

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA AKUT PRENATAL ETANOL
UYGULAMASINA BAĞLI OLARAK OPTİK
SİNİRDE GELİŞEN POSTNATAL
TERATOJENİK DEĞİŞİKLİKLER
ÜZERİNE EKSOJEN MELATONİN
VERİLMESİNİN ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ORHAN AKYÜZ

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. MEHMET TURGUT

AYDIN - 2007

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince gösterdikleri yakın ilgi ve destekten dolayı Nöroşirürji Anabilim Dalı başkanı ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Mehmet TURGUT'a, öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Soner YAYCIOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Varol AYDIN'a,

Görsel Uyarılmış Potansiyel kayıtlamalarında yardımlarını esirgemeyen Nöroloji A.D. başkanı Prof. Dr. Ali AKYOL ve öğretim üyesi Doç. Dr. Cengiz TATAROĞLU'na, Biyokimyasal analizlerde destek aldığım Biyokimya A.D. öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mukadder SERTER'e ve Biyokimya A.D. araştırma görevlisi Dr. Ece Mine DEMİR'e,

Işık mikroskopik incelemelere dayalı kalitatif değerlendirmeler ile elektron mikroskopik stereolojik analizlerin kantitatif olarak gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji öğretim üyesi Prof. Dr. Süleyman KAPLAN; İst. Üniv. Vet. Fak. Histoloji ve Embriyoloji A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Suzan DAĞLIOĞLU, Doç. Dr. Hakan BOZKURT ve Dr. Abit AKTAŞ; ve Turin Üniversitesi (İtalya) Klinik ve Biyolojik Bilimler bölümünden Prof. Dr. Stefania RAIMONDO ve Dr. Stefano GEUNA'a,

Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinde teze konu deneysel çalışmamı yürütebilmem için her türlü olanağı sağlayan öğretim üyesi Prof. Dr. Ali BELGE ve araştırma görevlisi Serdar KÖKLÜ'ye,

Çalışmamdaki yardımlarından dolayı ADÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğrencisi Oktay İNCİ'ye,

Hayatımın her döneminde desteğini esirgemeyen eşim, oğlum ve kızıma sabırlarından

dolayı,

Sonsuz Teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

I. KISALTMALAR	5
II. GİRİŞ VE AMAÇ	6
III. GENEL BİLGİLER	9
3.1. Optik sinir	9
3.1.1. Embriyoloji	9
3.1.2. Anatomi	10
3.1.3. Optik sinir vaskülaritesi	13
3.1.4. Fizyoloji	14
3.1.5. Patoloji	16
3.1.6. Optik sinir hastalıklarının değerlendirilmesi ve ölçülmesi	17
3.1.7. Optik sinir hastalıkları	17
3.1.8. Toksik optik nöropati	21
3.1.8.1. Alkolik toksik nöropati	21
3.2. Alkol	22
3.3. Melatonin	28
3.3.1. Anatomi	28
3.3.2. Sentez yerleri	28
3.3.3. Sentez mekanizması	29
3.3.4. Sirkadiyen salınım ritmi	31
3.3.5. Suprakiazmatik nukleus-pineal gland ilişkisi	32
3.3.6. Yaşlanmanın etkisi	32
3.3.7. Melatonin metabolizması	33
3.3.8. Melatonin reseptörleri	34
3.3.9. Mevsimsel reproduksiyonda melatoninin rolü	35
3.3.10. Endokrin hormonlar ile melatonin salınım ilişkisi	36
3.3.11. Hipofizektomi	36
3.3.12. Tiroidektomi	36
3.3.13. Adrenalektomi	36
3.3.14. Gonadektomi	36
3.3.15. Melatoninin serbest radikal giderici etkisi	37
3.3.16. Melatoninin klinik etkileri	38
3.3.16.1. Rejenerasyon üzerine olan etkisi	38
3.3.16.2. Nöroprotektif etkisi	39
3.3.16.3. Antitoksik etkisi	39
3.3.16.4. Uyku ritmi üzerine düzenleyici etkisi	40
3.3.16.5. Kemik yapımı üzerine olan etkisi	40
3.3.16.6. İmmün sistem üzerine etkisi	40
3.3.16.7. Antikanserijen etkisi	40
3.3.16.8. Antiepileptik etkisi	41
3.3.16.9. Hipotermik etkisi	41
3.3.16.10. Melatoninin istenmeyen yan etkileri	41
3.4. Görsel uyarılmış potansiyeller (VEP)	43
3.5. Serbest oksijen radikalleri	50
3.5.1. Malondialdehit (MDA)	51
3.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD)	52

IV.MATERYAL-METOD	54
4.1. Denekler	54
4.2. Deney grupları	54
4.3. Elektrofizyolojik görsel uyarılmış potansiyel incelemesi	55
4.3.1. Dalga analizi	55
4.4. Perfüzyon işlemi	55
4.5. Disseksiyon işlemi	57
4.6. Biyokimyasal analiz	58
4.6.1. Doku hazırlanması	58
4.6.2. Cu, Zn-SOD aktivitesinin belirlenmesi	58
4.6.3. Doku protein düzeylerinin belirlenmesi	58
4.6.4. Lipid peroksidasyonun belirlenmesi	58
4.7. Histolojik değerlendirme	59
4.7.1. Işık ve elektron mikroskopik inceleme	59
4.7.2. Stereolojik analiz	60
4.8. İstatistiksel değerlendirme	60
V. SONUÇLAR	62
5.1.Görsel uyarılmış potansiyel (F-VEP) bulguları	62
5.1.1. Görsel uyarılmış potansiyel sonuçları	65
5.2. Biyokimyasal bulgular	67
5.2.1. MDA analizi	67
5.2.2. SOD analizi	68
5.3. Histolojik bulgular	69
5.3.1. Işık mikroskopi bulguları	69
5.3.2. Elektron mikroskopi bulguları ve stereolojik analiz sonuçları	73
VI. TARTIŞMA	80
VII. ÖZET	86
VIII. KAYNAKLAR	89

KISALTMALAR

ALDH: Aldehid dehidrogenaz

FAS: Fetal alkol sendromu

GSSG-Rd: Glutasyon redüktaz

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

H₂O₂: Hidrojen peroksit

HIOMT: Hidroksi indol-O-metil transferaz

i.p : intraperitoneal

MDA: Malondialdehit

NAT: N-asetil transferaz

NO: Nitrik oksit

O₂: Superoksit

OH: Hidroksil

SOR: Serbest oksijen radikalleri

SCG: Superior servikal ganglion

SOD: Superoksit dismutaz

6-HMS: 6-hidroksimelatonin

VEP: Görsel uyarılmış potansiyel

II. GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelikte fetüsün gelişimi sırasında teratojenik faktörlerin oluşturacağı malformasyonların doza ve süreye bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. Teratojenik etkilerinden dolayı etanolün gebelerde fetus üzerine, fetal/plasental markerler aracılığı ile etkili olduğu saptanmıştır (2, 25).

Alkolik gebelerde uzun süreli alkol alımı sonucu fetus ve yeni doğanlarda büyüme geriliği, başta karaciğer ve beyin dokusu olmak üzere değişik doku lezyonlarına veya doku fonksiyonlarının bozulmasına yol açabileceği ve immün cevapları olumsuz etkileyebileceği gösterilmiştir (4, 140). Fetal alkol sendromu (FAS) adı verilen bu bulguların saptanması sebebiyle, alkol gebeler için teratojen bir madde olarak kabul edilmektedir (93). Etanol basit bir moleküldür ve vücuttaki bütün sıvı kompartmanlarına basit difüzyonla ve hızla yayılır. Hamile kadınlar alkol aldığı anda, alkol plasental fetal dolaşıma kolayca geçmekte ve fetüs kanındaki alkol konsantrasyonu, anne kanındakine eşit olmaktadır (41, 142). Alkolün hem embriyo gelişimine etki ettiği, hem de gebeliğin özellikle ilk trimestir ile ikinci trimestir ortalarına kadar olan dönemde fetüs ve anne için ciddi bir risk taşıdığı literatürde bildirilmektedir (41, 56). Prenatal alkole maruz kalan sıçanlarda postnatal optik sinir hipoplazisi ve optik sinir miyelin liflerinde azalma olduğu gösterilmiştir (115).

Alkol tüketiminin karaciğer ve karaciğer dışı dokularda oksidatif stresi indükleyerek lipid peroksidasyonuna yol açtığı, bu durumun kompleks ve interaktif bir süreç olduğu ileri sürülmektedir (52, 82). Genellikle karaciğerde meydana gelen etanol metabolizmasının erken fazında tam oksidasyon ile açığa çıkan oksijen ve nitrik oksit (NO) radikalleri, asetaldehit artışı, hücre içi redoks durumunu belirgin olarak değiştirmektedir (148). Ayrıca etanol ve başlıca metaboliti asetaldehitin

metabolize olmadığı diğer dokularda serbest radikal türlerinin oluşumuna yol açabildiği ve bu dokularda prooksidan etki sonucu alkolle ilişkili toksisite ve hasardan sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (80). Etanol metabolizması sırasında karaciğerde aktivitesi oldukça artan ksantin oksidaz kendisi serbest radikal oluşumuna yol açtığı gibi asetaldehit metabolizmasının da ksantin oksidaz veya aldehit oksidaz aracılığı ile serbest radikaller üretebilme potansiyelleri vardır (62). Kronik alkol tüketimi sonucu daha aktif hale geçen hepatik mikrozomal P450 - 2E1 enzim sistemi ve katalaz yolunun da, serbest radikallerin (süperoksit (O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve 1-OH etil radikali gibi) üretimi ile ilişkili olduğu ve serbest radikal üretimini artırdıkları bilinmektedir (62). Aerobik canlılarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumuyla birlikte, SOR'in zararlı etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri yada kısaca "oksidan" olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları da gelişmiştir (47). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-Rd), katalaz gibi "enzimler" ve vitaminler, tiyoller gibi "enzim olmayanlar" şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasarı önleyen maddelerdir (138). Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla organizmada doğal olarak bulunan savunma sistemlerinin bir kısmı ya da antioksidan özellik gösteren bazı farmakolojik ajanlarda kullanılmakta ve bu bileşikler, eksojen savunma sistemleri olarak adlandırılmaktadır. Bu grup arasında SOD, askorbat, glutatyon (45) ve melatonin (16) sayılabilir.

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) pineal bezin salgıladığı bir hormon olup, son yıllarda güçlü bir serbest radikal çöpçüsü ve antioksidan olarak ilgi çekmiştir (101). Melatoninin indirekt antioksidan bir madde olduğunun keşfi ve

nöroprotektif etkisi, bu maddenin hem deneysel hem de klinik uygulamalarda kullanılmasının uygun olup olmayacağı konusunu gündeme getirmiştir (101, 108).

Bu çalışmada, gebe sıçanlara gebeliğin 1., 2. ve 3. evresinde (G7, G15 ve G21. günü) etanol uygulamasına bağlı olarak yavru sıçanların optik sinirlerinde ortaya çıkması beklenen teratojenik etkinin derecesi ile, melatoninin eş zamanlı olarak verilmesinin, antioksidan ve nöroprotektif etkisinden dolayı, etanolün teratojenik etkisini azaltıp azaltmadığını saptamak ve olası tedavi edici etkisiyle klinikte kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

III. GENEL BİLGİLER

3.1. OPTİK SINIR

3.1.1. Embriyoloji

Santral sinir sistemi embriyonun dorsal yüzeyinden aşağıya doğru longitudinal olarak uzanan “nöral tüp”ü oluşturmak üzere invajine olan “nöral yarık”tan gelişir (112). Bu yapının ön kısmının her iki tarafında erken devrede “primer optik vezikülü” yapmak üzere dışarıya doğru büyüyen bir kalınlaşma “optik plak” ortaya çıkar. Buradan da ön beynin kenarlarından bir çift divertikül ve mezodermal ve ektodermal yapılarla temas halinde olan iki göz meydana gelir (112). Yüzey ektodermiyle birleştikten sonra, “primer optik vezikül” aşağıdan invaje olur (optik kese), invajinasyon çizgisi bir süre embriyonik fissür olarak açık kalır (112). 22 günlük embriyoda ortaya çıkan optik vezikül ile ansefal arasında “optik sap”, optik sinirin ilk taslağını oluşturur (30, 43, 137). Optik vezikülün yüzey ektoderme yaklaştıktan sonra kendi içine doğru çukurlaşmasıyla “optik çanak” ortaya çıkar (30, 43, 137). 6. haftada optik sapın iç katında gelişen vaküoller, retina ganglion hücrelerinden gelen aksonlar tarafından doldurulmaya başlanır ve aksonlar daha sonra kiyazmaya doğru ilerlerler (137). 2. ay sonunda optik sinir liflerini oluşturan aksonlar, optik sapı kiyazmaya kadar tamamen doldurmuşlardır (137). Optik sap iç katı hücrelerinden bir kısmı da glial hücrelerine dönüşerek sinir liflerini demetler şeklinde sararlar (137). 3. ayda gözün temporal kısmının gelişmesine bağlı olarak optik sinir nazale kayar (137). 2. ayda rektus kasları çevresinden, mezenşim dokusunun yoğunlaşmasıyla başlayan sklera oluşumu, 5. ayda optik sinir çevresine gelir ve sinir lifleri demetlerinin arasına girerek lamina cribrosayı oluşturur, lamina cribrosa 7. ayda tamamlanır (30, 43, 137). 7. ayda kiyazmadan başlayan miyelinleşme doğumda lamina cribrosaya ulaşır

(137). Bazı olgularda gecikme olur ve miyelinleşme ancak doğumdan sonraki aylarda ulaşır ve yeni doğanda miyelin dokusunun yoğunluğu çok azdır, daha sonraki yıllarda kiyazmadan başlayarak göze doğru yoğunlaşır (30, 43, 137).

Doğumda bütün sıçanların optik sinir aksonları miyelinsizdir ve doğumdan sonra 5.-7. günlerde miyelinizasyon başlamakta ve 25. günde ise % 90 oranında miyelinizasyon tamamlanmaktadır (37, 122).

3.1.2. Optik Sinir Anatomisi

Gelişim, morfoloji ve fonksiyon olarak beynin bir uzantısı gibi kabul edilen optik sinir lifleri Schwann kılıfından yoksundur ve bu nedenle rejenerasyon yetenekleri yoktur. Bu nedenle hastalandığı takdirde eğer kendini kurtaramaz ise, optik sinir atrofisi ile sonuçlanmakta ve bu da hemen daima az veya çok görsel keskinlikte kayıp ile birlikte (43, 137). Çevresinde Schwann kılıfının bulunmaması, buna karşılık beyin kılıfları dura, araknoid ve pıanın varlığı, optik siniri diğer kafa çiftlerinden ayıran özelliktir (137). Embriyolojik ve anatomik yapısı göz önüne alındığında optik sinir gerçek bir kafa çifti olmayıp beynin dışı doğru uzantısıdır (43, 137).

Dura mater, orbitada 2 yaprağa ayrılarak, biri orbitanın içini döşerken diğeri sinir üzerinde olarak skleraya yapışır (43). Araknoid altı boşlukta, beyin omurilik sıvısı vardır ve bu durum bize kafa içi basınç artması hallerinden dolayı papilla ödeminin (papilla stazı) kolaylıkla ortaya çıktığını gösterir (43).

Optik sinir, retina ganglion hücrelerinden başlayarak, kiyazma, optik traktuslar, korpus geniculatum laterale, optik radyasyon yolu ile oksipital bölgedeki görme korteksine ulaşır (43, 133).

Optik sinirin uzunluğu ortalama 50 mm olup, bunun yaklaşık 1 mm'si göz içinde, 25-30 mm'si orbitada, 6-9 mm'si kanal içinde, 9-10 mm'si de kafa içindedir

(43, 54). Optik sinirin 1) göz içi, 2) orbita içi, 3) optik foramen içi ve 4) kranyum içi olmak üzere dört ayrı bölümü vardır.

1-Göz içi bölümü

Optik sinirin göz içi bölümü papilla, optik disk veya optik sinir başı olarak adlandırılır. Retina ganglion hücrelerinin aksonlarının toplandığı papilla, 1 mm uzunluğunda, 1.5 mm çapındadır (43). Pembemsi beyaz renkte olup, temporal kısım biraz daha soluk görünümündedir (43). Diskin orta kısmında, retinal arter ve venlerin girip çıktığı beyaz renkte fizyolojik bir çukurluk vardır. Bu görünüm genellikle simetrik olup, özellikle glokom tanısında bu çukurluk önem kazanır (43). Papillada sayıları 800.000-1.200.000 arasında değişen sinir lifi vardır (43, 137). Optik sinirin başlangıç yeri olan papilla, a) sinir lifleri katı, b) prelaminer, c) laminar ve d) retrolaminer olmak üzere 4 bölümden oluşmuştur (43, 137).

a) Sinir lifleri katı

Ganglion hücrelerinin aksonları papillada toplandıktan sonra dik açı yaparak prelaminer bölgeye yönelirler (137). Lifler miyelinsiz olup retinaya bitişiktirler (137).

b) Prelaminer bölge

Ganglionların aksonları ön kısımda bölgenin % 90'ını kaplarlar (137). Daha sonra, arkaya doğru bağ dokusu çoğalır ve aksonların oranı azalır. Retina santral damarları glial kılıf içindedirler ve prelaminer bölge koroid ile komşudurlar (137).

c) Laminer bölge

Burada skleranın kollajen ve elastik lifleri, sinir lifleri demetleri arasına girerek lamina cribrosayı oluştururlar. Kalınlığı 0.25 mm ile 0.75 mm arasında değişir (137). Aksonlar burada da miyelinsiz olup, laminar bölge skleraya bitişiktir (43, 137).

d) Retrolaminer bölge

Optik sinirin başladığı bu bölgede aksonların miyelinleşmelerinden dolayı çap 3-4 mm'ye çıkar (43, 137).

2-Orbita içi bölümü

Göz küresi ile optik foramen arasındaki bu bölüm 25 mm'dir ve optik sinirin en uzun kısmıdır (137). Optik sinir, orbita içinde rektus kaslarının oluşturduğu "koni" içinde seyrederek Göze hareket kabiliyeti verebilmek için bu bölümde önde içe, arkada dışa konveks "S" harfi görünümündedir (43, 137). Göz küresindeki 9 mm'lik ekzoftalmi optik siniri düz çizgi şekline dönüştürür (137). Sinir lifleri lamina cribrosadan sonra miyelinleşmesinden dolayı optik sinir çapı 3-4 mm'ye ulaşır (137). Orbita içi bölümde optik sinir çevresinde dura, araknoid ve pia kılıfları vardır. Dura kılıfı optik foramende orbita periostuyla devam eder (43, 137).

3-Optik foramen içi

7 mm uzunluktaki optik foramen içi veya kanalikül içi bölümünde optik sinirin üstünde sfenoidin küçük kanadı, içte sfenoidin gövdesi, dışta sfenoidin her iki kanadı vardır (43,137). Bazı kişilerde iç ve alt kısımlarda sfenoid sinüsü içinde seyrederek (43, 137).

4-Kranyum içi bölümü

Optik sinirin bu bölümü 1 cm uzunluğunda olup, hipofiz ve kavernoöz sinüs üstünde seyrederek ve dışta karotis interna ve oftalmika arteri vardır. Optik sinir kiyazmada sonlanır. Kranyum içinde optik sinirin dura ve araknoid kılıfları beyninkilerle devam etmekte, optik sinir çevresinde ise sadece pia vardır (43, 137).

Optik sinir içinde görme impulslarını taşıyan liflerle ışık refleksinin afferent yolunu oluşturan pupiller lifler bulunmaktadır (43, 54). Optik sinir içinde sinir lifleri transvers kesitlerde poligonal alanlar şeklinde, uzunlamasına kesitlerde birbirine paralel demetler halindedir (43, 54). Bu lifler kollagen ve elastik liflerden meydana gelen bir bağ dokusu septumları ile (fibrovasküler pial septalar) birbirinden ayrılmıştır (43, 54). Burada optik sinirin pial damarları bulunur ve ayrıca beyin ve medulla spinaliste olduğu gibi, fibröz astrosit ve oligodendrositlerden oluşan nöroglial bir doku bulunur (43, 54). Mezodermal orjinli mikroglia tabakası da bu duruma eşlik eder (43, 54).

Nazal retinadan gelen sinir lifleri, optik sinirin medial kısmında, papillomaküler lif demeti ise lateral kısmında yer alır (43). Temporal retinanın lifleri, papillomaküler demet tarafından üst ve alt iki kısma ayrılır ki, bunlarda sinirin alt ve üst kısımlarında seyreder (43). Optik sinirin daha ileri kısımlarında temporal lif demetleri birbirine yaklaşır ve santral arterin optik sinire girdiği hizada maküler lifler sinirin ortasına geçerler (43).

3.1.3. Optik sinir vaskülaritesi

Optik sinirde bilhassa optik sinir başında (optik disk, papilla) damarlanma çok önemlidir. Optik diskin beslenmesinin çoğu A. karotis interna'nın bir dalı olan A. oftalmika'dan çıkan sayıları 8-12 arasında değişen kısa silier arterlerle sağlanır (43, 54, 137). Optik sinirin iki tarafında sklerayı delip koroide kan verimi sağlayan bu arka kısa silier arterler koroid damarlarını yaptıktan sonra lamina cribrosa çevresinde Zinn arteriyel halkasını meydana getirirler. İşte lamina cribrosa bölgesi Zinn'in arteriyel halkasının ince dallarından ve ayrıca direkt olarak kısa silier arter dallarından, prelaminar bölge: peripapiller koroidal damarlardan beslenmektedir

(43, 54, 137). Ayrıca, optik sinirin beslenmesine santral retina arterinin sinir içindeki intranöral alanları ile pial damarlarda katkıda bulunmaktadır (43, 54, 137). Optik sinirin ve bilhassa optik diskin bu çok yönlü arteriyel kanla beslenmesinin, her türlü vasküler patolojiden dolayı kolaylıkla etkilenebildiğini bize göstermektedir. Optik sinir orbita bölümü venaları pial venalara dökülürler (43, 54, 137).

3.1.4. Optik Sinir Fizyolojisi

3.1.4.1. Akson Taşımacılığı

Retina ganglion hücresinin akson uzunluğu 75 mm'dir (137). Aksonlar, optik sinir, kiyazma ve optik traktüsü oluşturduktan sonra corpus geniculatum lateralede sinaps yaparlar (137). Akson, hücre gövdesine göre 2500 kere daha uzundur (137).

Aksondaki aksoplazma, aksolemma ve sinapsların sentez yapma yetenekleri yoktur (137). Beslenmeleri ve metabolizmaları, hücre gövdesinde sentezleri yapılan, protein ve diğer moleküllerin akson boyunca taşınmasıyla gerçekleşir (137). Aksonal transport veya akson taşımacılığı adı verilen bu olay, hücre gövdesinden sinapsa doğru ortograd yol ile sinapsdan gövdeye doğru retrograd yol ile yapılır (137).

a) Ortograd akson taşımacılığı

Ortograd akson taşımacılığı, yavaş (0.5-5 mm/24 h), orta (5-400 mm/24 h) ve hızlı (400-1000 mm/24 h) olmak üzere 3 şekildedir (137). Yavaş ortograd taşımacılık büyük moleküllü proteinler içindir (137). Akson taşımacılığı hızı fetüste akson büyümesiyle aynıdır (137). Diğer yandan, yaşlanma ile hız dahada azalır ve aksonun gövdeden ayrılması ile yavaş ortograd taşımacılık durur (137). Hızlı taşımacılık küçük moleküllü materyaller içindir ve sinaptik fonksiyonların

gerçekleşmesi için kullanılır (137). Aksonun gövdeden ayrılması hızlı taşımacılığı etkilemez (137). Akson taşımacılığı için oksijen ve ATP'ye ihtiyaç vardır (137). Yerel anoksi, taşımacılığın durmasına neden olur. Taşıma anoksi geçtikten 6-7 saat sonra tekrar başlar (137).

b) Retrograd akson taşımacılığı

Hızı saatte 50-260 mm'dir (137). Retrograd akson taşımacılığı hücre gövdesinin periferik metabolik değişikliklerinden bilgilenmesini sağlar ve periferden gelen uyarılar hücre gövdesi ve dentritlerin metabolizmasını yönlendirir (137). Aksonal transport veya akson taşımacılığı, iskemi, iltihaplanma, sinir üstüne baskı gibi nedenlerle durur (137). Yerel anestezipler taşımacılığın kısa süre durmasına yol açarlar ve taşımacılığın durması, başlangıçta akson ödeme sonra da atrofiye neden olur (137). Retina ganglion hücrelerinden çıkan impulslar önce retinanın miyelinsiz kısımlarından geçer, burada ileti yavaş fakat devamlıdır (137). Optik sinir başında sinir miyelinlenir ve ileti giderek kesintili şekle dönüşür; çünkü miyelinli liflerden impulslar akson membranını yalnız nodüllerde uyarmakta, nodüller arasında uyarı meydana gelmemektedir (43, 137). Bir başka özellik de, uyarının liften life geçmesi için gereken zaman daha azdır ve böylece ileti hızı artar (43, 137). Hayvanlarda yapılan deneyler göstermiştir ki bu hız retina sinir liflerinde saniyede 1 m iken, optik sinir liflerinde saniyede 8 metreye kadar çıkabilmektedir (43, 137). Optik sinirde normalde bu şekilde olan ileti, patolojik durumlarda değişiklik gösterir (43, 137).

Optik sinir lifleri patolojik hallerde iki tür değişim gösterir (43):

1-Wallerian dejenerasyon: Burada hem miyelin hem de akson parçalanmış olup, hücrenin bizzat kendisine ait değişimler sonucu kesilen sinir liflerinin distal uçlarında baş gösterir (43).

2-Demiyelinizasyon: Burada akson sağlam, fakat miyelin bütünüyle harap olmuştur

Bunlardan birincisinde akson parçalandığı için ileti durmakta ve bu durum dejenerasyon meydana gelmesinden 24 saat sonra başlayarak 1 hafta içinde tamamlanmaktadır (43, 54). İkinci durumda, yani demiyelinizasyonda ise, büyük lezyonlar tam bir ileti bloğuna neden olurken, daha küçük lezyonlar sadece ileti hızını düşürürler, kesikli ileti ise tamamen durur (43,54). Demiyelinizasyon durumlarında, fonksiyonun tamamen durduğu tam söylenemez (43,54). Yavaş bir iletinin mevcut olması ağır bir demiyelinizasyondan sonra bile bir miktar görsel keskinliğin kalması ile açıklanabilir (43, 54).

3.1.5. Optik Sinir Hastalıklarında Patoloji

İster ön, isterse arka optik nöropati olsun, her ikisinde de aynı patolojik bulgulara rastlanabilmektedir (43):

1-Miyelin dejenerasyonu.

2-Lezyon civarındaki aksonlar ödemli olup, fonksiyonlarını kaybetmişlerdir.

3-Mikroglia hücrelerinin, kan damarları etrafında büyük kümeler oluşturdukları gözlenir.

4-Mikroglial hücrelerinin yerini ise giderek astroglialar alır, gliosis plakları meydana getirirler. Bu bulgular multipl skleroz için karakteristiktir (43).

5-Aksonlar büyük basılara karşı oldukça dayanıklı olup bir zaman sonra yeniden fonksiyone olabilirler.

3.1.6. Optik Sinir Fonksiyonlarının Ölçülmesi ve Değerlendirilmesi

1-Görsel keskinlik ölçümü: Uzak ve yakın görme ölçülür.

2-Renk görme muayenesi: Optik sinir ileti bozukluklarında renk görme hissi bozulur. Bu konilere gelen sinir liflerinin yavaşlayan iletiminden ekilenmesi ile açıklanabilir (43, 137).

3-Renk ve parlaklık şiddeti: Optik sinir lezyonları ışık duyarlılığında oldukça belirgin bir azalmaya neden olurlar ve hastada etrafındaki eşyaları daha donuk görürler veya odadaki ışıkların azaltılmış olduğunu ısrarla ifade ederler (43,137).

4-Maküler fotostres testi: Görme keskinliğindeki azalmanın makuladan veya optik sinirden kaynaklanıp kaynaklanmadığını ayırt etmek için uygulanır. Tek gözü ile 2-3 cm uzaklıktaki kuvvetli ışığa 10 saniye süreyle baktıktan sonra daha önce okuduğu yazı tekrar okutulur; optik sinir hastalıklarında normal olan 60 saniyeden az bir sürede gözün tekrar eski gücüne ulaşmasına karşılık, makula hastalıklarında bu süre 90-180 saniyeye kadar uzar (43,137).

5-Pupilla reaksiyonları

6-Görme alanı muayenesi

7-Funduskopik muayene

8-Elektrofizyolojik muayene (VEP): Papilla stazlı hastada atrofi yerleşmediği zaman VER'de herhangi bir değişim gözlenmezken, optik sinir hastalıklarında latansda uzama, amplitüdde düşme ve hatta ileri devrede silinmiş bir cevap dahi alınmaktadır (43, 137).

3.1.7. Optik Sinir Hastalıkları

1- Optik Sinirin Konjenital Anomalileri

- a) Optik sinir hipoplazisi
- b) Miyelinli sinir lifleri
- c) Kolobom
- d) Miyelinleşmede gecikme
- e) Papilla önü zar
- f) Optik disk drusen

2- Optik Nöropatiler

- a) Demiyelinizan ve dejeneratif hastalıklar
 - Multipl skleroz
 - Nöromyelitis optica (Devic hastalığı)
 - Schilder hastalığı
- b) Sistemik hastalıklar
 - Kollajen doku hastalıkları
 - Behçet hastalığı
 - Metabolik (diabet)
- c) Enfeksiyöz hastalıklar
 - Menenjit/ensefalit
 - Sifiliz
 - Toksoplazmozis
 - Herpes simplex, herpes zoster, CMV
 - Lyme hastalığı
 - HIV veya AIDS
 - Sinüzit
- d) İskemik optik nöropatiler
 - 1-Anterior iskemik optik nöropati

-Arteritik anterior optik iskemik nöropati (Dev hücreli arterit)

-Nonarteritik anterior optik iskemik nöropati

2-Posterior iskemik optik nöropati

3-Hemodinamik nedenlere bağlı iskemik optik nöropati

-Spontan veya travmatik hemoraji

-Hipotansiyon

e) Kompresif nedenler

-Optik sinir gliomları

-Optik sinir menenjiyomları

-Hipofiz adenomu

-Kraniofarenjiom

f) İnfiltratif nedenler

-Tümöral infiltrasyonlar (lösemi, lenfoma, sarkoid granülomu)

-İnflamatuvar veya infeksiyöz

g) Toksik nedenler

1-İlaçlara bağlı toksik optik nöropatiler

-Antitüberküloz ilaçlar (streptomisin, etambutol, izoniazid)

-Halojenli hidroksiquinolonlar

-Disülfiram

-Amiodaron

2-Radyasyon optik nöropati

3-Nutrisyonel optik nöropatiler

-Alkolik optik nöropati

-Tütün ambliopisi

-Pernisiyöz anemi

ğ) Herediter nedenler

1-Monosemptomatik herediter optik nöropatiler

- Leber'in herediter optik nöropatisi
- Dominant optik atrofi
- Konjenital resesif optik nöropati
- Otosomal resesif

2-Diğer nörolojik ve sistemik belirtilerle birlikte olan herediter optik nöropatiler

- OD progresif optik atrofi ve sağırılık
- OD optik atrofi, sağırılık ve oftalmopleji
- OD progresif optik atrofi, işitme kaybı ve ataksi (CAPOS sendromu)
- Herediter optik atrofi, progresif işitme kaybı ve polinöropati
- Herediter infantil optik atrofi (Behr sendromu)
- Progresif optik atrofi, juvenil diabetes mellitus, diabetes insipidus ve işitme kaybı (DİDMOAD /WOLFRAM sendromu)
- Progresif ensefalopati, ödem, hipsaritmi, optik atrofi (PEHO sendromu)

3-Herediter dejeneratif veya gelişimsel hastalıklarla birlikte optik atrofi

- Herediter ataksiler
- Herediter polinöropatiler
- Herediter musküler distrofi
- Mitokondriyal hastalıklar
- Depo hastalıkları ve çocukluk çağı serebral dejenerasyonlar
- Travmatik optik nöropatiler (43, 117, 137).

3.1.8. Toksik Optik Nöropati

Toksik optik nöropati, beslenme bozuklukları ile ilaç ve toksin zehirlenmelerinde ortaya çıkar (43, 137). Hastalık çift taraflı ve ilerleyicidir (43, 137). Görme alanında merkezi skotom vardır ve renk görmesi bozulmuştur (43,137). Göz dibi başlangıçta çoğunlukla normal iken ilerlemiş haftalarda keskin sınırlı papilla atrofi ortaya çıkar (43,137). Görsel uyartılmış potansiyel değerlerinde normale göre uzama saptanır (43, 137).

3.1.8.1. Alkolik Toksik Nöropati

Kronik alkoliklerde görülen, bilateral, ağrısız, progresif santral, sökosantral skotomlarla karakterizedir (43, 137). Optik disk normal görünümde olup hastalar tipik olarak görme alanlarının merkezindeki sislenme, bulanıklık, sigara dumanı gibi hislerden şikayet ederler (43, 137). Oftalmoskopik olarak temporal disk solukluğu mevcuttur (43,137). Böyle kişilerin proteinden yoksun beslendikleri ve pernisiyöz anemi oldukları, bu nedenle optik nöropatinin B1 (tiamin) ve B12 vitaminleri eksikliğinden ortaya çıktığı kabul edilmektedir (43, 137).

3.2. ALKOL

Alkol, doymuş karbon atomlarına bağlı hidroksil gruplarından oluşan bir organik bileşiktir (52, 80). Alkollü içeceklerde bulunan etil alkoldür (etanol) ve kimyasal yapısı $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ olarak gösterilir (52, 80). Alınan alkol mide-barsak sistemindeki (ağız, özefagus, mide, ince bağırsak) mukoza epitellerinden kolayca emilir. % 90'ı ince bağırsakların üst kısmından emilir (52, 80). Etanol suda kolay çözünebildiği için hızla kan dolaşımına katılarak tüm dokulara yayılır ve özellikle de su oranı yüksek dokulara daha kolay ulaşır (52, 80). Kan alkol yoğunluğu artarken gözlenen belirtiler, kan alkol yoğunluğu düşerken gözlenenlerden daha belirgindir, buna “Mallenby etkisi” denir (52, 80). Yağda çözünürlüğünde orta derecede olduğundan hücre zarlarını etkiler (52, 80). En üst kan alkol düzeyine ortalama 45-60 dakikada ulaşır ve midenin boş olması Emilimi hızlandırır (52, 80). Alkolün % 90-98'i karaciğerde oksidasyon yoluyla metabolize edilir (52, 80). Alkol dehidrogenaz (ALDH), mikrozomal etanol okside edici sistem ve katalaz tarafından asetaldehide oksitlenmektedir (52, 80).

Geri kalan % 2-10'luk kısım böbrekler, akciğerler ve ter yoluyla değişmeden atılmakta olup, bir saatte 10-34 mg/dl (ortalama 15 mg/dl) etanol metabolize edilebilir (18). Uzun süre alkol kullanan kişilerde enzim sistemlerindeki yoğunluk ve duyarlılık artışı nedeniyle metabolizma daha hızlıdır (18). Daha sonraki basamakta asetaldehid, yine karaciğer hücresi sitozol ve mitokondrilerindeki ALDH ile asetik asite, oradan da karbondioksit ve suya dönüştürülür (18). Bu süreç hızlıdır ve asetaldehid birikimini engellemekte olup koruyucu bir basamaktır (18). Çünkü asetaldehid toksik bir maddedir, yüksek düzeydeki asetaldehid histamin salınımına yol açar ve kan basıncı düşmesine ve bulantı ve kusmaya yol açar (18). Alkolün

metabolizması sırasında NAD/NADH oranındaki değişiklikler bedende fizyolojik düzeneklerin işleyişini bozmaktadır (18);

1. Sitrik asit (Krebs) döngüsü baskılanarak karaciğerde yağ asitleri oksidasyonu azalır, hiperlipemi gelişir ve karaciğer yağlanması ile sonuçlanır (18).

2. Laktat/pürivat oranı artar, hiperlaktikasidemi gelişir; laktik asidoza ikincil olarak hiperürisemi ortaya çıkar ve ürik asidin idrarla atılımı azalır (18).

3. Hepatik glukoneogenesis baskılanarak hepatik glikojen depoları azalır ve kan şekeri düşer (18). Akut alımda ise glikojen depolarından glikoza dönüşüm sonucu kan şekeri yükselebilir (18).

4. Serum lipoproteinleri ve trigliseridlerde artış olur (18).

Alkol (etanol) basit bir moleküldür ve vücuttaki bütün sıvı kompartımanlarına basit difüzyonla hızla yayılır, alımından kısa bir süre sonrada etkilerini göstermeye başlar (41). Günümüzde alkolün erişkin insanlardaki etkileri bilinmekle birlikte, etanolün özellikle embriyo gelişimine etkileri 1940'lara kadar üzerinde durulacak bir konu olarak değerlendirilmemiştir. Son 30 yıldır karakteristik anomali örnekleri FAS'nun yeniden tanımlanmasını sağlamıştır (41). Hamile kadınlar alkol aldığıında, alkol plasental fetal dolaşıma kolayca geçmekte ve fetus kanı konsantrasyonu, anne kanına eşit olmaktadır (41, 142). Alkolün hem embriyo gelişimine etki ettiği, hem de özellikle ilk trimestir ile ikinci trimestir ortalarına kadar olan dönemde fetus ve anne için ciddi bir risk taşıdığı literatürde bildirilmektedir (41, 56). Prenatal alkole maruz kalan sıçanlarda postnatal optik sinir hipoplazisi ve optik sinir miyelin liflerinde azalma olduğu gösterilmiştir (115). Alkol tüketiminin karaciğer ve karaciğer dışı dokularda oksidatif stresi indükleyerek lipid peroksidasyonuna yol açtığı, bu durumun kompleks ve interaktif bir süreç

olduğu ileri sürülmektedir (52, 82). Genellikle karaciğerde meydana gelen etanol metabolizmasının erken fazında tam oksidasyon ile açığa çıkan oksijen ve NO radikalleri, asetaldehit artışı, hücre içi redoks durumunu belirgin olarak değiştirmektedir (148). Ayrıca, etanol ve başlıca metaboliti asetaldehitin metabolize olamadığı diğer dokularda serbest radikal türlerinin oluşumuna yol açabildiği ve bu dokularda prooksidan etki sonucu alkolle ilişkili toksisite ve hasardan sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (80-81).

Alkol alımı vücutta oldukça toksik iki ayrı madde oluşumu ile sonuçlanmaktadır; asetaldehit ve lipid peroksidasyon sonucu malondialdehid (MDA) (80, 118). Her iki maddenin de çok belirgin bir serbest radikal hasarı ile sonuçlandığı iyi bilinmektedir (80). Daha önce gerçekleştirilen deneysel ve klinik çalışmalar göstermiştir ki, gebelik döneminde alkol alınır ise, yeni doğan yavrularda değişik teratojenik etkiler ve bazı konjenital anomalilerin ortaya çıkması söz konusudur (41, 56).

Etanol metabolizması sırasında karaciğerde aktivitesi oldukça artan ksantin oksidaz kendisi serbest radikal oluşumuna yol açtığı gibi, asetaldehit metabolizmasının da ksantin oksidaz veya aldehit oksidaz aracılığı ile serbest radikaller üretebilme potansiyeli vardır (62, 92).

Kronik alkol tüketiminde daha aktif hale geçen hepatik mikrozomal P450-2E1 enzim sistemi ve katalaz yolunun da O_2 , H_2O_2 ve 1-OH etil radikali gibi serbest radikallerin üretimi ile ilişkili olduğu ve serbest radikal üretimini artırdıkları bilinmektedir (62, 92). Kronik alkol kullanımı basit bir intoksikasyondan hayatı tehdit eden şiddetli metabolik bozukluklara kadar birçok patolojik durumla ilişkilidir. Alkol alışkanlığı olanlarda, demir fazlalığı kadar olmamakla birlikte

anemide sık gözlenmektedir (10, 94). Biyomembranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sıklıkla reaktif oksijen türevlerine maruz kalma ile oluşur ve hücresel fonksiyon değişimi veya hücre ölümüne yol açabilir (119). Lipid peroksidasyonun başlıca son ürünlerinden olan MDA oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır (119). Alkolün hem kimyasal hem de fiziksel olarak hücre membran hasarına yol açtığı bilinmekte olup, alkol araştırmaları etanol ile uyarılan biyokimyasal mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır (135).

Yapılan deneysel bir çalışmada; gebeliğin 7.-10. günlerinde % 25'lik etanolün intraperitoneal olarak sıçanlara verilmesi ile bu kritik gestasyonel dönemde kalıcı kraniyofasiyal defekte neden olduğu belirtilmiştir (55).

Akut maternal etanole maruz kalanlarda arka beyin ve kranial sinirlerde dismorfogenezis oluşmaktadır (33). Etanol hücre kaybına neden olmakta ve bu da kendisini, erken gelişim sırasında kranial sinir ve arka beyin gelişimini kötü etkilemektedir (33). Maternal alkol maruziyeti sonrasında değişik nörolojik gelişim anomalileri ile sonuçlanmakta ve kendini kognitif - sensorimotor disfonksiyon şeklinde göstermektedir (76). Prenatal etanole maruz kalınması ile nörotrofin reseptörlerin normal fizyolojik düzeyinde major bir değişiklik tüm beyinde olmaktadır (79). Bu kritik dönemde beyin anomalileri gelişimine neden olarak FAS oluşmaktadır (79).

Alkolik anneden doğan bir grup İsveç'li çocukların yarısında ve deneysel olarak pre ve postnatal alkole maruz kalan sıçanların optik sinirlerinde de hipoplazi gözlenmiştir (90).

FAS'lu çocuklarda strabismus, blefaroptozis, epikantus, katarakt, glokom, retinal ve optik sinir anomalileri oluşmaktadır (129). Yapılan deneysel bir çalışmada

etanole maruz bırakılan hayvanlarda kontrol gruplarına göre belirgin total akson sayısında, aksonal çapta azalma olduğu gözlenmiştir (129).

Yapılan başka bir deneysel çalışmada ise % 5'lik etanole gebelik öncesi, gebelik, laktasyon dönemi ve aynı zamanda yavru sıçanlarda % 5'lik etanole maruz bırakılan hayvanların optik sinirleri 21. gebelik gününde ve yavrularınki ise 4., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde ışık ve elektron mikroskobu ile incelendiğinde; pre ve postnatal etanole maruz kalanların optik sinirlerinin büyümesinde azalma olduğu ve miyelinlerde ise intralamellar inklüzyonların mevcut olduğu gözlenmiştir (89).

Gebe sıçanlara koitusun 12. günü % 25'lik ve 0.015 ml/gr dozunda intraperitoneal olarak etanol verilmesi sonrasında ve normal distile su verilen kontrol grubunda postnatal 2., 3. ve 5. haftalarda optik sinirler incelenmiştir (29). Deney grubunda, kontrol grubuna göre optik sinir büyümesinde belirgin gerileme olduğu tespit edilmiştir (29). Fakat, 5. haftada yapılan karşılaştırmada çok belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (29).

Düşük doz (% 4) etanole postnatal 5.-9. günlerde maruz bırakılan sıçanlar 10., 16., 22., 29. ve 90. günlerde elektron mikroskop ile optik sinirleri incelenmiştir (87). Sadece 10. gündeki incelemede etanole maruz kalan sıçanların optik sinir alanları ve miyelinizasyonlarında yavaşlama görülmüştür (87). Daha sonraki zamanlardaki incelemede etkilenme gözlenmemiştir (87).

Postnatal 4.-9. günler arasında sıçanlar düşük (etanol kan konsantrasyonu 171 mg/dl) ve yüksek doz (etanol kan konsantrasyonu 430 mg/dl) etanole inhalasyon yolu ile her gün 3 saat maruz bırakılmıştır ve gruplar 10. ve 30. günlerde incelenmiştir (48). 10. günde düşük doz etanola maruz bırakılan ve kontrol gruplarının optik sinirlerinde 145.000-165.000 akson ve bunlarında % 4 oranında miyelinize oldukları görülmüştür (48). Yüksek doz etanole maruz kalan hayvanların

optik sinirinde 75000 akson ve bunlarında % 2.8'de miyelinizasyon görülmüştür. 30. günde gerçekleştirilen incelemede ise yüksek doz etanola maruz kalanların % 77'sinde, diğer gruplarda ise % 98 oranında miyelinizasyon tespit edilmiştir (48).

Gebeliğin 10. ve 21. gününde etanol içirilen sıçanların yavrularının optik sinirleri 49. günde stereolojik olarak incelendiğinde, etanole maruz kalanların optik sinir alanlarında kontrol grubuna göre belirgin küçülme olduğu tespit edilmiştir (115). Miyelinli liflerde azalma olduğu, miyelinsiz liflerde ise etkilenme olmadığı gözlenmiş ve sonuç olarak küçük çaplı aksonal miyelin liflerinin sayısında etanole maruz kalanlarda azalma olduğu tespit edilmiştir (115).

Gebelikte kullanılan alkol abortus (düşük), ölüdoğum, bebekte gelişme geriliği, çeşitli baş-yüz gelişim kusurları ve zeka geriliği gibi istenmeyen durumların oluşmasına neden olabilmektedir (129). Gebelik döneminde kullanılan alkolün bebekte istenmeyen durumlar oluşturması alınan alkol miktarı ile doğru orantılıdır (29). Alkol anne kanından plasenta yoluyla direkt bebeğin kanına geçer ve anne kanındaki miktarla eşitlenir (41, 142). Gebeliğin erken dönemlerinde alınan alkol direkt olarak embriyo üzerine olan etkisiyle düşüğe, organ gelişimi döneminde hücreler üzerindeki etkileriyle çeşitli organlarda gelişim kusurlarına, gebeliğin ikinci trimestirinden itibaren hücre çoğalmasının hızlı olduğu dönemde hücrelerdeki toksik (zehirli) etkisiyle santral sinir sistemi hasarlarına neden olabilmektedir (41, 56).

3.3. MELATONİN

3.3.1. Anatomi

Pineal gland küçük, tek bir beyin uzantısı olup, posterior komissür ve dorsal habenular komissür arasında, üçüncü ventrikülün posterior duvarına yapışıktır. Boyutu ve pozisyonu türler içinde dahi farklılık gösterir (9). Pineal glandın vücut ağırlığına oranı, diğer türler ile karşılaştırıldığında insanda küçük bir orana sahiptir (9). Arteriyel beslenme, posterior choroidal arterler yoluyla olur, venöz dolaşım ise internal serebral venler yoluyla sağlanır ve çoğunlukla süperior servikal ganglion (SCG)'dan sempatik innervasyonu vardır (9).

3.3.2. Sentez Yerleri

1958 'de Aaron B Lerner tarafından tanımlanan melatonin pineal gland ve diğer bazı dokular tarafından üretilen bir hormon olup pinealosit sitoplazması içerisinde triptofandan bir seri enzimatik reaksiyon sonucunda sentezlenir ve plazmada proteinlere bağlıdır (63, 106, 132). Son yıllarda, diffüz nöroendokrin sistem (DNES)'e ait endokrin hücrelerinde de az miktarda melatonin sentezlendiği bildirilmiştir (68). Aynı şekilde, hematopoietik sisteme ait kemik iliği hücrelerinin de önemli bir melatonin sentez yeri olduğu gösterilmiştir (68). Ayrıca retina ve safra içerisinde de yüksek konsantrasyonda melatonin saptanmıştır (106). Pinealositlerde üretilen melatonin, hızlı bir şekilde bu hücrelerin komşuluğunda yer alan kapillerlere bırakılarak sistemik kan dolaşımına dağılır. Pineal glandda kan-beyin bariyeri olmadığı için, salgılanan melatonin direkt olarak sistemik kan dolaşımına ve serebrospinal sıvı içine karışır (106, 132).

3.3.3. Sentez Mekanizması

Göze gelen fotik stimülasyon sonucu retinohipotalamik traktuslar ile hipotalamusdaki suprakizmatik nukleus aktive olmaktadır (36). Sonra spinal kord yolu ile SCG'a gelen pre-ganglionik liflerde ganglion hücrelerine ait post-ganglionik sempatik lifler pineal stalk yolu ile pineal glanddaki pinealosit hücreleri ile sinaptik bağlantılar yapmaktadır (36). Pinealositler arasına norepinefrin salınımı ile onların sekretuar fonksiyonları başlatılmaktadır. Pineal gland ile sistemik dolaşım arasında kan-beyin bariyeri bulunmadığı için, kandaki triptofanın pinealositler kolayca ulaşabilmektedir (64).

Aktif transport ile pinealosit stoplazması içine alınan triptofandan 5-hidroksilaz enzimi etkisiyle 5- hidroksitriptofan oluşur (44, 125). Bu da, 5-hidroksi triptofan dekarboksilaz enzimi tarafından 5-hidroksi triptamin (serotonin)'e dönüştürülmekte ve N-asetil transferaz (NAT) enzimi etkisi ile N-asetil serotonine dönüşmektedir (36, 63, 99, 132). Sonra, N-asetil serotonin ise, hidroksi indol-O-metil transferaz (HIOMT) enzimi yardımı ile N-asetil 5- metoksitriptamin (melatonin) haline gelmektedir (36, 63, 99, 132).

Kural olarak, pineal glandda serotonin miktarı gündüz yüksek ve gece düşük düzeylerde iken, melatonin miktarı ise serotoninin tam tersi bir ritm göstermektedir. Gece pineal glanddaki serotonin miktarının azalmasının nedeni; melatonin sentez ve salınımının geceleyin artış göstermesidir. Buna göre, melatonin sentezinde; pineal gland ve retinada bulunan iki enzim önemli rol oynamaktadır: NAT enzimi ile HIOMT enzimi (58, 146). Bu enzimlerin salınımı gündüz ışıktaki azalması karşın, gece karanlıkta 100 kata ulaşan artma göstermektedir (64, 145-146) Melatonin salınımı yeni doğanlarda devam eden sinaptogenezis nedeniyle, ancak doğum sonrası ikinci haftanın sonunda erişkin ritmine ulaşmaktadır (146). Yapılan çalışmalarda, sempatik liflerin doğum sonrası 2. gün (P2)'de pineal glandı innerve

etmeye başladığını ve 16. gün (P16)'de erişkinlerde görülene benzer zengin bir nöral innervasyonun geliştiğini ve sinaptogenezisin tamamlanmış olduğunu ortaya koymuştur (44, 73). Pineal glandda kan-beyin bariyeri olmadığı için hiç şüphe yok ki, sistemik dolaşımdaki katekolaminlerden de kolayca etkilenmesi beklenir. Ancak, erişkinlerde komşu sinir terminallerinde pinealositleri böyle bir etkiden koruyan özel bir mekanizma mevcuttur (132). Bu koruyucu mekanizma denervasyon durumlarında ve yeni doğanlarda mevcut olmadığı için, pinealositler dış etkilere ileri derecede duyarlıdır. Böyle durumda sistemik dolaşımdaki katekolaminler pinealositleri kolayca stimüle edebilmektedir (132). Gündüz, pineal gland ve presinaptik terminallerde serotonin miktarı maksimum düzeyde olup, sürekli bir şekilde depolanmaktadır (132). Gece ise, suprakiazmatik nukleustan gelen uyarı sonucu postsinaptik aralıkta norepinefrin salınımı maksimum düzeyde olmaktadır. Norepinefrinin % 85'i postsinaptik pinealosit membranında bulunan beta adrenarjik resptörlerine ve geri kalan % 15'i ise alfa adrenerjik reseptörlerine bağlanmaktadır (128). Norepinefrinin hücre membranına bağlanması neticesi adenilat siklaz enzimi aktive olmakta ve oluşan cAMP ile melatonin sentezinde rol oynayan NAT enzimi aktifleşmektedir (145). Bu da melatonin sentezinde önemli ölçüde bir artışa neden olmaktadır. Eğer hem alfa ve hemde beta adrenerjik membran reseptörleri stimüle olursa, cAMP miktarı ve melatonin sentezinde artış olmaktadır (128, 130). Pinealositlerde üretilen melatonin, çok hızlı bir şekilde bu hücrelerin komşuluğunda yer alan kapillerlere bırakılmak suretiyle sistemik kan dolaşımına karışmaktadır (36). Melatonin lipofilik özelliği nedeni ile vücuttaki tüm doku ve sıvılara kolayca dağılmaktadır. Pineal glandda kan-beyin bariyeri olmadığı için salgılanan melatonin direkt olarak sistemik kan dolaşımı ve serebrospinal sıvı içine karışmaktadır. En çok kabul gören hipoteze göre; pineal gland içinde sentezlenen melatonin önce Galen

veni içine ve sonra sağıtal sinüs ve juguler ven yolunu izleyerek kalbe ulaşmaktadır (132, 144). Karotid arter yoluyla da spinal kord ve beyin dokusundaki nöral yapılara ulaşmaktadır (132, 144). Diğer bir hipoteze göre ise; ventrikül sistem içindeki serebrospinal sıvı aracılığı ile beyin ve spinal kord gibi nöral yapılarda yer alan hedef dokulara ulaşmaktadır (132, 144).

Klinik bu tablonun sonucu olarak, ya deneysel olarak sempatik sinirlerin kesilmesi, ganglionektomi ya da pinealektomi durumlarında melatonin sentez ve sirkadiyen salınım ritminin bozulması sonucu, geceleyin pineal gland ve sistemik dolaşımdaki melatonin düzeyinde artış olmamaktadır (75, 128).

3.3.4. Sirkadiyen Salınım Ritmi

Melatonin sentez ve salınımı “ışık miktarı” ile yakın bir ilişki göstermektedir. Gece maksimum düzeyde ve gündüz ise minimum düzeydeki seyri ile karakterize “sirkadiyen salınım ritmi” göstermektedir (124, 134). Laboratuvar da fotik stimölasyon uygulanan hayvanlarda karanlığın başlamasından 8 saat sonra melatonin düzeyi maksimum değerine ulaşmaktadır (132). Sistemik kan dolaşımı, pineal gland, serebrospinal sıvı, idrar ve hücre içindeki melatonin konsantrasyonu geceleyin, gündüz ölçülen melatonin düzeyinin 10 katına kadar ulaşabilen bir artış göstermektedir (36, 144). Melatonin salgılanması, akşam başlamakta, gece yarısı maksimum düzeyine ulaştıktan sonra sabah azalma göstermektedir (132). Sistemik kan dolaşımındaki günlük sirkadiyen melatonin ritmi tamamen pineal glanddan salgılanan melatonin ile ilişkilidir. Normal insan melatonin ritminin birey içerisinde değişmezliğe rağmen, bireyler arasında ritmin amplitüdü açısından çok büyük bir değişkenlik vardır (8).

Doğumdan kısa süre sonra vücut sıvılarında çok az melatonin ya da 6-hidroksimelatonin (6-HMS) ölçülebilmektedir. Melatonin ritmi hayatın 6.-8.

haftasında ortaya çıkmaktadır (28). Melatoninin plazma konsantrasyonu ilerleyen yaşla hızla artar ve ortalama 3-5 yaş civarında pike ulaşır (28). Artış gece daha yüksek olur ve pubertadan önce belirgin bir düşüş gözlenir (51). 35-40 yaşlarına kadar bu değerler rölatif olarak değişmeden kalır ve ileri yaşlarda amplitüdde nihai bir düşüş olur (51). Gece ne kadar uzun olursa, melatonin salgılanması o kadar uzun sürer (7). Kısa süreli ama yeterli miktarda ışık maruziyeti melatonin salgısını baskılar (28). İnsanlarda geceleri melatonin salgısını baskılayacak doz 2500 lux.'tür ve en etkilisi yeşil ışıktır (28). Bazı canlı türlerinde melatonin plasentayı geçer ve anneye yapılan enjeksiyonlar postnatal reproduktif gelişimini sağlayabilir (139). Yaşları 1-18 arası 38 çocukta melatonin konsantrasyonu kıyaslanarak yapılan bir çalışmada nokturnal melatonin konsantrasyonunun yaş ilerledikçe azaldığı saptanmış ve bu düşüşün büyük ölçüde ergenlik gelişimiyle ilgili olduğu ve bebeklikten itibaren başladığı vurgulanmıştır (11).

3.3.5. Suprakiazmatik Nukleus-Pineal Gland İlişkisi

Suprakiazmatik nukleus, pineal gland içinde yer alan sempatik sinir uçlarından norepinefrin salınımı üzerine düzenleyici bir etki göstermek suretiyle pineal gland içindeki endojen melatonin yapımını etkilemektedir (146). Norepinefrin bu etkisini yukarıda belirtildiği şekilde, pinealosit membranları üzerinde yer alan reseptörleri stimüle etmek suretiyle göstermektedir (146).

3.3.6. Yaşlanmanın Etkisi

Melatonin sentez ve salınımı 'yaş' ile yakın bir ilişki göstermektedir. Yaşlanma ile melatonin sentez ve salınımında azalma olmaktadır. Yine günlük sirkadiyen salınım ritmide bozulmaktadır (15, 102). İnsanlarda melatonin salınımı adölesan çağda maksimum düzeyine ulaşmakta ve giderek azalarak yaşlılarda

minimum düzeyine inmektedir. Erişkin bir insanda geceleyin ölçülen serum melatonin düzeyi 50-70 pg/ml' dir (132). Yapılan çalışmalarda melatonin düzeyinin 1-3 yaşlarında maksimum değerine (330 ± 40 pg/ml) ulaştığı ve 70-90 yaşlarında ise minimum düzeyine (30 ± 5 pg/ml) indiği saptanmıştır (132).

Yaşlılarda günlük sirkadiyen salınım ritmi tama yakın kaybolmakta ve geceleyin melatonin düzeyinde artık artış olmamaktadır (102, 132). Deney hayvanlarında hayvan yaşlandıkça sirkadiyen ritminin bozulduğu, gündüz ve geceye ait serum melatonin düzeylerinin hemen hemen eşit bir hale geldiği saptanmıştır (121, 132). Yine, yeni doğan sıçanlarda da pineal glanddan çok az miktarda melatonin salgılandığı bildirilmiştir (132). Yaşlanma sonucu suprakiazmatik nukleusta saptanan bir takım morfolojik ve kimyasal değişikliklere bağlı olarak serum melatonin, büyüme hormonu ve testosteron düzeyleri düşme göstermektedir (70). Oluşumundan serbest radikallerin sorumlu tutulduğu bir çok santral sinir sistemi hastalığı (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı v.b), ateroskleroz ve immün sistem hastalıklarına melatonin sentez ve salınımının azalma gösterdiği yaşlılık döneminde rastlanmaktadır (15, 74, 132).

Bu durum sözkonusu hastalıkların etiyolojisinde melatonin nörohormonunun sorumlu olabileceği hipotezini doğrulamaktadır. Bu nedenle, klinikte bu hastalıkların tedavisinde melatonin kullanımı tavsiye edilmektedir (15, 132).

3.3.7. Melatonin Metabolizması

Pineal glanddan sistemik kan dolaşımına verilen melatoninin 2/3'ü albumine bağlı ve geri kalan 1/3'ü ise serbest olarak taşınmakta olup, primer olarak karaciğerde ve sekonder olarak da böbrekte metabolize olmaktadır (102, 132). Karaciğerde, melatonin öncelikle hidroksilasyon ve konjugasyon ile metabolize

edilir (63). Karaciğerde melatonin mikrozomal enzimler tarafından 6-HMS dönüştürülerek deaktivasyon - detoksifikasyona uğratılmakta ve idrarla atılmaktadır (132). Sirozlu hastalarda eliminasyon yarılanma ömrü iki kat artar ve temizlenme beş kat azalır (63). Dışardan 2.5-100 mg dozunda verilen melatoninin oral biyoyaralanımı % 40-70'dir (63). 80 mg oral doz ile en yüksek plazma konsantrasyon zamanı 60-150 dk'dır (63). Eliminasyon yarı ömrü 20-70 dk'dır (63). İnsanlarda eksojen melatoninin ise bir metabolik yarı ömrü 20-60 dk, büyük bir hepatik geçişi etkisi vardır (67). Bir çalışmada deneklere iv. melatonin verilerek serum ve tükürükteki melatonin düzeyleri ile idrardaki 6-HMS düzeyi ölçülmüş, puberte öncesi çağıdaki çocukların melatoninini yetişkinlere göre daha hızlı metabolize ettikleri saptanmıştır (20). Tüm çalışma genelinde serum ve tükürük melatonin değerleri arasındaki oranın denekler arasında 55 kata varan değişiklikler sergilediği gözlenmiştir (20). Bu farklı oranlar farmakokinetik çalışmalarda melatonin kullanırken dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir. Normal insanlarda melatonin gece salgılanmakta ve postmortem çalışmalarda melatonin düzeyinin gece ölen kişilerde daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (89). Yetişkinlerde, ortalama plazma melatonin seviyesi 60-70 pg/ml ve başlıca metaboliti olan 6-HMS'nin maksimum plazma konsantrasyonu 80-100 pg/ml arasındadır (89). Plazma melatonin konsantrasyonu gece saat 02:00 ile 04:00 arasında pik değerlerine ulaşır (89). Erişkinde sekresyon genelde saat 21:00-22:00 arası başlar, saat 07:00-09:00 arası sona erer (89). 6-HMS'nin ortaya çıkış ve pik düzeye ulaşma zamanı bu sürelerden 1-2 saat, sabah düşüşü ise 3-4 saat geç olur (89). İnsanda 6-HMS'nin % 70-80'i gece idrarında (24:00-08:00) atılır (89).

3.3.8. Melatonin Reseptörleri

Melatonin hormonu hedef dokulardaki etkisini, bu dokularda yer alan spesifik reseptörler aracılığı ile göstermektedir. Hedef doku nöral bir yapı (beyin, retina, hipofiz vb.) ya da ekstra-nöral bir yapı (tiroid, timus, dalak, eritrosit, plasenta v.b) olabilir (68, 132). Reseptörlerinde melatonine benzer bir şekilde sirkadiyen bir ritim ile fonksiyon gösterdiği saptanmıştır (102). Yine, hücre membranındaki melatonin reseptörlerine ilaveten nukleusda da benzer reseptörlerin yer aldığı ve DNA üzerinde bir etki oluşturduğu ileri sürülmüştür (125, 132). Melatoninin bu güne kadar saptanabilmiş spesifik bir antagonisti yoktur (131). Melatonin reseptörleri; Mel-1a, Mel-1b ve Mel-1c olmak üzere üç tiptir (131). Mel-1a reseptör geni insan kromozomunda 4q35.1 lokalizasyonunda kodlanmıştır (131). Ekspresyonu suprakiazmatik nukleus ve pars tuberaliste sınırlıdır (131). Sirkadian ve reproduktif etkilerinin bu reseptör aracılığı ile gerçekleştiği düşünülür (131). Mel-1b reseptör geni insan kromozomunda 11q21-22 bölgesinde kodlanmıştır (131). Beyin ve retinada eksprese olur ve her iki bölgede de dopaminerjik fonksiyonlar ile ilişkili olduğu düşünülür (131). Mel-1c geni ise insanda saptanmamıştır (131).

3.3.9. Mevsimsel Reprodüksiyonda Melatoninin Rolü

Memelilerde dış ortamda gün uzunluğunun değişim gösterdiği mevsimlere uygun olarak fertilite-infertilite evreleri değişim göstermektedir (105). Bazı hayvanlar günlerin uzadığı mevsimlerde, diğerleri ise günler kısaldıkça çiftleşmekte ve çiftleşme mevsiminde hem hipofiz glandı ve hemde gonadların aktivitesi artmaktadır (105). Hipotalamus'ta yer alan suprakiazmatik nukleusları tahrip edilen hayvanlarda, çiftleşme koordinasyonu bozulmaktadır (105). Canlılarda, hipotalamohipofizer sistem pineal glandın etkisi altındadır ve bu haliyle pineal gland oldukça hassas ve karmaşık bir yapı gösteren 'biyolojik bir saat' gibi çalışmakta ve

dış ortamdan gelen fotik stümulasyona uygun olarak hormonal bir aktivite göstermektedir (104-105, 124).

3.3.10. Endokrin Hormonlar ile Melatonin Salınımı İlişkisi

Pineal gland, organizmadaki endokrinolojik aktiviteyi sürdüren hipofiz, tiroid, adrenal glandlar, gonadlar üzerinde ‘düzenleyici bir üst merkez’ konumundadır (134). Bu nedenle bu endokrin organlarla ilişkili patolojilerle yakın bir ilişki göstermektedir.

3.3.11. Hipofizektomi

Sıçanlarda hipofiz glandının cerrahi olarak çıkarılması, hem NAT enzimi aktivitesini ve hemde pineal gland içindeki melatoninin gündüz düzeyi üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır (132). Diğer yandan, gece ölçülen melatonin düzeylerinde % 50’ye yakın bir düşmeye yol açmaktadır (132).

3.3.12. Tiroidektomi

Tiroid glandın cerrahi olarak çıkarılması sonrası pineal NAT enzimi düzeyinde herhangi bir değişme olmamakta ve melatonin düzeylerinde de hafif bir azalma ortaya çıkmaktadır (132). Böylece tiroidektominin melatonin sentezi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı açıktır.

3.3.13. Adrenalektomi

Yapılan çalışmalar adrenal glandın geceleyin melatonin düzeyinde bir artış ortaya çıkması üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur (132).

3.3.14. Gonadektomi

Gonadları çıkarılmış sıçanlarda, serum melatonin düzeylerinde önemli ölçüde bir artma olduğu saptanmıştır (85). Ancak gonadektominin pineal melatonin

sentezi üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı kabul edilmektedir (132). Gonadları çıkarılmış sıçanlardaki yüksek melatonin düzeyinin bulunması pineal dışı bir kaynaktan (retina vb.) da melatonin yapımının söz konusu olduğunu düşündürmektedir.

3.3.15. Melatoninin Serbest Radikal Giderici Etkisi

Pineal gland ve diğer bazı dokular tarafından üretilen bir hormon olan melatonin biyolojik antioksidantlar sınıfına dahil edilmiştir (1). Melatoninin klinik uygulamaları, biyolojik ve fizyolojik fonksiyonları bir çok çalışmada açıklanmış olup, son yıllarda özellikle antioksidan özelliği üzerinde çok çalışılmıştır (13, 88, 107). Melatonin, antioksidan özelliği nedeniyle çeşitli organların fonksiyonlarını düzenleyen önemli bir nörohormondur (53, 123). Melatonin özellikle oksijen kökenli serbest radikallere karşı antioksidan aktivite sergilemekte; örnek olarak OH radikallerini hızla ortadan kaldırmaktadır (13). Aerobik solunum esnasında, kullanılan oksijenin % 1'i serbest radikal adı verilen ve ileri derecede reaktif olan, OH, H₂O₂, O₂ radikalleri adı verilen toksik maddeler oluşmaktadır (70, 132). Bu radikallerin OH radikali, hücre zarında bulunan membran fosfolipidleri ile lipid peroksidasyonu adı verilen bir reaksiyona girerek MDA adında ürünün oluşmasına neden olmaktadır. "Oksidatif stres" adı verilen bu reaksiyon sonucu, hücre membranının stabilitesi bozulmakta ve hücre içinde fazla miktarda kalsiyum birikmesi sonucu hücre ölümü oluşmaktadır (70, 86, 91, 125, 132). Öte yandan, vücutta serbest radikallerin neden olduğu değişik toksik durumların düzeltilmesi için enzimatik (sitokrom oksidaz, katalaz, glutatyon peroksidaz vb.) ya da non-enzimatik (vit E, C, A vb.) antioksidanlar görev yapmaktadır (86, 107, 125).

Melatonin de organizma için en zararlı radikal olan OH radikalini ve böylece de lipid peroksidasyon reaksiyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır (104, 107,

121). Vücutta her yoldan uygulanabilen hızla absorbe olabilen ve ileri derecede lipofilik özelliği nedeni ile melatonin tüm dokulara kolayca difüze olabilen bir maddedir. Serbest radikal giderici etkisi için herhangi bir membran reseptörü bağlantısına ihtiyaç göstermediği iddia edilmektedir (100, 132). Bu nedenle, melatonin diğer serbest radikal giderici antioksidanlardan çok daha güçlü bir madde olup, antioksidan özelliği glutatyondan 5 kez daha etkindir (132). Melatonin hem hücre membranı ve hem de hücrenin nukleusunda serbest radikallerle karşı sürekli bir şekilde savaş halindedir (132). Melatoninin oksidatif strese maruz bırakılan eritrositlerin içine girmek suretiyle hücreyi koruduğu saptanmıştır (13). Yine NO ve lipid peroksidasyonu da melatonin verilerek suprese edilebilmektedir (13). İskemi-perfüzyon durumlarında da serbest radikal ve lipid peroksidasyon oluşumunun melatonin verilerek önemli ölçüde azaltıldığı saptanmıştır (132). Melatonin ayrıca iyonize radyasyon ve güçlü egzersize bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif strese karşıda etkilidir (103). Melatonin, detoksifikasyonda görev yapan enzimlerden birisi olan GSH-Px aktivitesinde artışa yol açarak organizma için en zararlı radikal olan OH radikalini ortadan kaldıran ve böylece lipid peroksidasyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır (86, 107).

3.3.16. MELATONİNİN KLİNİK ETKİLERİ

3.3.16.1. Rejenerasyon Üzerine Olan Etkisi

Melatonin hormonunun antioksidatif özelliği beyin, spinal kord ve optik sinirde gösterilmiştir. Melatonin doku rejenerasyonu üzerine olan olumlu etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla değişik doku türleri kullanılmıştır (147). Melatonin, doku rejenerasyonu ve hücresel mitotik aktivite üzerine hızlandırıcı bir etki göstermektedir (32). Diğer yandan, pinealektomi uygulanan hayvanlarda doku

kollajen içeriğinde artış olduğu ve melatonin verilince ise kollajen yapımı suprese olduğu bildirilmiştir (32). Deneysel nörodejenerasyon modellerinde, eğer hayvana melatonin verilirse, serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonun engellenmesi sonucu dejenerasyon gelişmesi önlenmektedir (58, 132)

3.3.16.2. Nöroprotektif Etkisi

Melatonin beyin fonksiyonları üzerinde depresif bir etki gösterdiği saptanmış olup analjezik etkiside ileri sürülmektedir (34, 132). Yine, antioksidotoksik bir etki göstermesi nedeni ile nöroprotektif bir özelliğe sahiptir. Öte yandan, gama amino bütirik asit (GABA) üzerinden etki etmek suretiyle homeostatik sistem kontrolünde de rol aldığı düşünülmektedir (13, 86, 99,132). Melatonin, hem OH hemde peroksil radikallerini giderici antioksidan özelliğine bağlı analjezik, antikonvülsif ve depresif etkileri ile nöroprotektif bir ajandır (13, 86, 99, 132). Antioksidatif ve nöroprotektif özellikleri, melatoninin beyinde bulunan lipidlerin oksidatif hasarına bağlı olarak oluşan nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir (13). Ayrıca, melatoninin antiinflamatuvar etkisine bağlı olarak serbest radikaller aracılığıyla oluşan inflamatuvar cevap ve bununla ilişkili doku hasarını azalttığı ileri sürülmüştür (106).

3.3.16.3. Antitoksik Etkisi

Safrol adı verilen maddenin karaciğer üzerindeki toksik etkisinin melatonin verilerek önlenmesi mümkün olmuştur (132). Geceleyin uygulanan safrolun toksik etkisinin, gündüz verilen safrole göre daha az olduğu tespit edilmiştir (132). Pinealektomi uygulanmış sıçanlarda ise, melatonin düzeyinin düşmesi ve gece-gündüz salınım ritminin bozulması nedeniyle safrolun neden olduğu hasarda artış olduğu gözlenmiştir (132).

3.3.16.4. Uyku Ritmi Üzerine Düzenleyici Etkisi

İnsanlarda, melatonin sirkadiyen ritmi düzenleyici rolü nedeniyle, özellikle körlerde uyku ritminin düzenlenmesi ve jet lag semptomlarının giderilmesi gibi bazı klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (64, 132).

3.3.16.5. Kemik Yapımı Üzerine Olan Etkisi

Yapılan deneysel çalışmalarda, melatoninin osteoblastik aktiviteyi stimüle ettiği saptanmıştır (114). Klinik olarak, postmenapozal dönemdeki kadınlarda osteoporoz gelişmesi nedeninin serum melatonin düzeyindeki düşüş olduğu ileri sürülmüştür (114). Yaşlılarda, radyolojik olarak saptanan pineal kalsifikasyon nedeniyle serum melatonin düzeyinde bir düşmenin ortaya çıkması sonucu osteoblastik aktivitenin azalması muhtemeldir.

3.3.16.6. İmmün Sistem Üzerine Etkisi

İmmunitede rol oynayan değişik komponentlerin köken aldığı kemik iliğindeki hemapoietik hücreler sürekli bir şekilde çoğalarak farklılaşmaktadır (13). Değişik oksidatif stres durumlarında, kemik iliği ve dolayısı ile immün sistem zarar görmektedir (13). Kemik iliği hücrelerinde fazla miktarda melatonin bulunduğu ve immün hücrelerin zarar görmesini önleyici bir koruyuculuk görevi ve immün güçlendirici etkiye sahip oldukları saptanmıştır (13, 106). Septik şok durumlarında görülen immünite bozukluklarının da melatonin verilerek düzeltildiği saptanmıştır (132).

3.3.16.7. Antikanserojen Etki

Melatonin birçok biyolojik mekanizmalar ile antikanser (kanseri önleyici) bir etkiye sahiptir (69). Bu özellik; antiproliferatif etki, kanserli hastalarda immünitenin güçlendirilmesi, bazı onkogenlerin ekspresyonunda artış, antienflamatuar,

antioksidan ve antianjiogenik etki gibi yararlı etkiler sonucudur (69). Bazı klinik çalışmalar göstermiştir ki, melatonin kanser hücrelerinin üremesinde inhibisyona yol açmaktadır (69). Bunlara ilave olarak, melatonin antikaşektik etki, trombopoietik aktivite ve ayrıca kemoterapötik ajanlara bağlı olarak meydana gelen diğer bazı yan etkilerin azaltılması gibi etkilere bağlı olarak kanser hastalarında palyatif tedavide faydalı olabilir (69). Kanserli hastalara melatonin verilmek suretiyle, hastanın immunitésinin güçlendirilmesi sonucu kanserin ilerlemesinin durdurulabileceği ileri sürülmüştür (132).

3.3.16.8. Antiepileptik Etkisi

İntrakortikal olarak demir enjeksiyonu uygulamak suretiyle oluşturulan deneysel epilepsi modellerinde, hayvana melatonin verildiği zaman serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonun engellenmesi sonucu epileptik deşarj gelişmesi önlenmektedir (58, 132). Buradaki mekanizma, melatoninin antioksidatif etkisi nedeniyle epileptiform aktivitenin ve nöbet oluşumunun bertaraf etmesinden dolaydır (58).

3.3.16.9. Hipotermik Etkisi

Hem hayvanlarda hemde insanlarda, eksojen melatonin verilmesi sonrası canlıda hipotermi geliştiği saptanmıştır (65). Bu etkisi sayesinde metabolizmanın ve enerji tüketiminin yavaşlatılması mümkün olacaktır.

3.3.16.10. Melatoninin İstenmeyen Yan Etkileri

Melatonin, yapılan çalışmalarda çok yüksek dozlarda (300 mg/kg/günü aşan) ve yıllarla ifade edilen uzun süreli kullanımlarda bile az yan etkisinin olduğu ve genel olarak iyi tolere edildiği saptanmıştır (63, 132). Bu özelliği ile klinik

uygulamalar için önemli bir avantaj sağlayacaktır. Melatonin alındıktan sonraki gün taşikardi ve baş ağrısı ile bir miktar uyuşukluk bildirilmiştir (63). Psikoz ve hareket bozukluğu bildiren sporadik vakalar da vardır (63). Yapılan bir çalışmada melatoninin hipokampusdeki piramidal nöronları istenildiği gibi düzenleme kabiliyeti olduğu gösterilmiştir (35). Melatoninin antioksidatf etkisi beyin, spinal kord, optik sinir ve spinal kordun beyaz cevherinde gösterilmiştir (59). Bu çalışmada; melatoninin beyinde değişik koruyucu etkisi olduğu, en güçlü etkininde spinal kordun beyaz cevherinde olduğu gözlenmiştir (59). Melatonin antioksidan etki ile zararlı etkileri azaltmak suretiyle olumlu etkilere sebep olmaktadır (40). Tek doz melatoninin alkolün uyku verici etki süresini kısalttığı, alkolün farelerde neden olduğu hiperaktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (27).

Etanol, pineal glandda melatonin sentezini stimüle eden norepinefrin'in etkisini inhibe etmektedir (23). Diğer taraftan etanol distalde cAMP sentezini arttırmak suretiyle etki göstermektedir (23). Etanol, gece salgılanan melatonin düzeyini de inhibe etmektedir (110).

3.4. GÖRSEL UYARILMIŞ POTANSİYELLER (VEP)

Görsel uyarılmış potansiyeller (visually evoked potentials-VEP), görsel uyarılmış kortikal potansiyeller (visually evoked cortical potentials-VECP), görsel uyarılmış yanıt (visually evoked response-VER) aynı anlamda kullanılan tanımlardır. Bunlar arasından ise, VEP en çok taraftar bulan bir uyarılmış potansiyel çalışmasıdır (113).

Optik uyarılar sağlam uyanık insanda duysal algılamalara neden olur. Nörofizyolojik olarak ilk kez 1934’de Adrian ve Matthews adlı araştırmacılar ı ışık uyarılar uygulandıktan sonra oksipital EEG’de eşit frekansta potansiyel değişimler olduğunu göstermişlerdir (57).

VEP, görme yollarının gözden başlayarak beyine kadar olan mesafedeki olayların görsel uyarı verilerek incelenmesi esasına dayalı bir yöntemdir (42). Korteksin, özellikle oksipital lobun görmeyi temin eden uyarana verdiği özel cevaptır (42). Normal bir cevap, ganglion hücrelerinden görme korteksindeki nöronlara kadar olan görme yollarındaki iletimin ve fonksiyonun normal olduğunu göstermesi bakımından önemlidir. Uyarana karşı beyinin sınırlanmış bölgesinde oluşan aktiviteyi yansıtmaktadır (42). Küçük amplitüdlü bu özel cevap kaba ve büyük amplitüdlü EEG içinde kaybolur ve kullanılan EEG cihazları ile VEP’lerin görülür hale gelmesi ve kaydedilmesi “average” ile mümkündür (42). Beyinde oluşan anlık geçici aktivitelerin, örneğin dış dünyadan gelen bir uyarana karşı oluşan yanıtın saptanması için uyarana zamansal olarak kilitli EEG parçalarının ortalamalarının alınması yöntemi uygulanmaktadır (57). Olaydan bağımsız süregiden EEG aktivitesine ait dalga bileşenlerinin rastgeleliklerine bağlı olarak birbiriyle girişip silinmeleri ve olayla ilintili komponentlerin zamansal olarak üst üste düşmeleri sebebiyle ortalama sinyalde belirginleşmeleri ilkesinden yola

çıkarak değişik yöntemler geliştirilmiştir (57). Günümüzde, uyararla ya da olayla zamansal olarak kilitli EEG parçalarının dijitalize edilmesi (sayısal hale çevirilmesi) ve dijital bir bilgisayarda ortalamaların alınması ile gerek uyarılmış potansiyellerin gerekse çeşitli yavaş potansiyel değişimlerinin ortaya çıkarılması mümkün olmaktadır (57). Retinada ışık uyararı ile provoke olan potansiyel, optik sinir, kiyazma ve optik traktus yolu ile korpus genikülatum lateraleye gelir ve buradan kaynaklanan genikülokalkınarius lifleri, optik radyasyon içinde primer görme korteksinde sonlanır (Area 17) (57). Buradan da sekonder (Area 18) ve tersiyer (Area 19) görme korteksine bağlantı sağlanır (57). VEP'in amacı retinokortikal iletimi ve görme korteksindeki aktiviteyi de kapsayan yüksek afferent görme merkezlerinin durumunu bildirir verileri elde etmektir (57).

VEP kayıtları için belirli bir donanım gerekmektedir; elektrodlar, kuvvetlendirici (amplifikatör), filtre edici bir düzen, averaj bilgisayarı ve uyarı düzeni (42, 113). Yüzey elektrodlarının kullanımında kafa derisi alkolle temizlenerek yağ ve ölü deri dokusundan arındırılır. Elektrod direncini düşürmek için jel kullanılır. Ayrıca, subkutan yerleştirilen iğne elektrodlarda kullanılabilir ve rutin klinik uygulamada unipolar bir iletici tavsiye edilir. Aktif elektrot orta hatta, protuberencia oksipitalisin 2-3 cm üzerine konur; inaktif elektrot ise mastoid, kulak veya alına konur (42, 113). Aktif elektrot nöral sinyalleri ve çevre parazitleri, inaktif elektrod ise nöral potansiyeller haricindeki tüm potansiyelleri toplar (42, 113). Bu iki elektrod arasındaki fark yalnızca oksipital korteksin belirli bölgesinin nöral aktivitesini yansıtır. En iyi referans elektrot yeri retinaya olan uzaklığın makul ölçülerde olması nedeniyle kulak memesidir (42, 113). VEP, görsel uyarı içeriğine göre pattern (şekilli uyarılar) veya flaş (yanıp sönen ışık), uyarı hızına göre geçici (transient) veya kararlı hal (steady-state) diye sınıflandırılabilir. Pattern uyarı

değişik boyutlarda keskin kenarlı siyah-beyaz kareler (dama tahtası) şeklinde olabildiği gibi, dikey veya yatay durumdaki keskin kenarlı şeritler veya bantlar şeklinde de olabilir (42, 113). Görme sistemini stimüle eden fiziki uyaranlar çeşitlidir. Bu yüzden, uyarı parametreleri gerek flaş gerekse pattern uyarımda çok çeşitlidir (42, 113). Flaş uyarımında, saniyede gönderilen uyarı sayısı, elde edilen aydınlık oranı, dalga boyu, ortamın fotopik veya skotopik oluşu VEP kayıtlarını etkileyen parametrelerdir. Pattern uyarımda ise, uyarının yoğunluğu, şekil seçimi (dama tahtası veya çizgiler gibi), şekillerin büyüklükleri, uyarılan total alanın ölçüsü, şekli ve bunun fiksasyon noktası ile ilgisi, şekillerinin gösterilme şekli, kontrast ayarlanması, ortam aydınlığının sabit olup olmaması ve şekillerin gösterilme oranı VEP kayıtlarını etkileyen başlıca parametrelerdir (42, 113). Pattern veya flaş uyarımda normal VEP cevabını etkileyen faktörlerde farklılık gösterir. Şekli uyaranlar kullanıldığında normal VEP cevabının alınması için gerekli faktörler retina üzerine düşen hayalin netliği, ganglion hücreleride dahil olmak üzere retinanın normal yapıya sahip olması, optik sinirden oksipital kortekse kadar iletim hızının normal olması, kortikal görme merkezi ve bunun yüksek merkezlerle bağlantısının normal olması, hastanın teste ve fiksasyona gösterdiği dikkatin yeterli olması şeklinde sıralanabilir (42, 113). Flaş uyarım kullanıldığında VEP'in normal olması için ise retinanın ışığa duyarlı olması, optik sinirden oksipital kortekse kadar iletim hızının normal olması, kortikal görme merkezinin ve yüksek merkezlerle bağlantısının normal olması gerekmektedir (42, 113). Pattern VEP'lerde elde edilen latanslar ve nispeten amplitüdlere flaş VEP'lere göre daha uzun ve büyüktür (113). Bunun sebebi, pattern uyarımlarda görme olayının işe karışması, kenar, köşe ve kontrast değerlendirmelerinin yapılmasıdır (113). VEP kişilere bağlı olarak farklılıklar gösterir, fakat bütün eğri tiplerinde 30 msn'lik çok düşük amplitüdlü

primer komponentin yanı sıra latansı 90-100 msn olan ikinci bir komponent vardır (57). Klinikte, yeterli VEP elde etmek için en az 100 cevabın ortalaması alınmalıdır (57). Flaş uyarısıyla elde edilen geçici görsel uyarılmış potansiyel dalga formu çeşitli bileşenler içermektedir (24). Bu bileşenler, görme sisteminin ve değişik beyin bölgelerinin farklı işlevleri ile ilişkilidir (24). İnsanda flaş uyarısı ile elde edilen görsel uyarılmış potansiyel dalga formunu üç ana bileşene ayırmıştır (96-98). Bunlardan ilki, latansı yaklaşık 30 msn olan ve bireyler arası anlamlı farklılıklar göstermeyen primer bileşen, ikincisi latansı yaklaşık 100 msn olan bireyler arası farklılıklar gösteren sekonder bileşen ve sonuncusu da ortalama 250 msn civarında başlayan ve ileri derecede değişken olan ritmik art deşarj bileşenidir (96-98). Primer bileşenin değişik koşullarda sabit kalması ve yüksek frekanslı flaş uyarılarında da (35 Hz'e kadar) yanıt içinde bulunması nedeniyle primer görme korteksinden kaynaklandığı düşünülmektedir (96-98). Görsel uyarının retinadan primer görme korteksine yaklaşık 35 msn'de ulaştığı bilinmektedir (96-98). Bu değer, flaş uyarısına olan yanıtta primer bileşenin latansına karşılık gelmektedir ve gösterilme sıklığına bağlı olarak VEP'in yapısı değişir (96-98). Seyrek verilen (1 Hz) uyarana doğan cevaptan sonra ikinci uyarana kadar oksipital korteksin toparlanması mümkündür; yani uyarılmış sistem uyarılar arasında istirahat konumuna dönecek zamanı bulur (96-98). Bu nedenle, VEP'te bütün pozitif ve negatif osilasyonları görmek mümkündür (transient-VEP; geçici hal uyarısı) ve tanım olarak geçici (transient) yanıt, gözlenen zaman içinde ortaya çıkan ve tamamen kaybolan yanıt anlamına gelmektedir (96-98). Tekrarlayan uyarıların verilmesi ve daha sonra elde edilen yanıtların averajlanması ile elde edilen geçici uyarılmış potansiyel kaydında, bir uyarının oluşturduğu değişimlerin, bir sonraki uyarı gelmeden önce tamamen söndüğü ve böylece tekrarlayan uyarılar serisi içerisinde bir uyarıya karşı elde

edilen uyarılmış potansiyelin kendisinden önceki uyarının neden olduğu değişimden etkilenmediği varsayılmaktadır (96-98). Buna karşılık, sık verilen (4 Hz ve üzeri) uyarana doğan cevaptan sonra korteksin toparlanabilmesi için zaman yoktur (96-98). Diğer bir deyişle, yeni bir yanıt başlamadan bir önceki işaret yok olmaz (96-98). Uyarın sıklığına göre VEP harmonik dalga karakterini kazanır (steady state-VEP; kararlı hal uyarısı) (96-98). Bu arada VEP amplitüdü çok iniş çıkış gösterir ve kararlı hal uyarısı uyarılmış potansiyel tanımı, yeterince sık uygulanan, yani uyarılar arası beyin mekanizmalarının başlangıçtaki durumuna dönmesine olanak tanınmayacak kadar kısa olan, uyarılara karşı, frekans bileşenlerin uzun bir zaman diliminde değişmeden kaldığı ardışık uyarılmış potansiyel yanıtı olarak yapılmaktadır (96-98).

Geçici VEP'ler pozitif ve negatif dalgalarla oluşmakta, bu dalgalar büyük harfler ve averaj latanslarını simgeleyen sayılarla isimlendirilir (5). Bu amaçla, en sık kullanılan dalgalar N70 (70 ms civarında oluşan negatif dalga) ve P100'dür (100 ms civarında oluşan pozitif dalga) (5). Bazen 50 ms civarında oluşan pozitif dalga P50 ve arkasından gelen negatif dalga da N70 olarak isimlendirilebilir (5). Genel olarak kabul edilmiştir ki, N70 ve P100 latansları yaşla birlikte değişir (5). Uzunlatılmış latanslar özellikle 45 yaşından sonra belirginleşir ve bu durum yetersiz miyelin üretimi nedeniyle optik sinir ve traktaki hız azalmasına bağlıdır (5, 21). Cinsiyet de latansı etkilemektedir (5, 21). Bayanlarda nispeten hafif bir latans kısalığı görülmekte, cinsiyete bağlı latanslardaki hafif değişiklikler bayanlarda beyin boyutundaki küçüklük ve görme yollarındaki kısalığa bağlanmıştır (57). VEP'lerin uygulanmasıyla son yıllarda santral sinir sisteminde optik uyarıların ileti ve işleyişini objektif olarak ölçmek mümkün olmuştur (57). Bunun yanı sıra, farklı orijinli görme bozukluklarının özellikle de görme siniri bölgesindeki sinsi seyirli

hastalıkların saptanması sağlanır (57). Psikojenik görme bozuklukları normal VEP bulgularıyla ayırt edilebilir, çünkü normal VEP sadece periferik organın (reseptör) fonksiyonlarının iyi olup olmadığını değil, aynı zamanda afferent sistemde sağlıklı bir iletinin olduğunu ve kortikal nöronlarda eşit uyarı integrasyonu olduğunu da gösterir (57).

VEP klinikte, mutiple sklerozis, akut retrobulber nörit, optik siniri komprese eden tümörler, iskemik optik nöropatiler, Friedreich ataksisi, optik siniri ve oksipital korteksi etkileyen toksik ve metabolik ansefalopatiler, Parkinson hastalığı ve alzheimer gibi çeşitli hastalıkların erken tanısında önemli rol oynar (57).

Yapılan on sağlıklı gönüllü çalışmasında, 1gr/kg dozunda etanol verilen ve kan konsantrasyonları % 0.8-1.1 arasında ölçülen kişilere 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda yapılan VEP sonucunda latansda anlamlı uzama ve amplitüdde ise değişiklik gözlenmemiştir (14). Yani, düşük doz etanol kan konsantrasyonlarında anlamlı değişiklik olmamıştır (14).

20 gönüllü kişiye akut etanol verilmesinden sonra F-VEP çalışılmış ve etanol alımdan sonra yapılan F-VEP’de latanslarda uzama gözlenmiştir (109). Gönüllülerde, düşük doz alkol konsatrasyonu sonrası yapılan VEP’lerinde görme alanı ve görme keskinliğinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (95).

Sıçanlara 1.5 ve 2.5 gr/kg etanol intraperitoneal verilmesinden sonra 5., 20., 40. ve 60. dakikalarda görsel beyin ve süperior kollikulus fotik uyarılmış kayıtları alınmış ve görsel korteksten alınan kayıtlarda P2 amlitüdü hariç diğerlerinde azalma olduğu, sadece P2 amplitüdünde her iki dozda yükselme gözlenmesine rağmen, süperior kollikulus kayıtlarında ise düşük doz alkol verilenlerde amlitüdlere çok az azalma, fakat yüksek doz etanol verilenlerinkin de ise daha fazla azalma gözlenmiştir (50). % 25’lik etanol 2 gr/kg dozunda sıçanlara verilmesinde 15 dakika

sonrasında F-VEP alınmış visual korteksde N1, P3 ve N3 amlitidünde anlamlı azalma ve P2 amlitidünde ise artma gözlenmiştir (49). P1 ve N2 komponentleri ise etanolden etkilenmemiştir (49). Süperior kollikulus P3 ve N4 komponentlerinin amplitüdlerinde etanol sonrası azalma, fakat P1’de etkilenme olmamıştır (49). Bütün komponentlerin latanslarında ise artma gözlenmiş ve beraberinde naltrekson verilenlerde etanolun etkisini değiştirmemiştir (49).

Prenatal değişik maddelere maruz kalan 74 çocukta, doğumda 1., 4., 8. ve 16. aylarında her iki göze VEP yapılmıştır (116). Sonuçta, etanole 1.trimestirde maruz kalan çocukların 1. aylarında latans dalgalarında uzama olduğu, tütüne her trimestirde maruz kalanların doğum ve 18. aylarında latans dalgalarında uzama, 3. trimestirde marujuanaya maruz kalanların 1. ve 18. aylarında ve ilk trimestirde yasadışı madde kullananların 1. ve 18. aylarında latans dalgalarında uzama olduğu gözlenmiştir (116).

Değişik alkol dozları (0.28, 0.36, 0.54 ve 0.72 gr/kg) verilen hayvanların P1 ve P2 latans VEP komponentleri etkilenmemiştir (19). N2 ve P3 komponentlerin latanslarında ise alkol kan konsantrasyonlarının artması ile uzama gözlenmiştir (19).

30 sağlıklı kişilerde 1gr/kg dozunda etanol ağızdan verildikten 30. ve 60. dakikalarında VEP’in bütün komponentlerin latanslarında kan alkol konsantrasyonu ile paralel olarak uzama bulunmuştur (149). Geç komponentlerin amplitüdlerinde (N2, P2 ve N3, P3) 30 dakika sonrası bakılanlarda artış, 60 dakika sonra bakılanlarda ise azalma olduğu bulunmuştur (149).

Alkol intosikasyonun erken fazında görülen 19 hastanın yapılan VEP’inin % 13’ünde anormal kayıtlar elde edilmiştir (3).

3.5. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Atomlarda elektronlar yörünge adı verilen uzaysal bölgede çift olarak bulunmaktadır (66, 78). Elektronların kapladıkları bölgeler “orbital” olarak tanımlanmaktadır (65, 78). Bir orbitada tek başına bulunan elektron, eşlenmemiş elektrondur (66, 78). Son yörüngelerinde çift elektron bulunan birçok molekülün yanı sıra az sayıdaki molekülün son yörüngesindeki tek elektron yer almaktadır (66, 78). Son yörüngelerindeki elektronları eşlenmemiş olan bu moleküller, herhangi bir molekül ile etkileşime girerek elektron almakta (yükseltgenme) veya elektron vermektedirler (indirgenme) (66, 78). Başka moleküller ile çok kolay elektron alış verişine girerek yapılarını bozan moleküllere “serbest radikaller”, “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri” adı verilmektedir (66, 78). Oksijenin bir elektron ile tam olmayan indirgenmesi sonucu oksijenin aktif türleri olan oksijen radikalleri oluşmaktadır (46). Oksijeni metabolize edebilen tüm canlılarda oksijen radikalleri üretilmektedir (46). Oksijen radikali, serbest elektronunu eşlemek için elektron aldığı bir başka molekülü dayanıksız hale getirmektedir (46). Elektron düzeni bozulan bu molekül bir başka molekülden elektron alarak düzenini sağlamaktadır. Bu nedenle, serbest radikaller, vücutta önemli moleküllere zarar veren bir dizi tepkimeyi başlatabilirler (46). Patolojik etkilerin ortaya çıkmasına oksijen radikallerinin sayısının artması neden olmaktadır. Oksijen radikallerinin hasara yol açtığı moleküller arasında proteinler, nörotransmitterler, nükleik asitler ve yağ asitleri bulunmaktadır (46). Oksijen kaynaklı serbest radikaller, hücre hasarı ve hücre ölümü için önemli mediyatörlerdir. Yaşlanma sürecinde rol oynayan birçok reaktif kimyasal bileşik, doğrudan veya dolaylı olarak ateroskleroz, reperfüzyon hasarı ve kanser gibi daha birçok hastalığı içeren süreçlerde yer almaktadır (31) Biyolojik yapılarda, özellikle membranlarda yüksek oranda bulunan doymamış lipidler serbest radikallerle oksidasyona uğrarlar

(31). Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından oluşturulan süreçler içinde en yoğun şekilde araştırılanıdır. Genellikle radikallerin ve daha spesifik olarak reaktif oksijen türlerinin oluşturulduğu bölgelerde membran fosfolipidlerinin çok miktarda olması, fosfolipidleri radikaller için kolay ulaşılabilir hedefler haline getirmektedir. Özellikle, yağ asitlerinin peroksidasyonu bir radikal zincir peroksidasyonuna yol açabilmektedir (31). Organizmada serbest radikal oluşturan olayların başlıcaları, mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyaranla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biosentetik ve biokimyasal yıkım olaylarıdır (39, 60).

Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkımın daha fazla olduğu gözlenmektedir (120, 126).

Hücreler kendilerini serbest radikallerin oluşturacağı hasarlardan korumak için enzimler, antioksidanlar ve serbest radikal yok edici gibi detoksifikasyon sistemlerine bağılıdırlar (71). Serbest radikallere bağılı olduğu düşünölen klinik durumlar başta bağışıklık sistemi bozuklukları, iskemik durumlar, beslenme bozukluklukları, madde ve toksinlerin yol açtığı reaksiyonlar olmak üzere, karaciğerden göze kadar tüm organları içine alabilmektedir (26).

3.5.1. Malondialdehit (MDA)

Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksid parçalanması sonucu oluşur (38, 141). Peroksidasyona uğramış olan poliansatüre yağ asitlerinden oluşan reaktif bileşiklerden biri olan üç karbonlu MDA bir ketoaldehiddir (111). Araşidonik asidden, birçok liposidden, hidroperoksidlerden, endoperoksidlerden, prostaglandinlerden ve tromboksanlardan oluşabilen MDA'nın

ana kaynağı ansatüre yağ asitlerinin perosidasyonudur (111). Birçok makromolekül ile hızlı bir şekilde tepkimeye giren ve çok reaktif bileşik olan MDA, serbest olarak veya farklı doku bileşenleri ile kompleks oluşturmaktadır (136). Doku lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA hücresel düzeyde metabolize edilmekte, karaciğer ALDH tarafından enzimatik yıkılıma uğrayan MDA, CO₂'ye metabolize olmakta veya mitokondriyal yolla yıkılabilmektedir (136). İdrarda asit ile hidrolize edilebilen formda küçük miktarlara ekskrete edilir (136). Eritrosit membranının aminofosfolipid organizasyonunu bozan MDA, hücre hasrında ve yaşlanma pigmenti olan lipofuksinler oluşumunda etkili gösterilmiştir (136). MDA'nın mutajenik olduğu ve kimyasal karsinojen gibi davrandığı da bilinmektedir (136). MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (38, 141).

Yapılan bir deneysel çalışmada, 6 hafta etanol içeren sıvıya maruz kalan sıçanların optik sinirlerinin incelenmesinde antioksidanlardan glutatyon ve lipid peroksidasyon ürünü MDA çalışılmıştır (12). Etanola maruz kalanlarda glutatyon içeriğinde belirgin azalma ve MDA konsantrasyonunda ise kontrol grubuna göre belirgin yükselme olduğu tespit edilmiştir (12).

3.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksidin protonlanmış formu olan H₂O₂ ile doğrudan oksitlenme, bakır (Cu²⁺) ile demir (Fe²⁺) gibi metallerle veya seruloplazminle katalizlenen tepkimeler ve NO ile O₂ arasındaki tepkimelerde oluşan reaktif peroksinitritler aracılığıyla LDL değişikliğe uğramaktadır (118). Damar duvarındaki O₂ kaynakları arasında endotel hücreleri, düz kas hücreleri, makrofajlar ve adventisyal fibroblastlarda bulunan NAD(P)H oksidazlar, lipoksijenazlar, ksantin oksidazlar ve NO sentetazlar bulunmaktadır (118). Süperoksid anyon radikallerine karşı ana

savunma aracı olan SOD, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir (22). Bu enzim genetik olarak 21. kromozomda lokalizedir (22). SOD tarafından katalizlenen tepkimenin hızı 2×10^9 /ms'dir (111). Hücre içi SOD aktivitesindeki artış dioksijenin toksisitesine karşı gelişen bir direnç artışına neden olur (111). SOD, O_2 'i H_2O_2 'ye yıkımını katalize ederek hücreyi oksidatif hasara karşı korur (22). SOD'ın oksidatif hasarın azaltılmasındaki biyolojik ilişkisi çeşitli deneysel durumlarda gösterilmiştir (22).

IV. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Denekler

Bu çalışma, ağırlıkları 200-250 gr olan 24 adet Wistar albino cinsi erişkin dişi sıçan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Denekler, Adnan Menderes Üniversitesi Cerrahi Araştırma laboratuvarından sağlanmıştır. Denekler deney süresince Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinde 22 °C oda ısısında ve % 45-75 nemde, 12 saat aydınlık ve karanlık dönemlerle, serbest su ve gıda sağlanarak araştırmaya alındı. Yem ve su günlük olarak değiştirildi. Çalışma süresince hayvanlar, kenarları sert plastik ve üstünde çelik ızgara bulunan deney grubuna göre işaretlenmiş 19x12x12 cm ölçülerindeki kafeslerde tutuldu. Estrus siklusunun belirlenmesi için günlük vajinal smearler alındı. Sıçanlar proestrus dönemi tespit edilen 4 dişiye 2 fertil erkek olacak şekilde çiftleştirildi ve çiftleşme sonrası, vajinal smearinde sperm hücreleri görülenler gebe kabul edildi (127).

Bu deneysel çalışmanın protokolü Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından değerlendirildi ve çalışma için gerekli onay verildi.

4.2. Deney Grupları

Bu çalışmada, her trimestir (1. trimestir 0-7. gün, 2. trimestir 8-15. gün, 3. trimestir 16-21. gün) için 4 grup, her bir grup için de 2 denek olmak üzere, her trimestir için 8 adet ve 3 trimestir için ise toplam 24 adet dişi sıçan kullanılmıştır.

1. Kontrol grubu (1 mL/kg intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik uygulanan)
2. Etanol grubu (tek doz 2 gr/kg i.p)
3. Etanol + melatonin grubu (tek doz 2 gr/kg etanol + 10 mg/kg melatonin)
4. Melatonin grubu (tek doz 10 mg/kg)

Kontrollü gebe kalan sıçanlara 1. trimestir (G7. günü), 2. trimestir (G15. günü) ve 3. trimestir için (G21. günü), her bir grup için belirtilen dozlarda serum fizyolojik, etanol, etanol + melatonin ve melatonin i.p olarak verildi.

Daha sonra ayrı kafeslere alınan sıçanların doğum yapması beklenmiştir. Her grup için 6 adet, her bir trimestir için ise 24 adet ve 3 trimestir için toplam 72 adet yavru sıçan incelemeye alındı. Doğan yavrular tekrar anneleri ile beraber farklı kafeslere alınarak gerekli işaretlemeler yapıldı.

4.3. Elektrofizyolojik Görsel Uyarılmış Potansiyel (VEP) İncelemesi

Postnatal 2 haftalık (P14) dönem sonrası her bir yavru sıçan intraperitoneal (i.p) ketamine (60-100 mg/kg) + xylazine (5-10 mg/kg) anestezisi sonrası, görsel uyarılmış potansiyel (VEP) kayıtlamaları alındı. VEP anestezi uygulanmış hayvanda “flash” (flaş) uyaran verilerek kayıtları alındı. Bunun için, “Nihon-Kohden” kayıt cihazı kullanıldı. Flaş uyaran 0.5 Hz frekansında gözün 15 cm yakınından uygulandı. Kayıt için traşlanmış skalp üzerinden yüzeysel elektrodlar kullanıldı. Aktif elektrod oksipital bölge “lambda süturu” üzerine, referans elektrod ise burun altına yerleştirildi. Kayıt için amplifikatör filtreleri 0.3-100 Hz olarak alındı.

4.3.1. Dalga Analizi

Belirtilen yöntemle elde edilen potansiyeller yaklaşık 15 ms’de başlayan pozitif bir dalga şeklinde idi. Bu potansiyel bazen tek bir pik içerirken bazen de yan yana iki pik içeriyordu. Başlangıç latansları ve amplitüdleri (genlikleri) analiz edildi. Amplitüd analizi temel çizgi ile pozitif pik arasındaki potansiyel farkı olarak kabul edildi.

4.4. Perfüzyon İşlemi

Elektrofizyolojik VEP çalışması sonrası yavrular P14. günde ketamine (60-100 mg/kg) + xylazine (5-10 mg/kg) anestezisi (Resim 1A) sonrası deri, deri altı, fasya kaldırıldı (Resim 1B). Processus xphoideus belirlenerek yukarı kaldırılıp diafragma görüldü. Diafragma disseke edilerek toraksa girildi ve kalbe ulaşıldı (Resim 1C). Sol ventrikül içine apeksin yanından branül ile girildi (Resim 1D ve 1E). Hazırlanan % 2 formaldehit + glutaraldehit karışımı 0.1 M fosfat ile tamponize 150 ml sıvı intrakardiyak olarak perfüze edildi ve 1-2 sn sonra sağ atrium enjektör ucuyla delinerek dolaşım kanının dışarı çıkması sağlanarak dokuların tespiti sağlandı (Resim 1F).

Resim 1: Yavru sıçanların intrakardiyak perfüzyon işlemleri



A

B

C



D

E

F

4.5. Disseksiyon İşlemi

İntrakardiyak perfüzyon yöntemi ile fikse edilen (P14) yeni doğan sıçanların optik sinirlerine ince pens-penset yardımı ile ulaşarak disseke edildi (Resim 2A, 2B, 2C, 2D ve 2E). Her bir deneğin sağ tarafından alınan optik sinir spesmenleri histolojik değerlendirme için uygun fiksasyon solüsyonları içinde saklanarak tespit edildi. Her bir deneğin sol tarafından alınan optik sinir dokuları biyokimyasal analize tabi tutulmak üzere ölçüm gerçekleştirilinceye kadar -80°C 'de saklandı.

Resim 2: Yavru sıçanların disseksiyon işlemleri



A

B

C



D

E

4.6. Biyokimyasal Analiz

4.6.1. Doku Hazırlanması

Optik sinir 50 mM Fosfat tamponu ile pH 7.0 ve 0-4°C (w/v=1/10) homojenize edildi. Örneklerin bir kısmı TBARS ve protein analizi için ayrıldıktan sonra, homojenatlar 0-4°C'de (w/v=1/10) 15 dk boyunca 10000 x g'da santrifüje edildi. Cu, Zn-SOD aktivitesinin enzimatik değerlendirilmesi için supernatant uygulandı. Geri kalan homojenat 10 dk boyunca 700 x g'da santrifüje edildi ve supernatant TBARS değerlendirilmesi için kullanıldı.

4.6.2. Cu, Zn-SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının (143) metodu kullanılarak ölçüldü. Reaksiyon sistemlerinin son volümü 3.0 ml ve her litrede 0.1 mmol ksantin, 0.1 mmol EDTA, 50 mg sıgır serum albumin, 25 µmol NBT, 9,9 nmol Na₂CO₃ (pH 10.2) vardı. Formazan üretimi 560 nm ve 25°C'de belirlendi. SOD'un bir ünitesi NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden protein miktarı olarak tanımlandı. Veri U/mg protein şeklinde ifade edildi (143).

4.6.3. Doku Protein Düzeylerinin Belirlenmesi:

Doku protein düzeyleri, Loowry metodu kullanılarak belirlendi (72).

4.6.4. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi:

Lipid peroksidasyon, TBARS yıkım ürünlerini Buege ve Aust. metodu (17) ile ölçüldü. Kısaca eş volümlerde % 15 (w/v) trikloroasetik asit 0.25N hidroklorik asit içinde ve % 0.37 (w/v) 2-tiobarbitürik asit 0.25N hidroklorik asit içinde idi. Örneğin bir volümü ve stok indirgenimin 2 volümü bir tüpte karıştırıldı, çalkalandı ve kaynayan su banyosunda 15 dk ısıtıldı. Buz üzerinde soğutulduktan sonra

presipitat 15 dk 100 x g santrifüje alındı. Daha sonra, absorbans test örneği hariç olmak üzere tüm indirgenleri içeren tabaka 532 nm’da ölçüldü. Tüm değerlendirmeler iki kez yapıldı ve MDA nmol/g doku şeklinde ifade edildi (17).

4.7. Histolojik Değerlendirme

4.7.1. Işık ve Elektron Mikroskopik İnceleme

Her bir deneğin sağ tarafından elde olunan uygun büyüklükteki optik sinir uygun fiksasyon solüsyonları içinde saklanarak tespit edildi. Sıçanların tümünde, sağ optik sinirler “en block“ olarak çıkarıldıktan sonra, sinir spesmenleri her iki ucundan toplu iğne ile tutturulmak suretiyle bir karton parçası üzerine uzunlamasına tesbit edildi. Sonra, pH’ı 7.4 olan 0.1 M fosfat tamponu içinde yer alan % 2.5’luk glutaraldehit kullanılarak 4°C’de 4-6 saat süreyle fikse edildi. Bu fiksasyon işlemi sonrası, sinir örnekleri pH’ı 7.4 olan fosfat tamponu içinde iki kez yıkandı. Spesmenler % 1’lik osmiyum tetroksit içinde 2 saat süreyle postfikse edildikten sonra, konsantrasyonu azalan alkol serileri içinde dehidrate edildi ve 16 dakika süreyle propilen oksit içinde tutuldu. Bu işlemlere, dokuların gece boyunca araldit CY212 + 2-dodekensüksinik asit anhidrit (DDSA) + benzil dimetilamin and dibutil fitalat karışımı içine gömülmesiyle devam edildi. Ultramikrotom (LXB 2188 Ultramicrotome, NOVA, Bromma Sweden) kullanılarak, 90 nm ve 1 µm kalınlıkta ince ve yarı-ince kesitler alındıktan sonra, elde olunan kesitler, sırasıyla, uranil asetat-kurşun sitrat ve % 1’lik toluidin mavisi ile boyandı. Her bir sıçana ait optik sinir preparatları, ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi ve fotoğraflar çekildi.

Optik sinirlerin EM fotoğrafları, Transmisyon Elektron Mikroskobu (JEM-1010, JEOL, Tokyo, Japonya) ile Mega-ViewIII dijital kameralı ve Soft-Imaging Systemli (SIS, Munster, Almanya) kullanılarak İtalya’da çekildi. Son olarak,

öncelikle, ışık mikroskopik düzeyde her bir optik sinir önce “kalitatif” olarak değerlendirildi ve daha sonra da EM görüntüleri üzerinde aşağıda belirtildiği şekilde “kantitatif” olarak ileri incelemeye alındı.

4.7.2. Stereolojik Analiz

Kalitatif histolojik değerlendirme sonrası optik sinirlerin EM fotoğrafları üzerinde stereolojik sayım ve ölçümler gerçekleştirildi. Bu çalışmada, ölçümler İMAGE programında yapıldı. Sayım için; alanı $12.25 \mu\text{m}^2$ olan sayım çerçevesi kullanıldı. “Kantitatif” analizler için kullanılan bilgisayarın özellikleri; Intel celeron 256 MB işlemci, Windows 98 işletim sistemi ve ekran kartı ATI XPERT 98 AGP 8 MB, 15’ monitor özelliklerine sahip idi.

Stereolojik analiz için İMAGE programı üzerinden fotoğraflar açıldı. Daha sonra, bilgisayar monitörünün üzerine ve fotoğraflar üzerine denk gelecek şekilde sayım çerçevesi yerleştirildi. Sayım çerçevesinin üst sağ köşesine yada sağ köşeye en yakın olan optik sinirin miyelin kalınlığı ve miyelin alanı ölçüldü. Program için İtalya’dan gönderilen kalibrasyon değeri kullanıldı. Bu değer her bir fotoğrafin bir kenarının gerçek uzunluğu 14 cm’ye denk gelen $5.8 \mu\text{m}$ olarak gönderildi. Bizde programımızı bu değere göre kalibre ettik ve tüm değerler μ cinsinden hesaplandı.

Daha sonra, miyelin kalınlığı yine sayım çerçevesinin sağ üst köşesine yada sağ köşeye en yakın olan optik sinirin rastgele dört ayrı bölgesinden miyelin kalınlığı İMAGE programında ölçüldü.

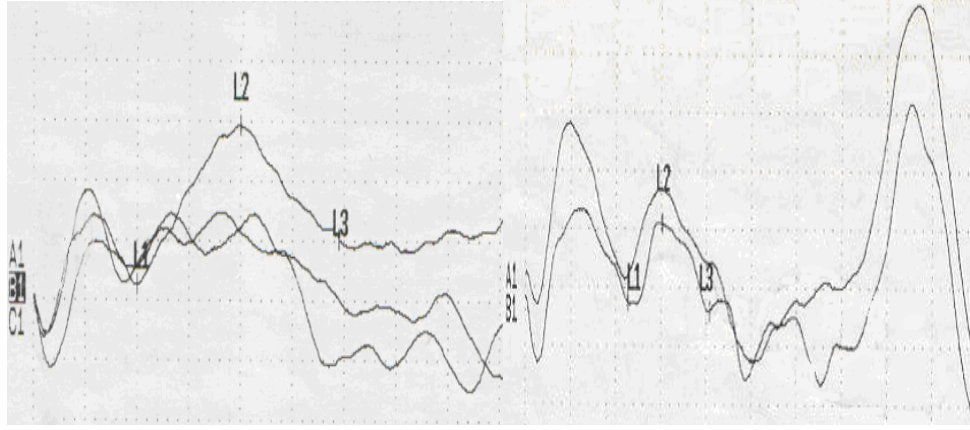
Son olarak, her bir fotoğrafta sayım çerçevesi kullanılarak ve yasak kenarlar baz alınarak aksonlar sayıldı.

4.8. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Gruplar kendi içinde ANOVA testine tabi tutulurken, grup içi karşılaştırmalarda t-testi kullanıldı. $P < 0.05$ ise anlamlı olarak kabul edildi.

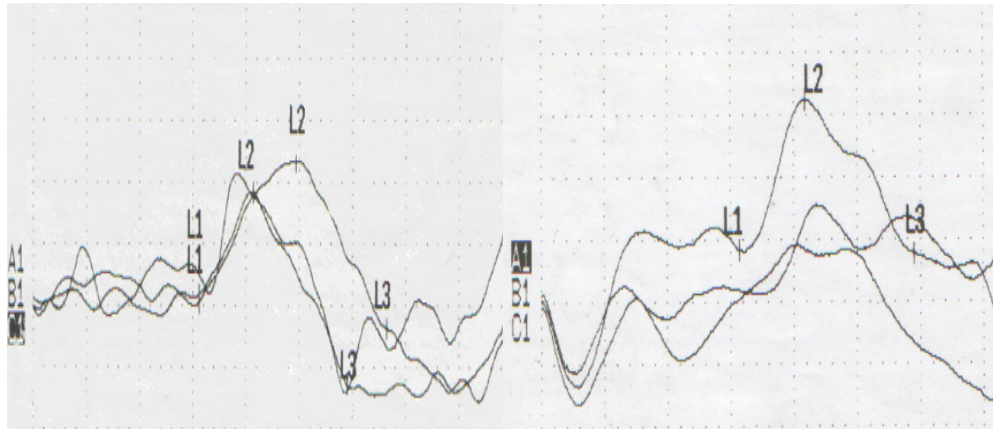
V. SONUÇLAR

5.1.GÖRSEL UYARILMIŞ POTANSİYEL (F-VEP) BULGULARI



A) Kontrol grubu

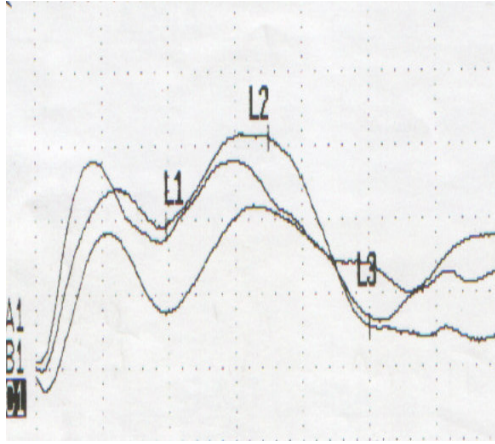
B) Etanol grubu



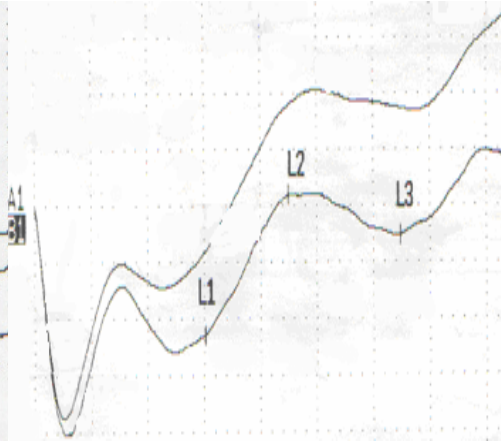
C) Etanol+melatonin grubu

D) Melatonin grubu

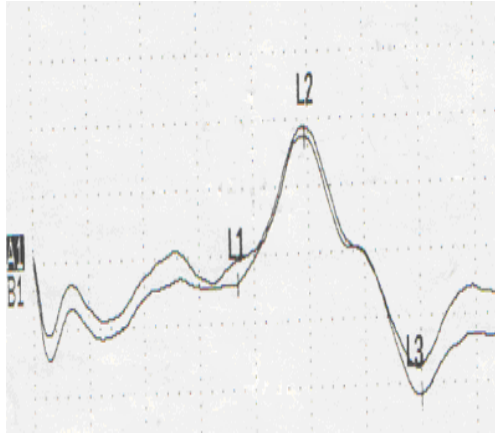
Grafik 1A-D. 1. trimestir F-VEP görüntüleri



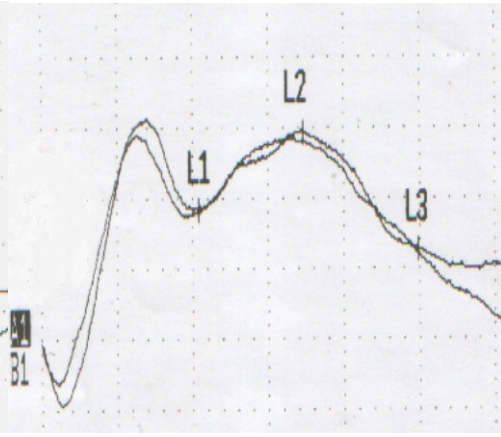
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu

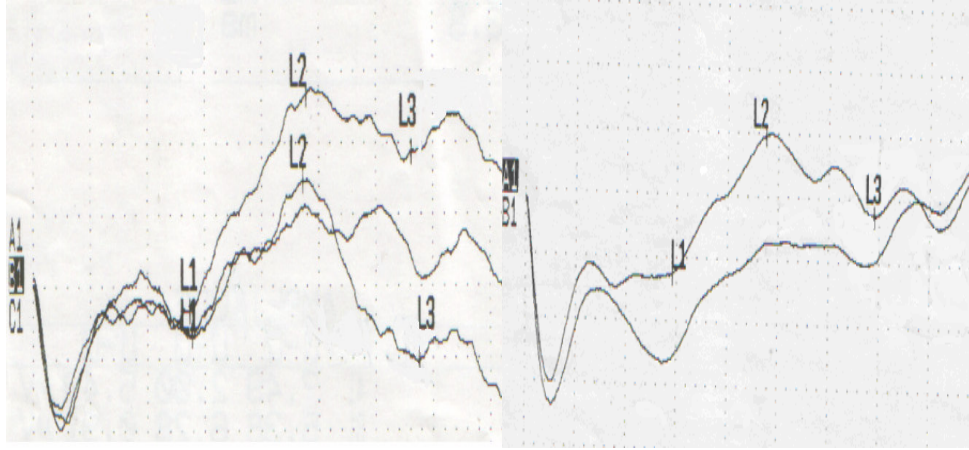


C) Etanol+melatonin grubu



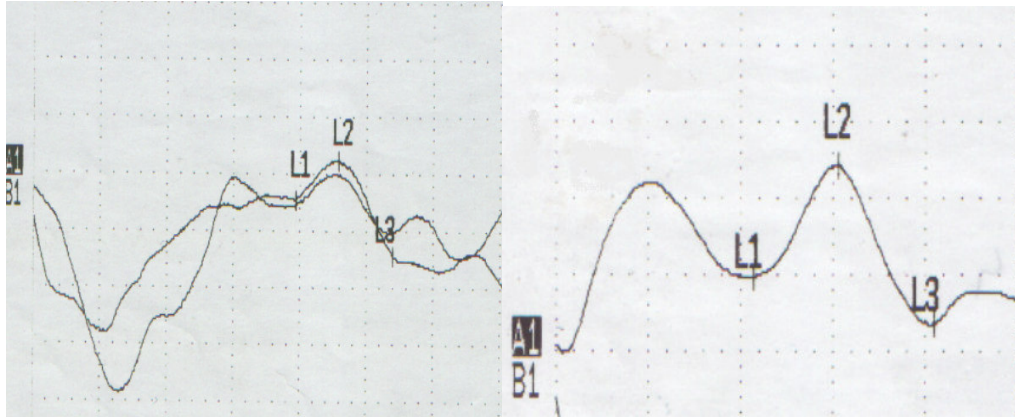
D) Melatonin grubu

Grafik 2A-D. 2. trimestir F-VEP görüntüleri



A) Kontrol grubu

B) Etanol grubu



C) Etanol+melatonin grubu

D) Melatonin grubu

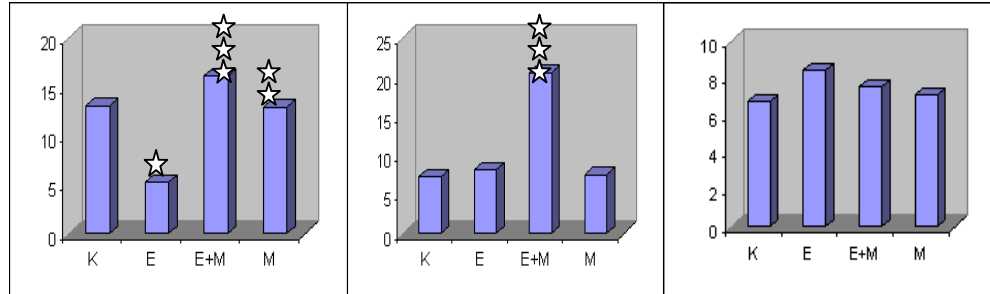
Grafik 3A-D. 3. trimestir F-VEP görüntüleri

5.1.1. GÖRSEL UYARILMIŞ POTANSİYELLERİN SONUÇLARI

Tablo1: Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M). Amplitüd (μ v), Latans (ms)

	<u>1.trimestir</u>		<u>2. trimestir</u>		<u>3. trimestir</u>	
<u>Gruplar</u>	<u>P(14)</u>					
	<u>Amplitüd</u>	<u>Latans</u>	<u>Amplitüd</u>	<u>Latans</u>	<u>Amplitüd</u>	<u>Latans</u>
K	13.08±0.39	11.63±0.88	7.26±1.62	10.85±0.60	6.80±1.21	11.8±0.90
E	5.26±0.88	14.18±1.41	8.40±1.17	18.36±1.40	8.45±0.63	15.46±0.41
E+M	16.16±1.43	30.01±2.55	20.63±5.18	37.40±0.30	7.56±1.19	23.00±2.04
M	12.96±0.41	11.51±0.72	7.51±1.30	10.46±0.55	7.50±1.13	11.76±0.89
K: Kontrol grubu, E: Etanol grubu, E+M: Etanol+melatonin grubu, M: Melatonin grubu						

Trimestirlere göre amplitüd (μ v) grafikleri (Grafik 4):



A) 1. trimestir amplitüd değerleri B) 2. trimestir amplitüdeğerleri C) 3. trimestir amplitüd değerleri

☆ P=0.000

☆☆☆ P=0.041

☆☆ P=0.000

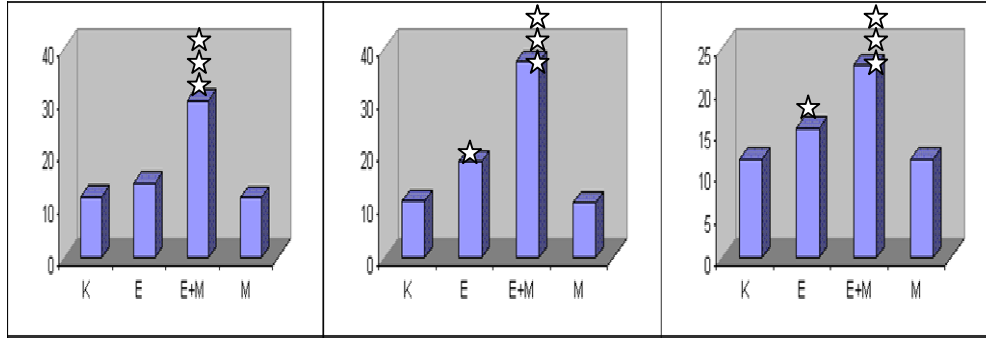
☆☆☆ P=0.000

☆ : 1. trimestirde etanolün, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak amplitüdü azalttığı görüldü (p=0.000).

☆☆ : Melatonin, etanol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak amplitüdü arttırdığı görüldü (p=0.000).

☆☆☆ : Etanol ile melatonin beraber verildiğinde 1. ve 2. trimestirde etanol verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı amplitüdü arttırdığı görüldü (sırasıyla, p=0.000 ve p=0.041).

Trimestirlere göre latans (ms) grafikleri (Grafik 5):



A) 1. trimestir latans değerleri B) 2. trimestir latans değerleri C) 3. trimestir latans değerleri

☆☆☆ P=0.000

☆ P=0.001

☆ P=0.004

☆☆☆ P=0.000

☆☆☆ P=0.005

☆: Etanol 2. ve 3. trimestirde kontrol grubuna göre latansı istatistiksel olarak uzattığı görüldü (p=0.001, p=0.004). Aynı zamanda, 3. trimestirde de etanol, melatonin grubuna göre latansı istatistiksel olarak uzattığı görüldü (p=0.004).

☆☆☆: Etanol +melatonin verilen grubunda her üç trimestirde istatistiksel olarak anlamlı şekilde etanol grubuna göre latansı uzattığı görüldü (p=0.000, p=0.000, p=0.005).

Sonuç olarak, her 3 trimestirde etanole maruz kalanların latanslarında anlamlı uzama (Grafik 5A-C), sadece 1. trimestirde amplitüd de azalma olduğu gözlemlendi (Grafik 4A). Etanol + melatonin'e maruz kalanların latanslarında her 3 trimestirde de belirgin uzama tespit edildi (Grafik 5A-C). 1. ve 2. trimestirde ise amplitüdlere artma gözlemlendi (Grafik 4A-B).

5.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

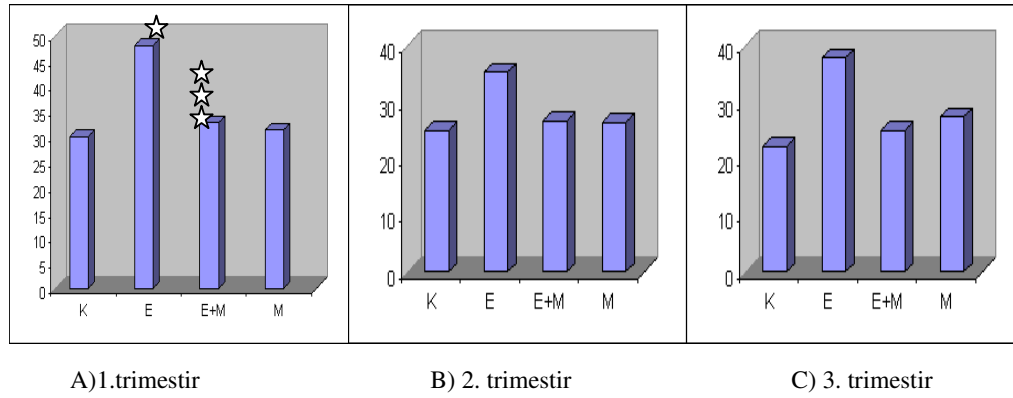
5.2.1. MDA ANALİZİ

Tablo 2: Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M). MDA (nmol/gr doku)

	<u>1.trimestir</u>	<u>2. trimestir</u>	<u>3. trimestir</u>
<u>Gruplar</u>		<u>P(14)</u>	
K	30.07 $\pm$ 6.64	25.13 $\pm$ 2.68	22.24 $\pm$ 4.20
E	48.05 $\pm$ 3.96	35.50 $\pm$ 5.23	38.05 $\pm$ 10.21
E+M	32.83 $\pm$ 2.43	26.75 $\pm$ 4.72	25.10 $\pm$ 8.34
M	31.38 $\pm$ 5.31	26.45 $\pm$ 4.68	27.54 $\pm$ 9.12

K: Kontrol grubu, E: Etanol grubu, E+M: Etanol+melatonin grubu, M: Melatonin grubu

MDA grafikleri (Grafik 6):



☆
P=0.040

☆☆☆
P=0.008

☆
: Etanol 1. trimestirde kontrol ve melatonin grubu ile kıyaslandığında MDA değerini istatistiksel olarak artırdığı görüldü (p=0.040).

☆☆☆
: Etanol+melatonin, 1. trimestirde melatoninin antioksidan etkisi nedeni ile etanolün oksidan etkisini engelleyerek MDA değerini istatistiksel olarak düşürdüğü tespit edildi (p=0.008).

Sadece 1. trimestirde etanol grubunun kontrol grubuna göre MDA değerini artırdığı (Grafik 6A), etanol+melatonin verilen grupta ise etanol grubuna göre MDA değerini düşürdüğü görülmüştür (Grafik 6A).

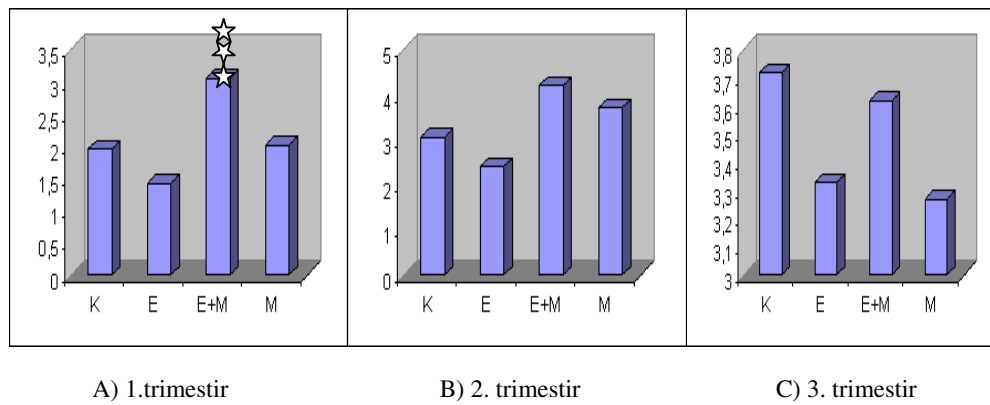
5.2.2. SOD ANALİZİ

Tablo 3: Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M). SOD (U/mg protein)

	<u>1.trimestir</u>	<u>2. trimestir</u>	<u>3. trimestir</u>
<u>Gruplar</u>		<u>P(14)</u>	
K	1.96 $\pm$ 0.36	3.07 $\pm$ 0.41	3.72 $\pm$ 0.57
E	1.43 $\pm$ 0.48	2.41 $\pm$ 0.47	3.33 $\pm$ 0.48
E+M	3.07 $\pm$ 0.50	4.22 $\pm$ 0.89	3.62 $\pm$ 0.53
M	2.02 $\pm$ 0.29	3.73 $\pm$ 0.65	3.27 $\pm$ 0.34

K: Kontrol grubu, E: Etanol grubu, E+M: Etanol+melatonin grubu, M: Melatonin grubu

SOD grafikler (Grafik7):



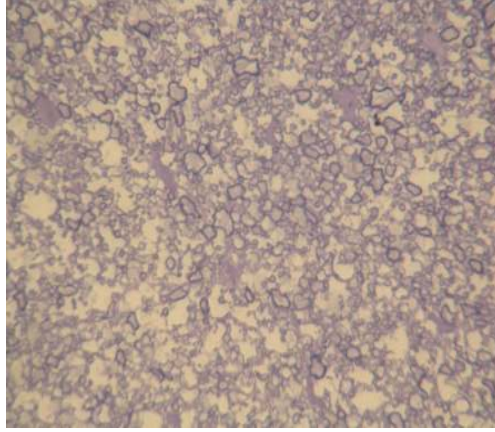
☆☆☆
P=0.043

☆☆☆: Etanol+melatonin grubunda etanol grubuna göre SOD değerini istatistiksel olarak arttırdığı gözlemlendi (p=0.043).

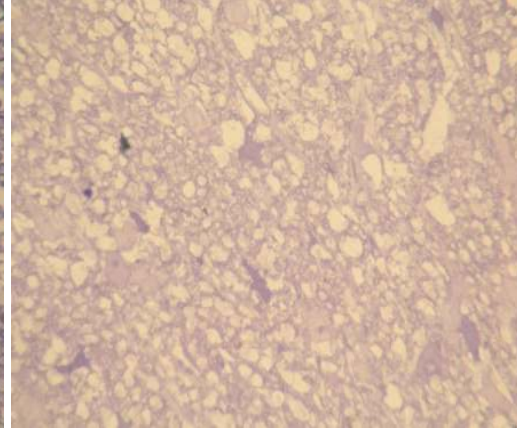
Sadece 1. trimestirde etanol+melatonin grubunda etanol grubuna göre SOD değerini istatistiksel olarak arttırdığı görülmüştür (Grafik 7A).

5.3. HİSTOLOJİK BULGULAR

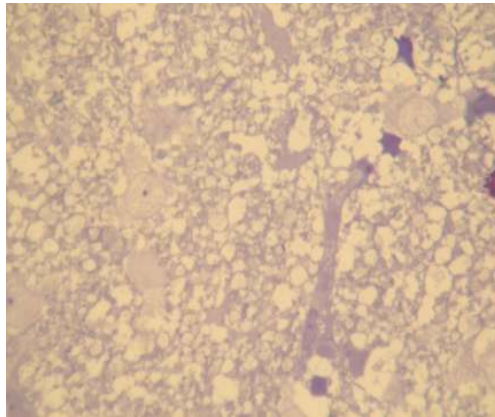
5.3.1. IŞIK MİKROSKOBİ BULGULARI



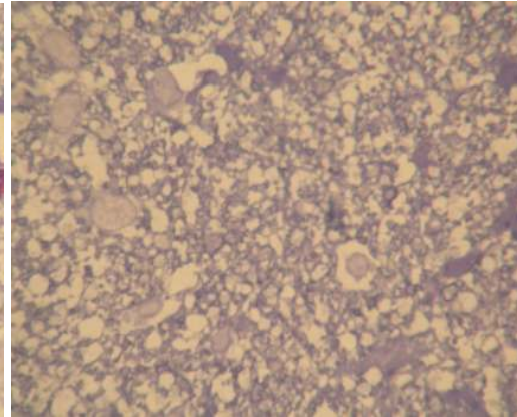
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



C) Etanol+melatonin grubu

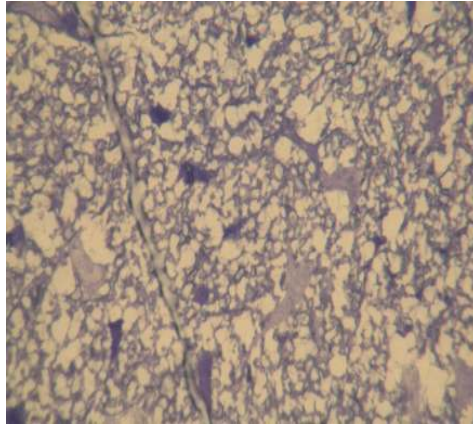


D) Melatonin grubu

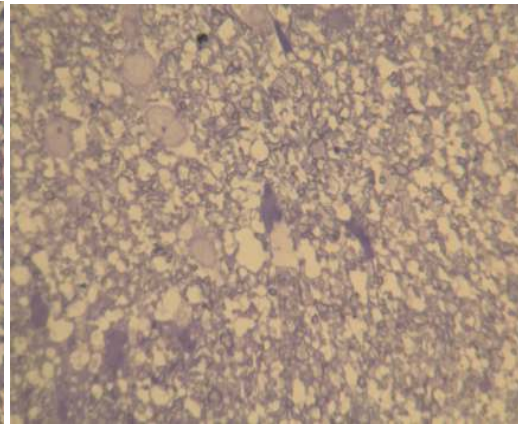
Resim 3A-D. 1. trimestir ışık mikroskobi görüntüleri. Orijinal büyütme X 100

Işık mikroskopik inceleme sonuçlarına ait kalitatif değerlendirmede, 1. trimestirde kontrol grubunun optik sinirinde miyelinli aksonlara ait miyelin kılıfı ve akson çapı ile glial hücrelerin normal yapıda olduğu görüldü (Resim 3A). Etanol grubunun kontrol grubuna göre optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma görülmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna göre artma dikkati çekmiştir

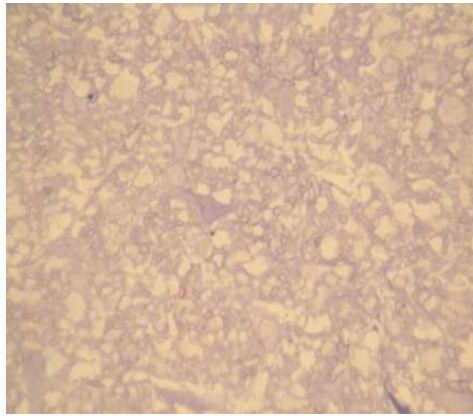
(Resim 3B). Histolojik olarak, etanolün sitotoksik etkisi sonucunda ölüme giden dens yapılı hücrelerin sayısı üçüncü trimestire göre daha belirgindi. Etanol+melatonin grubunun optik sinirlerinde glial hücre yoğunluğunda belirgin bir azalma olmamakla beraber, miyelinli aksonların kalınlıklarında ve akson çapında artma olduğu dikkati çekmiştir (Resim 3C). Piknotik görünümlü hücre yoğunluğunda azalma ise, bu grupta saptanmış olan diğer bir özellik idi. Melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapının kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi (Resim 3D).



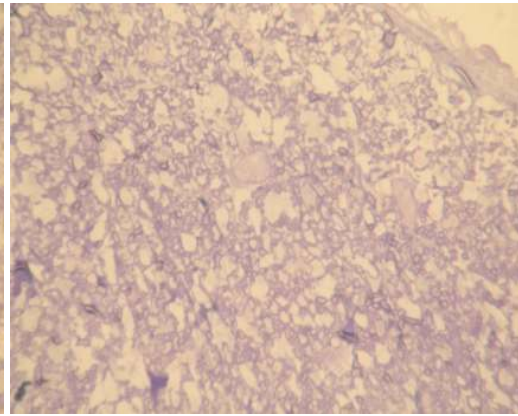
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



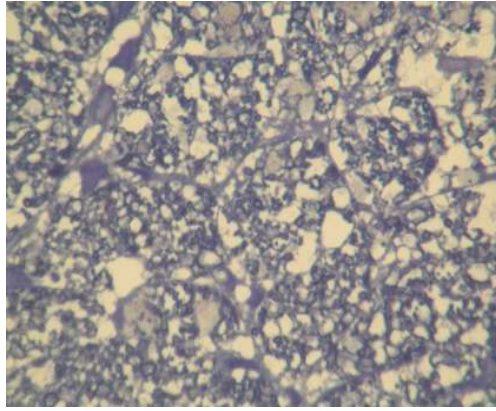
C) Etanol+melatonin grubu



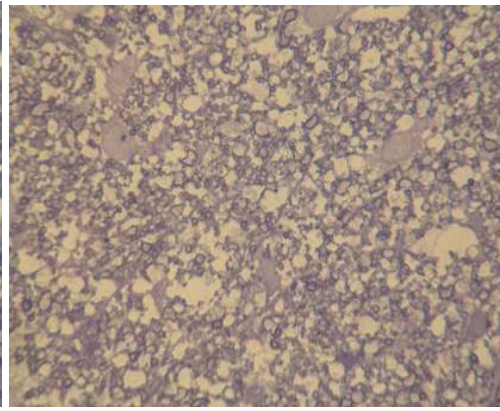
D) Melatonin grubu

Resim 4A-D. 2. trimestir ışıık mikroskobi görüntüleri. Orijinal büyütme X 100

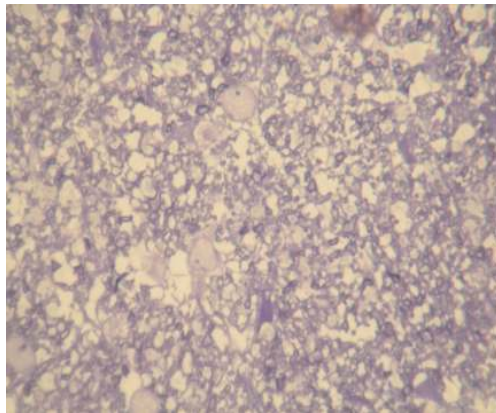
Işık mikroskopik incelemede, 2. trimestirde kontrol grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıfı ve akson çapı ve glial hücreler normal yapıda gözlemlendi (Resim 4A). Etanol grubunun kontrol grubuna göre optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma görülmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna göre artma gözlemlendi (Resim 4B). Etanol+melatonin grubunun optik sinirlerinde miyelin kalınlığı ve akson çapında artış olduğu görüldü (Resim 4C). Melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapı kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi (Resim 4D).



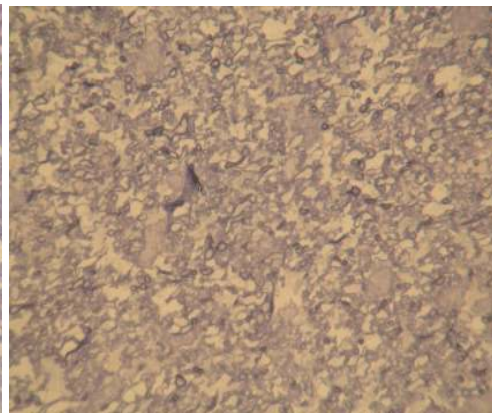
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



C) Etanol+melatonin grubu



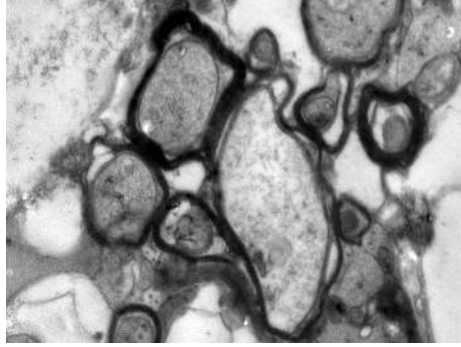
D) Melatonin grubu

Resim 5A-D. 3. trimestir ışık mikroskopi görüntüleri. Orijinal büyütme X 100

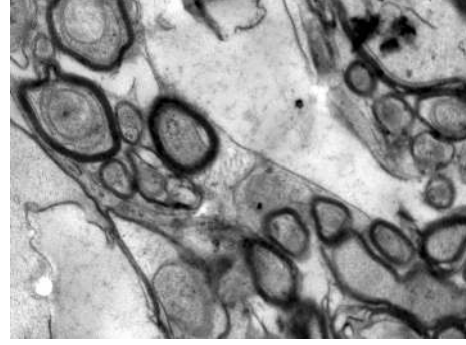
Işık mikroskopik incelemede, 3. trimestirde kontrol grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıfı, akson çapı ve glial hücreler normal yapıda gözlemlendi (Resim 5A). Etanol grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma görülmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna göre artma gözlemlendi (Resim 5B). Etanol+melatonin grubunun optik sinirlerinde glial hücre yoğunluğunda belirgin bir azalma olmamakla beraber, miyelinli aksonları kılıf kalınlıklarında ve akson çapında artış görüldü (Resim 5C). Diğer yandan, melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapı sayısı kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi (Resim 5D).

Sonuç olarak, ışık mikroskopik incelemede etanol grubunda kontrol grubuna göre her üç trimestirin optik sinirlerinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma görülmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna göre artma gözlemlendi. Etanolün sitotoksik etkisi sonucunda ölüme giden dens yapılı hücrelerin sayısı ilk iki trimestirde daha belirgindi. Etanol+melatonin grubunun etanol grubuna göre her üç trimestir için miyelin kalınlığı ve akson çapında artma görülmüştür. Melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapı kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi.

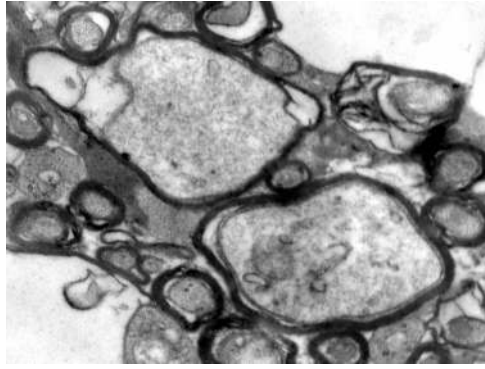
5.3.2. ELEKTRON MİKROSKOPİ BULGULARI VE STEREOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI



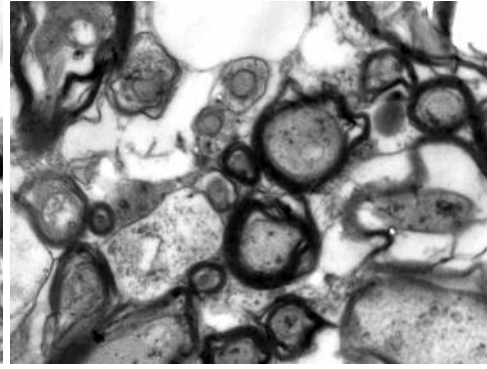
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



C) Etanol+melenonin grubu



D) Melatonin grubu

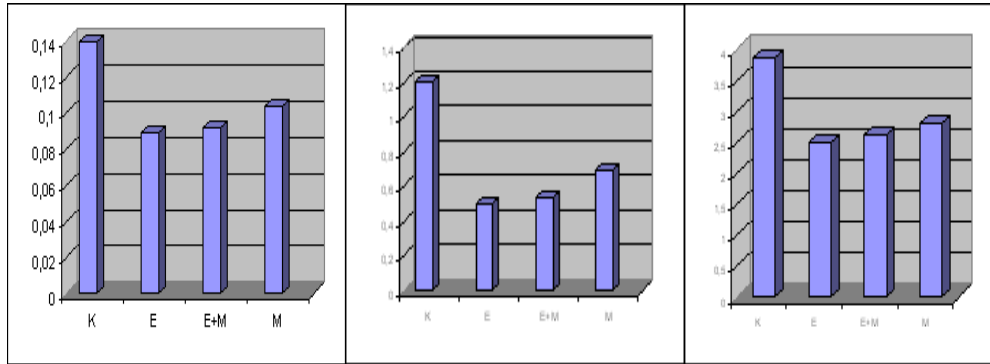
Resim 6A-D. 1. trimestir EM görüntüleri. Orijinal büyütme X 15000

1.Trimestir stereolojik analiz:

Tablo 4 : Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M)

	Miyelin kalınlığı (μm)	Akson alanı (μm^2)	Akson çapı (μm^2)
K	0.140 $\pm$ 0.020	1.207 $\pm$ 0.264	3.878 $\pm$ 0.458
E	0.089 $\pm$ 0.008	0.502 $\pm$ 0.121	2.501 $\pm$ 0.263
E+M	0.092 $\pm$ 0.003	0.538 $\pm$ 0.084	2.634 $\pm$ 0.153
M	0.104 $\pm$ 0.005	0.689 $\pm$ 0.066	2.799 $\pm$ 0.025

K: Kontrol, E: Etanol, E+M: Etanol+melenonin, M: Melatonin

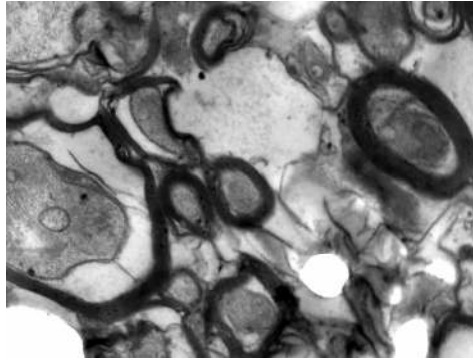
Grafik 8:A) Myelin kalınlığı (μm)B) Akson alanı (μm^2)C) Akson çapı (μm^2)

Miyelin kalınlığı: Kontrol ile etanol $p=0.124$, Etanol ile E+M $p=0.73$

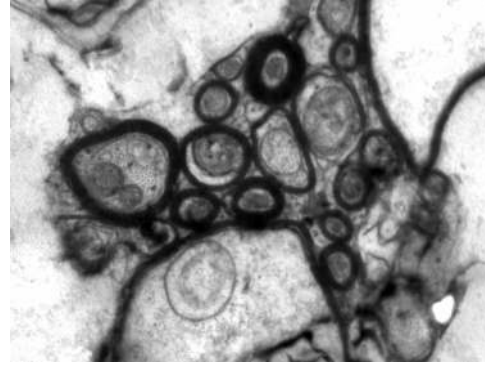
Akson alanı: Kontrol ile etanol $p=0.101$, Etanol ile E+M $p=0.815$

Akson çapı: Kontrol ile etanol $p=0.075$, Etanol ile E+M $p=0.651$

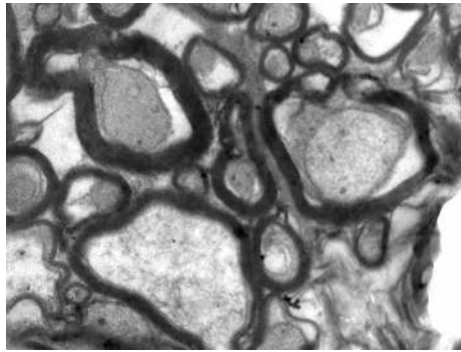
Elektron mikroskopik görüntülerden elde olunan ve 1. trimestir dönemine ait stereolojik analiz sonuçlarına göre; miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapına ait ortalama değerlerinin etanol grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu saptanmıştır (Resim 6 A ve B, Grafik 8 A-C). Diğer yandan, aynı trimestir dönemine ait stereolojik analiz sonuçlarına göre; etanol+melatonin verilen grup ile etanol grubu karşılaştırıldığında, etanol+melatonin verilen gruba ait miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapı ortalama değerlerinde artma olduğu gözlemlendi (Resim 6 B ve C, Grafik 8 A-C). Aynı şekilde, melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıfının kalınlığı, akson alanı ve akson çapının kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi (Resim 6 A ve D, Grafik 8 A-C).



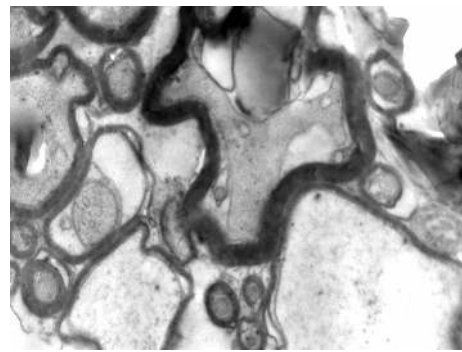
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



C) Etanol+melenonin grubu

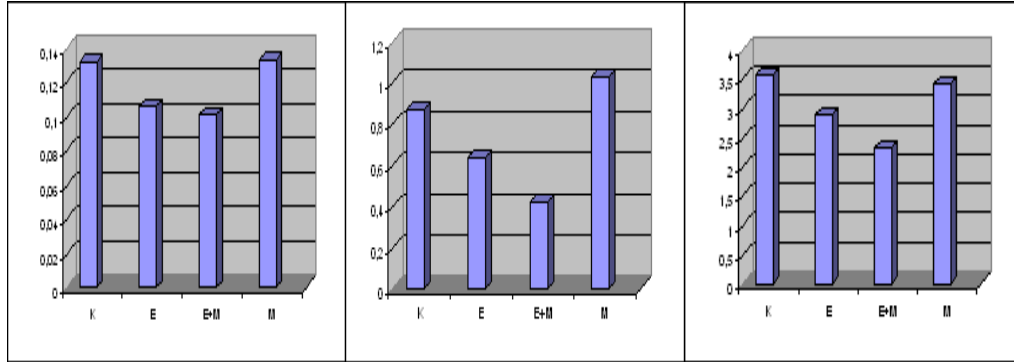


D) Melatonin grubu

Resim 7A-D. 2. trimestir EM görüntüleri. Orijinal büyütme X 15000**2.Trimestir stereolojik analiz:****Tablo 5 : Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M)**

	Miyelin kalınlığı (μm)	Akson alanı (μm^2)	Akson çapı (μm^2)
K	0.132 $\pm$ 0.017	0.875 $\pm$ 0.115	3.555 $\pm$ 0.231
E	0.106 $\pm$ 0.001	0.641 $\pm$ 0.069	2.895 $\pm$ 0.239
E+M	0.101 $\pm$ 0.006	0.420 $\pm$ 0.627	2.322 $\pm$ 0.137
M	0.133 $\pm$ 0.036	1.027 $\pm$ 0.347	3.405 $\pm$ 0.701

K: Kontrol, E: Etanol, E+M: Etanol+melenonin, M: Melatonin

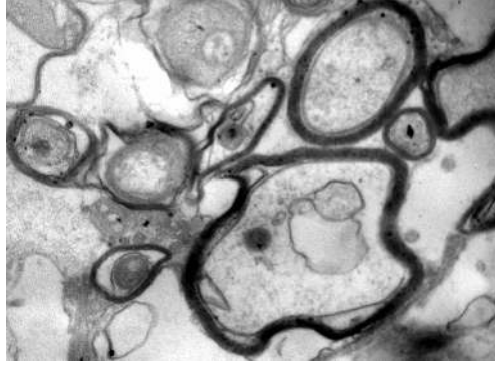
Grafik 9:A) Miyelin kalınlığı (μm)B) Akson alanı (μm^2)C) Akson çapı (μm^2)

Miyelin kalınlığı: Kontrol ile etanol $p=0.094$, Etanol ile E+M $p=0.329$

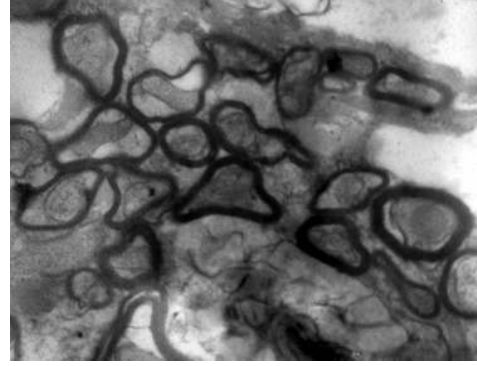
Akson alanı: Kontrol ile etanol $p=0.100$, Etanol ile E+M $p=0.060$

Akson çapı: Kontrol ile etanol $p=0.097$, Etanol ile E+M $p=0.110$

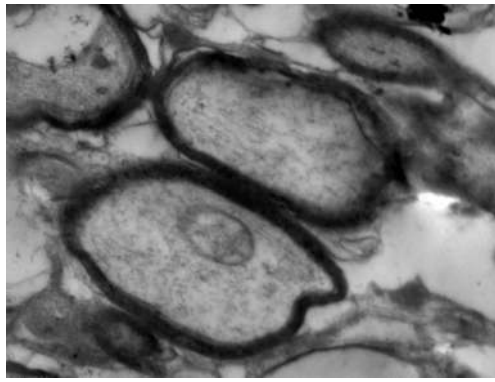
2. trimestire ait elektron mikroskopik görüntülerden elde olunan verilere dayalı stereolojik analiz sonuçlarına göre; miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapına ait ortalama değerlerinin etanol grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu tesbit edilmiştir (Resim 7 A ve B, Grafik 9 A-C). Öte yandan, aynı trimestir dönemine ait verilere göre; etanol+melatonin verilen grup ile etanol grubu karşılaştırıldığında, etanol+melatonin verilen grupta ortalama değer olarak miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapında belirgin bir artışa neden olmadığı görüldü (Resim 7 B ve C, Grafik 9 A-C). Melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların miyelin kılıfının kalınlığı, akson alanı ve akson çapı değerlerinin kontrol grubuna eşdeğer özellikte olduğu bulunmuştur (Resim 7 A ve D, Grafik 9 A-C).



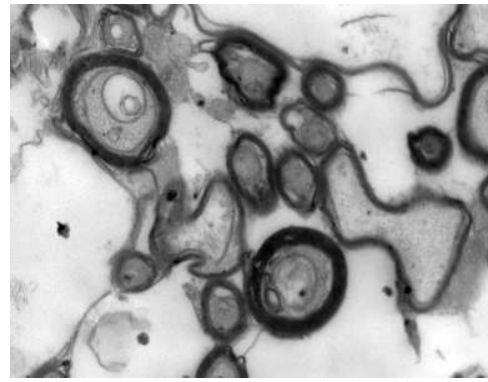
A) Kontrol grubu



B) Etanol grubu



C) Etanol+melenonin grubu



D) Melatonin grubu

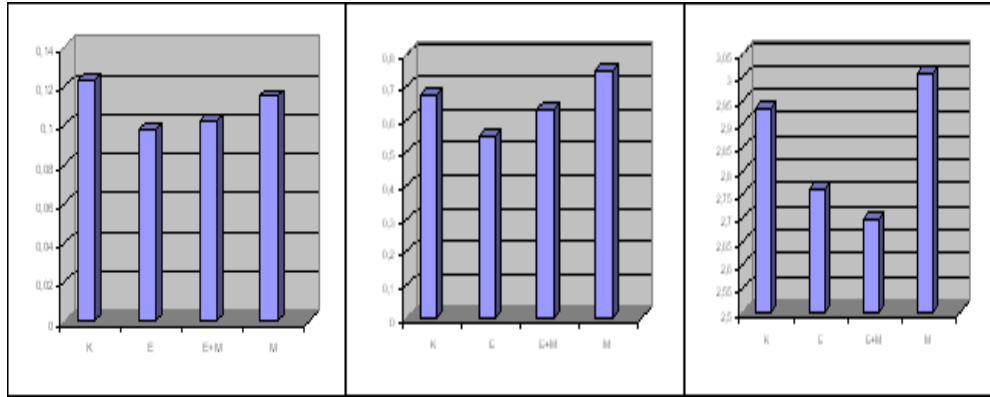
Resim 8A-D. 3. trimestir EM görüntüleri. Orijinal büyütme X 15000**3.Trimestir stereolojik analiz****Tablo 6 : Ortalama $\pm$ standart hata (Mean $\pm$ S.E.M)**

	Miyelin kalınlığı (μm)	Akson alanı (μm^2)	Akson çapı (μm^2)
K	0.123 ± 0.011	0.676 ± 0.853	2.932 ± 0.209
E	0.098 ± 0.004	0.552 ± 0.093	2.760 ± 0.176
E+M	0.102 ± 0.006	0.631 ± 0.099	2.698 ± 0.197
<u>M</u>	<u>0.115 ± 0.007</u>	<u>0.748 ± 0.138</u>	<u>3.010 ± 0.282</u>

K: Kontrol, E: Etanol, E+M: Etanol+melenonin, M: Melatonin

Grafik 10:

A) Miyelin kalınlığı (μm^2) B) Akson alanı (μm^2) C) Akson çapı (μm^2)



Miyelin kalınlığı: Kontrol ile etanol $p=0.083$, Etanol ile E+M $p=0.565$

Akson alanı: Kontrol ile etanol $p=0.356$, Etanol ile E+M $p=0.575$

Akson çapı: Kontrol ile etanol $p=0.548$, Etanol ile E+M $p=0.821$

3. trimestir dönemine ait elektron mikroskopik görüntülere dayalı stereolojik analiz sonuçlarına göre; etanol grubuna ait miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapı ortalama değerlerinde kontrol grubuna kıyasla, azalmaya sebep olduğu saptanmıştır (Resim 8 A ve B, Grafik 10 A-C). Etanol+melatonin verilen grup ile etanol grubu kıyaslandığında, miyelin kalınlığı ve akson alanı değerlerinde artma olduğu, akson çapında ise bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi (Resim 8 B ve C, Grafik A-C). Melatonin grubunun optik sinirlerinde de miyelinli aksonların miyelin kılıfının kalınlığı, akson alanı ve akson çapının kontrol grubuna benzer özellikte olduğu bulunmuştur (Resim 8 A ve D, Grafik A-C).

Özetle, her üç trimestir dönemine ait elektron mikroskopik görüntülerden elde olunan sayısal verilerin stereolojik analiz yöntemi ile değerlendirilmesi sonucu, etanolün miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapı diğerlerinde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Öte yandan, etanol+melatonin verilen grupta ise, 1. trimestir için miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapında artış ortaya çıkmakla birlikte,

2. trimestirde belirgin bir değişiklik ortaya çıkmamıştır. Aynı gruba ait 3. trimestir dönemi miyelin kalınlığı ve akson alanı değerlerinde da artma gözlenirken, akson çapında bir değişiklik görölmemiştir. Diğer yandan, melatonin grubuna ait optik sinirlerin miyelin kılıfı kalınlığı, akson alanı ve akson çapı değerlerinin kontrol grubuna eşdeğer özellikte olduğu saptanmıştır.

VI. TARTIŞMA

Etanolün lipid peroksidasyonunu uyarmasını OH radikalının artışına bağlı olduğu, akut etanol uygulanmasından sonra, NADPH oksidaz aktivitesinin de arttığı ve bunun da O₂ radikali aracılığıyla OH radikali oluşumuna katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (77). Alkolizmin çeşitli sağlık ve sosyal problemlere neden olduğunu ileri süren araştırmacılar, gebelikte alkol tüketiminin FAS'a neden olduğu belirtilmektedir. Bundan dolayı, alkol gebeler için teratojen bir madde olarak tanımlanmıştır (93). Alkolün hem embriyo gelişimine etki ettiği, hem de özellikle ilk trimestir ile ikinci trimestir ortalarına kadar olan dönemde fetüs ve anne için ciddi bir risk taşıdığı literatürde bildirilmektedir (41, 56).

FAS'lu çocuklarda strabismus, blefaroptozis, epikantus, katarakt, glokom, retinal ve optik sinir anomalileri oluşmaktadır (129). Bir grup İsveç'li FAS'lu çocukların incelenmesinde yarısında optik sinir hipoplazisi saptanmıştır (129). Yapılan deneysel çalışmada da etanola maruz bırakılan hayvanlarda, kontrol gruplarına göre total akson sayısında, aksonal çapta belirgin azalma olduğu gözlenmiştir (129).

Etanol metabolizması sırasında karaciğerde aktivitesi oldukça artan ksantin oksidaz kendisi serbest radikal oluşumuna yol açtığı gibi asetaldehit metabolizmasında ksantin oksidaz veya aldehit oksidaz aracılığı ile serbest radikaller üretebilme potansiyelleri vardır (62). Kronik alkol tüketiminde daha aktif hale geçen hepatik mikrozomal P450 - 2E1 enzim sistemi ve katalaz yolunda, O₂, H₂O₂ ve 1-OH etil radikali gibi serbest radikallerin üretimi ile ilişkili olduğu ve serbest radikal üretimini artırdıkları bilinmektedir (62).

Gebeliğin 10. ve 21. gününde etanol içirilen sıçanların yavrularının optik sinirleri 49. günde stereolojik olarak incelendiğinde etanole maruz kalanların optik

sinir alanlarında kontrol grubuna göre belirgin küçülme olduğu tespit edilmiştir (115). Miyelinli liflerde azalma olduğu, fakat miyelinsiz liflerde ise etkilenme olmadığı gözlenmiştir (115). Sonuç olarak küçük çaplı aksonal miyelin liflerinin sayısında etanole maruz kalanlar da azalma tespit edilmiştir (115).

Melatoninin indirekt antioksidan olduğunun keşfi, bu maddenin hem deneysel hem de klinik uygulamalarda kullanılmasının uygun olup olmayacağı konusunu gündeme getirmiştir (101, 108). Melatoninin antioksidatif etkisi beyin, spinal kord, optik sinir ve spinal kordun beyaz cevherinde gösterilmiştir (59). Yapılan çalışma sonucunda, melatoninin beyinde değişik koruyucu etkisi olduğu, en güçlü etkininde spinal kordun beyaz cevherinde olduğu gözlenmiştir (59). Melatoninin direkt ve indirekt antioksidatif etkisi alkolün lipid peroksidasyonunu inhibe ederek etkilemekte, sonuç olarak; alkolle ilişkili hastalıklarda yeni stratejik tedavi olarak melatonin kullanılmaktadır (40). Melatonin antioksidan ve nöroprotektif etki olarak zararlı etkileri azaltarak etkilemektedir (40). Tek doz melatoninin alkolün uyku verici etki süresini kısalttığı, alkolün farelerde neden olduğu hiperaktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (27). Sonuçta, santral etkileşim alkolün ve melatoninin antagonist ya da sinerjik natürde olabileceğidir (27).

Yapılan bir çalışmada, 6 hafta etanol içeren sıvıya maruz kalan sıçanların optik sinirlerinin incelenmesinde antioksidanlardan glutatyon gibi ve lipid peroksidasyon ürünü MDA çalışılmıştır (12). Etanola maruz kalanlarda glutatyon içeriğinde belirgin azalma ve MDA konsantrasyonunda ise kontrol grubuna göre belirgin yükselme tespit edilmiştir (12). Diğer bir çalışmada ise etanole maruz bırakılan sıçanların serebellumun da MDA konsantrasyonunun belirgin olarak arttığı görülmüştür (6).

Etanole maruz bırakılan sıçanların karaciğerinde, kalbinde, beyin ve testislerinde MDA düzeylerinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (61). Önce etanola maruz bırakılan sıçanların beyin, kalp, akciğer ve testislerinde MDA değerlerinin önemli derecede arttığı, etanol verilmeden 30 dk önce melatonin verilen sıçanların MDA düzeyleri tüm organlarda anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (40). Gebe (G20) sıçanlara melatonin verilmesinden sonra 1., 2. ve 3. saatlerde sıçanların serumunda ve fetal beyinde bakılan GSH-Px ve benzer şekilde SOD aktivitesinin anlamlı derecede arttığı görülmüştür (83).

Prenatal değişik maddelere maruz kalan 74 çocukta, doğumda, 1., 4., 8. ve 16. aylarında her iki göze VEP yapılmıştır (116). Sonuçta, etanole 1. trimestirde maruz kalan çocukların 1. aylarında latans dalgalarında uzama olduğu görülmüştür (116). Diğer bir çalışmada ise, 20 gönüllü kişiye akut etanol verilmesinden sonra F-VEP çalışılmış ve etanol alımından sonra yapılan F-VEP’de latanslarda uzama gözlenmiştir (109). Bu çalışmada, etanolün teratojenik etkileri her üç trimestir için ayrı ayrı ve kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiş iken, literatürde mevcut çalışmalarda sadece bir tek trimestir döneminde ve çoğu kez de birinci trimestire uyan dönemde incelemenin gerçekleştirildiği görülmüştür. Bu açıdan, bu tez çalışmasının bu yönüyle özgün olduğunu ve sonuçlarımızın daha sonra gerçekleştirilecek yeni çalışmalar için önem taşıdığını düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında, hayvanların P14. günü F-VEP incelemesinde; 1. trimestirde (G7) etanole maruz bırakılan hayvanların latanslarında kontrol grubuna göre anlamlı uzama ve amplitüdlerinde ise azalma olduğu görüldü ($P=0.000$). Aynı trimestirde etanol+melatonine maruz bırakılan hayvanların, sadece etanol uygulanan gruba göre latanslarında belirgin uzama olduğu, amplitüdlerinde de belirgin artış olduğu görüldü ($P=0.000$). P14. günü F-VEP çalışmasında; 2. trimestirde (G15)

etanole maruz kalanların latanslarında kontrol grubuna göre belirgin uzama olduğu ($P=0.001$), fakat amplitüdlerinde anlamlı değişiklik olmadığı görüldü. Etanol+melatonine maruz kalanlarda ise, etanole göre latanslarda belirgin uzama ($P=0.000$), amplitüd de belirgin artış gözlemlendi ($P=0.041$). P14. günü F-VEP çalışmasında; 3.trimestirde (G21) etanole maruz kalanların latansında kontrol ve melatonin grubuna göre uzama görüldü ($P=0.004$), amplitüdlerinde anlamlı değişiklik görülmedi. Etanol + melatonine maruz kalanların yine latanslarında etanole göre anlamlı uzama ($P=0.003$) olduğu görüldü. Amplitüdlerinde ise anlamlı değişiklik görülmedi. Sonuç olarak, her 3 trimestirde etanole maruz kalanların latanslarında anlamlı uzama olduğu, sadece 1.trimestirde amplitüdde azalma olduğu gözlemlendi. Etanol + melatonine maruz kalanların her 3 trimestirinde latanslarda belirgin uzama tespit edildi. 1. ve 2. trimestirde amplitüdlerinde artma gözlemlendi.

Biyokimyasal olarak, doku MDA ölçümünde ise sadece 1. trimestirde etanol grubunda, kontrol ($P=0.040$) ve melatonin grubuna göre MDA değerini arttırdığı ($P=0.000$) tespit edildi. Etanol+melatonin grubunda MDA değeri, etanol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ($P=0.008$) gözlemlendi. 2. ve 3. trimestirlerde istatistiksel olarak MDA değerlerinde anlamlı değişiklik görülmedi. Doku SOD çalışmasında ise, 1. trimestirde etanol+melatonin grubunda, etanol grubuna göre SOD aktivitesini istatistiksel olarak arttırdığı ($P=0.043$) gözlemlendi. 2. ve 3. trimestirlerde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi.

Işık mikroskopik görüntülere dayalı kalitatif değerlendirme sonuçlarına göre; etanol grubunda kontrol grubuna kıyasla, her üç trimestirin optik sinirlerinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma dikkati çekmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna kıyasla belirgin bir artış gözlemlendi. Özellikle, etanolün sitotoksik etkisi sonucunda

ölüme giden dens yapılı hücrelerin sayısının ilk iki trimestirde artmış olduğu dikkati çekmiştir. Öte yandan, etanol+melatonin grubunun etanol grubuna kıyasla, her üç trimestirde optik sinir miyelin kalınlığı ve akson çapında artış görülmüştür. Önemli olarak, melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapı kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi.

Elektron mikroskopik görüntülere dayalı stereolojik analize ait kantitatif ortalama değerlere bakıldığında, etanol her üç trimestirde de miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapını azalttığı, etanol+melatonin verilen grupta ise 1. trimestirde miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapında artma olduğu görülmekte olup 2. trimestirde ise etkisi görülmedi. Söz konusu durumun eksojen olarak uygulanmış olan melatonin dozuyla ilişkili olduğu düşünülmüş ve uygulanan melatonin dozunun artırılması sonrası etanole ait değişikliklerde düzelme olması beklenmektedir. Diğer yandan, 3. trimestirde ise miyelin kalınlığı ve akson alanında artma gözlenirken akson çapında bir değişiklik görülmedi. Melatonin grubunun optik sinirlerinde miyelinli aksonların miyelin kılıfının kalınlığı, akson alanı ve akson çapının kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi. Bu durum da, ikinci trimestirde etanolün etkisini bertaraf etmek için uygulanmış olan melatonin dozunun yetersiz olabileceği düşüncesini destekler niteliktedir.

Mevcut literatür verileri ile bu tez çalışmasının sonuçları karşılaştırıldığında; elde olunan verilerin literatür bulguları ile uyum içinde olduğu bulunmuştur. Yapılan literatür taramasında, şimdiye kadar etanolün etkileri ile ilgili olarak sadece 1. trimestire yönelik deneysel çalışmaların yapılmış olduğu ve ortaya çıkan teratojenik etkiler üzerine tedavi edici bir ajanın kullanılmamış olduğu dikkatimizi çekmiştir. Halbuki, klinik uygulamada, her üç trimestir döneminde etanole maruz kalma söz konusu olabilmektedir. Bu bakımdan, her üç trimestir döneminde etanolün

uygulandığı çalışmamın literatürdeki boşluğun doldurulması açısından önem taşıdığı düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında, özellikle 1. trimestirde elektrofizyolojik, biyokimyasal ve histolojik olarak etanolün teratojenik etkisi açık bir şekilde ortaya konulmuş, melatoninin antioksidan ve nöroprotektif etkisi de açık bir şekilde gösterilmiştir. İleri elektron mikroskopik düzeyde, tüm trimestirlerde alkolün teratojenik etkisin destekleyen bulgular görülmüştür.

Bu tez çalışmasında; biyokimyasal, elektrofizyolojik ve histolojik analizlerin tümü gerçekleştirilmiş ve sonuçlar birbirini destekleyici bulunmuştur. Etanolün teratojenik etkisinin değerlendirilmesine yönelik literatür taraması göstermiştir ki, bu çalışma üç parametrenin bir arada kullanıldığı ilk ve tek araştırmadır. Daha da önemlisi, etanolün optik sinir üzerine olan olumsuz etkilerinin bertaraf edilmesine yönelik bir ajan olarak melatoninin kullanıldığı ilk çalışmadır. İleride gerçekleştirilecek yeni çalışmalar sonucu melatoninin alkolik gebelerde tedavi edici olarak kullanılmasının sözkonusu olabileceği kanısını taşıyoruz.

VII. ÖZET

Bu çalışmada, deneysel olarak, gebe sıçanların yavrularında teratojenik etki oluşturan ve akut kullanımda optik sinire toksik etkisi bilinen alkole karşı, antioksidan ve nöroprotektif özellikleri bilinen melatoninin ne ölçüde etkili olduğu araştırıldı.

Çalışmada, toplam 24 adet Wistar albino dişi erişkin sıçan kullanıldı ve denekler üç trimestirde değerlendirildi. Her bir trimestirde kendi içinde 4 gruba ayrıldı ve her grup için 6 yavru sıçan, her trimestir için 24 ve toplam ise 72 yavru sıçan çalışmaya alındı. 1. kontrol grubuna 1mL/kg serum fizyolojik, 2. gruba etanol tek doz 2 gr/kg, 3. gruba ise etanol + melatonin tek doz 2 gr/kg etanol + 10 mg/kg melatonin ve 4. gruba tek doz 10 mg/kg G7, G15 ve G21. günleri i.p. olarak verildi. Postnatal 2 haftalık (P14) dönem sonrası her bir yavru sıçan i.p. ketamine (60-100 mg/kg) + xylazine (5-10 mg/kg) anestezisi sonrası, VEP çalışmasına alındı. VEP sonrası hayvanlar i.p. ketamine (60-100 mg/kg) + xylazine (5-10 mg/kg) anestezisi sonrası hazırlanan % 2 formaldehit + glutareldelhit karışımı 0,1 M Fosfat ile tamponize 150 ml sıvı ile intra-kardiyak perfüzyon yapıldı. Daha sonra optik sinir disseke edildi. Sağ optik sinir ışık ve elektron mikroskopik olarak, sol optik sinir ise biyokimyasal olarak incelendi.

Elektrofizyolojik incelemede, her 3 trimestirde etanole maruz kalanların latanslarında anlamlı uzama olduğu, sadece 1. trimestirde amplitüd de azalma olduğu gözlemlendi. Etanol + melatonine maruz kalanların her 3 trimestirinde latanslarda belirgin uzama tespit edildi 1. ve 2. trimestirde amplitüdlерinde artma gözlemlendi.

Biyokimyasal doku MDA çalışmasında sadece 1. trimestirde etanol gurubunda, kontrol (P=0.040) ve melatonin grubuna göre MDA arttırdığı (P=0.000)

tespit edildi. Etanol+melatonin grubunda MDA değeri etanol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ($P=0.008$) gözlemlendi. 2. ve 3. trimestirlerde istatistiksel olarak MDA değerlerinde anlamlı değişiklik görülmedi. Biyokimyasal doku SOD düzeyi çalışmasında ise 1. trimestirde etanol+melatonin grubunda, etanol grubuna göre SOD aktivitesini istatistiksel olarak arttırdığı ($P=0.043$) gözlemlendi. 2. ve 3. trimestirlerde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi.

Işık mikroskopik görüntülere dayalı kalitatif olarak değerlendirmede etanol grubunda kontrol grubuna göre her üç trimestirin optik sinirlerinde miyelinli aksonların miyelin kılıflarında incelme ve akson çapında azalma görülmekle beraber, glial hücrelerin sayısında ve büyüklüklerinde de kontrol grubuna göre artma gözlemlendi. Etanolün sitotoksik etkisi sonucunda ölüme giden dens yapılı hücrelerin sayısı ilk iki trimestirde daha belirgindi. Etanol+melatonin grubunun etanol grubuna göre optik sinirlerinde her üç trimestirde miyelin kalınlığı ve akson çapında artma görülmüştür. Melatonin grubunun optik sinirinde miyelinli aksonların kalınlıkları ve akson çapı kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi.

Elektron mikroskopik görüntüye dayalı stereolojik analize ait kantitatif olarak sonuçları incelendiğinde, etanolün her üç trimestirde de miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapını azalttığı, etanol+melatonin verilen grupta ise 1. trimestirde miyelin kalınlığı, akson alanı ve akson çapında artma olduğu görülmekte olup, 2. trimestirde ise etkisi görülmedi. 3. trimestirde ise miyelin kalınlığı ve akson alanında artma gözlenirken akson çapında bir değişiklik görülmedi. Melatonin grubunun optik sinirlerinde miyelinli aksonların miyelin kılıfının kalınlığı, akson alanı ve akson çapının kontrol grubuyla benzer özellikte olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, elektrofizyolojik, biyokimyasal ve histolojik olarak, özellikle 1. trimestirde etanolün teratojenik etkisi olduğu görölmekle beraber, melatoninin de antioksidan ve nöroprotektif bir etki gösterdiği görölmüştür.

Anahtar kelimeler: Alkol (etanol), melatonin, VEP, optik sinir, MDA, SOD

VIII. KAYNAKLAR

1. Agapito MT, Antolin Y, Del Brio MT, L-Pes Burillo S, Pablos MI, Recio JM. Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res* 2001; 31: 23-30.
2. Ahluwalia B, Wesley B, Adeyrga O, Smith DM, Da Silva A, Rajguru S. Alcohol modulates cytokine secretion and synthesis in human fetus: an in vivo and in vitro study. *Alcohol* 2000; 21: 207-213.
3. Ahmed I, Hines KS. Visual evoked potentials in alcoholics. *Clin Electroencephalogr* 1983; 14: 17-19.
4. Akyol S, Tunali H, Kiran B, İlter O. Alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında NK aktivasyonu ile IL-2, IFN-gama ve CD19 etkileşimi. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 32: 43-50.
5. Allison T, Wood CC, Goff WR. Brain stem auditory, pattern-reversal visual and short latency somatosensory evoked potentials: latencies in relation to age, sex and brain and body size. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1983; 55: 619-636.
6. Andrew MS, Daniel RZ, Jedidiah JG, Wei-Jung AC. Neonatal alcohol exposure increases malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels in the developing cerebellum. *Dev Brain Res* 2005; 160: 231-238.
7. Arendt J. Mammalian pineal rhythms. *J Pineal Res* 1985; 3: 161-213.
8. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 1988; 29: 205- 229.
9. Arendt J. The pineal gland: Basic physiology and clinical implications. In: De Groot LJ. *Endocrinology*. 3rd. ed. WB Saunders; Philadelphia 1995: 433-442.
10. Armutcu F, Gürel A, Kurtman S, Mungan AG, Ünalacak M. Alkol alışkanlığı olanlarda lipid peroksidasyonu ve serum demir parametreleri. *Türkiye Klinikleri Biyokimya Dergisi* 2003; 2: 61-67.
11. Attanasio A, Borelli P, Gupta D. Circadian rhythms in serum melatonin from infancy to adolescence. *J Clin Endocrinol & Metab* 1985; 61: 388-390.
12. Avino J, Diaz-Liapis M, Espana E, Johnsen-Soriano S, Romero B, Marin N, Muriach M, Bosch-Morell F, Romero FJ. Chronic ethanol feeding induces oxidative stress in the optic nerve of rats. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2002; 77: 263-268.

13. Ballı E. Melatoninin fonksiyonları. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2003; 4: 380-385.
14. Behrendt S, Kaatsch HJ, Schwinger R. Visual evoked potentials in low blood concentrations. *Ophthalmologe* 1996; 93: 367-370.
15. Bowles JT. The evaluation of aging: a new approach to an old problem of biology. *Med Hypotheses* 1988; 51: 179-221
16. Brzezinski A. Melatonin in human. *N Engl J Med* 1997; 336: 186-195.
17. Buege JA, Aust SD. Lactoperoxidase catalysed lipid peroxidation of microsomal and artificial membranes. *Biochem Biophys Acta* 1976; 444: 192–201.
18. Bulaşıcı hastalıklar ve uyuşturucu ile savaş klübü. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1997; 30: 1-15
19. Calrain IM, Taylor J, McLean S, Buttery R, Wise G, Montgomery I. Dose dependent effects of alcohol on visual evoked potentials. *Psychopharmacology* 1993; 11: 383-388.
20. Cavallo A, Ristchel WA. Pharmacokinetics of melatonin in human sexual maturation. *J Clin Endocrinol & Metab* 1996; 81: 1221-1225.
21. Celesia GG, Kaufmann D, Cone S. Effects of age and sex on pattern electroretinograms and visual evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987; 68: 161-171.
22. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996; 27: 1121-1131.
23. Chik CL, Ho AK. Ethanol reduces norepinephrine-stimulated melatonin synthesis in rat pinealocytes. *J Neurochem* 1992; 59:1280-1286.
24. Ciganek L. The EEG response (evoked potential) to light stimulus in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1961; 13: 165-172.
25. Cook RT. Alcohol abuse, alcoholism and damage to the immune system. A review. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 1927-1942.
26. Cross C. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 10: 526-545.
27. Czarnecka E, Kubik-Bogucka E, Strzelec JS. Interaction between central effects of ethanol and melatonin in mice. *Neuro Endocrinol Lett* 1999; 20: 379-383.

28. Çam A, Erdoğan FM. Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2003; 56: 103-112.
29. Dangata YY, Kaufmann MH. Morphometric analysis of the postnatal mouse optic nerve following prenatal exposure alcohol. J Anat 1997; 191: 49-56.
30. Daniel Vaugen MD, Taylor Asburg MD. Göz hastalıkları. Güven Kitapevi, Ankara 1978: 10-11
31. De Zwart LL, Meerman HNJ, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and humans. Free Radic Biol Med 1999; 26: 202-226.
32. Drobnik J, Dabrowski R. Melatonin suppresses the pinealectomy-induced elevation of collagen content in a wound. Cytobios 1996; 85: 51-58.
33. Dunty WC JR, Zucker RM, Sulik KK. Hindbrain and cranial nerve dysmorphogenesis result from acute maternal ethanol administration. Dev Neurosci 2002; 24: 328-342.
34. Ebadi M, Govitrapong P, Phansuwan-Pujito P, Nelson F, Reiter RJ. Pineal opioid receptors and analgesic action of melatonin. J Pineal Res 1998; 24: 193-200.
35. El-Sherif Y, Tesoriero J, Hogan MV, Wieraszko A. Melatonin regulates neuronal plasticity in the hippocampus. Neurosci Res 2003; 72: 454-460.
36. Fawcett DW, Jenesh RP. Pineal gland. In: Bloomm, Fawcett DW, Eds Concise Histology. Chapman and Hall international Thomson Publishing; New York 1977:164.
37. Foster RE, Connors BW, Waxman SG. Rat optic nerve: Electrophysiological, pharmacological and anatomical studies during development. Brain Res 1982; 255: 371-386.
38. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease. Academic Pres, San Diego 1994; 18: 515-533
39. Fridowich I. The biology of oxygen radicals. Science 1978; 201:875-877.
40. Gamal H, El-Sokkary, Russel J, Reiter RJ, Dun-Xian Tan, Seok Joong K, Javier C. Inhibitory effect of melatonin on products of lipid peroxidation resulting from chronic ethanol administration. Alcohol Alcohol 1999; 34: 842-850.
41. Gerald G, Briggs RK, Freeman SJ, Yaffe A. Reference guide to fetal and neonatal risk drugs in pregnancy and lactation. Baltimore 1998; 5: 401-549.

42. Gücükoğlu A. Retrobulber nevrin VER ile tanısı ve klinik değeri. Türk Oftalmoloji Dergisi 1988; 16: 424-435.
43. Gürhan K. Nörooftalmoloji. Nobel Tıp Yayınları; İstanbul 1995; 2-20.
44. Hakanson R, Lambard des Gouttes MN, Owman C. Activities of tryptophan hydroxylase, dopa decarboxylase and monoamine oxidase as correlated with appearance of monoamines in developing rat pineal gland. Life Sci 1967; 6: 2577.
45. Halliwell B. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? Drugs 1991; 42: 569-605.
46. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease with particular reference to the vascular system. Haemostasis 1993; 23: 118-126.
47. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Pres, Oxford 1996; 2: 86-130.
48. Harris SJ, Wilce P, Bedi KS. Exposure of rats to a high but not low dose of ethanol during early postnatal life increases the rate of loss of optic nerve axons and decreases the rate of myelination. J Anat 2000; 197: 477-485.
49. Hetzler BE, Bednarek EM. Effects of ethanol on flash-evoked potentials of rats: lack of antagonism by naltrixone. Alcohol 2001; 25: 21-30.
50. Hetzler BE, Oakiay KE, Hellbronner RL, Vestal T. Akut effects of alcohol on photik evoked potentials of albino rats: visual cortex and superior colliculus. Pharmacol Biochem Behaw 1982; 17: 1313-1316.
51. Iguchi M, Kato K, Ibayashi M. Age dependent reduction in serum melatonin concentration in healthy human subjects. J Clin Endocrinol & Metab 1982; 55: 27-29.
52. Ishii H, Kurose I, Kato S. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. J Gastroenterol Hepatol 1997; 12: 272-282.
53. Itzhak Y, Martin JL, Black MD, Ali SF: Effect of melatonin on metamphetamime- and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurotoxicity and methamphetamine-induced behavioral sensitization. Neuropharmacology 1998; 37: 781-791
54. İdil M.K, Sezen F, Meri U. Göz hastalıkları ders kitabı. Filiz Kitapevi, İstanbul 1986; 220-226.

55. İsmail M, Janjua MZ. Craniofacial alterations in adult rats after acute prenatal alcohol exposure. JAMC 2001; 13: 7-10.
56. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi 12. Tıp Kurultayı Özet Kitabı. 1993; 24-25.
57. Jörg J, Hielscher H. Evozierte potentiale (VEP, SEP, AEP) in klinik und praxis. Springer-Verlag, Berlin 1984; 1-69.
58. Kabuto H, Yokoi I, Ogawa N. Melatonin inhibits iron-induced epileptic discharges in rats by suppressing prooxidation. Epilepsia 1998; 39: 237-243
59. Kaptanoğlu E, Palaoğlu S, Demirpençe E, Akbıyık F, Solaroğlu I, Kılınç A. Different responsiveness of central nervous system tissues to oxidative conditions and to the antioxidant effect of melatonin. J Pineal Res 2003; 34: 32-35.
60. Karabulut B, Kabakçı T. Serbest radikaller. Akademi 1995; 1: 28-35.
61. Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E, Hammami M, Gharbi N, Kamoun A, El-Fazaa S. Protective effect of resveratrol on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. Alcohol Alcohol 2006; 41: 236-239.
62. Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N, Lieber CS. Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. Gastroenterology 1990; 98: 203-210.
63. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. Medical Publishing Division, New York 2001; 8: 1101-1102.
64. Klein DC. The mammalian melatonin rhythm. generating system, In: Weterberg L, Ed. Light and biological rhythms in man. Pergamon Press, New York 1993; 63: 55-71
65. Krauchi K, Cajochen C, Möri D, Graw P, Justice AW. Early evening melatonin and s-20098 advance circadian phase and nocturnal regulation of core body temperature. Am J Physiol 1997; 272: 1178-1188.
66. Kurata M, Suzuki M, Agar NS. Antioxidant system and erythrocyte lifespan in mammals. Comp Biochem Physiol B 1993; 106: 477-487.
67. Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: first pass hepatic metabolism. J Clin Endocrinol & Metab 1985; 61:1214-1216.
68. Lee P, Shiu SY, Chow PH. Regional and diurnal studies of melatonin and melatonin binding sites in the duct gastrointestinal tract. Biol Signals 1995; 4: 212.

69. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? *Support Care Cancer* 2002;10: 110-116.
70. Livrea MA, Tesoriere L, D'Arpa D, Morreale M. Reaction of melatonin with lipoperoxyl radicals in phospholipid bilayers. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 706-711
71. Lohr JB, Cadet JL, Lohr MA. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia: the possible involvement of free radicals mechanisms. *Schizophren Bull* 1998; 14: 291-296.
72. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr Randal RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-270.
73. Machado CRS, Wragg LE, Machado ABM. A histochemical study of sympathetic innervation and 5-hydroxytryptamine in the developing pineal body of the rat. *Brain Res* 1968; 8: 310-318
74. Maestroni GJM. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993; 14: 1-10
75. Mallo C, Zaidon R, Galy G, Vermeulen E, Brun J, Chazot G, Claustrat B. Pharmacokinetics of melatonin in man after intravenous infusion and bolus enjection. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 38: 297-301
76. Margret CP, Li CX, Elberger AJ, Matta SG, Chappell TD, Waters RS. Prenatal alcohol exposure alters the size, but not the pattern, of the whisker representation in neonatal rat barrel cortex. *Exp Brain Res* 2005; 22: 167-178
77. Matsumoto T, Moriguchi R, Yamada H. Role of polymorphonuclear leucocytes and oxygen-derived free radicals in the formation of gastric lesions induced by HCl/ethanol and a possible mechanism of protection by anti-ulcer polysaccharide. *J Pharm Pharmacol* 1993; 45: 535-539.
78. McKord JM. Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 213: 159-163.
79. Moore DB, Madorsky I, Paiva M, Barrow Heaton M. Ethanol exposure alters neurotrophin receptor expression in the rat central nervous system: Effects of prenatal exposure. *J Neurobiol* 2004; 60: 101-113.
80. Nordmann R. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol Alcohol* 1994; 29: 513-522.
81. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol Alcohol* 1990; 25: 231-237.

82. Nordmann R, Ribière C, Rouach H. Implication of free radical mechanisms in ethanol induced cellular injury. *Free Rad Biol Med* 1992; 12: 219-240.
83. Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda C. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J Pineal Res* 2000; 28: 89-96.
84. Ozan A, Önder A, Mehmet Ç, Neşe Ç, Zafer Ç, Babür D, Fethi İ, Süleyman İ, Tülay K. Kranial sinir hastalıkları özel sayısı. *Türkiye Klinikleri* 2006; 40: 7-11.
85. Özaki Y, Wurtman RJ, Alonso R, Lynch HJ. Melatonin secretion decreases during the proestrous stage of the rat estrous cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 531-534
86. Pablos MI, Agapito MT, Gutierrez R, Recio JM, Reiter RJ, Barlow-Walden L, Acuna-Castroviejo O, Menendes-Pelaez A. Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase several tissues of chicks. *J Pineal Res* 1995; 19: 111-115.
87. Phillips DE. Effects of limited ethanol exposure on the development of myelin and nerve fibers in rat optic nerve. *Exp Neurol* 1998; 103: 90-100.
88. Pieri C, Moroni F, Marra M, Marcheselli F, Recchioni R. Melatonin is an efficient antioxidant. *Arch Gerontol Geriatr* 1995; 20: 159-165.
89. Pinazo-Duran MD, Renau-Piqueras J, Guerri C. Developmental changes in the optic nerve related to ethanol consumption in pregnant rats: analysis of the ethanol –exposed optic nerve. *Teratology* 1993; 48: 305-322.
90. Pinazo-Duran MD, Renau-Piqueras J, Guerri C, Stromland K. Optic nerve hypoplasia in fetal alcohol syndrome: an update. *Eur J Ophthalmol* 1997; 7: 262-270.
91. Pless G, Frederiksen TJP, Garcia JJ, Reiter RJ. Pharmacological aspects of N-acetyl-5-methoxytryptamine (melatonin) and 6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-B-carboline (pinoline) as antioxidants: Reduction of oxidative damage in brain region homogenates. *J Pineal Res* 1999; 26: 236-246.
92. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med* 2000; 21: 49-98.
93. Ponnappa BC, Rubin E. Modeling alcohol's effects on organs in animal models. *Alcohol Res Health* 2000; 24: 93-104.

94. Potter BJ. Alcohol and hepatic iron homeostasis. In: Watson RR. Editor. Drug and alcohol abuse reviews: Liver Pathology and Alcohol, Humana Pres, Totowa 1991; 2: 1-60.
95. Quintyn JC, Massy J, Quiliard M, Brasseur G. Effects of low alcohol consumption on visual evoked potential, visual field and visual contrast sensitivity. *Acta Ophtalmol Scand* 1999; 77: 23-26.
96. Regan D. Some characteristics of average steady-state and transient responses evoked by modulated light. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1966; 20: 238-248.
97. Regan D. Cortical evoked potentials. *Adv Behav Biol* 1972; 5: 177-192.
98. Regan D. Comparison of transient and steady state methods. *Ann NY Acad Sci* 1982; 388: 45-71.
99. Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis its physiological *Endocr Res* 1991; 12: 151-180
100. Reiter RJ. Intracellular actions of melatonin with a summary of its interactions with reactive oxygen species. In: Frascini F, Reiter RJ, Stankov B, Eds. Pineal gland and its hormone Fundamentals and clinical perspectives. NATO Asi series; life sciences: 277. New York, USA, Plenum Pres, 1995; 21.
101. Reiter RJ. Oxygen radical detoxification processes during aging: the functional importance of melatonin. *Aging Exp Clin Res* 1995; 7: 340-351
102. 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.
103. Reiter RJ. Aging and oxygen toxicity: relation to change in melatonin. *Age* 1997; 20: 201-203.
104. Reiter RJ. Antioxidant action of melatonin. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 103.
105. Reiter RJ. Melatonin and human reproduction. *Ann Med* 1998; 30: 103.
106. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Ann NY Acad Sci* 2000; 917: 376-386.
107. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defence mechanisms. *Horm Metab Res* 1997; 29: 363-372
108. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: a review. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444-458.

109. Resende LA, Adoni T, Kimald PA, Ragazzo P. Effects of ethanol on human visuel evoked potentials. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 2001; 41: 349-352.
110. Rojdmarm S, Wikner J, Adner N, Andersson DE, Wetterberg L. Inhibition of melatonin secretion by ethanol in man. *Metabolism* 1993; 42: 1047-1051.
111. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 181-200.
112. Sabahat A, Günalp İ, Bilgiç S, Özçetin H, Erbakan G, Kendiroğlu G, Öge İ, Gücükoğlu A, İrkeç M, Eldem B. (Çeviri: Stephen JHM). Parson's göz hastalıkları teşhis ve tedavi. Atlas Tıp Kitapçılık; Ankara 1989; 1: 3-4
113. Sanaç AŞ. Visual evoked potansiyel. *Türk Oftalmoloji Gazetesi* 1988; 18: 84-107.
114. Sandyky R, Avastasidis PG, Amnius PA. Is post menopausal osteoprosis related to pineal gland functions? *Int J Neurosci* 1992; 62: 215.
115. Sawada K, Sakata-Haga H, Komatsu S, Ohta K, Jeong YG, Fukui Y. A selective loss of small-diameter myelinated optic nerve axons in rats prenatally exposed to ethanol. *Congenit Anom (Kyoto)* 2002; 42: 125-129.
116. Scher MS, Richardson GA, Robles N, Geva D, Goldschmidt L, Dahl RE, Sclabassi RJ, Day LN. Effects of prenatal substance exposure: altered maturation of visual evoked potentials. *Pediatr Neurol* 1998; 18: 236-243.
117. Seher S. Alkol ve madde bağımlılığı. *Türkiye Klinikleri Psikiyatri Dergisi* 2005; 47: 7-8
118. Sentman ML, Brannström T, Westerlund S, Laukkanen MO, Yla-Herttuala S, Basu S, Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase deficiency and atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1477-1482.
119. Sevanian A, McLeod L. Formation of biological reactivity of lipid peroxidation products. Taylor and Francis; Washington: DC. 1997. pp. 47-70.
120. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. *Klinik Gelişim* 1995; 8: 3906-3911.
121. Sies H, Stahl W. Vitamin E and C, B carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1315.
122. Simon JH, Peter Wilce, Kuldip SB. Exposure of rats to a high but not low dose of ethanol during early postnatal life increases the rate of loss of optic nerve axons and decreases the rate of myelination. *J Anat* 2000; 197: 477-485.

123. Sircar R. Effect of melatonin on cocaine-induced behavioral sensitization. *Brain Res* 2000; 857: 295-299.
124. Sirotkin AV, Schaffer HJ. Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *J Endocrinol* 1997; 154: 1.
125. Siu AW, Reiter RJ, Ito CH. The efficacy of vitamin E and melatonin as antioxidants against lipid peroxidation in rat retinal homogenates. *J Pineal Res* 1998; 24: 239.
126. Slater TF. Free radicals in tissue injury. *Br J Cancer* 1987; 55: 5-10.
127. Spornitz UM, Socin CD, Dravid AA. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. *Anat Rec* 1999; 254: 116-126.
128. Stehle JH, Foulkes NS, Molina CA. Adrenergic signals direct rhythmic expression of the transcriptional repressor CREM in the pineal gland. *Nature* 1993; 365: 314.
129. Stromland K, Pinazo-Duran MD. Optic nerve hypoplasia: comparative effects in children and rats exposed to alcohol during pregnancy. *Teratology* 1994; 50: 100-111.
130. Sugden D. Adrenergic mechanismus regulation pineal melatonin synthesis. *J Pineal Res* 1991; 5: 33.
131. Sugden D, Chong NWS. Pharmacological identity of 2-(125-I) iodomelatonin binding sites in chicken brain and sheep pars tuberalis. *Brain Res* 1991; 539: 151-154.
132. Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal glanddan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri. *Arşiv* 2002; 11: 453-470.
133. Turgut Z, Baysal A.İ. Klinik nöroanatomi ve nörofizyoloji. Hacettepe üniversitesi yayınları; Ankara 1975: 86-88.
134. Turgut M, Özkaya B. Pineal bölge tümörleri ve cerrahi yaklaşım şekilleri. *Arşiv* 2000; 10:100.
135. Tyulina OV, Huentelman MJ, Prokopieva VD, Boldyrev AA, Johnson P. Does ethanol metabolism affect erythrocyte hemolysis? *Biochem Biophys Acta* 2000; 1535: 69-77.
136. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1685-1696.
137. Ünal B. Göz hastalıkları. Palme yayıncılık, Ankara 1998; 4: 209-218.

138. Valantine JS, Wertz DI, Lyons TJ, Liou LL, Goto JJ, Gralle EB. The dark side of dioxygen biochemistry. *Curr Opin Chem Biol* 1998; 2: 253-262.
139. Weaver DR, Reppert SM. Maternal melatonin communicates daylength to the fetus in djungarian hamsters. *Endocrinology* 1986; 119: 2861-2863.
140. Weinberg J. Recent studies on the effect of fetal alcohol exposure on the endocrine and immune systems. *Alcohol Alcohol* 1994; 2: 401-409.
141. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998;11: 342-346.
142. Yıldırım BD, İşcan C. Alkol bağımlılığı. *Türkiye Klinikleri Psikiyatri Dergisi* 1996; 4: 6-10.
143. Yi S, Larry W, Oberley, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1998; 34: 497-500.
144. Young SN, Gouthier S, Kielj ME, Lal S, Brown GM. Effect of oral melatonin administration on melatonin, 5-hydroxyindoleacetic acid, indoleacetic acid and cyclic nucleotides in human cerebrospinal fluid. *Neuroendocrinology* 1984; 39: 87.
145. Yu L, Schaad NC, Klin DC. Calcium potentiates cyclic AMP stimulation of pineal arylalkylamine N-acetyl transferase. *J Neurochem* 1993; 60: 1436.
146. Yuwiler A. Sympathetic innervation of the pineal gland: Effect of thyroxine and cortisol. *Melatonin rhythm system. Int Symp Bethesda Md* 1981, pp.42-61.
147. Zieleniewski J, Nowakowski-Jankiewicz B, Juszczak M, Waldhauser M. Influence of pinealectomy on the mitotic activity of regenerating adrenal cortex in rats. *Cytobios* 1986; 47: 85-88.
148. Zima T, Fialova L, Mestek O, Janebova M, Crkovska J, Malbohan I, Stipek S, Mikulikova L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci* 2001; 8: 59-70.
149. Zuzewicz W. Ethyl alcohol effect on the visual evoked potential. *Acta Physiol Pol* 1981; 32: 93-98.

TEŞEKKÜR

Tez çalışması olarak yürütülen bu deneysel çalışma protokolü Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Projeleri Alt Komisyonu tarafından değerlendirilmiş ve Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (TPF – 06009).