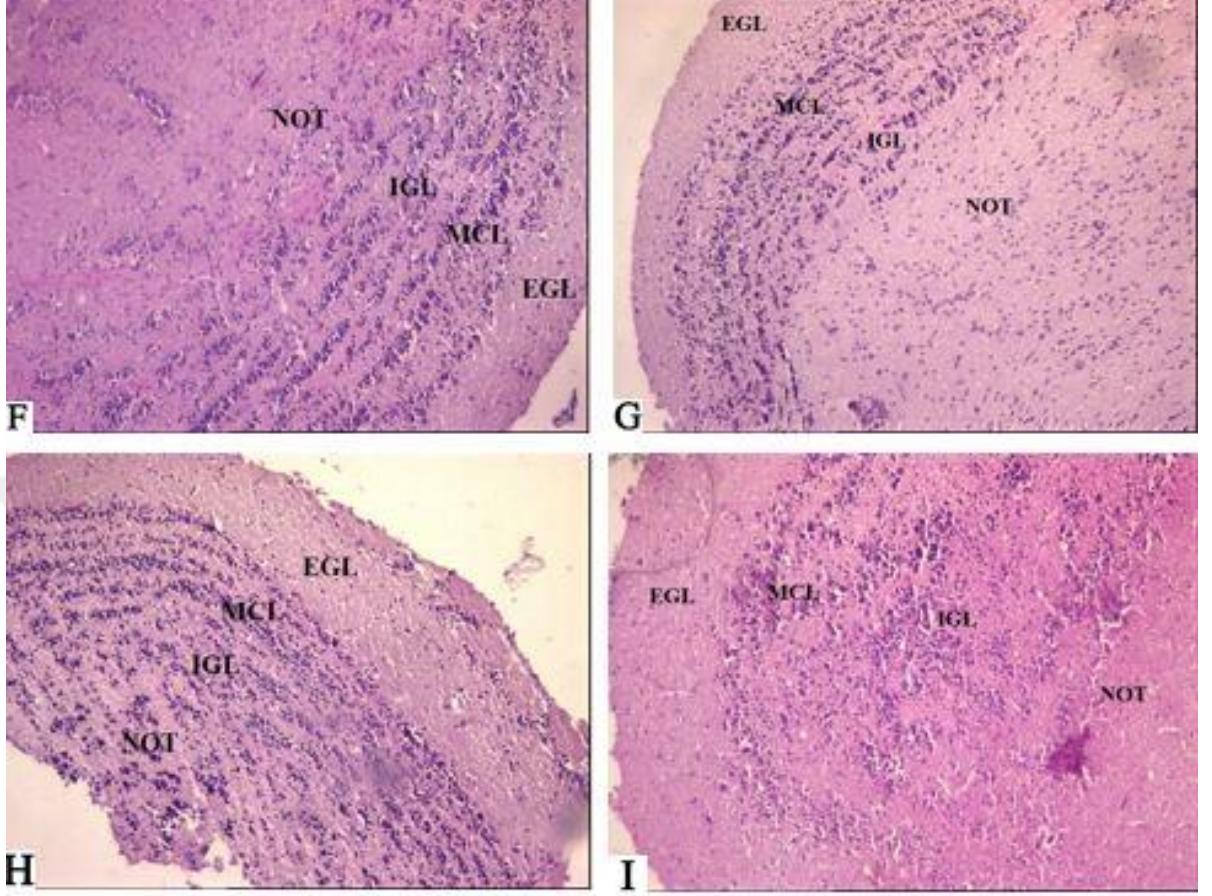
4.3. Işıık Mikroskobisi Gözlemleri

Tiner inhalasyonuna maruz kalmış deney grupları ile ve tiner inhalasyonuna maruz kalmayan deney grubu ratların bulbus olfactorius dokusunun katmanlarının morfolojik açıdan değerlendirilmesi amacıyla Hematoksilen-Eozin (HE) ve Galloccyanin boyaları ile boyandı. Hematoksilen-Eozin boyamasını ratların bulbus olfactorius tabakalarını görmek için yaparken; galloccyanin boyamasını nissl taneciklerini gözlemek için yapıldı.

Hematoksilen-Eozin boyamasında; kontrol grubu ve tiner almayan gruplarda bulbus olfactorius tabakalarının kalınlığının normal olduğunu belirledik (kalitatif olarak değerlendirdik) (şekil 4.3.a). Tiner inhale eden grubun katmanlarında ise azalma meydana geldi. (şekil 4.3.b). Grup 3 (Tiner + C vitamini), Grup 4 (Tiner + Melatonin) ve Grup 5 (Tiner+ Melatonin + C vitamini) karşılaştırıldığında tabakalarda en az incelme sırasıyla Grup 5’de, sonra Grup 4’de daha sonra ise Grup 3’de idi (şekil 4.3.c, d, e).

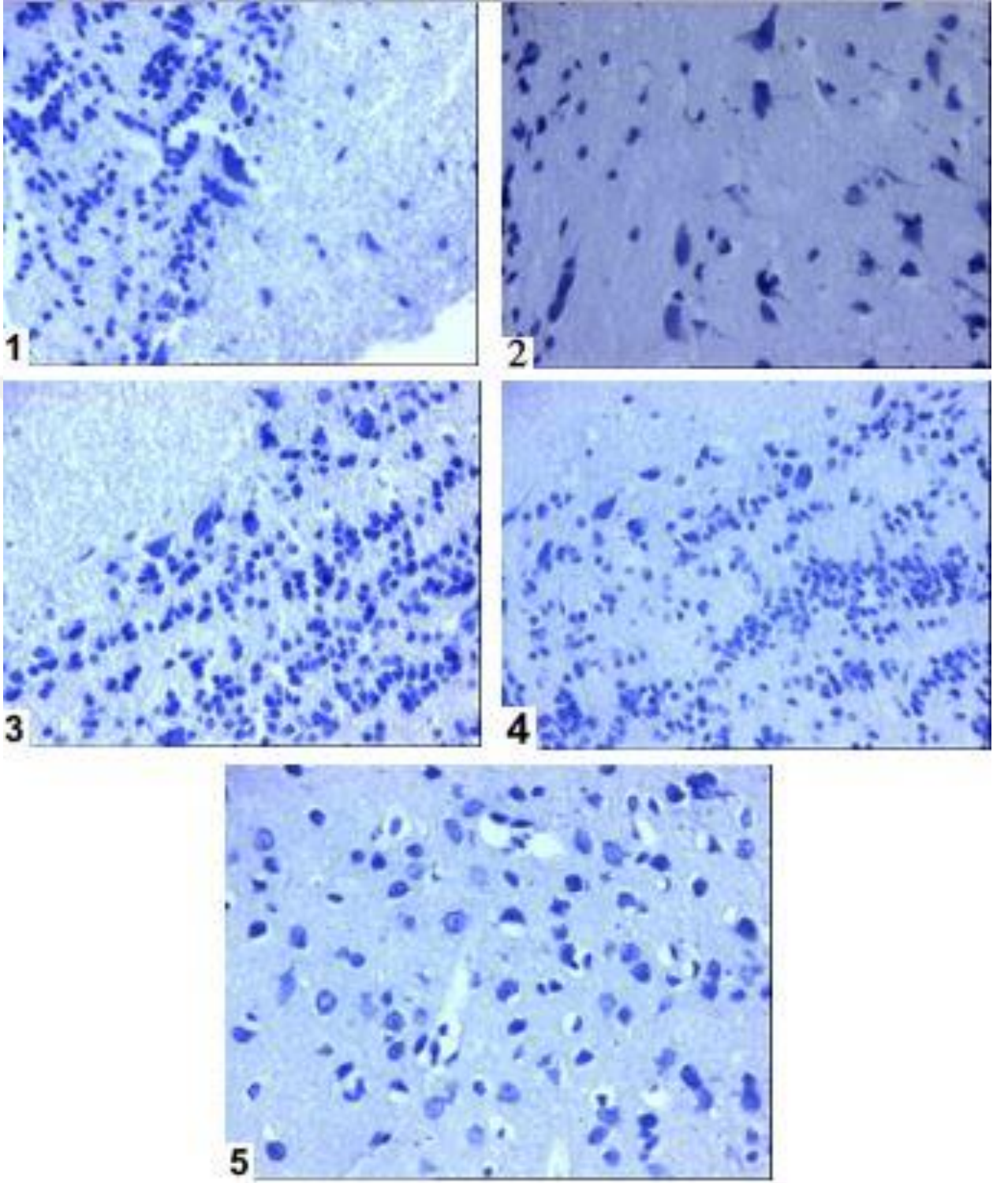


Şekil 4.3. Hematoksilen-Eozin boyaması. **A:** Grup 1, **B:** Grup 2, **C:** Grup 3, **D:** Grup 4, **E:** Grup 5. EGL (eksternal granuler tabaka), MCL (mitral hücre tabakası), IGL (internal hücre tabakası), NOT (tractus olfactorius'un sinir lifleri) 10X20

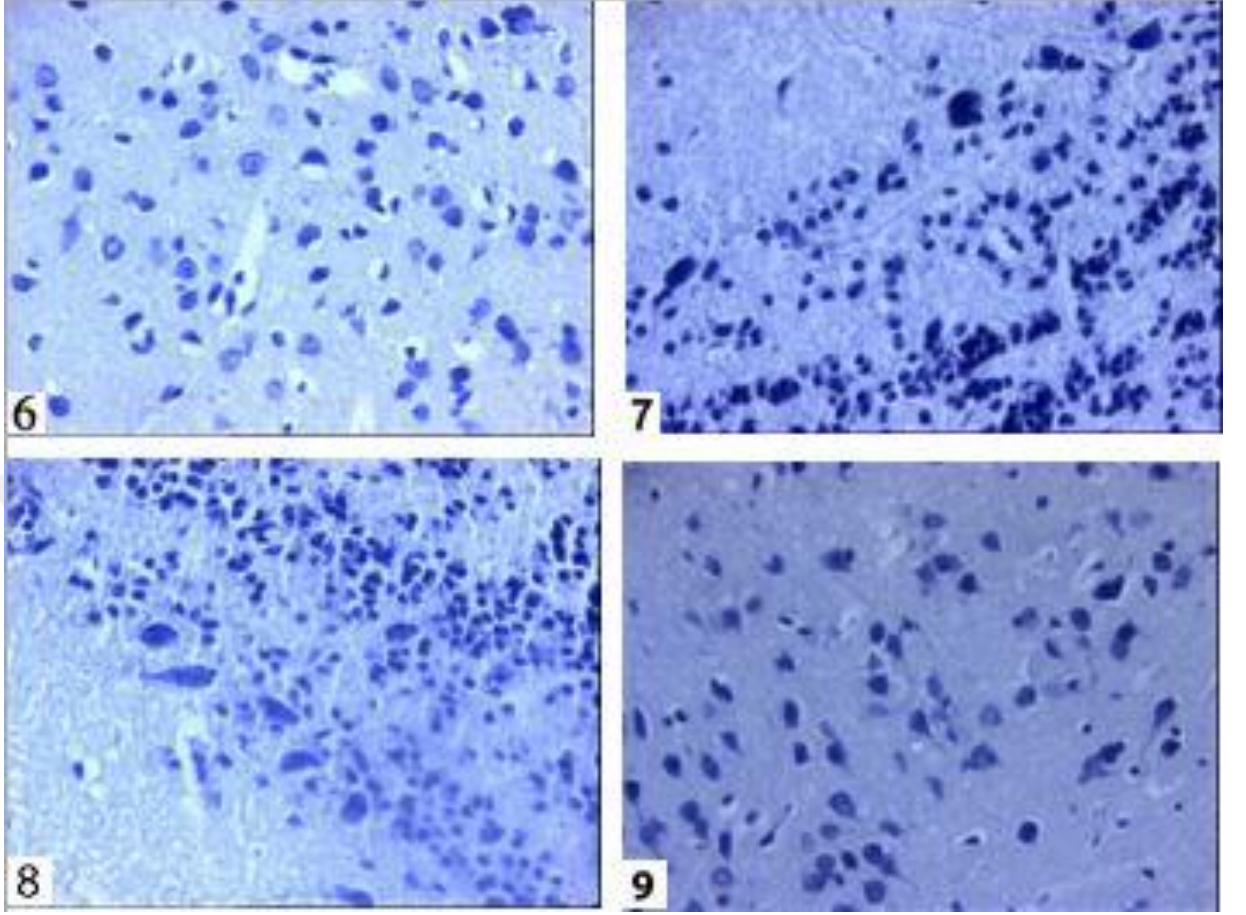


Şekil 4.3. Hematoksilen-Eozin boyaması. **E:** Grup 6, **F:** Grup 7, **G:** Grup 8, **H:** Grup 9. EGL (eksternal granuler tabaka), MCL (mitral hücre tabakası), IGL (internal hücre tabakası), NOT (tractus olfactorius'un sinir lifleri) 10X20

Gallocyanin boyamasında; kontrol grubu ve tiner almayan gruplarda bulbus olfactorius tabakalarının kalınlığının normal olduğu belirlenirken (şekil 4.4.1); tiner inhale eden grubun katmanlarında nissl taneciklerinde bir çözülme, katmanlarında da azalma meydana gelmiştir (şekil 4.4.2). Grup 3 (Tiner + C vitamini), Grup 4 (Tiner + Melatonin) ve Grup 5 (Tiner+ Melatonin + C vitamini) alan gruplar karşılaştırıldığında tabakalarda en az incelme sırasıyla Grup 5'de, sonra Grup 4'de daha sonra ise Grup 3'de idi (şekil 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5).



Şekil 4.4. Gallocyanin boyaması. 1: Grup 1, 2: Grup 2, 3: Grup 3, 4: Grup 4, 5: Grup 5 10X20



Şekil 4.4. Gallocyanin boyaması. **6:** Grup 6, **7:** Grup 7, **8:** Grup 8, **9:** Grup 9 10X20

4.4. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları

4.4.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubunun yarı-ince kesitlerinde mitral hücre tabakasında oval bir nukleus ile granuler kromatin görüldü. Sitoplazma yoğunluğu normal şekilde gözlenirken, bol miktarda mitokondri gözlendi. Endoplazmik retikulum ve ribozomlar normal yapıya sahipti.

4.4.2. Tiner İnhalasyonu Alan Grup

Tiner inhalasyonu alan grubun yarı-ince kesitlerindeki mitral hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken sitoplazma yoğunluğunda azalma gözlendi. Nükleer membranda bozulma, ribozom ve mitokondri sayılarında azalma gözlendi ve ER ise seçilemiyordu. Vakuolizasyona ve dens basılar hücrelere rastlandı.

4.4.3. C Vitamini Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 3)

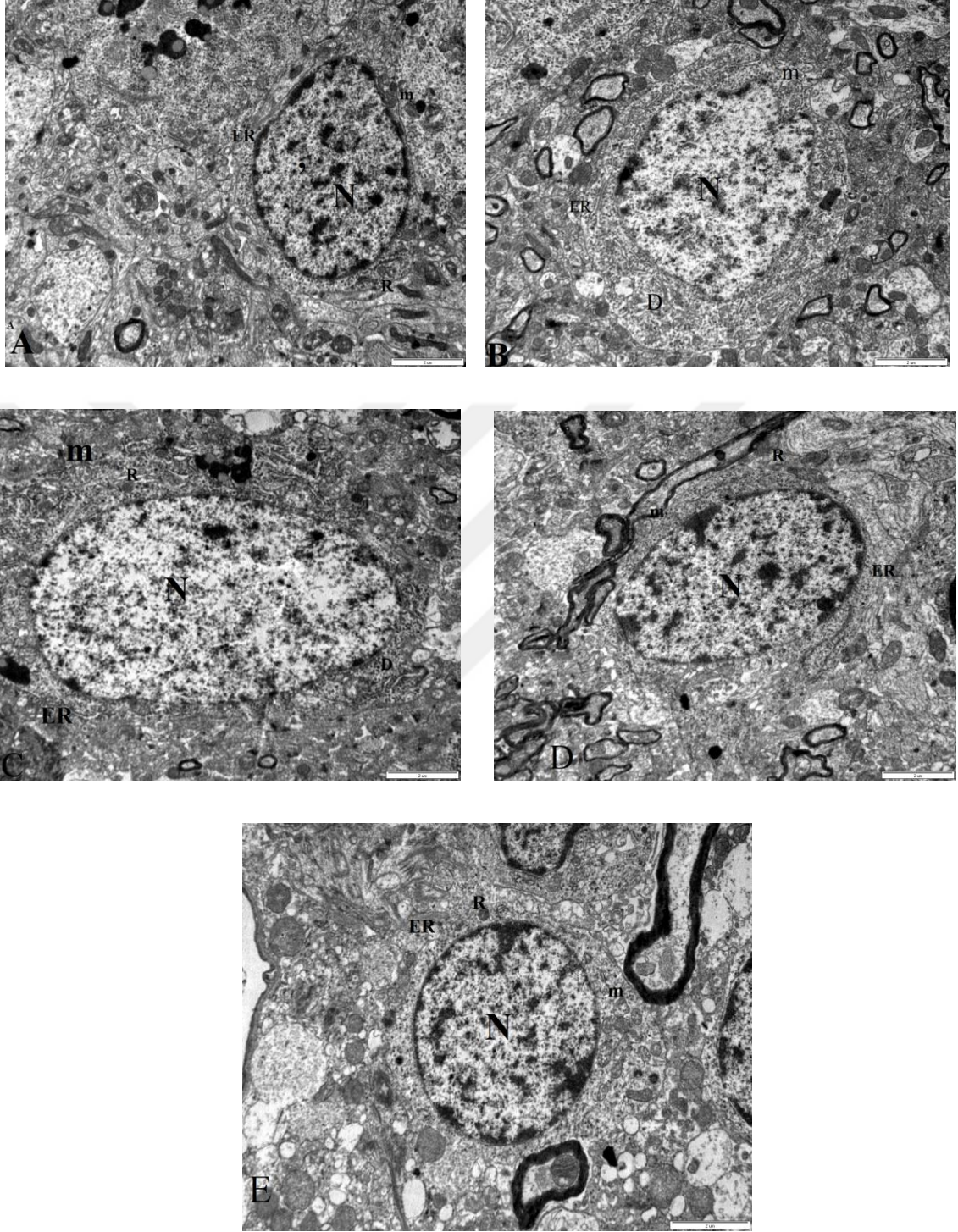
Tiner inhale ettirilen ve c vitamini verilen grubun yarı-ince kesitlerindeki mitral hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken sitoplazma yoğunluğunda azalma gözlemlendi. Vakuolleşme mevcuttu fakat organelleri seçiliyordu. Az miktarda da olsa mitokondri, ribozom ve endoplazmik retikulum gözlemlendi.

4.4.4. Melatonin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 4)

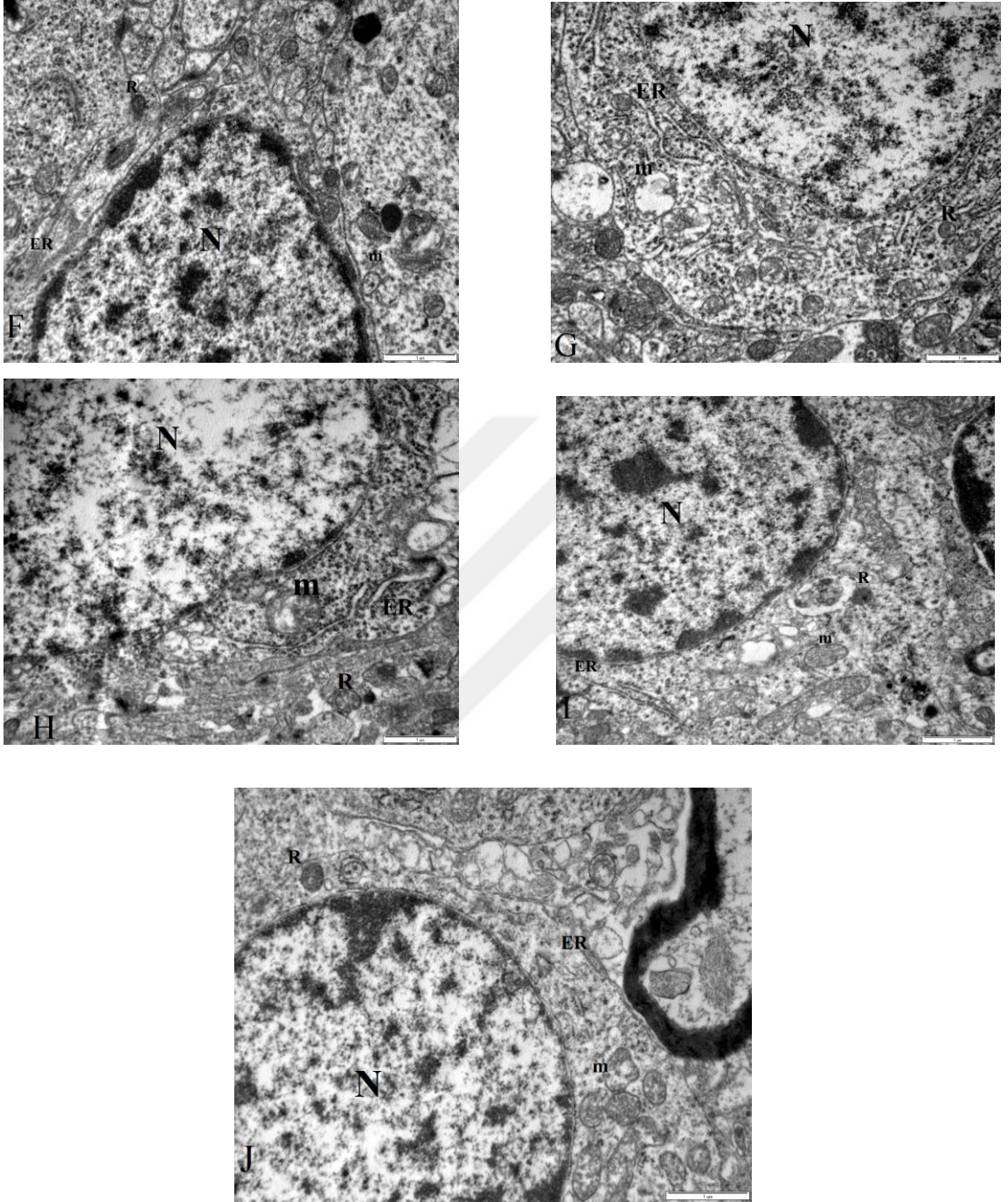
Tiner inhale ettirilen ve melatonin verilen grubun yarı-ince kesitlerinde mitral hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, oval nukleusta biraz kondansasyon görülürken, sitoplazma yoğunluğunda az miktarda azalma gözlemlendi. Nükleer membranda hafif bozulma izlenirken, ribozom, mitokondri sayılarında pek bir azalma gözlenmedi ancak ER sayısında azalma ve yapısında bozulma gözlemlendi. Vakuolizasyona ve dens basılar hücrelere rastlandı.

4.4.5. Melatonin, C Vitamini Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 5)

Tiner inhalasyonu alan ve melatonin ile c vitamini verilen grubun yarı-ince kesitlerindeki mitral hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken, sitoplazma yoğunluğunda bir miktar azalma tespit edildi. Nükleer membranda hafif bozulma, ribozom, mitokondri sayılarında azalma tespit edildi ve ER yapısı kontrol grubuna yakındı.



Şekil 4.5. Elektron mikroskopi bulguları. **A:** Grup 1, **B:** Grup 2, **C:** Grup 3, **D:** Grup 4, **E:** Grup 5
N(Nukleus), m (Mitokondri), ER(Endoplazmik retikulum), R (Ribozom) x 4646



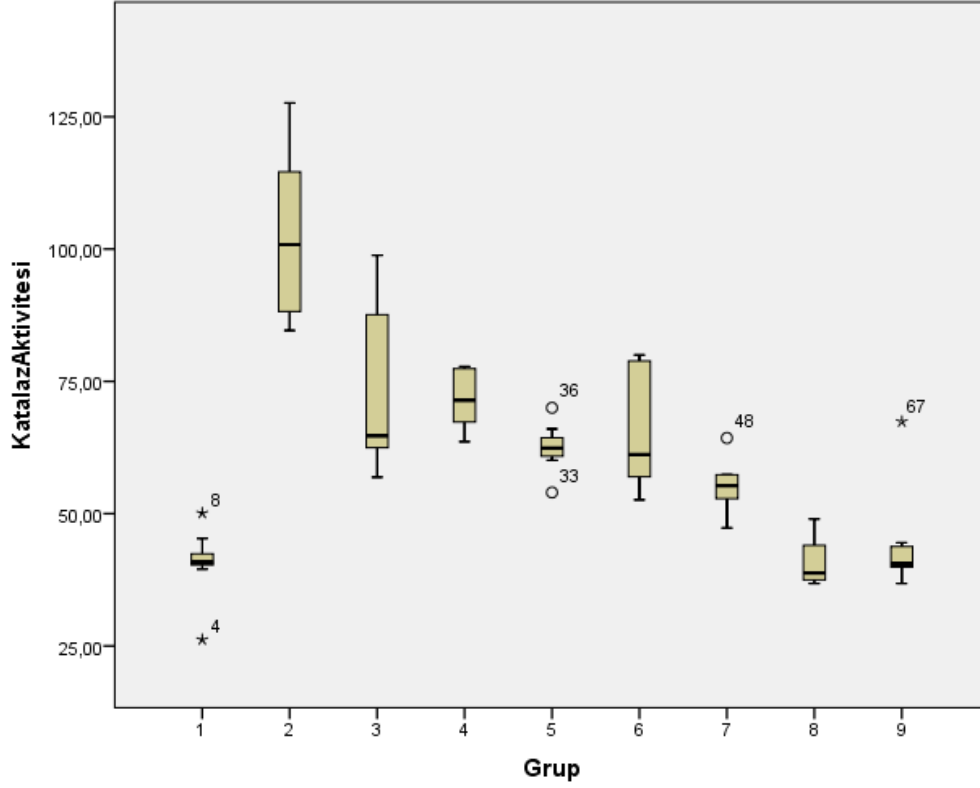
Şekil 4.5. Elektron mikroskopi bulguları. **F:** Grup 1, **G:** Grup 2, **H:** Grup 3, **I:** Grup 4, **J:** Grup 5
N(Nukleus), m (Mitokondri), ER(Endoplazmik retikulum), R (Ribozom) x 10.000

4.5. Biyokimyasal Değerlendirmeler

4.5.1. Katalaz Enzim Aktivitesi

Bulbus olfactorius dokusu katalaz enzim aktivite miktarı

Tablo 4.2. Gruplar arası doku Cat aktivitesi'nin değerlendirilmesi

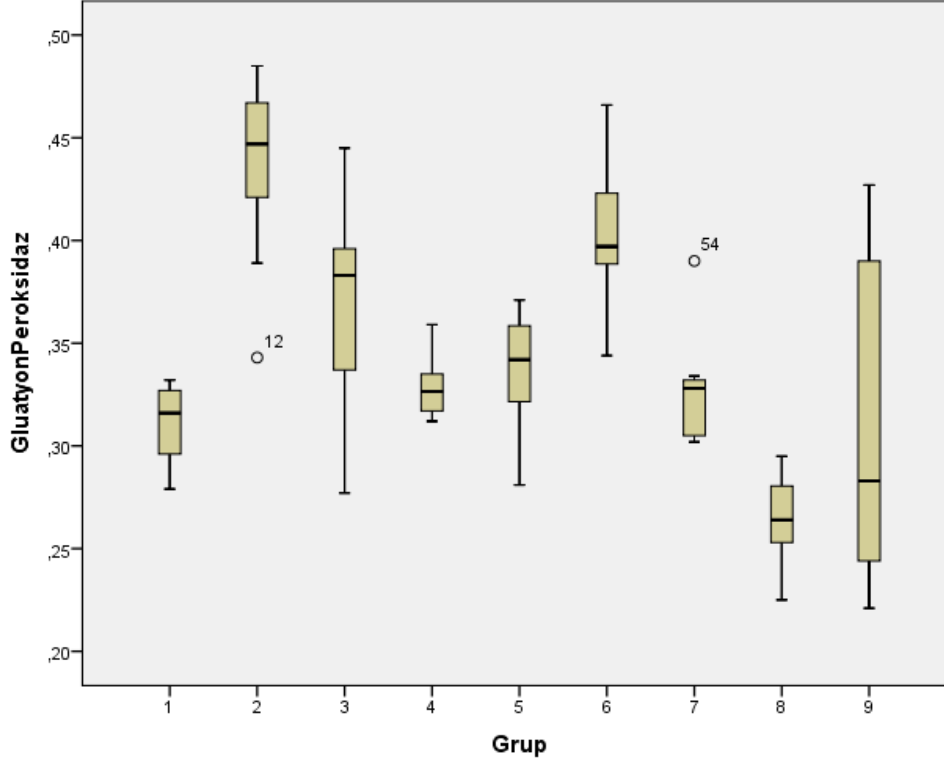


Gruplar arasındaki istatistiksel farklılık non-parametrik test olan Mann-Whitney U analizi ile değerlendirildi. Tiner inhale ettirilen grubun (Grup 2), tiner inhalasyonu ve C vitamini alan gruba göre (Grup 3) katalaz aktivitesi değerleri istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner inhale ettirilen grubun (Grup 2) katalaz aktivitesi, tiner inhalasyonu ve melatonin alan gruba (Grup 4) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner inhale ettirilen grubun (Grup 2) katalaz aktivitesi, tiner inhalasyonu, C vitamini ve melatonin alan gruba (Grup 5) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. tiner inhalasyonu ve melatonin alan grubun (Grup 4) katalaz değerleri tiner inhalasyonu, C vitamini ve melatonin alan gruba göre daha yüksekti.

4.5.2. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Bulbus olfactorius dokusu GPx enzim miktarı

Tablo 4.3. Gruplar arası doku GPx aktivitesi'nin değerlendirilmesi

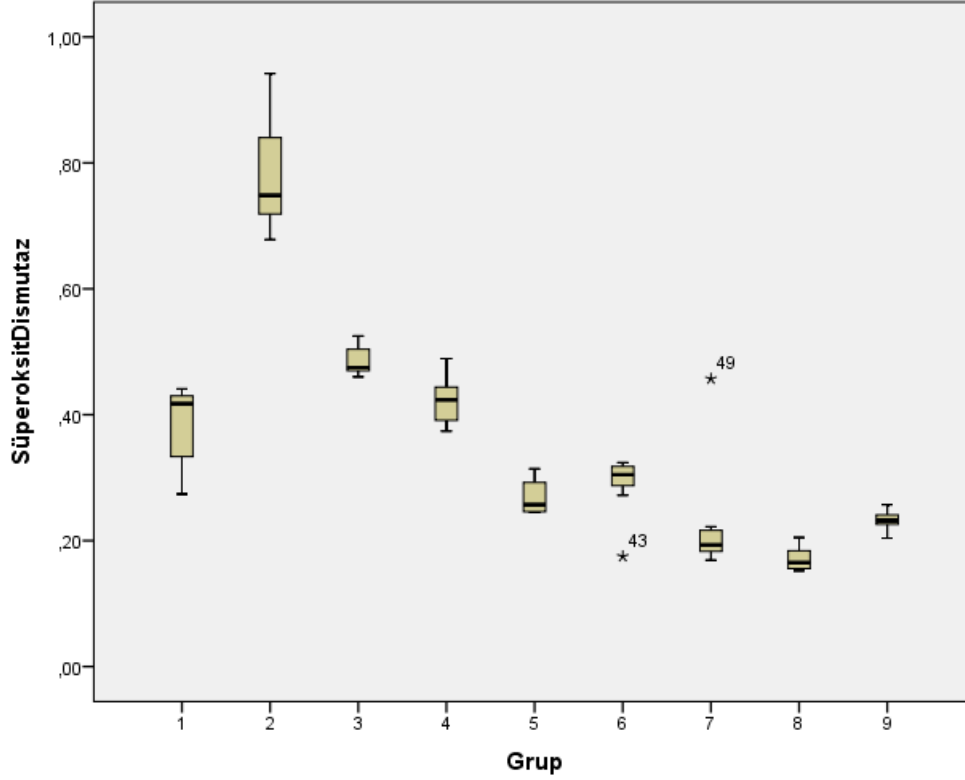


Tiner alan grubun (Grup 2) GPx aktivitesi tiner ve C vitamini alan gruba (Grup 3) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner alan grubun (Grup 2) glutasyon peroksidaz aktivitesi tiner, melatonin ve C vitamini alan gruba göre (Grup 5) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner alan grubun (Grup 2) glutasyon peroksidaz aktivitesi, tiner ve melatonin alan gruba göre (Grup 4) istatistiksel olarak daha yüksekti.

4.5.3. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Bulbus olfactorius dokusu SOD enzim miktarı

Tablo 4.4. Gruplar arası doku SOD aktivitesi'nin değerlendirilmesi

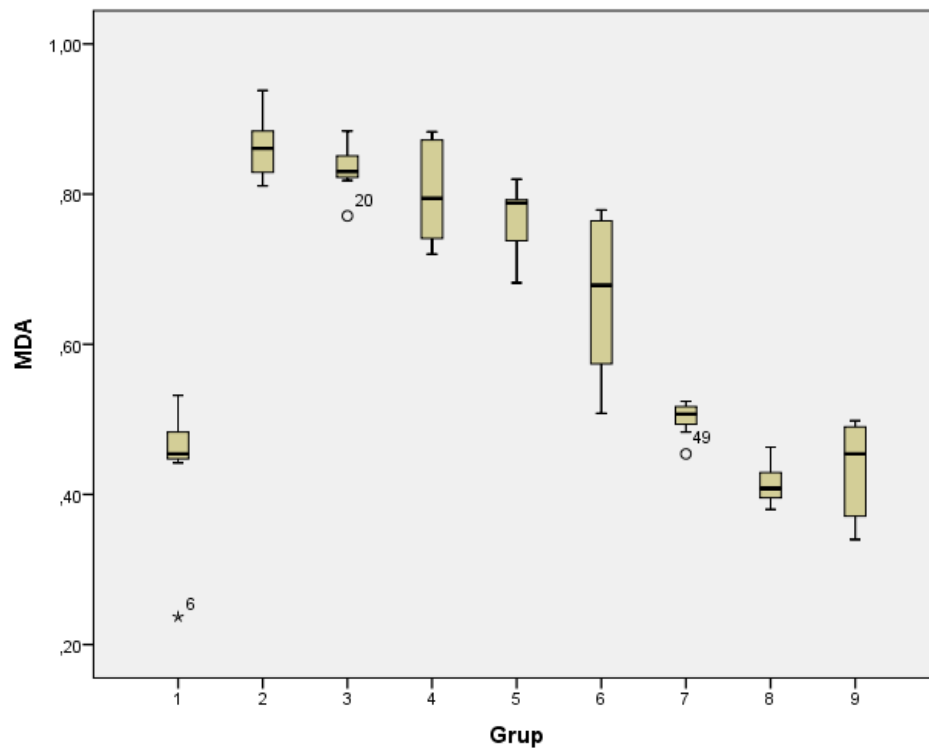


Tiner alan grubun (Grup 2) süperoksit dismutaz aktivitesi değerleri tiner, melatonin ve C vitamini alan gruba (Grup 5) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner ve C vitamini alan grubun (Grup 3) süperoksit dismutaz değerleri tiner ve melatonin alan gruba göre (Grup 4) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner alan grubun (Grup 2) süperoksit dismutaz aktivitesi değerleri tiner ve melatonin alan gruba (Grup 4) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner ve melatonin alan grubun (Grup 4) süperoksit dismutaz değerleri tiner, melatonin ve C vitamini alan gruba (grup 5) göre istatistiksel olarak daha yüksekti.

4.5.4. Lipid Peroksidasyon Seviyeleri

Bulbus olfactorius dokusu TBARS değerlendirilmesi

Tablo 4.5. Gruplar arası doku TBARS düzeyleri değerlendirilmesi



Tiner alan grubun (Grup 2) MDA değerleri tiner, melatonin ve C vitamini alan gruba (Grup 5) göre istatistiksel olarak daha yüksektir. Tiner ve C vitamini alan grubun (Grup 3) MDA değerleri tiner, melatonin ve C vitamin alan gruba (Grup 5) göre daha yüksekti.

TARTIŞMA

Tiner ve yapıştırıcılar farklı oranlarda olmakla birlikte Toluen adı verilen bir kimyasal madde içerir (Feychting M. ve ark. 2000).

Literatürde, değişen konsantrasyonlarda ve değişen periyotlarda tiner inhalasyonu uygulamaları rapor edilmiştir. Fifel ve ark., 2014; 300-350 gr farelere 45 gün boyunca tiner konsantrasyonu (gaz kromatografisi metodu ile) 0, 300, 400 ve 600 ppm olacak şekilde, Martinez-Alfaro ve ark., 2014; 300-350 gr ağırlığındaki ratlara 8 hafta boyunca 4000 ppm toluen konsantrasyonu olacak şekilde ve Apawu ve ark., 2015; 4 hafta boyunca ratlara toluen konsantrasyonu 0, 2000 ve 4000 ppm olacak şekilde inhale ettirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda ağırlığı 400-450 gr olan ratlara 6 hafta süresince, günde 2 kez sabah 09:00 ve akşam 16:00 saatlerinde, haftada 7 gün boyunca; toluen, 1800 ppm, aseton 500 ppm, isobutil asetat 7000 ppm ve isobutanol 6000 ppm olacak şekilde selülozik tiner uyguladık.

Alfaro ve ark., 2013; Fiel ve ark., 2014; Aaron ve ark., 2015; tiner inhalasyonu sonucunda ilk gözlenen klinik bulgular, tüylerin sararması, aşırı yalanma, sekresyon artışı, kafeste bir köşede kümeleşme, dispne (nefes almada zorluk) ve sık göz kırpmadır. Biz de çalışmamızda literatürde yer alan bu klinik bulgularla uyumlu klinik bulgular gözlemledik.

Alfaro ve ark., 2013; Fiel ve ark., 2014; Aaron ve ark., 2015; tiner inhalasyonu esnasında tiner uygulamasını alan deneklerin vücut ağırlıklarında anlamlı ölçüde azalma meydana geldiğini gözlemlemiştir; vücut ağırlıkları ile ilgili bulgularımızın literatür ile uyumlu olduğunu saptadık.

Carabez ve ark., 1998; Akut ve kronik boya tinerine maruz kalan rat cerebellumları TEM incelemesinde; ultrastrüktürel olarak; purkinje hücre mitokondrisi sayısı, nörofilament ve nörotübül sayısında ve plasma membranının kalınlığında azalma olduğunu rapor etmiştir. Biz de yaptığımız çalışmadaki TEM incelemesinde; tiner alan grupta mitral

hücrelerdeki stoplazmik yoğunlukta azalma, ER kanalında genişleme, dens basılar hücre sayısında azalma, mitokondri ve ribozom sayısında azalma ve bu organellerde vakuolleşme olduğunu gözlemledik.

Gotohda ve ark. 2002; toluen inhalasyonu rat cerebellumu ışık mikroskopisi çalışmasına göre; pyramidal hücrelerde gözle görünür bir değişiklik olmamasına rağmen gyrus dentatus'taki granül hücre miktarında belirgin azalma olduğunu rapor etmiştir. Biz yaptığımız çalışmada bulbus olfactorius'daki mitral hücre, external granüler hücre ve internal granüler hücre sayısında azalma olduğunu gözlemledik.

Pascual ve ark., 2009; ratlarda toluen inhalasyonu sonrası melatoninin neokortikal nöronal dendritik bozulmaya olan etkisini histolojik bir çalışma yaparak incelemiştir. Yapmış oldukları çalışmaya göre; toluen alan grubun pyramidal dendrit dallarında belirgin azalma meydana gelirken, toluen ve melatonin alan grubun pyramidal dendrit dallarındaki azalmanın daha az olduğunu gözlemlemişlerdir. Biz de yaptığımız çalışmada mitral hücrelerin dendritlerinin oluşturduğu external plexiform tabakasının kalınlığındaki azalmanın tiner alan grupta; tiner, c vitamini ve melatonin alan gruba göre daha fazla olduğunu saptadık.

Baydas ve ark., 2004; tinere maruz bırakılan sıçanlarda nöronal adezyon moleküllerinin ekspresyon paterni ve hippokampus, cortex ve cerebellum lipid peroksidaz seviyeleri üzerine yapılan çalışmada; hippokampus, korteks ve cerebellumda lipid peroksidaz seviyelerinde önemli derecede azalma saptarlarken, biz de çalışmamızda kontrol grubun (Grup 1) TBARS düzeylerinin, tiner alan ve tiner ve c vitamin alan gruba göre (Grup 2 ve 3) daha düşük olduğunu biyokimyasal olarak saptadık.

Martinez-Alfaro ve ark., 2006; uzun süreli tiner inhasyonuna maruz bırakılmış ratların beyinleri ve karaciğerlerinde MDA ve glutatyon peroksidaz düzeyleri üzerine yapmış oldukları çalışmaya göre; tiner inhalasyonu sonrası rat beyni ve karaciğerinde MDA düzeyinde azalma, glutatyon peroksidaz seviyesinde ise artma saptamışlarken; biz de çalışmamızda tiner alan grupta MDA'da azalma, glutatyon peroksidaz'da artma olduğunu literatür ile uyumlu olarak saptadık.

Yapılan literatür taramasında ratlara yapılan tiner inhalasyonu sonrası melatonin ve c vitamini uygulaması ile rat bulbus olfactorius'undaki CAT, SOD, MDA ve GSH-x değerlerinin analizi hakkında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yaptığımız çalışmanın biyokimyasal analizi sonucunda Grup 2'nin glutatyon peroksidaz aktivite değerlerinin Grup 1,4 ve 5'e göre daha yüksek, Grup 2'nin süperoksit dismutaz aktivite değerlerinin grup 1, 4 ve 5'e göre daha yüksek, Grup 3'ün süperoksit dismutaz aktivite değerlerinin grup 5'e göre daha yüksek olduğunu saptadık. Grup 1'in TBARS düzeylerinin ise grup 2 ve 3'e göre daha düşük olduğunu saptadık.

Çalışmamızda, tiner alan grupların GPx, SOD, CAT akitivitesi ile TBARS düzeylerinin yüksek olduğunu saptadık. Yüksek olmasını ortamda serbest radikallerin varolmasına, serbest radikal oluşumunun da tinerin nörotoksisitesine bağlı geliştiğini düşünüyoruz.

SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Deney gruplarına ait gözlemler ile kontrol grupları kıyaslandığında; sık göz kırpması, aşırı yalanma, kesik nefes alma, aksırmanın sıklaşması, araştırma kafesinde köşelere kaçıp kümeleşmeler yapma, ağızdan salya akma şeklinde klinik bulgular saptandı.

2. Tiner inhalasyonuna ve melatonin ve C vitamini uygulamasına bağlı olarak bulbus olfactorius dokusundaki katmanlarındaki değişiklikler rapor edilmiştir. Grup 2'nin katmanlarındaki azalmanın en çok olduğu, Grup 5'deki azalmanın Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az olduğu görülmüştür. Çalışmamızda histolojik olarak; Grup 2'nin bulbus olfactorius dokusunun katmanlarında gözle görülür bir azalma rapor edilmiş, Grup 5'in katmanlarındaki azalmanın Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az olduğu gözlenmiştir. Grup 5'in kontrol grubu ile eşdeğer olduğu gözlemlendi. Melatonin ve C vitaminin koruyucu etkisi olduğunu düşünüyoruz.

3. Ultrastrüktürel bulgulara göre; tiner inhalasyonu ve melatonin ve C vitamini uygulamasına bağlı olarak bulbus olfactorius dokusundaki mitral hücre tabakasındaki hücrelerin sitoplazmik yoğunluğu, nükleus durumu, vakuolleşme, ribozom, mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki farklar incelenmiştir. Ultrastrüktürel yapıda Grup 2'nin bulbus olfactorius'undaki mitral hücrelerdeki nükleuslarda dejenerasyon, sitoplazmik yoğunlukta azalma, mitokondri ve ribozom sayılarında azalma, vakuolleşme ve daha çok dens bazılar hücreler diğer gruplara göre daha fazla görülürken, Grup 5'de Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az nükleus dejenerasyonu, mitokondri ve ribozom sayılarının daha fazla olduğu ve daha az vakuolleşme tespit edilmiştir.

4. Biyokimyasal analizlere göre; tiner inhalasyonu ve melatonin ve C vitamini uygulamasına bağlı olarak bulbus olfactorius dokusundaki katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, lipid peroksidasyon seviyesindeki değişiklikler rapor edilmiştir. Grup 2'nin glutatyon peroksidaz aktivite değerleri Grup 1,4 ve 5'e göre daha yüksekti. Grup 2'nin süperoksit dismutaz aktivite değerleri grup 1, 4 ve 5'e göre daha yüksekti. Grup 3'ün süperoksit dismutaz aktivite değerleri grup 5'e göre daha yüksekti. Grup 1'in TBARS düzeyleri Grup 2 ve 3'e göre daha düşüktü.

5. Labirent sıçan testi incelemelerine göre; tiner inhalasyonu ve melatonin ve c vitamini uygulanan gruplardaki labirentte peyniri bulma süreleri karşılaştırıldığında farkların olduğu tespit edildi. Grup 2'nin labirent saniye değerleri grup 1 ve 5'e göre daha yüksekti.

6. Tiner inhalasyonu alan kişilerde Melatonin ve C vitamini kullanımının hücresel düzeyde hasarı azaltıcı ve önleyici etkilerinin olduğu dolayısıyla tinerle çalışan kişilerde bu uygulamalarının alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.



KAYNAKLAR

Acuna-Castroviejo D, Escames G, Macias M, Munoz HA, Molina CA, Arauzo M, Montes R. Cell protective role of melatonin in the brain. J Pineal Res 1995 Sep 19:257-63.

Ahmet Ilgazli, Canan Sengul, Hale Maral, Meltem Ozden, Cengiz Ercin The effects of thinner inhalation on superoxide dismutase activities, malondialdehyde and glutathione levels in rat lungs 7 January 2004 Clinica Chimica Acta 343 (2004) 141–144

Allen R, Kidd H, Lyons G, Templer S, Hannat M. Solvents. In: Walsh D, Editör. Chemical Safety Data Sheets. Athenaeum Press, Newcastle-UK, 1992; 1-4, 1990-5, 303-5

Annagür BB, Savaş HA. Depresyonda ekhastalık, ekhastalık olarak depresyon: Türkiye’de yapılmış çalışmaların gözden geçirilmesi. Journal of Mood Disorders 2011; 1:87-94.

Arendt J, Aldhous M. Synchronisation of a Disturbed Sleep-wake Cycle in a Blind Man by Melatonin Treatment. Lancet 1988; 2: 772-3.

Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. London, Chapman&Hall, 1995.

Arendt J. Melatonin. Clin Endocrinol 1988; 29: 205- 229.

Arıncı K, Elhan A. Anatomi ,2. Cilt 2001, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara

Arıncı K, Elhan A. Anatomi ,2. Cilt 2001, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara

Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 2. Cilt. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti 1997.

Attanasio A, Borelli P, Gupta D. Circadian Rhythms in Serum Melatonin from Infancy to Adolescence. J Clin Endocrinol & Metab. 1985; 61(2): 388-90.

Aytekin Y, Gürsoy E. Renkli Embriyoloji Atlası. İstanbul: Nobel Tıp Kitapları Ltd. Şti 2000. (Drews U: Color Atlas of Embryology. Stuttgart, Theime; 1993.

Bao YP, Williamson G, Tew D, et al. Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: Concentration effects and clinical relevance. Br J Anaesth 1998; 81: 584- 589.

Barroso-Moguel R, Hernandez JV. Experimental neuropathy produced in rats with industrial solvents (thinner). Archiv Invest Med (Mex), 1989; 20: 53-60

Bartsch C, Bartsch H, Fluchter StH, Lippert TH. Depleted pineal melatonin production in primary breast and prostate cancer is connected with circadian disturbances; possible role of melatonin for synchronization of circadian rhythmicity 1996.

Başaklar AC. Langman's Medikal Embryoloji. Ankara: Palme Yayıncılık 1996. (Sadler TW. Langman's Medical Embryology. Baltimore: Williams & Wilkins 1995.)

Baydas G, Ozveren F, Tuzcu M, Yasar A Effects of thinner exposure on the expression pattern of neural cell adhesion molecules, level of lipid peroxidation in the brain and cognitive function in rats 2000.

Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS, Yaşar A, Tuzcu M, Ozveren F, Canatan H. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis 2000.

Bayram Yilmaz , Sinan Canpolat , Suleyman Sandal , Nusret Akpolat , Selim Kutlu , Necip Ilhan , Haluk Kelestimur Reproductive Toxicology 22 (2006) 791–796

Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Amplification of Nocturnal Melatonin Secretion in Women with Functional Hypothalamic Amenorrhea. J Clin Endocrinol & Metab. 1988; 66(1): 242-4.

Bettahi I, Guerrero JM, Reiter RJ, Osuna C. Physiological concentrations of melatonin inhibit the norepinephrine-induced activation of prostaglandin E2 and cyclic AMP production in rat hypothalamus: a mechanism involving inhibition of nitric oxide synthase. *J Pineal Res.* 1998, 25:34-40.

Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998, 56: 1265-1272.

Bianchi G, Marchesini G, Fabbri A, et al. Lipoperoxide plasma levels in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 784-788.

Blazejova K, Illnerova H, Hajek I, Nevsimalova S. Circadian rhythm in salivary melatonin in narcoleptic patients: *Neurosci Lett* 2008; 437:162-164

Bruce DA, Schut L, Sutton LN, Pineal region tumors. In: McLaurin RL, Venes J, Schut L, Epstein F (Eds). *Pediatric Neurosurgery. Surgery of the Developing Nervous System.* Philadelphia: WB Saunders 1989; 409

Brzezinski A, Wurtman RJ. The Pineal Gland: Its Possible Roles in Human Reproduction. *Obstet Gynecol Survey* 1988; 43: 197-207.

Cagnacci A, Elliot JA, Yen SS. Amplification of Pulsatile LH Secretion by Exogenous Melatonin in Women. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1991; 73(1): 210- 2

Cagnacci A. Melatonin in relation to physiology in adult humans. *J Pineal Res* 1996; 21:200-213.

Caldemeyer KS, Pascuzzi RM, Moran CC, Smith RR. Toluene abuse causing reduced MR signal intensity in the brain. *AJR Am J Roentgenol* 1993; 161(6): 1259-61.

Carabez A, Sandavol F, Palma L, Ultrastructural changes of tissues produced by inhalation of thinner in rats. *Microsc Res Tech* 1998;40:56-62

Cardinali DP, Glombek DA, Resenstein RE, Cutrera RA, Esquifino AI. Melatonin site and mechanisms of action : Single or multiple. J Pineal Res 1997;23:32-39.

Cavallo A, Richards GE, Smith ER. Relation Between Nocturnal Melatonin Profile and Hormonal Markers of Puberty in Humans. Horm Res. 1992; 37: 185-9

Cavallo A, Ristchel WA. Pharmacokinetics of Melatonin in Human Sexual Maturation. J Clin Endocrinol & Metab. 1996; 81(5): 1221-5.

Challet E. Mini review: Entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals. Endocrinology 2007; 148:5648-5655.

Chen, H. and Tappel, A.L. 1996. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. J. Agric. Food Chem. 44(3); 854-858.

Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. Sleep Med Rev 2005; 9:11-24

Coleman MP, Reiter RJ. Breast cancer, blindness and melatonin. Eur J Cancer Clin Oncol 1992; 28:501-503.

Cos S, Gonzalez A, Martinez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-Gonzalez C, Sanchez Barcelo EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. Curr Cancer Drug Targets 2008; 8:691-702.

Çam A, Erdoğan MF. Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2003; 56:103-112.

Dahlitz M, Alvarez B, Vignau J ve ark. Delayed Sleep Phase Syndrome Response to Melatonin. Lancet 1991; 1: 1121-4.

Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji. Adana: Okullar Pazarı Kitabevi 1990.

Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji. Adana: Okullar Pazarı Kitabevi 1990.

Deveci S, Yazıcı C, Köse K, Gökalp S.S. Siklosporin A ve/veya melatonin uygulanan ratlarda kanser riskini artıran oksidatif stresin değerlendirilmesi. Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu Özet Kitabı, Bursa 26-29 Eylül 2002, P-21.

Doğuer S, Erençin Z. Evcil Kuşların Komparativ Anatomisi (Handbuch der Verleichenden Anatomie der Haustiere, Baum EV, Ed.'dan çeviri). Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi 1964.

Dullo P, Chaudhary R. Short review of reproductive physiology of melatonin. Pak J Physiol 2009; 5:46-48.

Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2; 51-62.

Ellenharn MJ, Barcelaux DG. Medical Toxicology. p 940-61. Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, 1988

Fawcett DW, Jenesh RP. Pineal gland. In: Bloom M, Fawcett DW (Eds). Concise Histology. New York, Chapman & Hall International Thomson Publishing 1977; 164

Feychting M, Osterlund B, Ahlbom A. Reduced cancer incidence among the blind. Epidemiology 1998; 9:490-494.

Flanagan RJ, Ruprah M, Meredith TJ, Ramsey JD. An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. Drug Saf 1990;5(5):359-83.

Flanagan RJ;Ruprah M,Meredith TJ,Ramsey JD.An introduction to the clinical toxicology of volatile substances.*Drug Saf* 1990;5(5):359-83

Folkard S, Arendt J, Clark M: Can Melatonin Improve Shiftworkers Tolerans of the Night Shift? Some Preliminary Findings. *Chronobiol Int*.

Foote, C.S. 1985. Chemistry of reactive oxygen species. In “ Chemical Changes in Food During Processing”, T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:17-32. Van Nostrand Rainhold Company, New York.

Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J* 1996, 10: 891-896.

Gotohda T, Tokunaga I, Kubo S, Kitamura O, Ishigami A. Toluene inhalation induces glial cell line-derived neurotrophic factor, transforming growth factor and tumor necrosis factor in rat cerebellum.

Görpe A: Klinik Endokrinoloji. İstanbul: İstanbul Matbaası 1964.

Guerrero JM, Reiter RJ, Ortiz GG, Pablos MI, Sewerynek E, Chuang JI. Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Pineal Res*. 1997, 23:24-31.

Gummin DD, Hryhorczuk DO. Hydrocarbons. In:Flomenbaum NE, Goldfrank LR, Hoffman RS, Howland MA,Lewin NA, Nelson LS eds. Goldfrank's Toxicologic

Halliwell B., Gutteridge M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metalsand disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-14.

Hara M, Yoshida M, Nishijima H, et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res* 2001, 30: 129-138.

Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D-X. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993, 17: 347-357.

Herxheimer A, Petrie KJ. Melatonin for preventing and treating jet lag. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001; 1:CD001520.

Hogendorf P, Adamczyk E, Okraszewska E, Microvascularisation of the pineal gland in the rat. *Folia Morphol (Warsz)* 2001; 60: 191.

Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Rom J Endocrinol* 1991, 29:117-123.

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., *Biyokimya*. 3. Baskı, Ekim 2006, Nobel Yayın Dağıtım s: 300,301,302

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., *Biyokimya*. 3. Baskı, Ekim 2006, Nobel Yayın Dağıtım s: 277,278,279,280

Karasket M, Fraschini F. Is there a role for pineal gland in neoplastic growth? In *Role of Melatonin and Pineal Peptides in Neuroimmunomodulation* (Eds F Fraschini, RJ Reiter):243-251. New York, Plenum, 1991.

Katz D, Mazor D, Dvilansky A, Meyerstein N. Effect of radiation on red cell membrane and intracellular oxidative defense systems. *Free Radic Res* 1996; 24: 199-204

Khaleghipour S, Masjedi M, Ahade H, Enayate M, Pasha G, Nadery F et al. Morning and nocturnal serum melatonin rhythm levels in patients with major depressive disorder: an analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 2012; 130:167-172

Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 1998, 24: 83- 89.

Köse K, Yazıcı C. Levonorgestrel ve melatonin uygulamasının rat karaciğer glutatyon redoks siklusu üzerine etkisi. XVIII. Gevher Nesibe Tıp Günleri, III. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve "Workshop"u Özet Kitabı, Kayseri 18-20 Mayıs 2000, P 28.

Lam RW, Bercowitz AL, Berga SL, Clark CM, Kripke DP, Gillin JC. Melatonin suppression in bipolar and unipolar mood disorders. *Psychiatry Res* 1990; 33:129- 134.

Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: First pass hepatic metabolism. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1985; 61: 1214-6.

Lavelli, V., Peri, C. and Rizzola, A. 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48(5); 1442-1448.

LeBel CP, Schatz RA. Altered synaptosomal phospholipid metabolism after toluene. Possible relationship with membrane fluidity, Na⁺, K⁺ -adenosine triphosphate and phospholipid methylation. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253: 1189-1197.

Lebensztejn DM, Chwiećko M, Semeniuk J, Kaczmarek M, Farbiszewski R. The role of free oxygen radicals in children with chronic viral hepatitis B. *Rocz Akad Med Białymst* 1995; 40: 667-672.

Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: WB Saunders Comp 1988.

Lerner AJ.,; Hormones and Skin color. *Scientific American* 1961 (July) 456-60.

Lerner AB, Nordlund JJ. Melatonin: clinical pharmacology. *J Neural Transm Suppl* 1978; 13:339-347.

Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Rosenthal NE. Manic-depressive patients may be supersensitive to light. *Lancet* 1981; 1:383-384.

Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I ve ark. Increased Nocturnal Melatonin Secretion in Male Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism and Delayed Puberty. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1995; 80(7): 2114-8.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Maeda H, Akaike T. Oxygen free radicals as pathogenic molecules in viral diseases. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991; 198: 721–727.

Marino FE. Methods, advantages and limitations of body cooling for exercise performance. *Br J Sport Med* 2002; 36:89-94.

Martin JE, Klein DC. Melatonin inhibition of neonatal pituitary response to luteinising hormone-releasing factor. *Science* 1975; 191: 301-2.

Martínez-Alfaro M, Cárabaz-Trejo A, Sandoval-Zapata F, Morales-Tlalpan V, Palma-Tirado L. Subsurface cistern (SSC) proliferation in Purkinje cells of the rat cerebellum in response to acute and chronic exposure to paint thinner: A light and electron microscopy study.

Martínez-Alfaro M¹, Palma-Tirado L, Sandoval-Zapata F, Cárabaz-Trejo A. Correlation between formamidopyrimidine DNA glycosylase (Fpg)-sensitive sites determined by a comet assay, increased MDA, and decreased glutathione during long exposure to thinner inhalation.

Mattia CJ, LeBel CP and Bondy SC. Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 879-882.

Meadows R, Vergheze A. Medical complications of glue sniffing. *South Med J* 1996 89(5):455-62.

Meydani, M. 2001. Antioxidants and cognitive function. *ILSI. Nutrition Reviews.*, 59(8); S75-S82

Miller, D.D. 1996. Minerals. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: 617-649. Marcel Dekker, New York.

Miller, D.D. 1996. Minerals. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: 617-649. Marcel Dekker, New York.

Minerva Martínez Alfaro, Yolanda Alcaraz Contreras, Alfonso Cárabez Trejo, and Guillermo E. Leo Amador Oxidative stress effects of thinner inhalation
PMCID: PMC3299103

Minerva Martínez-Alfaro¹, Alfonso Cárabez-Trejo^{*,1}, Francisca Sandoval-Zapata^b, Verónica Morales-Tlalpan^c, Lourdes Palma-Tirado^b
Subsurface cistern (SSC) proliferation in Purkinje cells of the rat cerebellum in response to acute and chronic exposure to paint thinner: A light and electron microscopy study *Experimental and Toxicologic Pathology* 66 (2014) 323–332

Mollaoğlu H, Özgüner MF. Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 12:52-56.

Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipemic nephropathy induced by adriamycin: Effect of melatonin administration. *Nephron* 1997, 76: 345-350.

Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF, Munoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J Pineal Res* 1998, 25: 94-100.

Mortola JF, Laughlin GA, Yen SS. Melatonin Rhythms in Women with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1993; 77(6): 1540-3.

Nawar, W.W. 1996. Lipids. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.

Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG, et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochem Int* 1998, 32: 69-75.

Pacchierotti CL, Iapichino L, Bossini L, Pieraccini F, Castrogiovanni P. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front Neuroendocrinol* 2001; 22:18-23.

Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. *J Pineal Res* 1998, 24: 96-101.

Pail G, Huf W, Pjrek E, Winkler D, Willeit M, Praschak-Rieder N et al. Bright-light therapy in the treatment of mood disorders. *Neuropsychobiology.* 2011; 64:152-162.

Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat

Pascual R, Bustamante C. Structural neuroplasticity induced by melatonin in entorhinal neurons of rats exposed to toluene inhalation.

Pascual R, Pilar Zamora-León S, Pérez N, Rojas T, Rojo A, José Salinas M, Reyes A, Bustamante C. Melatonin ameliorates neocortical neuronal dendritic impairment induced by toluene inhalation in the rat.

Porter NA, (1984) : Chemistry of lipid peroxidation. Methods Enzymol., 105: 273-283.

Ratzburg, C. Melatonin—the myths and facts. http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health_psychology/melatonin.htm (retrieved on Jan 01, 2013).

Regelson W, Pierpaoli MD. Melatonin A rediscovered antitumor hormone? Its relation to surface receptors, sex steroid metabolism, immunologic response, and chronologic factors in tumor growth & therapy. Cancer Invest 1987; 5:379-385.

Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. J Biomed Sci 2000, 7: 444- 458.

Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. Cardiovasc Res 2003; 58:10-19.

Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. Eur J Endocrinol 1996, 134: 412-420.

Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. Brazilian J Med Biol Res 1993, 26: 1141-1155.

Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2003, 17:273-285.

Reiter RJ. The pineal gland and melatonin relation to aging . A summary of the theories and of the data. Exp Gerontol 1995; 30: 199-212 .

Rhoton AL, Jr, Yamamoto I, Peaca DA, Microsurgery of the third ventricle. Part 2. Operative approaches. Neurosurgery 1981; 8: 357.

Rodgers GC, Condurache T, Reed MD, Bestic M, Gal P. Poisoning. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 18 th edition. Saunders and Elsevier, Philadelphia, 2007;339-357.

Sakai JT, Crowley TJ. Inhalant-related disorders: In Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P (editors). Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. 9th edition. Lippincott Williams –Wilkins, 2009, 1341-1353.

Salti R, Galluzzi F, Bindi G ve ark. Nocturnal Melatonin Patterns in Children. J Clin Endocrinol & Metab. 2000; 85(6): 2137-44.

Shamir E, Rotenberg VS, Laudon M, Zisapel N, Elizur A. Firts-night effects of melatonin treatment in patients with chronic schizophrenia. J Clin Psychopharmacol 2000; 20:691-694

Sher L, Oquendo MA, Galfalvy HC, Zalsman G, Cooper TB, Mann JJ. Higher cortisol levels in spring and fall in patients with major depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2005; 29:529-534

Sözmen EY. Yaşlanma biyokimyası. In: Onat T. Emerk K. Sözmen EY. (Editörler). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002: 665-674.

Spiegelmann R, Friedman WA, Pineal region tumors: diagnosis and management. Contemp Neurosurg 1991; 13:1.

Stevens A, Lowe JS. Human Histology. London: Mosby 1997.

Suresh Kumar PN, Andrade C, Bhakta SG, Singh NM. Melatonin in schizophrenic outpatients with insomnia: a double-blind, placebo-controlled study. J Clin Psychiatry 2007; 68:237-241.

Şener G. Karanlığın hormonu: melatonin. Marmara Eczacılık Dergisi 2010; 14:112- 120.

Tan D-X, Chen L-D, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993, 1: 57-60.

Tekelioğlu M., Dört Temel Doku, 1980, Ankara

Thomas L, Drew JE, Abramovich DR, Williams LM. The role of melatonin in the human fetus (review). *Int J Mol Med*. 1998, 1:539-543.

Toluene inhalation induces glial cell line-derived neurotrophic factor, transforming growth factor and tumor necrosis factor in rat cerebellum

Takako Gotohda, Itsuo Tokunaga, Shin-ichi Kubo*, Osamu Kitamura, Akiko Ishigami *Legal Medicine* 4 (2002) 21–28

Tsuzuki K, Okamoto-Miunu K, Mizuno K. Effects of humid heat exposure on sleep, thermoregulation, melatonin and microclimate. *J Therm Biol* 2004; 29:31-34.

Ulakoğlu EZ, Saygı A, Gümüştaş MK et al. Alterations in superoxide dismutase activities, lipid peroxidation and glutathione levels in thinner inhaled rat lungs: relationship between histopathologic properties. *Pharmacol Res* 1998;38(3):209-

Urata Y, Honma S, Goto S, et al. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med*. 1999, 27:838-847

Ustundag B, Canatan H. Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici . *Firat Tıp Der.*1999; 1:7.

Verkasalo PK, Pukkala E, Stevens RG, Ojamo M, Rudanko SL. Inverse association between breast cancer incidence and degree of visual impairment in Finland. *Br J Cancer* 1999; 80:1459-1460.

Voordouw BC, Euser R, Verdonk RE ve ark. Melatonin and Melatonin-progestin Combinations Alter Pituitary-Ovarian Function in Women and Can Inhibit Ovulation. J Clin Endocrinol & Metab. 1992; 74(1): 108-16.

Vural N.Toksikoloji.2. Baskı.Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;45380.

Vural N.Toksikoloji.2. baskı.Ankara,Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;453-80

Weaver DR, Reppert SM. Maternal melatonin communicates daylength to the fetus in Djungarian hamsters. Endocrinology 1986; 119: 2861-3.

Wu LT, Ringwalt CL. Inhalant use and disorders among adults in the United States. Drug Alcohol Depend 2006; 85:1–11.

Wurtman RJ. and Axelrod J: The Pineal gland. Scientific American . 213 (I):50-60 ,1965

Yamamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. J Pineal Res 1996, 21: 108-113.

Yazıcı C, Köse K, Gökalp S, Canöz Ö, Utaş C. Siklosporin A nefrotoksitesinde protein oksidasyonunun yeri ve melatoninin koruyucu etkisi. 19. TND Ulusal Nefroloji Hipertansiyon Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi Bildiri Özet Kitabı, Antalya 17-21 Eylül 2002, P-119.

Yazıcı C. Sentetik Seks Steroidlerinin ve Melatoninin Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Erciyes Ün. Tıp Fakültesi Biyokimya A.D, Kayseri 1999, 151.

Yıldırım M. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomi. (Clinical Neuroanatomy for Medical Students, Snell RS, Ed.). İstanbul: Lippincott-Williams&Wilkins/Nobel 2000

Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., Ankara s:252

Yıldırım M., Temel Nöroanatomi, 1. Baskı 2000, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., Ankara s:155

Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology. A text and Colour Atlas. Edinburgh: Churchill Livingstone 2000.

Yönel EE, Yaprak M, Yıldız Y. Yüksek ve düşük doz eksojen melatoninin erkek ratlarda vücut ısısına etkileri. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1996; 13:1-4

Zengin Ulakoğlu E, Saygı A, Gümüştas MK, Zor E, Akkaya A, Kökoğlu E. The effect of chronic thinner inhalation on lipid peroxidation in rat lung and liver. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29 (2): 75-78.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Merve	Uyruğu	T.C.
Soyadı	ÖNDER	Tel no	05363650316
Doğum tarihi	17.06.1991	e-posta	merveonder@akdeniz.edu.tr

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Atatürk Anadolu Lisesi	2009
Lisans	Akdeniz Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2016
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2015

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
IELTS	Uluslararası Dil Sınavı	5.0

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Kronik Selülozik Tiner İnhalasyonu sonrasında rat bulbus olfactorius’unda oluşacak hasar üzerine melatonin ve c vitaminin etkisini araştırmak	BAP	1 YIL-2016

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler:

Yayın:

Aldemir C, Önder M, Doğan A, Duygun F, Oğuz N. Morphometric anatomic study and clinical significance of lunate fossa Eklem Hastalıkları Cerrahisi. 2015;26(1):27-30. doi: 10.5606/ehc.2015.07.

Bildiriler:

- 1- Merve ÖNDER, Başak OĞUZ YOLCULAR, Nurettin OĞUZ Humerus'un Proksimal Ucundaki Anatomik Oluşumların Morfometrik Ölçümleri 16. Ulusal Anatomi Kongresi Malatya, 2014 sayfa: 233
- 2- Merve ÖNDER, Cengiz ALDEMİR, Başak OĞUZ YOLCULAR, Nurettin OĞUZ Lunat Fossa'nın Morfometrik Değerlendirilmesi 16. Ulusal Anatomi Kongresi Malatya, 2014 sayfa: 166
- 4- Önder M, Gürçay, Oğuz N Nutrient foramina in the Os lunatum from the carpal bones: morphometric study 24. Uluslararası ISMS 2015, sayfa: 167
- 3- Oğuz N, Onder M, Gürçay S İnsan Patella Kemiğinde *foramen nutricium*'un Morfolojik ve Topografik Anatomisi ve Cerrahi Önemi 24. Uluslararası ISMS 2015, sayfa: 225
- 4- Onder M, Gümüşlü S, Genç GE, Gürer Eİ, Gürçay S, Oğuz N Kronik Selülozik Tiner İnhalasyonunun Rat *bulbus olfactorius*'taki Lipid Peroksidasyonuna Etkisi 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir, 2015 sayfa: 172
- 5- Gürçay S, Onder M, Oğuz N Fovea Capitis Femoris Anatomisinin Türk ve Erken Bizans Dönemi Femurları ile Karşılaştırılması 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir, 2015 sayfa: 148
- 6- Tibial Plato'daki Anatomik Oluşumların Morfometrik Değerlendirilmesi 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir, 2015 sayfa: 145

