



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

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM
DALI**

**SIÇANLARDA AKUT SÜRELERDE UYGULANAN SODYUM
PİRİTİON'UN GHRELİN VE LEPTİN HORMON
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mustafa GÖKTAŞ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hüseyin POLAT

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330006 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, “Mustafa GÖKTAŞ”, tarafından hazırlanan “**SIÇANLARDA AKUT SÜRELERDE UYGULANAN SODYUM PİRİTİON’UN GHRELİN VE LEPTİN HORMON DÜZEYLERİNE ETKİSİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin POLAT
Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Kenan ERDOĞAN
Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Nuh KORMAZ
Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 20/01/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Mustafa GÖKTAŞ

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmak fırsatını vererek beni onurlandıran, karşılaştığım zorluklar karşısında yardım ve anlayışını esirgemeyen, bana her şeyden önce umudu yitirmemek gerektiğini öğreten, kıymetli deneyimlerini benim ile paylaşan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin POLAT' a en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yaşadığım tatsızlıklarda neşem, kazandıklarımda heyecanım olan; sevgileri sayesinde hayata şanslı başladığım aileme, desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Yelda'ya ve biricik kızım Güneş'e her şey için çok teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı Aksaray Üniversitesi Yönetimine, bu çalışmanın etik kurul iznini veren ve hayvan deneylerinin yapıldığı Kırıkkale Üniversitesine, laboratuvar çalışmalarının yürütüldüğü ASÜBTAM yönetimi ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Mustafa GÖKTAŞ
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 NaPT'nin Genel Özellikleri ve Etkileri	3
2.2 Diğer Piritonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	5
2.3 Ghrelin.....	6
2.4 Leptin.....	8
3. MATERYAL VE METOT	10
3.1 Deney Kullanılan Hayvanlar ve Gruplar	10
3.2 Kan Alımı ve Saklanması.....	10
3.3 Leptin ve Ghrelin Analizleri.....	11
3.4 Deney Protokolü.....	14
3.5 Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Analizi	14
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	15
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	17
KAYNAKLAR	22
ÖZGEÇMİŞ.....	28

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA AKUT SÜRELERDE UYGULANAN SODYUM PİRİTİON'UN GHRELİN VE LEPTİN HORMON DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Mustafa GÖKTAŞ

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin POLAT

ÖZET

Bu tez çalışmasında akut süre dilimlerinde (24 ve 96 saat) sodyum pirition (NaPT) ve salin uygulanması sonucunda Wistar albino sıçanlarda kan serumu ghrelin ve leptin hormon seviyeleri araştırılmıştır. Çalışmalar neticesinde kontrol grupları ile doz gruplarının karşılaştırılması yapılmıştır. Karşılaştırma sonucunda uygulanan her iki doz grubundaki (35 ve 70 mg/kg) akut sürelerde ghrelin hormon seviyelerindeki azalma istatistiksel analizler sonucunda farkın önemli olduğu tespit edilmiştir.

Yine bu çalışmada uygulanan doz gruplarının (35 ve 70 mg/kg) kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucu akut sürelerde leptin hormon seviyesindeki artışın istatistiksel analizler sonucunda farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. Benzer zaman dilimlerindeki dozlar arasındaki leptin ve ghrelin hormon seviyelerindeki farklar önemsiz olduğu belirlenmiştir. 24 ve 96 saatlik sürede uygulanmış aynı NaPT dozları arasında farklar önemsizdir.

Sıçanlar uygulanmış olan NaPT dozları sitotoksik etki oluşturduğu ve sonucunda doku hasarı oluşturarak nekroz geliştirmiş ve bunun sonucu gelişen inflamasyonun hayvanlarda immünolojik tepki olarak TNF-alfa, 1β ve IL-6 salınımının yapıldığı bilinmektedir. Bu salınan proinflamatuvar sitokinlerin kaşektik etkisi sonucu ghrelin hormon seviyelerinde azalmaya ve leptin hormon seviyelerinde artış tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, Leptin, NaPT, Sıçan

Ocak, 2023; 28 sayfa

M.Sc. THESIS

**THE EFFECT OF SODIUM PYRITHIONE IN ACUTE PERIODS ON
GHRELIN AND LEPTIN HORMONE LEVELS IN RATS**

Mustafa GÖKTAŞ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin POLAT

ABSTRACT

In this thesis study, blood serum ghrelin and leptin hormone levels were investigated in Wistar albino rats after administration of sodium pyrithione (NaPT) and saline in acute periods (24 and 96 hours). As a result of the studies, the comparison of the control groups and dose groups was made. As a result of the comparison, the decrease in ghrelin hormone levels in the acute periods in both dose groups (35 and 70 mg/kg) was found to be significant as a result of statistical analyzes.

Again, as a result of the comparison of the dose groups (35 and 70 mg/kg) administered in this study with the control group, the difference in the increase in leptin hormone levels during the acute periods was found to be significant as a result of statistical analysis. The differences in leptin and ghrelin hormone levels between doses at similar time periods were found to be insignificant. The differences between the same doses of NaPT administered over a 24-hour and 96-hour period are insignificant.

It is known that NaPT doses administered to rats have cytotoxic effects, resulting in tissue damage and necrosis. As a result of the cachectic effect of these released proinflammatory cytokines, a decrease in ghrelin hormone levels and an increase in leptin hormone levels were detected.

Keywords: Leptin, Ghrelin, NaPT, Rat

January, 2023; 28 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. NaPT'nin yapısal formülü.	3
Şekil 3.1. Sıçanlara intraperitoneal NaPT ve tuzlu su (salin) uygulanması.	11
Şekil 3.2. ELISA yöntemli leptin ve ghrelin hormon analiz kitleri.	11
Şekil 3.3. Leptin ve ghrelin düzeyleri ölçümü sonrası mikropleytler.....	12
Şekil 3.4. Leptin ve Ghrelin düzeyleri ölçümünde kullanılan miropleyt ELISA okuyucusu.	13
Şekil 3.5. Leptin ve Ghrelin düzeyleri ölçümünde kullanılan miropleyt ELISA yıkayıcısı.	13
Şekil 5.1. Sıçanlarda 24 saatlik ghrelin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi	18
Şekil 5.2. Sıçanlarda 96 saatlik ghrelin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi	19
Şekil 5.3. Sıçanlarda 24 saatlik leptin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi	19
Şekil 5.4. Sıçanlarda 96 saatlik leptin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi	20

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Deneyler için oluşturulan hayvan grupları ve ağırlıklarına ait bulgular	10
Çizelge 4.1. NaPT uygulanan sıçanlarda ghrelin hormon düzeyleri..	15
Çizelge 4.2. NaPT uygulanan sıçanlarda leptin hormon düzeyleri.....	16



SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	Adenozin trifosfat
Ca²⁺	Kalsiyum
CuPT	Bakır piriton
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
IL-1β	İnterlökin-1 Beta
IL-6	İnterlökin-6
ip	İntraperitoneal
kDa	Kilodalton
Lc50	Öldürücü doz değeri
mg/kg	Miligram/kilogram
ml/kg	Mililitre/kilogram
ml	Mililitre
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NaPT	Sodyum piriton
pg	Pikogram
SPSS	Statistical Package for the Social Scie
TNF	Tümör nekroz faktör
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
Zn	Çinko
ZnPT	Çinko Piriton
°C	Derece Santigrat
μL	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Günümüzde birçok alanda meydana gelen endüstriyel gelişme sonuçları sağlık ve çevresel problemleri beraberinde getirmiştir. Bu gelişimlerin üretim aşamasındaki yan ürünleri ve kullanıma bağlı olarak çevreye toksikolojik ortaya çıkmıştır. Yapılan birçok araştırma, toksikolojik çevresel kirleticilerin hem çevre ve hem de halk sağlığına yönelik olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir.

Doğadaki diğer canlılar ve insanlar bu toksikolojik ajanları farklı yollardan (oral, solunum ve dermal) bu kirleticilere maruz kalmaktadır. Bu maruziyet sonucu canlı organizmalar üzerinde birçok değişikliğe neden olmaktadır. Bu değişiklikler arasında fizyolojik değişimler yaşamın devamı için önem taşımaktadır. Canlılarda hayatın devamı için düzenlemeler yapan fizyolojik sistemler (nörolojik, endokrinolojik ve immünolojik) üzerine toksikolojik etkileri araştırılmaktadır. Homeostasiz sağlanmasında önemli rolü olan endokrin sistem üzerindeki araştırmalar önem taşımaktadır. Yapılan endüstriyel çevresel kirleticiler üzerinde yapılan çalışmalarda endokrinolojik, büyüme, strese cevaplar, üreme ve cinsiyet gelişimleri, genetik, sitolojik ve metabolizmayı etkilediği bildirilmektedir [1-3].

Sodyum pirition (NaPT) biyositler arasında önemli bir yer tutmakta ve maden sektöründe, kozmetik sektöründe, yakıt endüstrisinde antimikrobiyal ve antifungal ajan olarak geniş yer almaktadır [4]. NaPT substrat taşınımını engellemekte mantar ve bakteri gelişimini etkilediği bildirilmektedir [5].

Radyoaktif işaretli NaPT'nin sıçanlara uygulanması neticesinde farklı organlarda birikim yaptığı bildirilmektedir [6]. NaPT sitotoksik etkileri sebebiyle farklı hayvanlarda (fare, sıçan ve tavşanlarda) arka bacaklar üzerinde geri dönüşümlü felçlerin geliştiği ve geri dönüşü olmayan göz hasarı gözlemlendiği bildirilmiştir [7]. Sıçanlara oral uygulanması sonucu omurilikte yer alan motor nöronlarda Ca^{+2} 'ı seviyesini arttırdığı, bu nedenle enerji üretimini başlattığı, buna bağlı olarak hücre iskelet yapısının bozulması sonucu hücre ölümüne neden olduğu bildirilmektedir [8,9]. Yine piriyonların fizyolojik stres tepkiye sebep olarak enerji tüketimini arttırdığı [10], DNA hasarlanması, erken hücre yaşlanmasına ve ölüme neden olduğu yapılan araştırmada bildirilmektedir [11]. NaPT sadece bakteri ve mantarları etkilemediği aynı zamanda hayvanlar ve ekolojik bakımından olumsuz etkileri bilinmektedir. Farklı

pirationların midyeler üzerinde DNA hasarı, fizyolojik stres ve hücre ölümüne [12] ve balık larvaları üzerindeki gelişimsel bozuluma (teratojenik) neden olduğu tespit edilmiştir [13].

Yazıcı ve Polat (2021) tarafından sıçanlara NaPT uygulanması sonucu akut sürelerde IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde artış belirlemişlerdir [14]. Bunun NaPT'nin sitotoksik etkisi sonucun doku hasarı oluşturarak nekroz gelişmiş olabileceği ve inflamasyona neden olabileceğini bildirilmektedir [14]. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler, inflamasyon [15] yaşlanmada kronik düşük dereceli inflamasyon [16,17] ve ateroskleroz [18] ile ilişkili zayıflamayla ilişkilendirilmiştir. Bağışıklık sisteminin özellikle de lökositler tarafından inflamatuvar sitokinlerin üretiminin anoreksiya sendromunun gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [19,20]. İnflamatuvar anoreksiya ile en alakalı olduğu düşünülen sitokinler arasında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α bulunur. Periferik olarak uygulanan grelin'in IL-1 β kaynaklı anoreksiyi bloke ettiği ve gıda alımını teşvik ederek ve enerji harcamasını azaltarak pozitif enerji dengesi ürettiği gösterilmiştir [21]. IL-1 β ve leptin kombinasyonunun da midede ghrelin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [21].

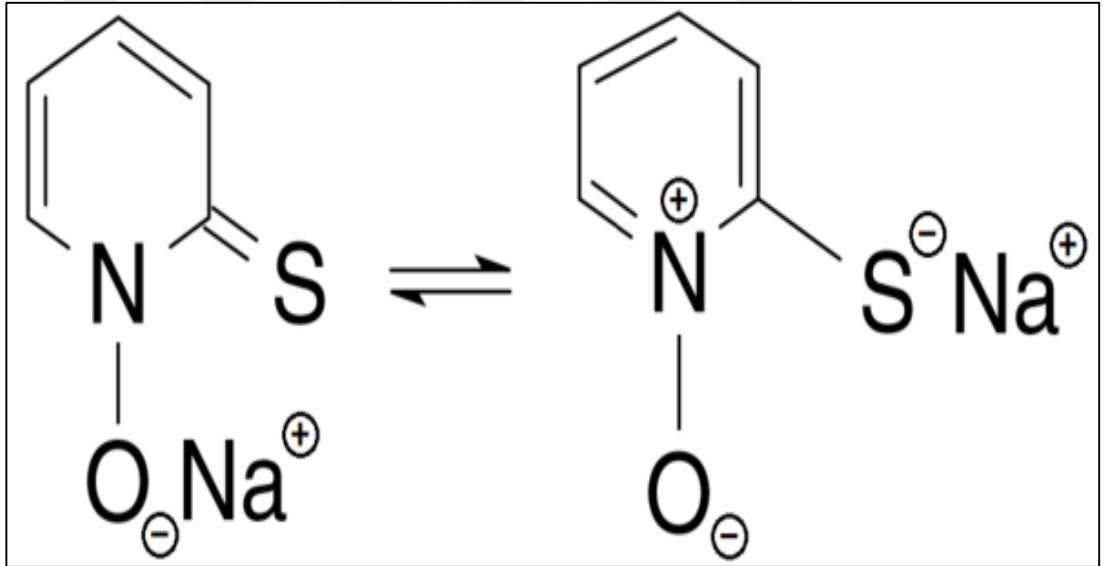
Yaygın bir uygulama alanı bulunan NaPT ile ilgili araştırmalar oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında, sıçanlarda NaPT'nin ghrelin ve leptin düzeyleri üzerindeki etkisini belirlenmek amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçların, insan sağlığı, çevre sağlığı, diğer canlı sağlığının korunmasında ve fizyolojik araştırmalar için kullanılabileceği düşünülmüştür.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 NaPT'nin Genel Özellikleri ve Etkileri

NaPT dünyada yaygın antimikrobiyal ajan olarak kullanılan olan bir maddedir. Piriton virüsler üzerinde etkili olmadığı buna karşın ve bakterin öldürmesi yerine büyüme ve gelişimini durdurduğu bilinmektedir [22]. Piritonlar, sodyum, çinko ve bakır tuzları formundadır [22].

Bu tuz formu serileri içerisinde olan NaPT, kokusu kokuya, beyaz renkli ve soluk sarı kristal yapı şeklindedir. NaPT genellikle çözünür yapıdadır. Oksijen veya ışık bulunan ortamlarda kararsızdır. Omadin, NaPT yaygın olarak kullanılan ticari ismidir. Şekil 2.1'de NaPT'nin yapısal formülü gösterilmiştir.



Şekil 2.1. NaPT'nin yapısal formülü [URL-1].

Temelde kullanıma yönelik amacı daha çok metal işlemede kullanılan sıvılarının korunması şeklindedir. NaPT genelde mantarların, küflerin ve mayaları kontrol altında tutan ve bu mikroorganizmaları öldürücü etki gücüne sahiptir [23, 24]. NaPT toksisiteye sahip olması nedeniyle kozmetikte kullanım alan sınırlı (şampuanlarda) kalmaktadır [25]. Bunun sebebi göz üzerindeki zararlı etkisinden dolayıdır.

Piritonlar daha çok mantarlar üzerine etkisi genel olarak hücre zarında taşıma sistemler üzerindeki inhibitör etkisi bulunmaktadır. Ancak piriton yoğunluğunu azaldığı durumda mantarlar kullanılan inhibitörü detoksifiye edebildiği

bildirilmektedir [5]. NaPT ve ZnPT'nin bakteriler (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) üzerindeki etkisi daha çok hücrede ATP sentezini engelleyerek bakteri düzeylerini azalttığı düşünülmektedir [4].

Fareler üzerine NaPT metallere (nikel, kadmiyum, çinko gibi) verildiği uygulamalar sonucu birçok dokuda lipofilik birliktelik oluşturarak hücre zarlarında verilen metallerin biriktiği gösterilmiştir (Jasim ve Tjaelve 1986). Farklı hayvan türlerine (sıçan, tavşan ve maymun) oral uygulama sonucu NaPT'nin emilim yolunun sindirim sistemden yapıldığı bildirilmektedir [6].

Farklı hayvanlar (köpek ve maymunlar) üzerinde NaPT (50 mg/kg) uygulanan çalışmalarda, kusma ve geçici fotofobi geliştiği, tavşanlarda uygulanan NaPT (200 ve 300 mg/kg) dozları hayvanlarda arka bacaklarında felç gelişimi [26], domuzlara uygulanan NaPT (50 mg/kg) dozları kolinerjik etki sonucu ataksi ve kaslarda güçsüzlük olduğu gösterilmiştir [27]. Kemirgenlere oral yola NaPT uygulamasının hayvanlarda arka bacak felç geliştiği, buna sebep olan nedenin toksikolojik hassasiyet sonucu meydana gelen motor nöronlarda hücre içi Ca^{+2} yükselmesinin sonucu kaynaklanan artmış duyarlılık olduğu bildirilmektedir [9]. Kalsiyum artışı sonucu enerji üretiminin bozulması sonucu hücre iskeletine etkisi neticesinde hücre ölümü gerçekleştiği bildirilmektedir. Kalsiyuma bağlı sitotoksikite gelişimi, kronik nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna ve akut nöron kayıpları olduğu buna bağlı olarak nöropatolojik hastalıklarda önemli rolü olduğu düşünülmektedir [8].

Moe vd. (1960) köpekler üzerine yaptıkları çalışmada hayvanlarda geri dönüşümsüz göz hasarı ve körlük meydana geldiğini göstermişlerdir [28]. Delahunt vd., (1962) yine köpeklerde NaPT (25 mg/kg) doz uygulamanın ikinci günden başlayarak gözde retina kanaması, tapetum nekrozu, ödem ve oküler sinir atrofisine neden olduğu bildirilmektedir [29].

Sindirim sistemi ve ciltten NaPT doğrudan emilimi gerçekleşmektedir. NaPT'nin sıçanlara oral yoldan verilmesi sonucu %88 ile %100 arasında emiliminin gerçekleştiği, dermal yolla uygulanması sonucu emilim oranının kullanılan çözücüye bağlı değişim göstermiştir. Farklı hayvan türlerinde (maymun, sıçan ve tavşan) oral yoldan uygulama gerçekleştirilmesi sonucu NaPT'un emilimi hızlıca gastrointestinal sistem üzerinden gerçekleştirildiği bildirilmektedir [6]. Radyoaktif işaretli NaPT

solüsyonu tavşanlara cilde uygulaması (110 mg/kg, 4 saat) sonucu radyoaktivitenin %1.2'si kan serumu içerisinde tespit edilmiştir [30]. Sıçanlara topikal yoldan NaPT uygulaması sonucu uygulanan bölgeye yakın kaslarda ve karaciğerde radyoaktivite belirlenmiştir [31]. Tavşanlara topikal yolla uygulama sonucu karaciğerde %0.3'lük NaPT'un radyoaktivite gözlenmiştir [30].

NaPT idrar metabolitleri şeklinde üriner sistemden kolayca atılmaktadır [6]. NaPT sıçan ve tavşanlar üzerine dermal yolla uygulanma sonucu üreme toksisitesi tespit edilmiştir [6]. NaPT'nin su bazlı kremi uygulaması sonucu idrarla %38.8'i atıldığı gösterilmiştir [32].

NaPT'nin biyotransformasyonu sıçan kan plazması metabolit olarak 2-metilsülfonil piridin [33]. Köpek, sıçan, maymun ve tavşan plazmasında yalnızca 2-metilsülfonil piridin şeklinde olmayıp bunun yanı sıra kan plazmalarında 2-metiltiopiridin-N-oksit, 2-metiltiopiridin ve 2-metilsülfonilpiridin-N oksit gösterilmiştir [7]. Yapılan farklı bir çalışmada NaPT üretiminde çalışan 9 işçi üzerinde yapılan çalışmada kan plazmalarında 2-metilsülfonil piridin belirlenmiştir [34].

2.2 Diğer Piritionlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Çinko pirition (ZnPT) uzun zamandır (yaklaşık 50 yıl) seboreik dermatit ve kepek tedavisi amacıyla şampaunlarda kullanılmaktadır. ZnPT gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterir [36]. ZnPT balıklar (Japon pirinç balıkları ve zebra) üzerinde embriyotoksik etkisini incelenmesi amacıyla ZnPT içeren ve ZnPT içermeyen şampuanlar uygulanması sonucu her iki balık larvalarında teratojenik etkiler gözlemlenmiştir [13].

Mohamat-Yusuff vd., (2018) Japon pirinç balığı üzerinde (96 saat) bakır piritionun (CuPT) akut toksisite testleri ve stres düzeyi belirlenmiştir. CuPT'a maruz bırakılan Japon pirinç balıklarda 96 saat sonucunda LC_{50} düzeyinin 16.58 mg/L olduğu bildirilmektedir. Yine aynı araştırma sonuçları CuPT'un oldukça düşük dozlar Japon pirinç balıkları üzerinde mortalite gözlemlendiği bildirilmiştir [36].

In vitro yapılan çalışmalarda ZnPT'nun insan dermal hücreleri üzerine akut olarak toksisitesi incelenmiş bunu sonucunda insan epitel hücre ve fibroblast kültürlerine

eklenen ZnPT'un oldukça düşük dozlarda eklenmiş olmasına rağmen oldukça hızlı sitotoksik etki ortaya koyduğu tespit edilmiştir [37].

Deniz taşıtları üzerine uygulanan antifouling (midye ve yosunların yapışmasını önleyici) boyalarda bulunan pirition bakır ile birlikte kullanıldığında farklı deniz canlıları üzerinde yapılan çalışmalarda sinerjik toksik etkileri tespit edilmiştir [38]. Yapılan araştırma sonuçları ZnPT'nun sucul bitkiler ve hayvanlar üzerinde toksik etkisi gösterilmiştir [39].

İngiltere'de yapılan bir marinadaki çalışmada, ZnPT varlığının denizlerde arttığını ve konsantrasyonun tehlikeli boyutlara ulaştığı [40], bakır kontaminasyonun olduğu ve ana kaynağın antifouling kaplama boyalar olduğu bildirilmektedir [41].

2.3 Ghrelin

Ghrelin, ilk kez 1999 yılında büyüme hormonu salgılatıcı reseptörünün (GHSR; ghrelin reseptörü) endojen ligandı olarak tanımlanan 28 amino asitli açillenmiş bir polipeptit hormondur [42, 43]. Ghrelin geni, sıçan ve insan arasında %82 homolojiye sahip olan 117-amino asitli bir peptit olan preproghrelin'i kodlamaktadır. Mideyi ve proksimal ince bağırsağı kaplayan endokrin hücreler, kandaki ghrelinin çoğunun kaynağıdır [42, 43]. Ghrelin başlangıçta güçlü büyüme hormonu salgılama etkileri nedeniyle tanımlanmış olsa da, ghrelinin gastrointestinal motilite, gastrik asit sekresyonu ve çeşitli kardiyovasküler, immünolojik, üreme ve davranışsal süreçlerdeki rolleri olduğu bildirilmektedir [44]. Ghrelin ayrıca glikoz homeostazının önemli bir düzenleyicisi gibi görünmektedir. Ghrelin infüzyonları, en azından kısmen pankreas Langerhans adacıkları üzerindeki doğrudan etkiyi içeren mekanizmalar yoluyla kan şekerini artırır, glikoz toleransını azaltır ve insülin sekresyonunu kısıtlar [45]. Ghrelinin delesyonu ise glukoza bağlı insülin sekresyonunu artırır ve periferik insülin duyarlılığını arttırmaktadır [46].

Ghrelinin etkilerine, büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) adı verilen 7-transmembran G protein-bağlı reseptör (GPCR) aracılık eder [48]. Bu reseptör, kirpi balığından insanlara evrimsel olarak korunduğu, bunda ghrelin'in organizma büyümesinde ve gelişmesinde temel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir [48]. GHS-R'nin lenfoid sistemdeki geniş doku dağılımı, ghrelin ve GHS-R ligandlarının

endokrin, sinir ve bağışıklık sistemleri arasında sinyal modölatörleri olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir [49].

Bağışıklık hücreleri tarafından salınan inflamatuvar sitokinlerin, gıda alımını ve enerji homeostazını kontrol etmek için CNS üzerinde hareket ettiği gösterilmiştir [19]. Besin alımında azalma ve iştahsızlık, hastalık, yaralanma veya inflamasyonun en sık görülen semptomları arasında yer aldığı bildirilmektedir [20].

Ghrelin fonksiyonel hücre yüzeyi GHS-R aracılığıyla, proinflamatuvar sitokinler IL-1 β , IL-6 ve TNF-a'nın ekspresyonu üzerinde hem spesifik hem de seçici inhibitör etkiler göstermektedir [49]. Bu sitokinlerin (IL-1 β , IL-6 ve TNF- α) inflamasyon [15], yaşlanmada kronik düşük dereceli inflamasyon [16, 17] ve ateroskleroz [18] ile ilişkili zayıflamayla ilişkilendirilmiştir.

Bağışıklık sisteminin özellikle de lökositler tarafından inflamatuvar sitokinlerin üretiminin anoreksiya sendromunun gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [19, 20]. İnflamatuvar anoreksiya ile en alakalı olduğu düşünülen sitokinler arasında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α bulunur. Periferik olarak uygulanan grelin'in IL-1 β kaynaklı anoreksiyi bloke ettiği ve gıda alımını teşvik ederek ve enerji harcamasını azaltarak pozitif enerji dengesi ürettiği gösterilmiştir [21]. IL-1 β ve leptin kombinasyonunun da midede ghrelin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [21] ve leptin eksikliği olan farelerde mide ghrelin ekspresyonu arttığı bildirilmektedir [49].

Ghrelin etkileri arasında en çok vücut ağırlığını düzenlemedeki rolüne verilmiştir. Normal şartlar altında, enerji alımı ve enerji harcamasındaki denge, vücut ağırlığının korunmasına neden olur. Ghrelin keşfinden sonra intraserebroventriküler grelin enjeksiyonlarının sıçanlarda beslenmeyi güçlü bir şekilde uyardığı [50], oksijen tüketimini azalttığı gösterilmiştir [21]. Enerji harcamasını da azaltan bir oreksijenik ajan için tahmin edileceği gibi, hem periferik hem de merkezi olarak uygulanan ghrelin, pozitif bir enerji dengesi üretir ve vücut ağırlığı (yağ kütlesindeki artıştan) artışına yol açtığı görünmektedir [50, 51].

Merkezi ghrelin uygulamasının solunum katsayısını arttırdığını, dolayısıyla enerji üretimi için lipid kullanımının azaldığını göstermiştir [52]. Yine ghrelin, beyaz adipoz dokudaki yağ depolama enzimlerinin ekspresyonunu artırdığı ve kahverengi yağ

dokusundaki termojenez ile ilişkili uncoupling proteinlerin ekspresyonunu azalttığı bildirilmektedir [52]. Yapılan araştırmalarda grelin'in gıda tercihini yağ oranı yüksek diyetlere yönelttiği gösterilmiştir [53]. Ghrelin sinyal blokajı modelleri çalışmalarında gözlenen azalan adipozite ve vücut ağırlığı, azalan gıda alımı ve artan enerji harcamasına ilişkin ana bulgular gözlenmiştir [54-56].

2.4 Leptin

Leptin, Zhang ve arkadaşları (1994 yılında) tarafından keşfedilmiş olup, sitokinlere benzer olup yapısında 167 aminoasit bulunan ve molekül ağırlığı 16 kDA bir hormondur [57, 58]. Leptin başlıca vücutta başlıca adipoz dokuda sentezlenmektedir [59]. Bunun yanı sıra plasenta, gastrik epitel, iskelet kası, hipofiz ve meme bezleri tarafından da salındığı bildirilmektedir [60-62]. Kan dokuda serbest olarak ve proteine bağlı iki formu bulunmakta olup aktif formunun serbest şeklinde olduğu bildirilmektedir [63]. Leptin'in dolaşımında yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakika olup besin alımı sonucu yaklaşık 2-3 saat sonrasında salgılanmaktadır. Leptin, sitokin ailesine benzerliği sebebiyle IL-6'le büyük oranda benzerliği bulunmaktadır [64].

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi olup birçok faktör düzenlemesinde rol aldığı bilinmektedir. Leptin sentezini üzerine bazı hormonlar (insülin, kortizol ve prolaktin) uyarırken [65], bazı hormonlar (tiroit, büyüme, somatostatin, katekolaminler), serbest yağ asitleri ve soğuğa maruz kalma inhibitör etkisi bulunmaktadır [66].

Leptinin canlılarda temel rolleri, merkezi sinir sistemi üzerine negatif geri bildirim yoluyla gıda alımı üzerine ve enerji metabolizması üzerinde düzenlemeler yaparak obezite gelişimini engellediği bildirilmektedir [58]. Bunların dışında, metabolik düzenlemeler, üreme ve cinsel gelişim, hematopoiez, bağışıklık sistemi, sindirim fonksiyonları düzenlenmesi, sempatik sinir sistemi, anjiyogenesiz ve osteogenesiz üzerinde çok önemli düzenleyici rollerinin bulunduğu bilinmektedir. Leptin, asıl etkisi iştah artırıcı olan nöropeptid-Y'nin salınımı ve ekspresyonunu üzerine inhibitör etkisi olduğu bildirilmektedir [67]. Leptin, merkezi sinir sisteminde kilo alımındaki sinyal iletimini (anabolik) inhibe etmekte, enerji harcanması sinyal iletimini (katabolik) aktive etmesi sonucu aşırı kilo alımına engellemektedir. Leptin ve ghrelin hipotalamik

düzeyde gıda alımı üzerinde karşılıklı antagonistik etkiler gösterdiği düşünülmektedir [50].

Leptin geni defektleri ve leptin reseptör defektleri farelerde immün fonksiyonlarında bozulma olduğu yapılan araştırmalarla belirlenmiştir. Bu bozulum hücre aracılı bağışıklık cevapta azalma ve makrofaj fonksiyonlarında azalma olarak görülmektedir. Leptin lökosit sentezini, eritropoietin hormonunun etkisini artırır ve makrofajları aktive ederek fagositoz aktivasyonunu güçlendirirken aynı zamanda makrofajlardan pro ve anti-inflamatuar sitokin salınımını artırmaktadır [68].

Sitokin ailesinin bir üyesi olan leptin, güçlü bir Th1 tepkisini indükler ve bir proinflamatuar indükleyici olarak kabul edilir [69]. Leptinin gıda alımı üzerindeki etkileri kısmen hipotalamusta IL-1 β seviyesindeki artışla kontrol edilir [70] ve IL-1'in anorektik etkileri artan leptin seviyeleri aracılığıyla gerçekleşir [71]. IL-6 eksikliği olan fareler, leptin eksikliği olan farelere benzer bir şekilde obezite geliştiği gösterilmiştir [72].

Gastrik inflamasyon sonucu düşük ghrelin seviyeleri görüldüğü ve enfeksiyonun düzeltilmesi ile ghrelin sekresyonunun düzeldiği bildirilmektedir [73]. Ghrelin'in bağışıklık sisteminde aktivasyonla indüklenen sitokin ekspresyonunu değil, aynı zamanda bu aynı inflammatuar mediatörlerin leptin ile indüklenen ekspresyonunu da kontrol ettiğini göstermektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Deney Kullanılan Hayvanlar ve Gruplar

Sıçanların beslenmesi özel standart yem kullanılmış, serbest su almasına izin verilerek standart kafeslerde tutulmuştur. Hayvanların tutulduğu ortamın sıcaklığı 21-25 °C tutuldu ve aydınlık-karanlık (12:12 saat) döngüsü uygulanıldı. Deneylerde erkek ve erişkin Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Çizelge 3.1’den görüleceği gibi hayvan ağırlıklarının sonuçlara etkisi dikkate alınarak minimum 238 gram maksimum 287 gram arasında tutulmuştur. Deney grupları (farklı zaman aralığı, farklı dozlar ve kontrol grupları) için ayrı sıçan grupları (n:10) oluşturulmuştur.

Çizelge 3.1. Deneyler için oluşturulan hayvan grupları ve ağırlıklarına ait bulgular.

Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Hata (Gr)	Min. Ağırlık (Gr)	Maks. Ağırlık (Gr)
<i>Kontrol grubu (24 Saat)</i>	265.2 $\pm$ 12.2	242	283
<i>Kontrol grubu (96 Saat,)</i>	256.2 $\pm$ 16.4	238	282
<i>35 (mg/kg, ip) NaPT (24 Saat)</i>	261.9 $\pm$ 16.4	245	286
<i>35 (mg/kg, ip) NaPT (96 Saat)</i>	258.7 $\pm$ 13.8	241	287
<i>70 (mg/kg, ip) NaPT (24 Saat)</i>	256.7 $\pm$ 14.3	246	284
<i>70 (mg/kg, ip) NaPT (96 Saat)</i>	265.8 $\pm$ 15.0	247	281

3.2 Kan Alımı ve Saklanması

NaPT ve tuzlu su uygulanan sıçanlardan intrakardiyak delinme yoluyla ve hafif anestezi altında (dietileter uygulaması) yaklaşık 2-2.5 ml kan örnekleri antii-koagülan içermeyen steril biyokimya tüplerine toplanmıştır. Alınan kan örnekleri 30 dakika sonunda 4000 dakika/devir ve 10 soğutmalı santrifüjde serumlar elde edildi. Serumlar steril ependorf saklama tüplerine 300 μ L konularak alikotlar oluşturuldu ve -40 °C’ye ayarlı derin dondurucuda hormonal analizlerin yapılacağı zamana kadar muhafaza altında tutuldu.



Şekil 3.1 Sıçanlara intraperitoneal NaPT ve tuzlu su (salin) uygulanması.

3.3 Leptin ve Ghrelin Analizleri

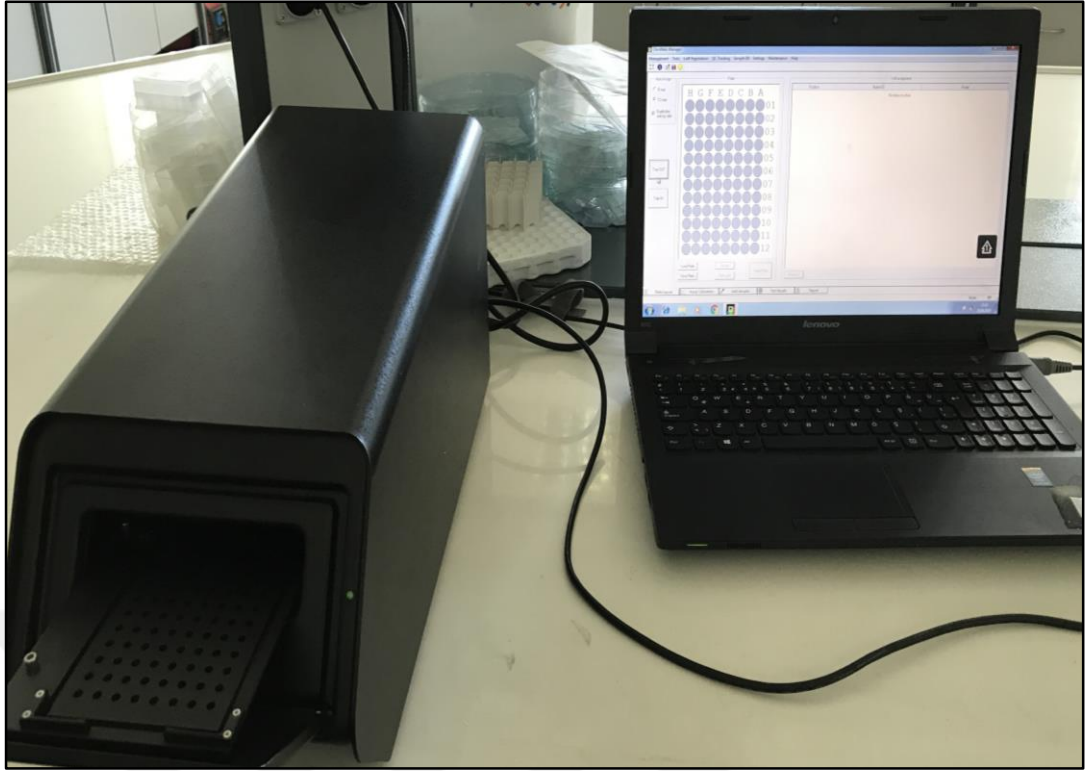
Leptin ve ghrelin seviyelerini belirlemek amacıyla ELISA yöntemli sıçanlara özel kitler (Bioassay Technology Laboratory) kullanıldı (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Deneysel hormonal analiz çalışmalarında Aksaray Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında (ASUBTAM) bulunan mikroyok okuyucu ve yıkayıcı aletler kullanıldı (Şekil 3.4 ve 5).



Şekil 3.2. ELISA yöntemli leptin ve ghrelin hormon analiz kitleri.



Şekil 3.3. Leptin ve ghrelin düzeyleri ölçümü sonrası mikroyerler.



Şekil 3.4. Leptin ve ghrelin düzeyleri ölçümünde kullanılan miropleyt ELISA okuyucusu.



Şekil 3.5. Leptin ve Ghrelin düzeyleri ölçümünde kullanılan miropleyt ELISA yıkayıcısı.

3.4 Deney Protokolü

Deneyler tek doz NaPT ve tuzlu su uygulamalarına sabah saat 09:00'da yapılmaya başlanılmıştır. Uygulama sonrası 24 ve 96 saat sonra intrakardiyak delinme yoluyla kan örnekleri alınmıştır. Deneyler esnasında laboratuvar ortamı oda sıcaklığı 21-25 °C'de ve aydınlık-karanlık (12:12 saat) periyodu uygulanıldı.

Deney protokolü ve uygulamalar Kırıkkale Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Yine deneyler aynı üniversitenin Hayvan Deney Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.5 Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Analizi

Leptin ve Ghrelin seviyelerine ait elde edilmiş gözlem değerleri arasında, kontrol, süre ve doz bakımından farklılık belirlenmiştir. “Kontrol Grubu x Doz Süresi” ile “Doz 1 ve Doz 2” olmak üzere iki faktörlü (faktöriyel) varyans analizleri yapıldı. Varyans analizleri sonuçlarına göre farklı doz veya süre ortalamalarını belirlemeye yönelik, Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Leptin ve ghrelin değerleri analiz edilmesi sonucu her bir grubu oluşturan verilerin dağılım özelliklerine bakılmış ve ANOVA kullanılarak kontrol grubu ile doz grupları arasındaki farklılık analizi yapılmıştır. Bu analizler sırasında SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu tez çalışmasında sıçanlar üzerinde akut sürelerde (24 ve 96 saat) NaPT ve %0.09 salin uygulanması sonucu kan serumu leptin ve ghrelin hormon düzeylerine etkileri tespit edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 2).

Çizelge 4.1’den görülebileceği gibi sıçanlara akut sürelerde, farklı dozlarda NaPT ve salin uygulanması sonucu ghrelin hormon düzeyleri tespit edilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, 24 ve 96 saatlik uygulama sonucu doz grupları (35 ve 70 mg/kg) sonuçları kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucu ghrelin hormon düzeylerindeki azalış istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Yine aynı zaman dilimlerinde (24 ve 96 saat) uygulanan farklı dozlar arasındaki ghrelin seviyelerinde görülen değişimin önemsizdir ($p<0.05$). Aynı dozların (35 ve 70 mg/kg) farklı zaman dilimlerindeki ghrelin hormon düzeylerinin değişimi istatistiksel olarak önemsiz ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. NaPT uygulanan sıçanlarda ghrelin hormon düzeyleri.

Gruplar	24 (Saat)	96 (Saat)
	Ghrelin (pg/ml)	Ghrelin (pg/ml)
Kontrol	1469.25±18.45 a*	1475.44±22.74 a*
35 (mg/kg, ip) NaPT	1007.30±26.62 b	1026.77±19.65 b
70 (mg/kg, ip) NaPT	986.22±24,45 b	993.55±20.38 b

*: Aynı sütundaki küçük harfler arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Çizelge 4.2’den görülebileceği gibi sıçanlara akut sürelerde, farklı dozlarda NaPT ve salin uygulanması sonucu leptin hormon düzeyleri tespit edilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi, 24 ve 96 saatlik uygulama sonucu doz grupları (35 ve 70 mg/kg) sonuçları kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucu leptin hormon düzeylerindeki artış istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Yine aynı zaman

dilimlerinde (24 ve 96 saat) uygulanan farklı dozlar arasındaki leptin düzeylerindeki değişimin önemsizdir ($p<0.05$). Aynı dozların (35 ve 70 mg/kg) farklı zaman dilimlerindeki leptin hormon düzeylerindeki değişimi istatistiksel olarak önemsizdir ($p<0.05$).

Çizelge 4.2. NaPT uygulanan sıçanlarda leptin hormon düzeyleri.

Gruplar	24 (Saat)	96 (Saat)
	Leptin (ng/ml)	Leptin (ng/ml)
<i>Kontrol</i>	16.41±0.86 b*	17.06±1.61 b*
<i>35 (mg/kg, ip) NaPT</i>	27.36±1.11 a	28,55±0,87 a
<i>70 (mg/kg, ip) NaPT</i>	26.52±1.56 a	27.24±1.42 a

*: Aynı sütundaki küçük harfler arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Piritionlarla yapılan bilimsel araştırmalar daha çok canlı organizmalar üzerindeki toksik etkisini belirlemeye yöneliktir. Bu çalışmalar nörolojik, sitotolojik, genetik, immünolojik ve histopatolojik toksik etkileri üzerinde durulmaktadır.

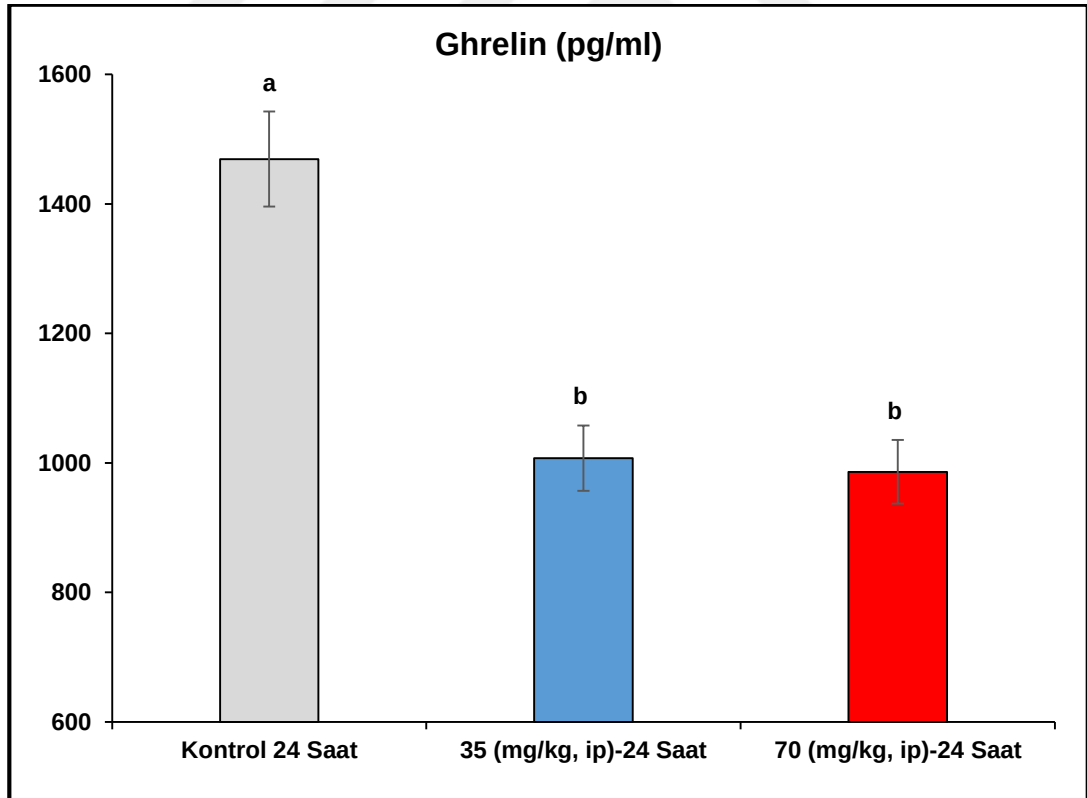
Faklı hayvanlar (köpek, maymun) üzerinde NaPT (50 mg/kg) uygulanan çalışmalarda, kusma ve geçici fotofobi geliştiği, tavşanlarda uygulanan NaPT (200 ve 300 mg/kg) dozları hayvanlarda arka bacaklarında felç gelişimi [26], domuzlara uygulanan NaPT (50 mg/kg) dozları kolinerjik etki sonucu ataksi ve kaslarda güçsüzlük olduğu gösterilmiştir [27]. Kemirgenlere oral yola NaPT uygulamasının hayvanlarda arka bacak felç geliştiği, buna sebep olan nedenin toksikolojik hassasiyet sonucu meydana gelen motor nöronlarda hücre içi Ca^{+2} yükselmesinin sonucu kaynaklanan artmış duyarlılık olduğu bildirilmektedir [9]. Kalsiyum artışı sonucu enerji üretiminin bozulması sonucu hücre iskeletine etkisi neticesinde hücre ölümü gerçekleştiği bildirilmektedir. Kalsiyuma bağlı sitotoksikite gelişimi, kronik nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna ve akut nöron kayıpları olduğu buna bağlı olarak nöropatolojik hastalıklarda önemli rolü olduğu düşünülmektedir [8].

Piritionların insanlar üzerinde yapılmış çalışmalarda farklı stres yolları ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmalar sonucunda ATP düzeylerinde azalma, uygulanan doz miktarına bağlı olarak oksidatif stres oluşturduğu tespit edilmiştir [10,11]. Aynı zamanda araştırma sonuçları DNA hasarlarının görüldüğü, hücre düzeyde yaşlanma ve sonuç olarak hücre ölümüne sebep olduğu belirtilmiştir [10,11]. Yine yapılan araştırmalarda hücrelerde membran permeabilitesinin ve enzim sistemi işleyişini bozması sonucu önemli düzeyde hücre zedelenmesine ve hatta organizmanın ölümüne sebep olabilmektedir [10,11]. Toksik etkili kimyasal ajanlar iki farklı mekanizma sonucu hücre zedelenmesi görülür. Bunların birincisi, hücresel moleküllerle ya da hücre organelleri ile direkt birleşmesi sonucu etki göstermektedir. İkincisi, kimyasal maddeler hedef hücrelerde etkilerini toksik metabolitlere dönüştükten aktif olması sonucu göstermektedir [74].

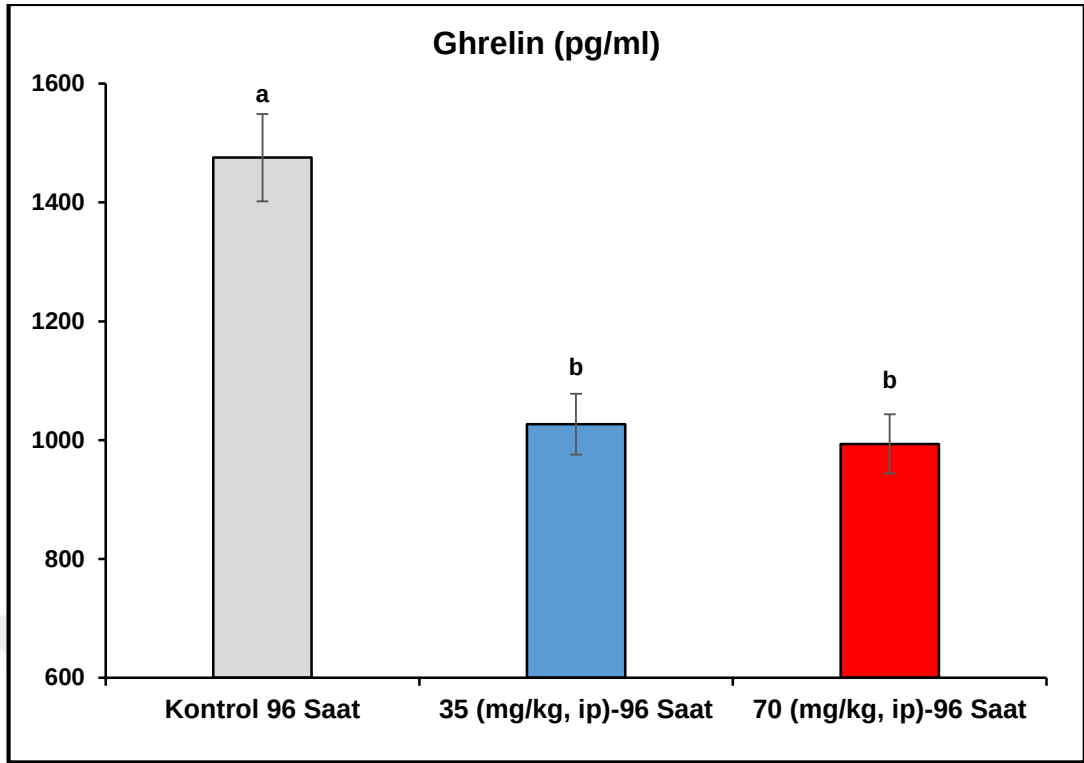
Hücre zedelenmesi canlı organizmada nekroz gelişimine bunun sonucu olarak inflamasyon gelişmektedir. Normalde inflamasyona canlı organizmada koruyucu bir cevaptır. İnflamasyonun temeldeki amacı, organizmada hücre zedelenmesine neden

olan etkenleri (mikrop ve toksinlerden) ortamdaki kaldırarak korumak ve hücre zedelenmesi sonucu oluşmuş nekroza uğramış hücre ve doku artıklarının temizlemesine yöneliktir. İnflamasyon sonucu immünolojik cevaplar IL-1 (interlökin-1), IL-6 ve TNF (tümör nekroz faktör) olarak salınan önemli medyatörlerdir. Bu sitokinler aynı zamanda immün ve toksik zedelenmeler sonucu immün yanıt olarak lökositler ve makrofajlarca salınmaktadır. Salınan bu sitokinler immünolojik korumaya yönelik olduğu kadar birçok fizyolojik düzenlemelere aracılık ettiği bilinmektedir. Yiyecek alımının ve enerji kullanımının düzenlenmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Bunu desteklemek üzere hormonal düzenlemeler yapmaktadır. Özellikle leptin düzeylerinde artışa neden olduğu aynı zamanda ghrelin hormon düzeylerine etki ederek kaşeksi oluşturduğu bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında ghrelin ve leptin düzeyleri ölçümü yapılmıştır. Sıçanlara uygulanmış olan NaPT sonucu 24. ve 96. saatlerde ghrelin düzeylerindeki azalma anlamlıdır ($p<0.05$) (Şekil 5.1 ve 2).

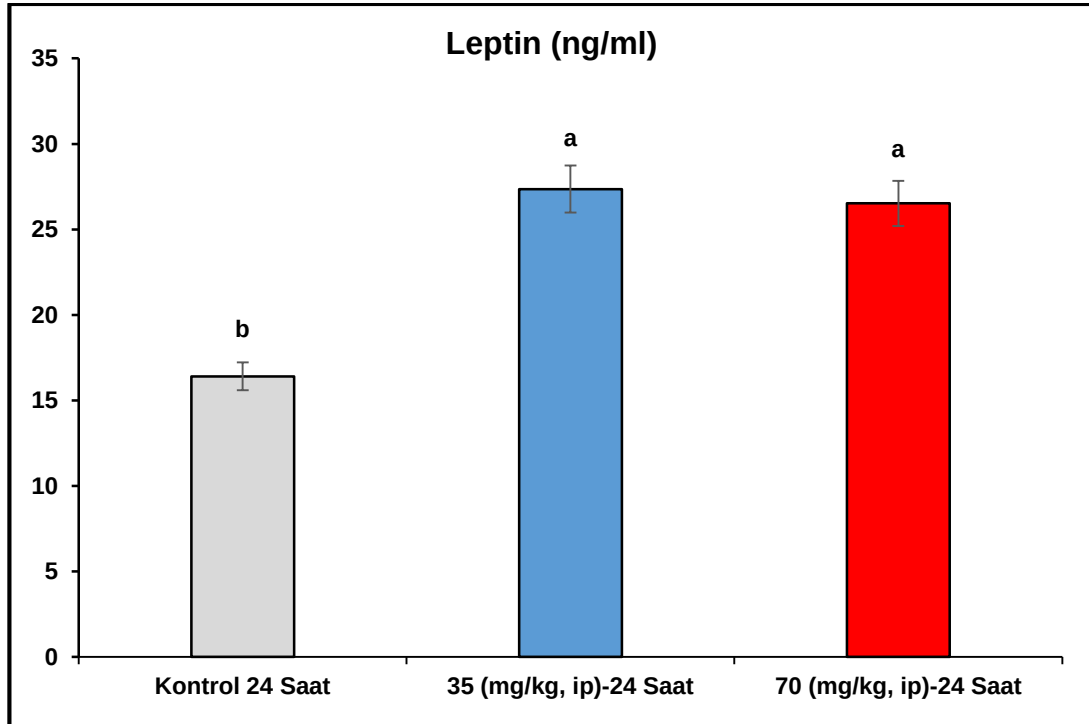


Şekil 5.1. Sıçanlarda 24 saatlik ghrelin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi.

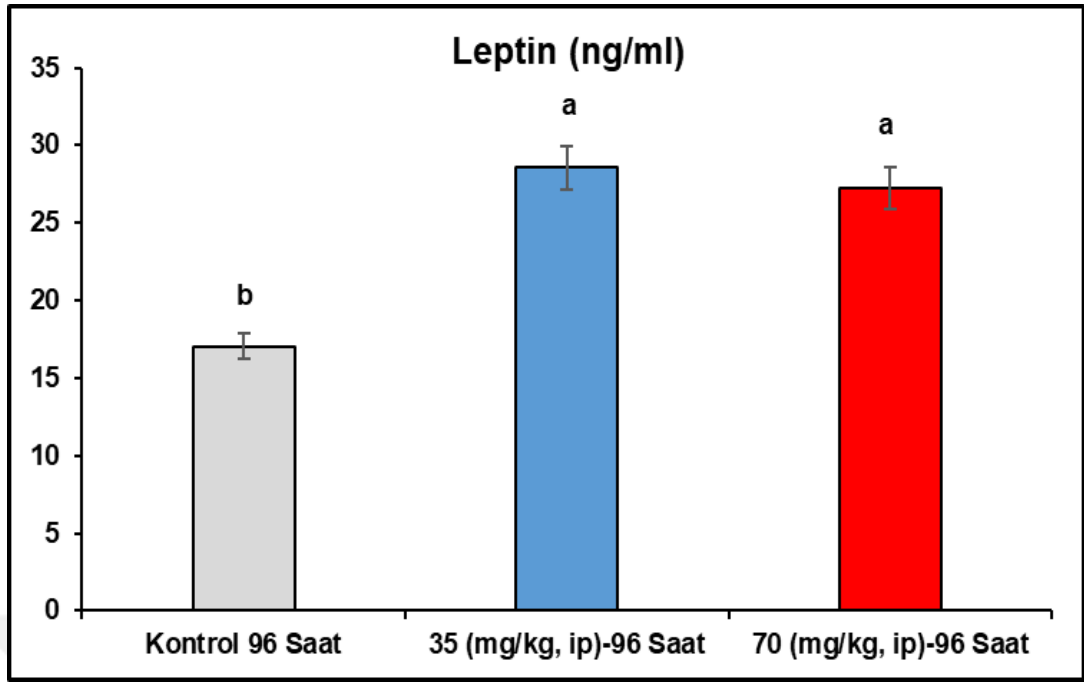


Şekil 5.2. Sıçanlarda 96 saatlik ghrelin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi.

Yine bu tez çalışmasında şekil 5.3 ve 4'den görüldüğü gibi sıçanlara uygulanan NaPT nedeniyle 24. ve 96. saatlerde leptin düzeylerindeki artış anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 5.3. Sıçanlarda 24 saatlik leptin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi.



Şekil 5.4. Sıçanlarda 96 saatlik leptin düzeylerindeki değişimin grafiksel gösterimi. Farklı doz ve farklı hayvanlar üzerinde NaPT uygulanması ile yapılan araştırmalar hayvanlarda farklı etkilerin olduğu bildirilmektedir. Bu etkilerin hayvanlarda sitotoksik, nörotoksik, doku hasarları, ciltte tahrişler, DNA hasarlanması, oksidatif stres, nekroz oluşumları ve hücre ölümleri bulguları gösterilmiştir.

Kemirgenlere oral yola NaPT uygulamasının hayvanlarda arka bacak felç geliştiği, buna sebep olan nedenin toksikolojik hassasiyet sonucu meydana gelen motor nöronlarda hücre içi Ca^{+2} yükselmesinin sonucu kaynaklanan artmış duyarlılık olduğu bildirilmektedir. Kalsiyum artışı sonucu enerji üretiminin bozulması sonucu hücre iskeletine etkisi neticesinde hücre ölümü gerçekleştiği bildirilmektedir. Kalsiyuma bağlı sitotoksikite gelişimi, kronik nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna ve akut nöron kayıpları olduğu buna bağlı olarak nöropatolojik hastalıklarda önemli rolü olduğu düşünülmektedir [8].

Yazıcı ve Polat (2021) tarafından sıçanlara NaPT uygulanması sonucu akut sürelerde IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde artış belirlemişlerdir [14]. Bunun NaPT'nin sitotoksik etkisi sonucun doku hasarı oluşturarak nekroz gelişmiş olabileceği ve inflamasyona neden olabileceğini bildirilmektedir [14].

IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler, inflamasyon [15], yaşlanmada kronik düşük dereceli inflamasyon [16,17] ve ateroskleroz [18] ile ilişkili zayıflamayla ilişkilendirilmiştir. Bağışıklık sisteminin özellikle de lökositler tarafından inflamatuvar

sitokinlerin üretimini anoreksiya sendromunun gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [19,20]. İnflamatuvar anoreksiya ile en alakalı olduğu düşünülen sitokinler arasında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α bulunur. Periferik olarak uygulanan grelin'in IL-1 β kaynaklı anoreksiyi bloke ettiği ve gıda alımını teşvik ederek ve enerji harcamasını azaltarak pozitif enerji dengesi ürettiği gösterilmiştir [21]. IL-1 β ve leptin kombinasyonunun da midede ghrelin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [21].

Sonuç olarak bu araştırmada, farklı sürelerde (24 ve 96 saat) ve dozlarda (35 ve 70 mg/kg, ip) NaPT uygulanan sıçanlarda Ghrelin düzeylerinde anlamlı ($p<0.05$) azalış ve leptin düzeylerinde anlamlı ($p<0.05$) azalış belirlenmiştir. Yapılan önceki araştırmalarda uygulama sonucu NaPT sitotoksik etkisi bildirilmektedir. Buna bağlı olarak meydana gelen doku hasarı sonucu nekroz gelişmektedir. Nekroza bağlı gelişen noninfeksiyöz inflamasyonlarda immünolojik düzenlemelere gidilerek IL-1 β , IL-6 ve TNF- α sitokin salınımı yapıldığı bilinmektedir. Yaptığımız önceki çalışma bunu desteklemektedir [14]. Bu çalışmadaki ghrelin seviyesindeki azalmanın proinflamatuvar sitokinlerin kasketik etkisi sonucu oluştuğunu düşündürdü. Yine bu çalışmadaki leptin seviyesindeki artışın aynı sitokinlerin leptin salınımını stimüle etmesinden kaynaklandığını düşündü. Uygulanan her iki NaPT doz grubu ve sürelerde aynı toksik etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Bu araştırma sonuçları, NaPT toksik dozlarının yeniden belirlmesine yönelik araştırmalara gerek duyulmaktadır. Yine meydana gelebilecek hücresel ve doku hasarlarının belirlenmesine yönelik histopatolojik olarak ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Stoker, T. E., Parks, L. G., Gray, L. E. ve Cooper R. L., 2000. Endocrine-disrupting chemicals: Prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations, Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee, Critical Reviews in Toxicology, 30, 197–252.
2. Çetinkaya, S., 2009. Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri, Dicle Tıp Dergisi, 36,1, 59-66.
3. Durmaz, E. ve Giray, B. K., 2013. Çevresel bir endokrin bozucu: Bisfenol A ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 56, 4, 192-199
4. Dinning, A. J., Al-Adham, I. S. I., Austin, P. ve Collier, P. J., 1998. A novel assay for the distribution of pyrrhione biocides in bacterial cells, Letters in Applied Microbiology, 27, 1, 1-4.
5. Chandler, C. J. ve Segel, I. H., 1978. Mechanism of the antimicrobial action of pyrrhione: effects on membrane transport, ATP levels, and protein synthesis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 14, 1, 60-68.
6. Ziller, S. A., 1977. Absorption, excretion and tissue distribution of 2-pyridinethiol-1-oxide, Food and Cosmetics Toxicology, 15, 49–54.
7. Gibson, W. B., Jeffcoat, A. R., Turan, T. S., Wendt, R. H., Hughes, P. F. ve Twine, M. E., 1982. Zinc pyrrhione: serum metabolites of zinc pyrrhione in rabbits, rats, monkeys, and dogs after oral dosing, Toxicology and Applied Pharmacology, 62, 237–250.
8. Nicotera, P. ve Orrenius, S., 1998. The role of calcium in apoptosis, Cell Calcium, 23, 2-3, 173-180.
9. Knox, R. J., Keen, K. L., Luchansky, L., Terasawa, E., Freyer, H., Barbee, S. J. ve Kaczmarek, L.K., 2008. Comparative effects of sodium pyrrhione evoked intracellular calcium elevation in rodent and primate ventral horn motor neurons, Biochemical and Biophysical Research Communications, 366, 1, 48-53.
10. Lamore, S. D., Cabello, C. M. ve Wondrak, G. T., 2010. The topical antimicrobial zinc pyrrhione is a heat shock response inducer that causes DNA damage and PARP-dependent energy crisis in human skin cells, Cell Stress and Chaperones, 15,3, 309-322.
11. Rudolf, E. ve Cervinka, M., 2011. Stress responses of human dermal fibroblasts exposed to zinc pyrrhione, Toxicology Letters, 204, 2, 3, 164-173.
12. Marcheselli, M., Azzoni, P. ve Mauri, M., 2011. Novel antifouling agentzinc pyrrhione: Stress induction and genotoxicity to the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*, Aquatic Toxicology, 102, 1-2, 39–47.
13. Goka, K., 1999. Embryotoxicity of zinc pyrrhione, an antidandruff chemical, in fish, Environmental Research, 81, 1, 81-83.
14. Yazıcı, F. ve Polat, H., 2021. Akut Sürelerde ve Farklı Dozlarda Sodyum Pirition Uygulanan Sıçanlarda Kan Serumu İnterlökin-1beta(IL-1 β) ve İnterlökin-6 (IL-

- 6) Düzeylerindeki Değişim, 12. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi (UBAK), Fen ve Mühendislik Bilimleri, 17–18 Aralık 2021, Ankara.
15. Kotler, D. P., 2000. Cachexia, *Annals of Internal Medicine*, 133, 622–634.
16. Ersler, W. B. ve Keller, T. E., 2000. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late life diseases, and frailty, *Annual Review of Medicine*, 51, 245–270.
17. Bruunsgaard, H., Pedersen, M. ve Pedersen, B. K., 2001. Ageing and proinflammatory cytokines, *Current Opinion in Hematology*, 8, 3, 131–136.
18. McCarty, M. F., 1999. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: down regulation with essential fatty acids, ethanol, and pentoxifylline, *Medical Hypotheses*, 52, 5, 465–477.
19. Dantzer, R., 2001. Cytokine induced sickness behaviour: Mechanisms and implications, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 933, 1, 222–234.
20. Hart, B. L., 1988. Biological basis of the behaviour of sick animals, *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 12, 2, 123–137.
21. Asakawa, A., Inui, A., Kaga, O., Yuzuriha, H., Nagata, T., Ueno, N., Makino, S., Mineko, F., Nijima, A., Fujino, M. A. ve Kasuga, M., 2001. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin, *Gastroenterology*, 120, 2, 337–345.
22. Bromberger, B., Sommer, J., Robben, C., Trautner, C., Kalb, R., Rossmanith, P. ve Mester, P. J., 2020. Evaluation of the antimicrobial activity of pyrrhione-based ionic liquids, *Separation and Purification Technology*, 251, 117309.
23. Tenenbaum, S. ve Opdyke, D. L., 1969. Antimicrobial properties of the pyrrhione salts. VII, In vitro methods for comparing pyrrhiones to standard antimicrobials, *Food and Cosmetics Toxicology*, 7, 223–232.
24. Edrissi, M., Massoumi, A. ve Dalzeil, J. A. W., 1971. Comparative studies of 1-hydroxy-2-pyrrhine and its metal derivatives as analytical reagents for metal ions, *Microchemistry Journal* 16, 4, 538–547.
25. Gök, T., 2020. Sıçanlara uygulanan sodyum piritonun kan serumu ACTH ve kortikosteron hormon düzeylerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ASÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
26. Winek, J. H. ve Buehler, E. V., 1966. Intravenous toxicity of zinc pyrrhione and several zinc salts, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 9, 2, 269–273.
27. Adams, M. D., Wedig, J. H., Jordan, R. L., Smith, L. W., Henderson, R. ve Borzelleca, J. F., 1976. Urinary excretion and metabolism of salts of 2-pyrrhine-1-oxide following intravenous administration to female Yorkshire pigs, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 36, 3, 523–531.
28. Moe, R. A., Kirpan, J. ve Linegar, C. R., 1960. Toxicology of hydroxypyrrhine, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2, 2, 156–170.
29. Delahunt, C. S., Stebbins, R. B., Anderson, J. ve Bailey, J., 1962. The cause of blindness in dogs given hydroxypyrrhine, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 4, 3, 286–291.

30. Howlett, H. C. S. ve Abbee, N., 1975. The action and fate of sodium, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 26, 1, 3-15.
31. Parekh, C., Min, B. H. ve Golberg, L., 1970. Experimental studies of sodium pyridinethione. I. Percutaneous absorption in laboratory animals, *Food and Cosmetics Toxicology*, 8, 2, 147–160.
32. Mayer, P. R., Couch, R. C., Erickson, M. K., Wooldridge, C. B. ve Brazzell, R. K., 1992. Topical and systemic absorption of Sodium Pyrithione following topical application to the nails of the Rhesus Monkey, *Skin Pharmacology and Physiology*, 5, 3, 154–159.
33. Mitoma, C., Steeger, T., Rogers, J., Thomas, D. ve Wedig, J. H., 1983. Metabolic disposition of pyrithiones, *Fundamental and Applied Toxicology*, 3, 4, 256–263.
34. Wedig, J. H., Goldhamer, R. ve Henderson, R., 1974. Percutaneous absorption, distribution, and excretion of three 2,6–¹⁴C-pyridinethiones in female Yorkshire pigs, *Pharmacologist*, 16, 2, 9650.
35. Schwartz, J. R., 2016. Zinc Pyrithione: A Topical Antimicrobial With Complex Pharmaceutics, *Journal of Drugs in Dermatology*, 15, 2, 140-144.
36. Mohamat-Yusuff, F., Sarah-Nabila, A. G., Zulkifli, S. Z., Azmai, M. N. A., Ibrahim, W. N. W., Yusof, S. ve Ismail, A., 2018. Acute toxicity test of copper pyrithione on Javanese medaka and the behavioural stress symptoms, *Marine Pollution Bulletin*, 127, 150-153.
37. Priestley, G. C. ve Brown, J. C., 1980. Acute toxicity of Zinc pyrithione to human skin cells in vitro, *Acta Dermato-Venereologica*, 60, 2, 145-148.
38. Bao, V. W., Leung, K. M., Kwok, K. W., Zhang, A. Q. ve Lui, G. C., 2008. Synergistic toxic effects of zinc pyrithione and copper to three marine species: Implications on setting appropriate water quality criteria, *Marine Pollution Bulletin*, 57, 6-12, 616-623.
39. Turley, P. A., Fenn, R. J. ve Ritter, J. C., 2000. Pyrithiones as antifoulants: environmental chemistry and preliminary risk assessment, *Biofouling*, 15, 1-3, 175–182.
40. Mackie, D. S., Van den Berg, C. M. ve Readman, J. W., 2004. Determination of pyrithione in natural waters by cathodic stripping voltammetry, *Analytica Chimica Acta*, 511, 1, 47-53.
41. Srinivasan, M. ve Swain, G. W., 2007. Managing the use of copper-based antifouling paints, *Environmental Management*, 39, 3, 423-441.
42. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H. ve Kangawa, K., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach, *Nature*, 402, 6762, 656-660.
43. Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., Sawaguchi, A., Mondal, M. S., Suganuma, T., Matsukura, S., Kangawa, K. ve Nakazato, M., 2000. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans, *Endocrinology*, 141, 11, 4255-4261.

44. Van Der Lely, A. J., Tschöp, M., Heiman, M. L. ve Ghigo, E., 2004. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin, *Endocrine Reviews*, 25, 3, 426–457.
45. Dezaki, K., Hosoda, H., Kakei, M., Hashiguchi, S., Watanabe, M., Kangawa, K. ve Yada, T., 2004. Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca²⁺ signaling in beta-cells: implication in the glycemic control in rodents, *Diabetes*, 53, 12, 3142–3151.
46. Sun, Y., Asnicar, M., Saha, P. K., Chan, L. ve Smith, R. G., 2006. Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice, *Cell Metabolism*, 3, 5, 379–386.
47. Howard, A. D., Feighner, S. D., Cully, D. F., Arena, J. P., Liberators, P. A., Rosenblum, C. I., Hamelin, M., Hreniuk, D. L., Palyha, O. C., Anderson, J., Paress, P. S., Diaz, C., Chou, M., Liu, K. K., McKee, K. K., Pong, S. S., Chaung, L. Y., Elbrecht, A., Dashkevich, M., Heavens, R., Rigby, M., Sirinathsinghji, D. J. S., Dean, D. C., Melillo, D. G., Patchett, A. A., Nargund, R., Griffin, P. R., DeMartino, J. A., Gupta, S. K., Schaeffer, J. M. Smith, R. G. ve Van der Ploeg, L. H., 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release, *Science*, 273, 5277, 974–977.
48. Palyha, O. C., Feighner, S. D., Tan, C. P., McKee, K. K., Hreniuk, D. L., Gao, Y. D., Schleim, K. D., Yang, L., Morriello, G. J., Nargund, R., Patchett, A. A., Howard, A. D. ve Smith, R. G., 2000. Ligand activation domain of human orphan growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHS-R) conserved from Pufferfish to humans, *Molecular Endocrinology*, 14, 1, 160–169.
49. Dixit, V. D., Schaffer, E. M., Pyle, R. S., Collins, G. D., Sakthivel, S. K., Palaniappan, R., Lillard Jr., J. W. ve Taub, D. D., 2004. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells, *The Journal of Clinical Investigation*, 114, 1, 57–66.
50. Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K. ve Matsukura, S., 2001. A role for ghrelin in the central regulation of feeding, *Nature*, 409, 6817, 194–198.
51. Tschöp, M., Smiley, D. L. ve Heiman, M.L., 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407, 6806, 908–913
52. Theander-Carrillo, C., Wiedmer, P., Cettour-Rose, P., Nogueiras, R., Perez-Tilve, D., Pfluger, P., Castaneda, T.R., Muzzin, P., Schurmann, A., Szanto, I., Tschöp, M. H. ve Rohner-Jeanrenaud, F., 2006. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism, *The Journal of clinical investigation*, 116, 7, 1983–1993.
53. Shimbara, T., Mondal, M.S., Kawagoe, T., Toshinai, K., Koda, S., Yamaguchi, H., Date, Y. ve Nakazato, M., 2004. Central administration of ghrelin preferentially enhances fat ingestion, *Neuroscience Letters*, 369, 1, 75–79.
54. Shearman, L. P., Wang, S. P., Helmling, S., Stribling, D. S., Mazur, P., Ge, L., Wang, L., Klusmann, S., Macintyre, D. E., Howard, A. D. ve Strack, A. M., 2006. Ghrelin neutralization by a ribonucleic acid-SPM ameliorates obesity in diet-induced obese mice, *Endocrinology*. 147, 3, 1517–1526.

55. Zorrilla, E. P., Iwasaki, S., Moss, J. A., Chang, J., Otsuji, J., Inoue, K., Meijler, M. M. ve Janda, K. D., 2006. Vaccination against weight gain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 35, 13226-13231.
56. Esler, W. P., Rudolph, J., Claus, T. H., Tang, W., Barucci, N., Brown, S. E., Bullock, W., Daly, M., Decarr, L., Li, Y., Milardo, L., Molstad, D., Zhu, J., Gardell, S. J., Livingston, J. N. ve Sweet, L. J., 2007. Small-molecule ghrelin receptor antagonists improve glucose tolerance, suppress appetite, and promote weight loss, *Endocrinology*, 148, 11, 5175-5185.
57. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. ve Friedman, J. M., 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, *Nature*, 372, 6505, 425-32.
58. Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T. ve Collins, F., 1995. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice, *Science*, 269, 5223, 540-543.
59. Sinha, M. K., 1997. Human leptin: the hormone of adipose tissue, *European Journal of endocrinology*, 136, 5, 461-464.
60. Hoggard, N., Hunter, L., Duncan, J. S., Williams, L. M., Trayhurn, P. ve Mercer, J. G., 1997. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 20, 11073-11078.
61. Bado, A., Levasseur, S., Le Marchand-Brustel, Y. ve Lewin, M. J. M., 1998. The stomach is a source of leptin, *Nature*, 394, 6695, 790-793.
62. Morash, B., Li, A., Murphy, P. R., Wilkinson, M. ve Ur, E., 1999. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland, *Endocrinology*, 140, 12, 5995- 5998.
63. Brabant, G., Horn, R., Mayr, M., Wurster, U., Schnabel, D. ve Heidenreich, F., 2000. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation, *Diabetologia*, 43, 438-42.
64. Tartaglia, L. A., 1997. The leptin receptor, *Journal of Biological Chemistry*, 272, 10, 6093-6096.
65. Sliker, L. J., Sloop, K. W., Surface, P. L., Kriauciunas, A., LaQuier, F., Manetta, J., Bue-Valleskey, J. ve Stephens, T. W., 1996. Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP, *Journal of Biological chemistry*, 271, 10, 5301-5304.
66. Rentsch, J. ve Chiesi, M., 1996. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes, *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 379, 1, 55-59.
67. Spitzweg, C. ve Heufelder, A. E., 1997. More clues from fat mice: leptin acts as an opponent of the hypothalamic neuropeptide Y system, *European Journal of Endocrinology*, 136, 6, 590-591.
68. Lee, F. Y. J., Li, Y., Yang, E. K., Yang, S. Q., Lin, H. Z., Trush, M. A., Dannenberg, A. J. ve Diehl, A. M., 1999. Phenotypic abnormalities in macrophages from leptin-deficient, obese mice, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 276, 2, C386-C394.

69. Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. K., Baker, R. J., Bloom, S. R. ve Lechler, R. I., 1998. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression, *Nature*, 394, 6696, 897-901.
70. Luheshi, G.N., Gardner, J.D., Rushforth, D.A., Loudon, A.S. ve Rothwell, N.J., 1999. Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 12, 7047-7052.
71. Janik, J. E., Curti, B. D., Considine, R. V., Rager, H. C., Powers, G. C., Alvord, W. G., Smith, J. W., Gause, B. L. ve Kopp, W. C., 1997. Interleukin 1 α increases serum leptin concentrations in humans, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82, 9, 3084-3086..
72. Wallenius, V., Wallenius, K., Ahrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S. L., Ohlsson, C. ve Jansson, J. O., 2002. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity, *Nature Medicine*, 8, 1, 75-79.
73. Murray, C. D., Kamm, M. A., Bloom, S. R. ve Emmanuel, A. V., 2003. Ghrelin for the gastroenterologist: history and potential, *Gastroenterology*.125, 5, 1492–1502.
74. Kumar, E., Cotran, R. ve Robbins, S. L., 2003. Hücre zedelenmesi adaptasyonu ve ölümü, Mitchell RN, Cotran RS, editörler (Çeviri editörü: Aker H), *Temel Patoloji*, 7.
- URL-1. < <https://www.google.com/search?q=sodium+omadine&tbm=isch&ved=2ahUKEwj9wMXpxKz8AhX7TKQEHXyQC6kQ2> > Erişim Tarihi: 22.11.2022.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Mustafa GÖKTAŞ

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans: Dokuz Eylül Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü,
2008-2012

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve
Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2019- Devam ediyor

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1.

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Göktaş, M. ve Polat, H. 2021. Sıçanlarda Akut Sürelerde Uygulanan Sodyum Pirition'un Ghrelin ve Leptin Hormon Düzeylerine Etkisi. 12. ULUSLARARASI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR KONGRESİ (UBAK), 17-18 Aralık 2021, Online, ANKARA.