

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA MONOSODYUM GLUTAMAT'IN NEDEN
OLDUĞU OKSİDATİF STRESTE ERİTROSİT VE
KARACİĞER DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLER;
MELATONİNİN KORUYUCU ROLÜ**

**Hazırlayan
Suat ŞAHİN**

**Danışman
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA MONOSODYUM GLUTAMAT'IN NEDEN
OLDUĞU OKSİDATİF STRESTE ERİTROSİT VE
KARACİĞER DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLER;
MELATONİNİN KORUYUCU ROLÜ**

**Hazırlayan
Suat ŞAHİN**

**Danışman
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TYL-2013-4412 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Suat ŞAHİN

“Sıçanlarda Monosodyum Glutamatın Neden Olduğu Oksidatif Streste Eritrosit ve Karaciğer Dokusundaki Değişiklikler; Melatoninin Koruyucu Rolü” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Suat ŞAHİN

Danışman

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

Fizyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN danışmanlığında Suat ŞAHİN tarafından hazırlanan “**Sıçanlarda Monosodyum Glutamatın Neden Olduğu Oksidatif Streste Eritrosit ve Karaciğer Dokusundaki Değişiklikler; Melatoninin Koruyucu Rolü**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... /..... /2016

JÜRİ

İmza

Danışman : Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

(Fizyoloji A.D)

Üye :

(.....AD)

Üye :

(..... AD)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /..... /

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyuncaengin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Sami AYDOĞAN'a, Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini bana aktaran Fizyoloji Anabilim Dalındaki tüm değerli hocalarıma, çalışmamın deneysel kısımlarında yardımlarını esirgemeyerek yol gösteren Doç. Dr. M. Betül YERER AYCAN' a, Tezimin her aşamasında bana manevi destek olan, fedakarlık gösteren eşim ve kızlarıma, sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Suat ŞAHİN

Haziran 2016, Kayseri

SIÇANLARDA MONOSODYUM GLUTAMAT'IN NEDEN OLDUĞU OKSİDATİF STRESTE ERİTROSİT VE KARACİĞER DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLER; MELATONİNİN KORUYUCU ROLÜ

Suat ŞAHİN

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2016
Danışman: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

ÖZET

Hazır gıdalarda sıkça lezzet artırıcı olarak kullanılan Monosodyum Glutamat(MSG) değişik organ ve sistemlerde sitotoksositeye neden olabilmektedir. MSG'nin eritrositlerde ve toksisiteden en çok etkilenen dokulardan biri olan karaciğerde oksidatif hasar yaratması muhtemeldir. Amacımız, MSG'nin indüklediği oksidatif streste eritrosit ve karaciğer dokularında oluşan oksidatif hasara karşı, güçlü bir antioksidan olduğu bilinen melatoninin etkisini araştırmaktır.

Çalışmada ağırlıkları ortalama 225 ± 17 gr olan 4-5 aylık Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Kontrol grubuna; %0,9'luk serum fizyolojik, MSG gruplarına ise 4 ve 8 mg/kg MSG gavaj yoluyla 14 gün boyunca verilmiştir. Melatonin uygulamasına ise, MSG verilmeden bir gün önce başlanmış, 10 mg/kg i.p. olarak MSG ile birlikte deney süresince devam edilmiştir. Alınan kan örneklerinde; hematolojik parametreler (eritrosit sayısı, hematokrit değeri, hemoglobin miktarı, MCH,MCHC,MCV) , 2,3DPG miktarı, tam kan ve plazma viskozitesi değerleri ile, karaciğer dokusu ile eritrositlerde Total Antioksidan Seviye(TAS), Total Oksidan Seviye(TOS) düzeyleri ölçülmüştür.

MSG toksisitesi sonucu MCV ve HCT değerleri artmış, MCHC ve HGB değerleri ise azalmıştır. MSG'nin eritrosit ve karaciğer dokularında oksidatif hasara neden olduğu TOS düzeylerinin ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır. Antioksidan olarak kullanılan melatoninin bu değerleri baskılayarak kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı görülmüştür. Oksidatif stres oluşturan MSG'nin tam kan viskozitesin de artışa yola açtığı, eritrosit ATP, 2,3DPG ve karaciğer dokusu ATP düzeylerinde ise azalmaya yol açarak, membran yapısında bozulmalara neden olduğu, buna karşılık koruyucu olarak uygulanan melatoninin; oksidatif stresi

azaltmasının yanında eritrosit metabolizmasındaki değişiklikleri olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak Melatonin'in, MSG kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres oluşum riskini azaltacağını ve oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan zararlı etkilere karşı antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: MSG, Oksidatif stres, Eritrosit, Karaciğer, Melatonin



**CHANGES IN ERYTHROCYTE AND LIVER TISSUE IN RATS IN
OXIDATIVE STRESS CAUSED BY MONOSODIUM GLUTAMATE;
PROTECTIVE ROLE OF MELATONIN**

Suat ŞAHİN

**Erciyes University, Graduate School of Health Sciences
Department of Physiology
M Sc. Thesis, January 2016
Supervisor: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

ABSTRACT

Monosodium glutamate(MSG) often used in prepared foods as a flavor enhancer may causes cytotoxicity in different organs and systems. It is possible that MSG causes oxidative damage in erythrocytes and liver which is the most affected tissue from toxicity. Our aim is to search the effects of melatonin which is known as a powerful antioxidant against MSG oxidative damage induced oxidative stress in the erythrocyte and liver tissues.

In this study, Sprague Dawley rats were used within 4-5 months of the average 225±17g. Control groups are given 0.9% saline, and the MSG groups are given 4 and 8 mg/kg MSG by gavage for 14 days. Melatonin implementation was started one day before the MSG, 10 mg/kg i.p. and during the experiment was continued with MSG. In blood samples taken; hematological parameters (erythrocyte count, hematocrit value, hemoglobin concentration, MCH, MCHC, MCV), 2,3DPG amount, full blood and plasma viscosity values, in erythrocytes and liver tissue Total Antioxidant Level (TAS), total oxidant status (TOS) levels were measured.

As a result of MSG toxicity, MCV and HCT values are increased, MCHC and HGB values are decreased. It is observed that; MSG caused oxidative damage in erythrocytes and liver tissue TOS level and oxidative stress index (OSI) values were increased compared with control group. It is seen that, antioxidant use of melatonin has repressed these values and got closer to control group values. So; MSG causing oxidative stress increases full blood viscosity whereas decreases erythrocytes ATP, 2,3DPG and liver tissue ATP levels, and also causes impairment of membrane structure. On the other hand, it is observed that melatonin given as a protector; reduces oxidative stress and

besides effects the changes in erythrocytes metabolism positively. As a result, it can be said that melatonin can be used to reduce the risk of developing oxidative stress occurs due to use of MSG and can be used as an antioxidant against the harmful effects arising due to oxidative damage.

Key Words: MSG, Oxidative Stress, Erythrocyte, Liver, Melatonin



İÇİNDEKİLER

SIÇANLARDA MONOSODYUM GLUTAMAT'IN NEDEN OLDUĞU OKSİDATİF STRESTE ERİTROSİT VE KARACİĞER DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLER; MELATONİNİN KORUYUCU ROLÜ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
TABLolar LİSTESİ	xii
KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.MONOSODYUM GLUTAMAT	3
2.1.1. Kimyasal Yapısı.....	4
2.1.2. Genel Özellikleri ve Tarihçesi	4
2.1.3.İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	5
2.2. SERBEST RADİKALLER	10
2.2.1.Serbest Oksijen Radikalleri	11
2.2.2. Serbest Radikallerin Hücrelerdeki Etkileri	12
2.2.3.Antioksidan Sistemler.....	13
2.3.MELATONİN	15
2.3.1. Melatonin Sentezi	16
2.3.2. Biyolojik Etkileri	17
2.3.3. Antioksidan Etkisi.....	19

2.4.ERİTROSİTLER	20
2.4.1.Eritrosit metabolizması	21
2.4.2. Eritrosit Membranının Yapısal ve Fizyolojik Özellikleri	23
2.4.3. Membran Lipit Peroksidasyonu.....	25
2.5. KAN VİSKOZİTESİ	26
2.5.1. Plazma Viskozitesi.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1.DENEY GRUPLARI VE PROTOKOL.....	28
3.2. KAN VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI	29
3.3. ERİTROSİT PAKETLERİNİN HAZIRLANMASI	29
3.4. HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜLMESİ	30
3.5. ERİTROSİT 2,3 DİFOSFOGLİSERAT (2,3-DPG) MİKTARININ ÖLÇÜMÜ .	30
3.6.ATP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ.....	31
3.7.TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİNİ	32
3.8.TOTAL OKSİDAN DURUM TAYİNİ	32
3.9.OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) HESAPLANMASI.....	33
3.10.TAM KAN VE PLAZMA VİSKOZİTE ÖLÇÜMÜ	33
3.11.İSTATİSTİKSEL ANALİZ	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR	56
EKLER	
ÖZ GEÇMİŞ	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Monosodyum Glutamat'ın Kimyasal yapısı	4
Şekil.2.2.	N-asetil-5metoksitriptamin (Melatonin) Kimyasal Yapısı.....	16
Şekil 2.3.	Melatonin Sentezi.....	17
Şekil 2.4.	Melatoninin Antioksidan Özellikleri.....	20
Şekil 3.1.	Standart Çözeltilerin Hazırlanması	30
Şekil 3.2.	Eritrosit 2,3 DPG Standart Eğrisi.....	31
Şekil 3.3.	Tam kan ve Plazma Vizkosite Ölçümü İçin Kullanılan Viskozimetre	34
Şekil 4.1.	Eritrosit(RBC) sayıları	36
Şekil 4.2.	Hematokrit(HCT) değerleri.....	36
Şekil 4.3.	% Hemoglobin(HGB) miktarları.....	37
Şekil 4.4.	Ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) değerleri	38
Şekil 4.5.	Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)değerleri.....	38
Şekil 4.6.	Ortalama eritrosit volümü(MCV) değerleri	39
Şekil 4.7.	Eritrosit 2,3 DPG % değişim oranları	41
Şekil 4.8.	Eritrosit ATP % değişim oranları.....	41
Şekil 4.9.	Karaciğer doku örneklerinde ATP % değişim oranları.....	42
Şekil 4.10.	Plazma Total Antioksidan Kapasite (TAS) değerleri.....	43
Şekil 4.11.	Plazma Total Oksidan Durum (TOS) değerleri.....	43
Şekil 4.12.	Plazma Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değerleri	44
Şekil 4.13.	Karaciğer dokusu TAS değerleri.....	45
Şekil 4.14.	Karaciğer dokusu TOS değerleri.....	45

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Melatoninin bazı biyolojik oluşumlar üzerine etkilerini açıklayan mekanizmalar.....	18
Tablo 4.1. Hematolojik parametre değerleri	35
Tablo 4.2. Eritrosit 2,3DPG ile Eritrosit ve Karaciğer dokusundaki ATP düzeyleri.....	40
Tablo 4.3. Plazma Total Oksidan ve Antioksidan düzeyleri.....	42
Tablo 4.4. Karaciğer dokusunda total oksidan ve antioksidan düzeyleri.....	44
Tablo 4.5. Viskozite değerleri.....	47

KISALTMALAR

2,3-DPG	: 2,3-Difosfogliserat
AFMK	: N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin
ATP	: Adenozin Trifosfat
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonukleikasit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
Hgb	: Hemoglobin
HRP	: Horseradish Peroxidase
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Degeri
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyon Degeri
MCV	: Ortalama Eritrosit Volüm Degeri
MDA	: Malondialdehit
MSG	: Monosodyum Glutamat
RBC	: Eritrosit Sayısı
RNA	: Ribonükleikasit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Düzey
TKV	: Tam kan viskozitesi
TOS	: Total Oksidan Düzey

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde, endüstrinin gelişmesi ile besin üretiminin ve işlenmesinin artması gıda katkı maddeleri kullanımını da artırmıştır. Ev dışında çalışanların artması, beslenme alışkanlıklarının değişmesi, besin hazırlama için az zaman kalması veya besin hazırlama için az vakit harcama isteği yarı-hazır veya ticari olarak tamamen hazırlanmış olan besin üretimini teşvik etmiş, bu da gıda katkı maddeleri kullanımını kaçınılmaz kılmıştır.. Gıda güvencesi insanlara, sürdürülebilir, yeterli ve dengeli beslenmelerini sağlayacak çeşitlilik ve miktarda ve ekonomik olarak erişilebilir gıda arzı olarak tanımlanabilir. Besin güvencesinin sağlanmasında besin üretiminin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması önem kazanmaktadır. Bu durumda da gıda katkı maddeleri kullanımı kaçınılmaz olmuştur (1,2). Katkı maddelerinin gıda endüstrisi açısından pek çok yararı ve işlevi olmakla birlikte insan sağlığı açısından durumu her geçen gün tartışılmaya devam edilmektedir. Bilinçsiz beslenme ve hazır tüketimin artması insanların daha fazla gıda katkısı tüketmelerine neden olabileceği ve sonuç olarak sağlık üzerinde olumsuz etki yaratabileceği de göz ardı edilmemelidir (3).

Birçok çalışmada gıda katkı maddelerinin canlı sistemler üzerine olumsuz etkiler gösterdiğine dair sonuçlar açıklanmıştır. Gıdalara tat artırıcı olarak ilave edilen maddelerden biride monosodyum glutamattır(MSG). Monosodyum Glutamat'ın, değişik organ ve sistemlerde artan oksidatif stres ve sitotoksitate şeklinde görülen, toksik etkileri olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Bu olumsuz etkilerin yanısıra apoptoz, nekroz, öğrenme ve hafıza bozuklukları gibi olumsuz etkilerinin olduğu da saptanmıştır. Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki denge hücre fonksiyonları, dolayısıyla sağlık açısından önemi büyüktür. Oksidan (serbest radikal) üretimi antioksidan savunma mekanizmalarının kapasitesinin üzerine

çıkıldığı anda oksidatif stres oluşur ve sonuç olarak hücreler oksidatif hasara maruz kalır (4). Vücutta detoksifikasyon yapan karaciğer ve kanda oksijen taşıyan hücreler olan eritrositler oksidatif stresten ve zararlarından etkilenen doku ve hücrelerin başında gelmektedir. Oksidatif stres sonucu görülen olaylardan biri de lipid peroksidasyonunun artmasıdır (5). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, eritrositlerin fonksiyonlarına ait çeşitli parametreler ve membran bütünlüğünün, lipid peroksidasyonundaki artıştan olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir (6). Oksidatif stresteki artış nedeniyle meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkileyerek eritrositlerin deformabilite yeteneğinde ve yaşam sürelerinde azalmaya yol açabilmektedir (7). Ayrıca eritrositlerin enerji metabolizmalarındaki olumsuz değişiklikler eritrosit ömrünü, dolayısıyla dokuların oksijenlenmesini olumsuz yöde etkilemektedir. Diğer yandan antioksidanlar eritrosit zarlarını oksidatif stresten korumakta (8) ayrıca reaktif oksijen türlerini temizleyerek oksidatif hasarın olumsuz etkilerinden korumaktadır.(9).

Melatonin, pineal bezden karanlıkta ve sirkadiyan ritimde salgılanan bir hormon olup, endokrin sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonun artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi bir çok fonksiyonu vardır (10,11). Melatonin güçlü bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir (12, 13).

Hazır gıdalarda sıkça lezzet artırıcı olarak kullanılan Monosodyum Glutamat(MSG) değişik organ ve sistemlerde sitotoksositeye neden olabildiği yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Diğer taraftan kanda dokulara oksijen taşıyan eritrositlerin sürekli oksidatif hasara maruz kaldığı da bilinen bir gerçektir. Bu nedenle MSG'nin eritrositlerde ve toksisiteden en çok etkilenen dokulardan biri olan karaciğerde oksidatif hasar yaratması muhtemeldir. Amacımız, MSG'nin indüklediği oksidatif stresde eritrosit ve karaciğer dokularında oluşan oksidatif hasara karşı, güçlü bir antioksidan olduğu bilinen melatoninin MSG'nin muhtemel oksidan hasarlarına karşıda koruyucu olup olmadığını araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.MONOSODYUM GLUTAMAT

Gıda katkı maddeleri, Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğine göre, tek başına gıda olarak tüketilmeyen, gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya üretim sırasında kalıntı veya türevleri işlenmiş maddede bulunabilen, gıdanın hazırlanması, tasnifi, işlenmesi, ambalajlanması, taşınması, depolanması ve dağıtım sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amacıyla kullanılmasına izin verilen maddeler olarak tanımlanır (14).

19. yüzyıldaki hızlı şehirleşmenin paralelinde katkı maddelerinin kullanımları, özellikle gıdaları bozulmalara karşı koruma amacıyla yaygınlaşmış olup günümüzde ise bu maddeler gelişen gıda teknolojisinin vazgeçilmez parçasını oluşturmuşlardır (15). Gıda katkı maddelerinin dünyadaki pazarı 1900'lü yıllarda 10 milyar dolara ulaşmış olup, günümüzde çok daha büyük rakamlarla ifade edilmektedir (16).

Ülkemizde yaklaşık 300 adet gıda katkı maddesinin kullanımına izin verilmekte olup Amerika Birleşik Devletleri'nde bu sayı yaklaşık 2800'dür (17). Bu maddelerin tüketimi arttıkça, bazı rahatsızlıklarla olan bağlantılara yönelik bulgular da ortaya çıkmaya başlamıştır. Bunların içinde en sıkça görülenleri; egzema, astım, baş ağrısı, alerjik kaşıntılar, gastrik rahatsızlıklar, özellikle çocuklarda olmak üzere ishal, hiperaktiflik ve aşırı duyarlılık (hypersensitivity)'tir (18, 19, 20, 21).

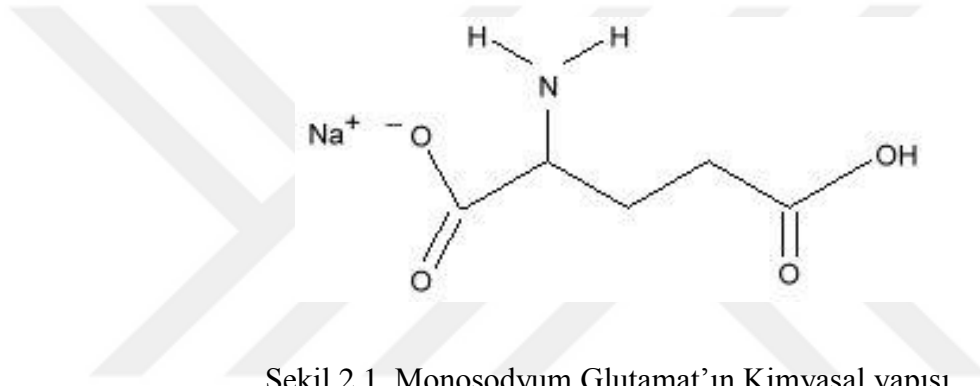
Gıda katkı maddelerinden tat arttırıcılar, özellikle proteince zengin hayvansal ve bitkisel gıda ürünlerinde kullanılır. En çok et ve balık ihtiva eden dondurulmuş gıdalar, kuru karışım halindeki bütün hazır çorbalar ve çoğu konserve gıdalarda kullanılmaktadır.

Ayrıca salata sosları, sucuk, salam, sosis ve patates cipslerinde de lezzet artırıcı olarak kullanılmaktadır.

Gıdalara tat artırıcı olarak ilave edilen maddelerden biride monosodyum glutamattır.

2.1.1. Kimyasal Yapısı

Monosodyum glutamat (MSG, E621) esansiyel olmayan asidik bir amino asit olan glutamatın γ karbon atomuna, bir hidrojen atomu yerine bir sodyum atomunun bağlanmasıyla oluşan ve hazır gıdalarda sıkça kullanılan bir lezzet artırıcıdır.



Şekil 2.1. Monosodyum Glutamat'ın Kimyasal yapısı

Vücuttaki diğer amino asitlerde olduğu gibi MSG de sadece L-formunda aktiftir; D-formunun ise aktivitesi olmadığı saptanmıştır. Ayrıca ısı işlemlere karşı duyarlı olduğu ve ısı etkisiyle bir mol su kaybederek laktan formunu oluşturduğu, böylece lezzet artırıcı özelliğini kaybettiği bilinmektedir. Aktif olarak çalıştığı pH aralığı ise 5.5-8 olarak belirtilmektedir(22).

2.1.2. Genel Özellikleri ve Tarihçesi

MSG tat almadan sorumlu sinirleri uyararak yiyeceklerin tadını güçlendirir. Bu etki daha çok ve daha sık yemek yeme isteği ile kendini gösterir. Katkı maddesi olarak kullanılmasının nedenlerinden biri de glutamik asitten daha hızlı ve daha iyi çözünmesidir(23, 24). Bu özellikleri MSG'yi ticari açıdan popüler ve yararlı kılmaktadır

Monosodyum glutamat ilk defa 1866'da Alman kimyager Karl Heinrich Leopold Ritthausen tarafından keşfedilmiş ve tanımlanmıştır. 1907'de ise Kikunae Ikeda MSG'yi ayrıştırmayı başarmıştır. Dünyada en çok bilinen ve kullanılan lezzet arttırıcıdır. MSG aynı zamanda gıdaya umami diye adlandırılan farklı bir tat katar. Bilimsel olarak bu tat beşinci tat olarak (umami) acı, tatlı, tuzlu ve ekşinin yanında kabul edilir (25).

MSG, ağız yoluyla vücuda girdiğinde sindirim kanalından ilk geçişinde glutamat ve sodyum iyonuna ayrışır. Büyük bir kısmı bağırsak lümeninden emilir. Vücudumuz, yiyeceklerde doğal olarak bulunan glutamatla MSG'de bulunan glutamati aynı şekilde metabolize eder. Örneğin vücudumuz domateste bulunan doğal glutamatla domates sosuna eklenmiş MSG arasındaki farkı algılayamaz (26).

Monosodyum glutamat, ABD, AB ve Türk mevzuatlarına göre kullanımını yasal olan bir gıda katkı maddesidir. Gıda ürünlerinde lezzet arttırıcı olarak kullanım miktarı binde 1-8 arasındadır. Ticari olarak, bakteri fermantasyonu yolu ile melasdan elde edilir. Aynı zamanda, gluten veya soya proteini gibi sebze proteinlerinden de elde edilir. On iki haftadan küçük bebekler için hazırlanmış gıda ürünlerinde kullanılmaması tavsiye edilen bu ürünün etkileri hakkındaki tartışmalar ise her şeye rağmen devam etmektedir. FDA (Food and Drug Administration) yaptığı açıklamada —MSG' nin belli miktarlarda alındığında çoğu insan için güvenli olduğunu belirtmiştir. Ancak astım, migren, epilepsi gibi bazı hastalıklara duyarlı olan insanlarda yan etkilerin görülebileceğini vurgulamışlardır.

2.1.3. İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Gıdalarda sıkça kullanılan bir aroma arttırıcı olan Monosodyum Glutamat'ın, değişik organ ve sistemlerde artan oksidatif stres ve sitotoksisite şeklinde görülen, Çin Restoranı Sendromu olarak da bilinen toksik etkileri olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Bunun yanında MSG' nin apoptoz, nekroz, öğrenme ve hafıza mekanizmasında bozukluklara yol açtığı saptanmıştır. Farelerde yapılan deneyde ise MSG seçici nörodejenerasyona neden olmuştur(26). Hipotalamusta yer alan arcuate çekirdekte ileri seviyede nekroza sebep olmuştur(27).

MSG göz hücrelerindeki birçok yapıda hasara neden olmuştur. Bu hasar kemirgenlerde iki aşamada meydana gelmiştir. İlk aşama ileri derecede hücre içi şişkinliği, ikinci

aşama ise nekroz ve hücre kaybı olmuştur. İn vitro çalışma sırasında, 12 günlük tavuk embriyo retinasına eklenen MSG, morfolojik hasara yol açmıştır(28).

Monosodyum glutamat'ın apoptoz ve öğrenme bozukluklarıyla ilişkisi ve buna karşı antioksidanların rolünü değerlendiren çalışmalarda MSG'nin uzamsal hafıza ve yer öğrenme gibi mekanizmalarda da olumsuz etkilere yol açtığı düşünülmektedir. Yapılan bir deneyde, neonatal dönemde günde vücut ağırlığı başına 4 mg/kg MSG enjekte edilen 8 sıçan kullanılmıştır. Buna karşı olarak da normal gelişimlerini sürdürmüş 8 sıçan kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sıçanlara doğumdan sonraki dördüncü ayda dokuz günlük bir yer öğrenme testi uygulanmıştır. Test sonuçlarına göre deney grubunun uzamsal hafızasının zarar gördüğü saptanmıştır. Bunun yanında yer öğrenme ve hatırlama fonksiyonlarının da monosodyum glutamata bağlı olarak zarar gördüğü ileri sürülmüştür. Bütün bunların yanında Vit C, Vit E gibi bazı antioksidan özellikli ajanların MSG' nin olumsuz etkisini azalttığı ve hatta ortadan kaldırdığı saptanmıştır. Yapılan başka bir araştırmada sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır; ilk grup MSG ile, ikinci grup salin ile, üçüncü grup MSG ve yanında askorbik asit ile beslenmiştir. Dördüncü grup ise normal kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Daha sonrasında bu sıçanlar EPM testine sokulmuştur. Test sonucuna göre MSG ile beslenen sıçanlarda nörodavranışsal performans gözle görülür bir şekilde değişmiştir. Bunun yanında MSG ile birlikte askorbik asitle beslenen grupta bu bozukluğun önüne geçildiği görülmüştür. Hatta bu gruptaki denekler, kontrol grubundaki deneklerden bile daha iyi sonuç vermişlerdir(29).

Yapılan başka bir güncel çalışmada ise antioksidan ajanlar olan vitamin C, vitamin E ve quercetin' in sıçanların karaciğerinde, böbreklerinde ve beyinlerinde meydana gelen MSG kaynaklı oksidatif hasar araştırılmıştır. İntraperitoneal yolla verilen vücut ağırlığı başına 4 mg/g MSG karaciğer,böbrek ve beyinde malondialdehit (MDA) artışına neden olduğu bildirilmiştir. MSG uygulanan sıçanlara daha sonra verilen Vit C, Vit E ve quercetin artan MDA oranını düşürmekle kalmamış, Vit E karaciğerdeki lipid peroksidasyonunu düşürmüştü, Vitamin C ile birlikte quercetin ise beyni membran hasarından korumada etkili olmuştur (30).

MSG bu gibi nörodejeneratif değişikliklerin yanı sıra farklı yollarla obeziteye neden olduğu gösteren yayınlarda bulunmaktadır. Ancak en çarpıcı nokta araştırmacıların, obez denek elde etmek için MSG kullanmalarındadır. Yeni doğan farelere doğumdan sonraki 1,2,3,6,7 ve 8. günlerde çeşitli yollarla bir gram vücut ağırlığı başına 3 mg MSG

verilmiştir. Deneklerin %16'sı süttten kesilmeden ölmüş, hayatta kalanların %90'ı ise fark edilir derecede obez olmuştur. Ayrıca yeni doğanlara düzenli olarak yapılan enjeksiyonların, vücut yağlanmasını arttırmada %100 güvenilir bir yöntem olduğu saptanmıştır(31).

Obezite ve MSG ilişkisi, üzerine insanların denek olarak kullanıldığı deneyler de bulunmaktadır. Bu deneylerin birinde obez ve normal kilolu kadınlar arasındaki şekerli ve umami tat algı farkınının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Yapılan deneyde 23 obez, 34 normal deneğe 1.10-5 - 5,6.10-5 mol/l konstantrasyon arasında değişen sükroz ve MSG çözeltileri verilmiştir. Obez kadınların tadı algılaması için MSG'yi daha yüksek konstantrasyonda almaları gerektiği gözlenmiştir. Obez kadınların MSG algıları eşik konstantrasyonun üstünde olmasına rağmen tuz ve MSG'yi ayırt edebilme yeteneği ve sükroz tercihleri normal kilodakilerle benzerdir. Vücut ağırlığı kategorilerini dikkate almadan kadınların %28'i 29 mmol/L MSG'yi 29 mmol/L NaCl'yi ayırt edememektedir. Vücut ağırlığının, umami tadın bazı bileşenleriyle ilişkili olduğu ve eşik ve eşik üstü MSG konstantrasyonlarının algılanmasında farklı mekanizmaların söz konusu olduğu bulunmuştur. Yani obez kadınların MSG eşiği yüksek, sükroz eşiği düşük, normal kadınlarınkine ise tam tersidir(32, 33).

MSG obeziteyi iştahı artırarak, insülin salınımını artırarak, ketogenezi azaltarak ve adolesan dönemde büyüme hormonunun salınımını baskılayarak tetikler(34).

MSG iştahı artırması üzerine yapılan bir deneyde koyunlarda değişik miktarlarda MSG içeren sahte otlar verilmiştir. MSG miktarı ve ot yeme arasındaki ilişki incelenmiştir. 5 –40 g/kg oranıyla verilen MSG'li kalitesiz otlar iştahı önceki halinin %146'sı yapmıştır. Bu çalışmada anlatılan kalitesiz yiyeceklerin kullanımı MSG eklenmesiyle arttırılabilir (34).

İnsanlar ile yapılan deneylerde ise iki bulgu göze çarpmıştır. Bu bulgulardan birincisi MSG içeren yiyecek ile beslenen deneğin kısa sürede yeniden acıktığı gözlenmiştir. MSG içeren bir öğle yemeğinden sonra yeniden yeme isteği normale göre daha hızlı oluşmuştur (35). İkinci önemli bulgu ise, MSG içeren besinin tüketiminin MSG içermeyen besinlere karşın oldukça fazla olmasıdır. MSG' nin lezzet üzerine etkisini araştırmak amacıyla 36 genç erkek ve kadına 2 farklı yiyecek sunulmuştur. MSG dozu yüksek olan grup giderek daha hızlı ve daha çok yemeye başlamışlardır (35).

Bu konuyla ilgili deneysel çalışmalarda; sıçanlara verilen MSG'nin pankreası aşırı uyararak hiperinsülinemiye yol açtığı belirtimiştir. Bunun sonucu ise glikozun adipoz dokuya dönüşümünün hızlanmasıdır. Doğum sonrası dönemde olan sıçanlara verilen MSG, yetişkinlik döneminde insülin direncine işaret eden obezite, hiperinsülinemi ve hiperglikemiye sebep olmuştur. Ayrıca plazma insülini de artış göstermiştir (36).

MSG ağız yoluyla bile verildiğinde 3 dakika içerisinde insülin artışı gözlenebilmiştir (37).

7 insan deneğe 150 mg/kg monosodyum glutamat ve plasebo verilmiştir. Bu insanların bir kısmı dinlendirilmiş, bir kısmına beden eğitimi yaptırılmıştır. Sonucunda insülin seviyelerinde artış gözlenmiştir(37). 10 gram MSG ağız yoluyla 19-28 yaş arası insanlara verilmiş ve insülin değerlerinde artış görülmüştür (38).

Yapılan bir çalışmada sıçanlarda büyüme hormonu salgılayan hücreleri yok etmek üzere yalnızca 4 mg/g MSG'nin yeterli olduğu öne sürülmüştür. Sıklıkla büyüme çağında kullanılan bir takım hazır yiyeceklerin ergenlik döneminde ne denli tehlikeli olduğu da tekrar vurgulanmıştır (39).

Günümüzün önemli sorunlarından biri de diyabettir ve her geçen gün diyabet hastalarının sayısı artmaktadır. Bu hastalığı yenmede hayvan deneylerinin önemi büyüktür. MSG'nin obez fare elde etmek için kullanıldığını bilinmekteydi. Ancak aynı maddenin glycosuria'ya neden olduğu keşfedilmiştir. Bu dişi ve erkek farelerin kanlarındaki glikoz, insülin, kolesterol ve gliseritlerin yoğunluğu kontrol gruplarında bulunandan daha fazladır. Bu sonuçlar yetişkin farelerde daha ağırdır. Bu belirtilere çoğu zaman obezite de eşlik etmiştir. Çoğu denekte diabetes mellitus'un ileri hali gözlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında, kullanılan denekler polifaji görülmeyen tip 2 obez hayvanlar olarak kabul edilmiştir(36). Her kemirgen MSG'ye maruz kalınca obez olmamıştır. Bazıları sadece diyabet olmuşlardır. Yeni doğmuş Çin hamsterları MSG aşısı yapınca büyüdüklerinde bile obezite belirtisi göstermemişler, ancak diyabet hastası olmuşlardır(40).

Monosodyum glutamatın bir diğer önemli etkisi plesentayı geçmesidir. Hamile sıçana deri altından verilen MSG hem annede hem fetüste nekroza neden olmuştur. MSG'nin anneye etkisinin aynısı fetüste de görülmüştür. Ancak embriyonal hücrelerin tepkisi

daha hassas olmuştur. Bu gözlemler insan annelerin MSG içeren beslenmelerinin fetüse etki edeceğinin bir kanıtı olarak alınmıştır(41).

MSG'nin üreme sistemi üzerinde olası etkilerini değerlendirmek üzere yapılan çalışmalarda doğrudan etkisi olduğu tam olarak kanıtlanamamıştır. Ancak MSG toksitesinde Ca^{2+} iyon geçirgenliğindeki değişikliklerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmanın amacı MSG'den önce verilen Diltiazem'in (Ca kanalını bloke edici) , MSG'nin yumurtalıklara ve menstrüel döngüye olan etkilerini değiştirip değiştirmediğini araştırmaktır. Deney 4 gruba ayrılan yenidoğan dişi sıçanlar üzerinde yapılmıştır. C grubuna %0,9'luk NaCl, M grubuna 4 mg/g MSG, D grubuna 5mg/g Diltiazem, DM grubuna ise 5mg/g diltiazem 1 saat sonra da 4 mg/g MSG enjekte edilmiştir. Bu işlemler 2.,4.,6.,8. ve 10. günlerde tekrarlanmıştır. Sıçanlar 28 gün sonra kafeslere yerleştirilmiştir ve 25 gün boyunca vajinal sürüntü alınıp incelenmiştir. Aynı zamanda sıçanlara genel anestezi verilerek yumurtalıkları çıkarılıp incelenmiştir. Menstrüel döngülerin uzunluğu ve süresi belirlenmiştir. Döngüler M grubunda 5,2 gün, C grubunda 4,1 gün,D grubunda 4,3 gün ve DM grubunda ise 4,6 gün sürmüştür. M grubunda döngü süresi daha uzun ve döngülerin daha sık olduğu görülmüştür. Ayrıca M grubunda kistik dejenerasyon, fibrotik değişiklikler, stromadaki arteriorlarda kistik dejenerasyon görülmüştür. Overlerinde ise çok sayıda atrezik folikül olduğu ve korpus luteum içermediği belirlenmiştir. C, D ve DM gruplarında morfolojinin normal olduğu görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda yenidoğan sıçanlarda ilk 10 gün MSG verildiğinde kısırlık ve tek doz MSG (4 mg/g) verildiğinde geç dönemde menstrüel döngülerin bozulduğu, ancak histolojik bulguların normal olduğu gözlenmiştir. MSG'nin kadın üreme sistemi üzerindeki toksik etkileri hipotalamus üzerinden doğrudan etkili olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalarda MSG'nin toksik etkilerinde glutamat reseptörlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Glutamat reseptörlerinde artan aktivasyon nörotoksik potansiyel oluşturmakta kronik düşük doz MSG glutamat reseptörlerini aktive ederek overlere zarar vermektedir(42).

Çeşitli araştırmacılar tarafından baş ağrısının sebeplerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalarda monosodyum glutamat içeren yiyeceklerin migren atağını ortaya çıkaran faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (43, 44).

Erkek Wistar sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda MSG ile muamelenin timuslarda oksidatif stresi uyardığını ve MSG ile bu uyarılmanın T- hücrelerinin apoptozisini de önemli derecede ($p<0.01$) arttırdığını göstermişlerdir (45).

Dişi fareler üzerine yapılan bir başka çalışmada monosodyum glutamat ile uyarılan obez farelerde insülin dirençliliğinin geliştiğini göstermişlerdir (46).

Kemirgen ve memeli yavrularına ağızdan ve cilt altından monosodyum glutamat verildiğinde gelişmekte olan beyin dokusu, hipotalamus ve hipokampusta akut nöronal nekroza yol açtığı ve sıçan yavrularının retinasında hasarlar meydana getirdiği belirtilmiştir (47,48).

Sıçanlarda MSG'nin vücuda alınımı üzerine yapılan çalışmalarda MSG'nin vücuttaki enerji miktarını arttırarak obeziteye sebep olduğu (49,50) ve aynı zamanda vücuttaki karbonhidrat, lipid ve protein seviyesini değiştirdiği bildirilmiştir (51).

MSG'nin deri altı enjeksiyonunun yetişkin sıçanların beyinde akut lezyonlara yol açtığını ve büyüme hormonu, eşey hormonu ve tiroid hormonlarının seviyesinde değişikliklere sebep olduğu Olney ve ark. tarafından bildirilmiştir(52).

2.2. SERBEST RADİKALLER

İnsan ve hayvanlarda fizyolojik aktivitenin doğal sonucu olarak ortaya çıkan ürünler olan (53) Serbest radikaller; yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu atom veya atom gruplarıdır (54, 55, 56).

Serbest radikaller genellikle reaktif oksijen veya reaktif azot türleridir. Bunlar kendi aralarında radikal olanlar ya da olmayanlar şeklinde gruplandırılırlar. Radikal olan reaktif oksijen türleri; süperoksit, hidroksi, peroksi, alkoksi ve hidroperoksilerdir. Radikal olmayan reaktif oksijen türleri ise hidrojen peroksit, hipokloröz asit, hipobromöz asit, ozon ve singlet oksijendir. Radikal olan reaktif azot türleri; nitrik-oksit ve azot-dioksit, radikal olmayan reaktif azot türleri ise nitröz asit, nitrozil katyonu, nitroksi anyonu, diazot tetraoksit, peroksinitrit, peroksinitröz asit, nitronyum katyonu ve alkilperoksi nitritlerdir (57)

2.2.1.Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikallerin aşırı üretimi hücre ve doku hasarında neden olur. Serbest radikallerin bu etkileri antioksidan adı verilen kimi enzim ve moleküller tarafından ortadan kaldırılır. Bütün organizmalarda serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasında hassa bir denge vardır. Oksidatif stres reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile antioksidan sistem arasındaki dengenin oksidan yönde bozulması ile gerçekleşir (58). Oksidatif stres doğal bir süreç olup bu stresi kontrol altında tutan özelleşmiş mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaların yetersizliği durumlarında oksidatif hasar oluşur (59).

Hücre ve dokularda oluşan serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri hücre metabolizmasında oksijen içeren pek çok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucu oluşabilmektedir (60). Bu kimyasal reaksiyonlar sırasında oksijen elektron transport zincirinde suya kadar indirgenirken her basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır.

En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır;

Süperoksit ($1O_2^-$)

Oksijen doğada moleküler olarak bulunan kararsız bir elementtir. Süperoksit radikali oksijen molekülüne bir elektron transferi ile meydana gelir (61,62). Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte, hidrojen peroksidin kaynağı ve geçiş metallerinin iyonlarının indirgeyicisi olmasından dolayı da önemlidir (61).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Serbest radikal değildir. Ancak metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı oksitleyici olarak kabul edilmektedir.

Hidrojen peroksit proteinlerde bulunan hem grubu ile reaksiyona girerek reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Oluşan bu reaktif demir ise lipid peroksidasyonu gibi radikal değişimleri başlatmaktadır (61).

Radikal Hidroksil (.OH)

En reaktif radikal olarak bilinen hidroksil radikali dokularda büyük hasara yol açar. Meydana getirdiği en önemli biyolojik reaksiyon, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (61).

Singlet Oksijen (1O₂)

Radikal olmayan bir reaktif oksijen türü olan singlet (tekil) oksijen doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek peroksil radikalinin oluşumuna ve lipid peroksidasyonun başlamasına sebep olabilir (61).

Alkol, uyuşturucu gibi bağışıklık yapan maddeler, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara ve antineoplastikler ekzojen radikal kaynakları olarak sayılabilir. Mitokondrial elektron transport sistemi, iskemi, travma, intoksikasyona bağlı oksidatif stres durumları, peroksizom enzimleri, tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, endoplazmik retikulum ve nukleus membranındaki elektron transport sistemleri, NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz gibi hücre içi enzimler de endojen radikal kaynaklarıdır (63).

2.2.2. Serbest Radikallerin Hücrelerdeki Etkileri

Serbest radikallerin genel olarak hücrenin membran lipidleri(lipid peroksidasyonu), proteinler, karbonhidrat metabolizması ve DNA üzerinde çeşitli hasarlara neden oldukları bilinmektedir.

Hücre membranlarında lipid peroksidasyonu

Hücre zarının yapısında bulunan lipidler serbest radikallerden en çok etkilenen biyomoleküllerdir (61). Lipidlerin serbest radikaller tarafından yapılarının bozulması sonucu oluşan lipid peroksidasyonu; hücre zarının fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipidlerinin yapısını dolayısıyla membran akışkanlığını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarında hasara sebep olan biyokimyasal bir olaydır (64).

Serbest radikaller tarafından başlatılan Lipid peroksidasyonu, kendini devam ettiren) bir zincir reaksiyon olduğundan hücre için çok zararlıdır.9 Lipid peroksidasyonu sırasında

biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan malondialdehit (MDA) oluşur (65).

Proteinler üzerine etkileri

Proteinler lipidlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin serbest oksijen radikallerine maruz kalması sonucu aminoasit yan zincirlerinde modifikasyonlar oluşur dolayısıyla protein yapısı bozulur. Buda fonksiyonel değişikliklere yol açarak hücre metabolizmasını bozmaktadır. Serbest radikaller enzimlerin, nörotransmitterlerin ve reseptör proteinlerin ve reseptör proteinlerin fonksiyonlarında bozulmasına yol açar (61). Ayrıca kan ve yapısal proteinlerin okside ederek, proteinlerin daha basit moleküllere bağlanmasını sağlayan sistemi yavaşlatabilir (66).

Karbonhidratlar üzerine etkileri:

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂ peroksitler ve okzaldehitler oluşabilir. Okzaldehitler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (67).

DNA üzerine etkileri

Nükleik asitler serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerinin pürin ve pirimidin bazlarını okside ederek; baz modifikasyonları, baz delesyonları ve zincir kırılmalarına neden olabilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler en hassas yapılardır. DNA zincirinin kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gerçekleşebilmektedir (61).

2.2.3. Antioksidan Sistemler

Vücutta oluşan serbest oksijen radikallerini metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen, oluşabilecek hasarları önleyebilmek için antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılan savunma sistemleri mevcuttur. Aerobik hücrelerde bulunan bu antioksidan maddeler eksojen veya endojen kaynaklı enzimatik veya nonenzimatik yapıda olabilmektedir (61,71).

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD substrat olarak oksijen radikalini kullanarak süperoksiti hidrojene çeviren bir metalloenzimdir (72). Bu tepkime oksidatif strese karşı savunmayı ilk olarak başlatır (73). Bu tepkime sonucunda oluşan ürünler ya lizozomlardaki katalaz (CAT) tarafından ya da mitokondrideki glutatyon peroksidaz tarafından önemli ölçüde H₂O'ye detoksifiye edilir (74).

Katalaz (CAT)

Glikoprotein yapıda bir hemoprotein olup, Hidrojen peroksidin yüksek yoğunlukta olduğu durumlar da yüksek aktivite gösterir (75). Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırarak hücreyi oksidatif strese karşı korur (61).

Glutatyon Peroksidaz (GPx)

GPx hücrelerin sitozölünde bulunan antioksidan enzimlerin en etkili olanıdır. SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asitini elemine eder. GPx fagositik hücreler de önemli fonksiyonlarda yer alır. Fagozitoz sırasında oluşan solunum patlaması sonucunda oluşan serbest radikallerin peroksidasyonundan fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller (60).

Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

GST organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev alır. Öncelikle araşidonat ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı bir defans mekanizması olarak görev yaparlar (72).

Glutatyon Redüktaz (GR)

hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerinin yükseltgenmesi sırasında oluşan glutatyon GPx tarafından okside glutatyona dönüşür. Oluşan okside glutatyonun tekrar redükte glutatyona dönüşmesini sağlayan ise Glutatyon redüktazdır (61).

Mitokondrial sitokrom oksidaz

Sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki gösterir (61).

Nonenzimatik Antioksidanlar

Vitamin C: Lipit peroksidasyonun başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur. Nitrik oksit sentaz tetrahidrofolatı stabilize ederek nitrik oksit (NO) üretimini artırır (76,77).

Vitamin E: Yağda çözünen bir vitamin olup lipid peroksidasyonunu önler (77).

β -Karoten: Serbest radikalleri temizler, peroksitleri inaktif hale getirir (78).

Koenzim Q10: Yağda çözünen bir antioksidan olup O_2 'i temizleyerek endotelial disfonksiyonu azaltır (77,79).

Serüloplazmin: İki değerlikli demirin üç değerlikli demire yükseltgenmesini böylece fenton reaksiyonunu inhibe eder. Serbest radikal oluşumu da inhibe edilmiş olur (80).

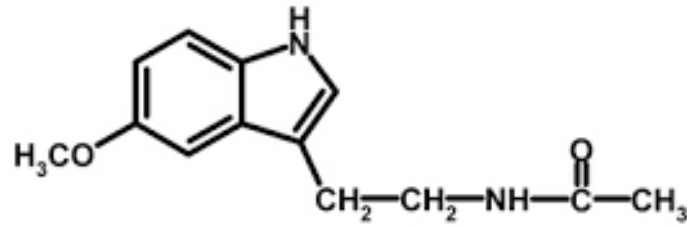
Transferrin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlayarak fenton reaksiyonunu önler (81).

Glutasyon (GSH): Tiyol grubu içeren bir tripeptiddir. Hücredeki önemli fonksiyonlarının (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) yanı sıra antioksidan olarak da görev yapar (82). Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girip oksidatif hasara karşı koruma yapar. Karaciğer vücuttaki glutasyonun en önemli kaynağıdır (83). Oksidatif stresin ölçümünde kullanılan bir antioksidan olup, redükte glutasyon/okside glutasyon oranı oksidatif streste azalır (84). Diğer nonenzimatik antioksidanlar α -lipoik asit, bakır, çinko, selenyum gibi elementler, folik asit, ürik asit, albumin gibi kofaktörler, B1, B2, B6, B12 gibi vitaminlerdir (57).

2.3.MELATONİN

Melatonin (N-asetil-5metoksitriptamin), karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur (86,87).

Pineal bez, yaklaşık üç yüz yıl önce Fransız filozof Descartes tarafından "ruhun tahtı" olarak tanımlanmış, ancak Melatonin'in varlığı 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından belirlenmiştir. Lerner sığır pineal bez ekstrelerinden elde ettiği maddenin, kurbağalarda deri rengini açtığını, granüllerinin agregasyona uğradığını belirlemiş ve ekstrelerden izole ettiği bu maddeye Melatonin adını vermiştir (88,89).

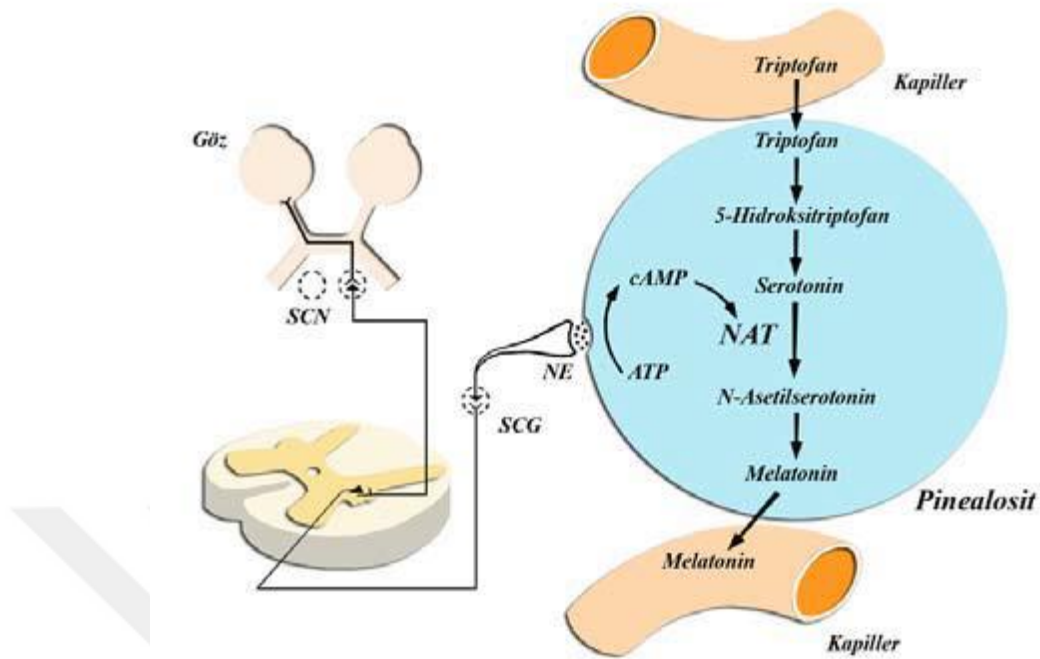


Şekil.2.2. N-asetil-5metoksitriptamin (Melatonin) Kimyasal Yapısı

2.3.1. Melatonin Sentezi

Pineal bez insanlarda üçüncü ventrikülün arka üst kısmında yer alır ve bu bölgeye pineal sapı aracılığı ile bağlanır. Pineal bez insan ve diğer memeli türlerinde tek bölümden oluşur. Erişkin bir insanda ortalama 100-180 mg ağırlığında, 5-9 mm uzunluğunda, 3-6 mm genişliğindedir ve piamater ile sarılmıştır. Bezin kanlanması oldukça fazladır ve böbrekten sonra ikinci en fazla kanlanan organdır (90). Memelilerde fotik informasyonları nöroendokrin sinyallere dönüştürebilen pineal bez, retinadan alınan görsel uyarılara cevap olarak, başta Melatonin olmak üzere, birçok hormon salgılayabilir (88,91).

Pineal bez pinealosit ve nöroglia hücrelerini içerir. Pineal bezin endokrin fonksiyonu sinirsel inervasyona bağlıdır. Bu nedenle nöroendokrin organ olarak kabul edilmektedir (92). Melatonin bir esansiyel amino asid olan triptofandan sentezlenir (93). Triptofan öncelikle hücre içine alınır. Daha sonra triptofan 5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana, 5- hidroksitriptofan da aromatik amino asid dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) etkisiyle serotonine (5-hidroksitriptamin) dönüştürülür. Serotonin N-asetiltransferaz ile N-asetilserotonine ve son olarak da N-asetilserotonin hidroksiindol-O-metil transferaz (HIOMT) enziminin etkisi ile Melatonin sentezlenir (92,94,95). Melatonin, pineal bezde depolanmadan pasif difüzyonla dolaşıma geçer. Lipofilik özelliği nedeniyle tüm doku ve sıvılara dağılır. Plazmada yaklaşık olarak % 70'i albumine bağlanarak taşınır (95).



Şekil 2.3. Melatonin Sentezi (96,97)

2.3.2. Biyolojik Etkileri

Melatonin'in uyku, sirkadien ritm, duygu durumu, termoregülasyon, immünite, cinsel olgunlaşma ve üreme gibi bir çok biyolojik olayla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, in vivo ve in vitro çalışmalarla antiproliferatif ve antioksidan etkilere de sahip olduğu gösterilen Melatonin'in, kanser ve yaşlanmanın önlenmesinde de etkili olabileceği öne sürülmektedir (88).

Tablo 2.1. Melatoninin bazı biyolojik oluşumlar üzerine etkilerini açıklayan mekanizmalar (88).

Biyolojik Oluşum	Mel'in Etkisi	Etki Mekanizması	Kaynak
Uyku	-Hipnotik etki ve uykuya eğilimin artması (Uykuya dalış hızı ile uyku süre ve kalitesinin artması)	-Hipotermik etki (farmakolojik dozlarda) - Limbik sistem üzerinde reseptör aracılı etki	Plasebo kontrollü klinik araştırmalar
Sirkadien ritm	- Sirkadien ritmlerin kontrolü - Aydınlık-karanlık siklusunun düzenlenmesi	- Gözlerden ve suprakiazmatik nükleustan gelen nöral uyarılara cevap olarak MEL salınımı - Nöral ve periferel dokularda reseptör aracılı etkiler - Termoregülasyon	Işığın ve aydınlık karanlık siklusunun MEL salınımına etkisini araştıran çalışmalar.
Duygudurum	- Mevsimsel affektif bozukluk ve depresyon gibi siklik duygudurum hastalıkları üzerine düzenleyici etki	-Bilinmiyor (Fakat,tedavide kullanılan tüm antidepresanlar MEL üretimini arttırmaktadır)	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik araştırmalar ve duygu durum bozukluklarında fototerapi çalışmaları
İmmünite	- Artmış immün yanıt	- T-helper lenfositler tarafından interlökin yapımının artması - Granülosit ve makrofajlarda,artmış koloni uyarıcı faktörün üretimi ile kemik iliği hücrelerinin apoptozisten korunması	İnsanlarda birkaç kontrolsüz araştırma
Kanser	- Antiproliferatif etkiler	- Direkt antiproliferatif etki (antimitotik aktivite) - İmmünomodülatör etki (immün yanıtın artmasıyla tümör büyümesinin baskılanması) - Antioksidan etki	Hayvanlar ve insanlarda neoplastik hücrelerle ve hücre soylarıyla <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> çalışmalar; birkaç kontrolsüz araştırma
Seksüel olgunlaşma ve üreme	- Antigonadal, anovulatuvar Etkiler	- Hipotalamik-hipofizer gonadal eksenin baskılanması (serumda düşük LH ve yüksek prolaktin seviyeleri) - Seks steroidlerinin üretimi üzerine düzenleyici etki	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik çalışmalar
Yaşlanma	- Hücre hasarının önlenmesi ve diğer koruyucu etkiler	- Antioksidan etki	Hayvanlarda <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> araştırmalar

2.3.3. Antioksidan Etkisi

Biyolojik sistemlerde prooksidan/antioksidan dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan oksidatif stres, birçok patolojik durumun ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilmektedir. Organizma, prooksidan etki gösteren serbest radikallerin hasarına karşı, antioksidan adı verilen ajanlarla kendini savunur. Melatonininde antioksidan etkisi yapılan in vitro (91,98,99) ve in vivo (100,101) çalışmalarla desteklenmiştir.

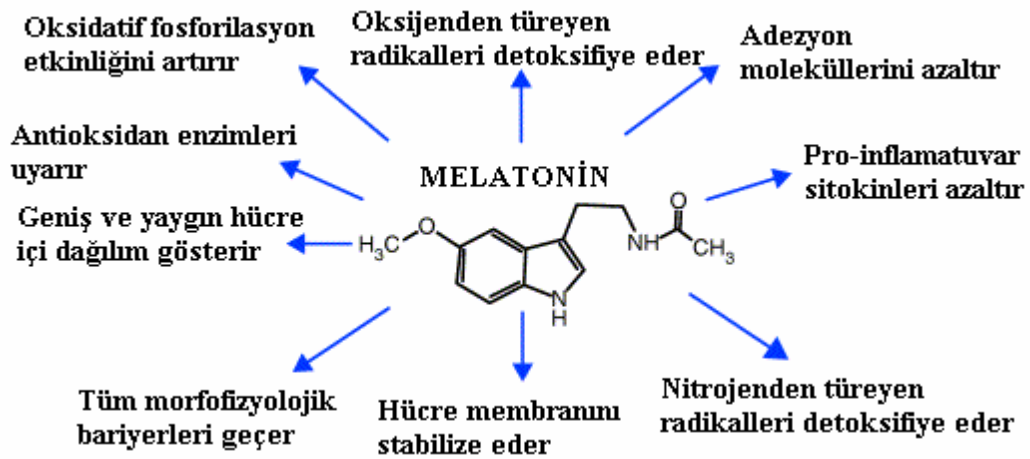
Melatonin 'in HO, H₂O₂, O₂, HOCl, NO., ONOO⁻ gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (17,18). Melatonin'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Fizyolojik şartlarda pek çok indol Melatonin 'e benzer şekilde yıkılsa da, O² varlığında, Melatonin'in pirol halkasının indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı, yüksek reaktiviteye sahip, N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumuyla sonuçlanmaktadır (104). Melatonin 'in H₂O₂ varlığında da AFMK oluşturduğu ve bu metabolitin radikal tutucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (103).

AFMK oluşumuna yol açan diğer bir mekanizma ise, yüksek bir affinite ile OH⁻ radikalini bağlayabilen Melatonin 'in, indolil katyon radikalini oluşturması ve bu radikalın de, O²'i yakalayarak AFMK'e dönüşmesidir. AFMK, daha sonra arilamin formamidaz (AFA)'ın katalizlediği reaksiyonla N1-asetil-5- metoksikinüramin (AMK)'e çevrilmektedir (104). Diğer taraftan indolil radikal, HO varlığında siklik 3-hidroksimelatonin oluşturmakta ve bu metabolitin idrar düzeyleri, radikal üretiminin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Melatoninin yukarıda bahsedilen direkt antioksidan etkilerinin yanı sıra dolaylı olarak da antioksidan sisteme katkıda bulunmaktadır. Bunlardan antioksidan enzim aracılı etkide Melatoninin SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G₆PD) ve g-glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (102,103).

Melatoninin antioksidan sisteme dolaylı etkilerinden bir diğeri olan prooksidan enzim aracılı etkide ise Melatoninin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal

oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir (102,103). In vitro ve in vivo şartlarda, NO. ve daha ileri aşamada ONOO- oluşumuna neden olan nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin, fizyolojik Melatoninin konsantrasyonlarında inhibe edildiği bildirilmektedir (105).



Şekil 2.4. Melatoninin Antioksidan Özellikleri (106).

Antioksidan olarak etkileri belirtilen Melatonin hem suda ve hem de lipid fazda çözünebildiğinden, organizmada çok geniş alanda antioksidan etki gösterebilmektedir. Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebilen Melatonin için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, Melatonin 'in tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece Melatonin, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir. Hücre membranı ile temas ettiğinde, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan Melatonin, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. Melatonin varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan O_2 ., H_2O_2 ve HO . gibi radikallerin üretimi de azalmaktadır. Çekirdeğe kadar ulaşabilme özelliği, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, Melatonin 'e bir üstünlük sağlamaktadır (107). Melatoninin antioksidan olarak bir başka üstünlüğü ise diğer antioksidanların aksine, çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve 5 yıl gibi uzun bir süre kullanımında bile toksik bir etki göstermemesidir (107).

2.4.ERİTROSİTLER

Eritrositler kanın şekilli elemanlarının büyük bölümünü oluşturur. Birleşimlerindeki hemoglobinle kanın kırmızı rengini verirler. Etkin hareketleri yoktur, kan dolaşımıyla

pasif hareket ederler. Yumuşak ve esnek olduklarından sıkıştırılabilirler ve çaplarından çok daha dar yerlerden rahatlıkla geçebilirler (108,109).

Eritrositlerin görevleri dokularda oluşan CO₂'yi akciğerlere taşımak ve akciğerlerden O₂'yi dokulara taşımaktır. Ayrıca kanın alkalik reaksiyonun değişmezliğini sağlamaktır. Bu görevlerini bünyelerinde bulunan tampon bileşikler, hemoglobin ve fosfatlar yardımıyla gerçekleştirirler. Eritrositler yüzeylelerinde bulunan antijenlerle kan gruplarının belirlenmesini de sağlarlar (110).

Eritrositler çekirdeksiz ve yuvarlak görünümündedirler ortalarından bastırılmış yapılar vardır. Bu bikonkav yapıları ve esnek zarlarının yardımıyla gaz taşınmasına çok elverişlidirler (111). Eritrositler daha çok kırmızı kemik iliğinde yapılırlar. Ancak fetal hayatta ilk olarak karaciğerde, dalakta ve diğer lenfoit organlarda kan yapımı başlar; doğum yaklaştıkça bu görevi kırmızı kemik iliği alır. Tüm kan hücrelerinin asıl kökeni retiküler bağ dokudaki başkalaşıma uğramamış ilkel retikulum hücreleridir. Memeli eritrositlerin ömrü 100-135 gündür (112).

Dolaşımdaki eritrosit sayısı dalgalanma göstermez. Ancak kanama, anemi ya da dokulara giden oksijen azaldığında eritropoietik faktör çok miktarda kana salınarak karaciğerde eritropoietin yapılmasını sağlar ve eritrosit oluşumunu hızlandırır (111).

Ömürleri dolan eritrositler dalak ve karaciğerde yıkıma uğrarlar. İnsanlarda ortalama eritrosit sayısı bir milimetreküp kanda 4-6 milyondur. Sıçanlarda ise ortalama 5,5-10 milyondur (112).

2.4.1.Eritrosit metabolizması

Eritrositler yapıları, metabolizmaları ve fonksiyonları yönünden diğer vücut hücrelerinden farklı özelliktedirler. Olgun eritrositlerde diğer hücrelerdekinin aksine nükleus, mitokondri ve ribozom gibi organellere sahip değildirler (113,114). Dolayısıyla eritrositlerde Glikoliz (Embden-Meyerhof glikolizi) ATP üretimi için tek yoldur. Embden-Meyerhof glikolize giren her mol glikoz için 2 mol ATP, 2 mol indirgenmiş nikotinamid adenin dinukleotid (NADH) üretilir ve glikoz pirüvata kadar okside edilir. Pirüvat NADH tarafından laktata indirgenebilir. Embden-Meyerhof glikolizinin son ürünleri olan pirüvat ve laktat vücudun diğer kısımlarına

metabolizmaları için giderler (115,116). ATP katyon pompalarının çalışmasını sağlar. Na^+ K^+ - ATPaz sayesinde eritrosit içi Na^+ ve su dengesi sağlanır, eritrositlerin bikonkav disk şekli korunur. Ca^{++} -ATPaz eritrosit içi Ca^{++} - konsantrasyonunun ayarlanmasını, NADPH ise methemoglobinin tekrar hemoglobine indirgenmesini sağlar (116,117).

ATP, membranın iki yanında K^+ ve Na^+ geçişini düzenliyerek eritrositin biçimini korumada rol oynar. ATP azalınca eritrosit içine Na^+ ve suyun girmesiyle hücre küresel biçim alır. Eritrosit membranın özelliği esnek oluşu ve deforme olabilmesidir. Bu durum ATP ile kontrol edilir. ATP azalırsa esneklik kaybolur. Hücre zarı yırtılır hale gelir (114).

Eritrositte Emden-Meyerhof yolunun bir yan yolu olan Rapaport-Luebering siklusu ile 2,3 difosfogliserat (2,3 DPG) sentezlenir. Eritrositte 2,3 DPG miktarını belirleyen üç enzim glikolitik yolda rol alır; 2,3 DPG fosfataz, DPG mutaz ve fosfogliserat kinaz, 2,3 DPG eritrositteki hemoglobine bağlanarak (iki β zinciri arasına girerek) hemoglobinin oksijene ilgisini azaltır, dokuya oksijen salınımını artırır (115,116,118).

2,3-DPG, oksijenin hemoglobin tarafından taşınmasında ve dokulara salıverilmesinde düzenleyici bir role sahiptir (114,119,120). Her ne kadar hemoglobinin oksijen afinitesi üzerine birçok organik ve inorganik fosfatların etkisi varsada insan eritrositlerinde sadece 2,3-DPG ve ATP miktarı hemoglobinin oksijen afinitesini etkileyebilecek seviyededir (114,119,121). 2,3-DPG miktarı ise ATP'ninkinden çok daha fazladır. Eritrositlerde Hb molekülü sayısı kadar 2,3-DPG molekülü bulunmaktadır (122,123). 2,3-DPG, oksijeni bırakmış hemoglobine bağlanarak bunun oksijene olan afinitesini azaltır. Oksijen yetersizliğinin olduğu durumlarda daha fazla 2,3-DPG sentezlenerek hemoglobine bağlanır. Böylece daha fazla miktarda oksijen serbest bırakılarak dokulara girmesi sağlanır(110,111,114,124).

Emden-Meyerhof yolunun ilk safhalarında pentoz fosfat yolu (heksos monofosfat şantı) adı verilen bir ikinci metabolik ara yol daha vardır. Aerobik olan ve glikolizin %10 kadarını sağlayan bu yolda eritrosit içinde nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın indirgenmiş şekli (NADPH) oluşur. NADPH okside glutatyonun (GSSH) yeniden glutatyona (GSH) dönüştürülmesinde katalizör rolü oynar. GSH ise eritrositte biriken H_2O_2 'in indirgenmesinde hayati bir rol oynar (110,125).

Oksidasyon mekanizmaları sonucu H_2O_2 , hidroksil radikali, süperoksit anyonu, hipoklorit iyonu gibi toksik oksijen metabolitleri açığa çıkar. Süperoksit anyonu methemoglobin oluşumuna ve hemolize sebep olur. Eritrositte bulunan süperoksit dismutaz enzimi, süperoksidi H_2O_2 ve moleküler oksijene çevirir, Glutasyon peroksidaz enzimi ise H_2O_2 'i H_2O 'ya parçalar.

Glutasyonun eritrositteki konsantrasyonu NADPH miktarına bağlıdır. NADPH oluşumunu pentoz fosfat yolunda (HMP şantı) glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimi katalize eder. Bu enzim eksikliğinde NADPH oluşamaz ve eritrosit içi glutasyon miktarı azalır, eritrositte hemoliz meydana gelir. Eritrositte yüksek H_2O_2 düzeyinde katalaz, düşük H_2O_2 düzeyinde glutasyon yolu ile detoksifikasyon sağlanır (126,127).

Eritrositlerin normal glikolitik süreçlerini sürdürmeleri, mekanik özelliklerin korunması için gereklidir. Bu süreç, bir taraftan hücrenin normal su ve iyon kapsamını korumaya yönelik kation pompaları (sodyum-potasyum ATPaz, kalsiyum ATPaz) için gerekli ATP havuzunu sağlarken, diğer taraftan oksidan hasara karşı koyan önemli mekanizmalarla ilgili ko-faktörleri üretir (128,129).

2.4.2. Eritrosit Membranının Yapısal ve Fizyolojik Özellikleri

Eritrosit membranı yaklaşık 8 nm kalınlığında olup, %50 protein, %40 lipid, %10 karbonhidrattan oluşmuştur. Eritrosit membranı lipidlerinin %60'ı fosfolipidlerden, %25'i kolesterolden, %15'i glikolipidlerden oluşur. Eritrosit membranı fosfolipidlerinin çoğunu fosfotidil kolin, fosfotidil serin, fosfotidil etanolamin ve sfingomyelin oluşturur. Lipid yapı belli bir amaç için sabitleşmediyse membranda rahatça hareket edebilir ve bu durum membrandaki iç ve dış lipid tabaka arasında asimetrik bir dağılıma sebep olur, Membran lipidlerinden fosfogliserit, fosfotidil kolin ve sfingomyelin dış tarafta; fosfotidil etanolamin, fosfotidil inositol ve fosfotidil serin iç tarafta bulunmaya meyillidir (130). Fosfolipidler taşıdıkları elektrik yüklerine göre; 1. nötral fosfolipidler: fosfotidil kolin ve sfingomyelin, 2. negatif yük taşıyanlar: fosfotidil etanolamin, fosfotidil serin ve fosfotidil inositol diye iki gruba ayrılır. Fosfolipidin yapısında bulunan yağ asitleri genellikle çift karbonludur ve zar akışkanlığına etki eden en önemli faktör yağ asitlerinin uzunluğu ve doymamışlık derecesidir (131). Kolesterol membranın iç ve dış tarafında eşit olarak dağılır ve bu dağılım membran rijiditesinin sağlanmasında rol oynar (115).

Plazma lipidleri ile eritrosit membran lipid komponenti arasında bir denge vardır. Eritrosit kolesterolü plazmadaki non-esterifiye kolesterolle denge halindedir ve plazma kolesterolünün artması eritrosit membran kolesterolünü artırır, akantositler oluşur (115,132). Olgun eritrositlerde yağ asidinin de novo sentezi olmadığı için eritrositler pasif değişim ve aktif içe alım yolları ile fosfolipidlerini yeniden düzenlerler (133).

Eritrosit membran proteinleri periferik ve integral diye iki gruba ayrılır; 1. periferik proteinler: a ve p spektrin, ankyrin (band 2.1), aktin, protein 4.1, protein 4.2, protein 4.9, band 6 (gliseraldehit 3 fosfodehidrogenaz), adducin ve band 7 (tropomyozin), 2. integral proteinler: protein 3 (band 3), glikoforinler (A, B, C ve D). Glikoforinlerin şekerden zengin başlan kan grubu antijenlerini (ABO) meydana getirir (110,117). Eritrosit membranı iç yüzünde bulunan spektrin eritrosit şekil değiştirme yeteneğinden sorumlu olup, diğer membran proteinleri aktin, 4.1 ve 4.2 proteinlerle beraber membranın elastikiyetini sağlar (120).

Eritrosit membranındaki protein enzim sistemleri membrandan Na^+ - K^+ hareketinin kontrolünde, Ca^{++} ve Mg^{++} transportunda etkili olur. Na^+ - K^+ - ATPaz, Mg^{++} ATPaz ve Ca^{++} - ATPaz enzimlerinin fonksiyonu ATP'ye bağımlı olup, ATP azlığında eritrosit membranından Na^+ , K^+ ve Ca^{++} transportu bozulur, hücre içinde Na^+ ve su artar, eritrosit küre şeklini alır, sitosolik Ca^{++} artışı eritrosit membranında sertleşmeye sebep olur. Eritrosit içi Na^+ , K^+ dengesini sağlayan ve bir integral protein olan Na^+ - K^+ - ATPaz enzimi iki yanlı biyolojik bir iyon pompası olarak çalışır. Bir mol ATP hidrolizi ile 3 Na^+ iyonu hücre dışına, 2 K^+ iyonu hücre içine taşınır (115).

İnsan eritrosit membranındaki yüksek afinite- düşük kapasiteli bağlanma ve düşük afinite-yüksek kapasiteli bağlanma bölgelerine insülin bağlanmaktadır (134). Çeşitli dokularda insülinin biyolojik etkilerinin, spesifik-yüksek afiniteli reseptörlerle hormon etkileşimi aracılığı ile olduğu ve de birçok dokuda insülinle Na^+ - K^+ pompasının stimüle olduğu ifade edilmektedir (135,136).

Eritrosit membran karbonhidratları gliko- protein ve glikolipid şeklinde bulunur. Glikolipidler ABO ve Lewis kan gruplarının, glikoproteinler ise M ve N kan gruplarının antijenik özelliklerini verir. Eritrosit yüzeyine yerleşmiş bir glikoprotein olan asetilkolin esteraz aktivitesinin azalması hemolize sebep olur (115).

Vücutta, serbest radikal üretimi ile serbest oksijen radikallerindeki artışı baskılayan antioksidan savunma sistemi arasında bir denge mevcuttur. Oksidatif hasar, bu dengenin bozulduğu durumda ortaya çıkar. Artan oksidatif stres sonucu görülen olaylardan biri de lipid peroksidasyonunun artmasıdır (137).

2.4.3. Membran Lipit Peroksidasyonu

Hücre membranı serbest radikaller için kritik bir bariyerdir, çünkü serbest radikaller hücre komponentleri ile etkileşim için bu bariyeri geçmek zorundadırlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin en önemli etkilerindedir. Lipid peroksidasyonu kuvvetli yükseltgeyici bir radikalın etkisiyle başlayan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin yıkımıyla sonuçlanan kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu lipid hidroksiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle son bulur. Bu ürünlerden başlıcaları olan malonildialdehit ve hidroksinonenal, proteinlere ve DNA'ya bağlanarak kalıcı değişiklikler oluştururlar (129,141).

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, eritrositlerin fonksiyonlarına ait çeşitli parametreler ve membran bütünlüğünün, lipid peroksidasyonundaki artıştan olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir (138). Oksidatif stresteki artış nedeniyle meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkileyerek eritrositlerin deformabilite yeteneğinde ve yaşam sürelerinde azalmaya yol açabilmektedir (139). *In vitro* koşullarda, eritrositlerin MDA ile muamele edilmesinin, deformabilite yeteneğinde ve yaşam süresinde azalmaya yol açtığı gözlemlenmiş ve oksidatif stres sonucu, membranda lipid peroksidasyonu oluşumunun ve MDA birikiminin, eritrosit yaşlanmasında rolü olabileceği bildirilmiştir (140).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemler olarak bilinirler. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma albumin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit

dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), katalaz ve sitokrom oksidazdır (142,143).

2.5. KAN VİSKOZİTESİ

Viskozite, bir sıvının molekülleri arasındaki iç sürtünme nedeniyle akıma karşı gösterdiği dirençtir. Kanın akıma karşı gösterdiği dirence ise kan viskozitesi adı verilmektedir. Viskozite akışkanlığın tersidir. Isı artışı, tüm sıvıların viskozitesini azaltan bir etkidir. Karmaşık yapıda bir vücut sıvısı olan kanın viskozitesini ise, ısının yanı sıra bu sıvıyı oluşturan elemanların bileşimi (Hct, plazmanın içeriği) ve reolojik özellikleri de etkilemektedir. Ayrıca kanın iç yapısı (kanı oluşturan elemanların kan içindeki düzeni) akım hızına göre değişmekte ve bu durum da viskoziteyi etkilemektedir (144).

Viskozitenin değişik birimleri bulunmaktadır. Bunlar içinde en sık kullanılan milipaskal.saniye (mPa.sn) olarak bilinmektedir (145). Tam kan viskozitesi (TKV) kayma hızına bağlıdır. Düşük kayma hızlarında (0.1/sn) suyun viskozitesinden 50-200 kat büyük olabilir iken, büyük damarlarda yüksek kayma hızlarında (>100/sn) bu fark 3-5 kata kadar inmektedir (144,146). Sıvıların viskozitesi kapiller veya rotasyonel viskometreler aracılığıyla ölçülebilmektedir (147). Kapiller viskometreler Newtonian sıvılar için, rotasyonel viskometreler ise Non-Newtonian sıvılar için uygundur (148).

TKV'nin Hct, plazma viskozitesi, kayma gerilimi ve kayma hızı, eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, fibrinojen konsantrasyonu ve ısı gibi fizyolojik belirteçlere bağlı olduğu ortaya konmuştur (149). Kanın damar içindeki davranışı incelendiğinde, kanın in vivo viskozitesi, viskometrede ölçülenden daha düşük bulunmaktadır. Bunun sebebi, akım sırasında eritrositlere etki eden kayma kuvvetlerinin eritrositlerin şekil değiştirmelerine sebep olarak kanın viskozitesini düşürmesidir. Bu durum Poiseuille yasasına göre, akıma karşı olan direncin azalmasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak, damar geometrisi kadar kanın reolojik davranışı da hemodinamik direncin belirleyicisi olmaktadır (144).

2.5.1. Plazma Viskozitesi

Kan plazması; kanın şekilli elemanlarından arındırılarak elde edilen, %90 oranında su içeriği olan, %8 oranında da ağırlıklı olarak dört temel proteini içeren (fibrinojen, globülin, albümin, lipoprotein) seyreltik bir elektrolit solüsyonudur (150,151). Kendi içinde α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ globülin'e ayrılan globülin, lipidler ve diğer suda çözülmüş olan maddeleri taşımaktadır. Aynı zamanda globülin, bakteri ve virüslerle mücadele eden antikorları içermektedir (152). Albümin, plazma proteinlerinin toplam kolloid osmotik basıncına katkıda bulunmaktadır ve su metabolizmasının dengesinde önemli rol oynamaktadır (150). Lipoproteinler ise lipidlerin hücreye taşınmasında rol almaktadır. Plazmada kandaki hücresel elemanlar bulunmaz. Bu nedenle hemoglobin, hematokrit gibi kan elemanlarının yüksekliği plazma viskozitesinde herhangi bir değişikliğe yol açmaz (153). Plazma viskozitesini başlıca fibrinojen ve gamma-globulinlerin konsantrasyonu etkilemektedir, aynı zamanda plazma lipidlerinden de etkilenmektedir (154). Plazma viskozitesi arttığında şiddetli bir hiperviskozite sendromu görülebilir (155). Akut faz reaksiyonlarının artışı ile ilgili patofizyolojik durumlarda plazma viskozitesi artar. Bu artış plazma proteinlerinin artışına bağlıdır. Başta fibrinojen ve immünoglobülinler viskozitenin spesifik olarak artışına sebep olurlar (153).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen ağırlıkları ortalama 225 ± 17 gr olan 4-5 aylık dişi Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Her bir grupta 10 sıçan olmak üzere 6 deney grubu oluşturulmuştur. Çalışma boyunca sıçanlara uygulanan enjeksiyonlar intraperitoneal (ip) ve gavaj yoluyla verilmiştir. Sıçanların uygulama öncesi ve sonrası ağırlıkları tartılarak kontrol edilmiştir.

Hematolojik parametreler, Erciyes üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında ölçülmüştür. 2,3 DPG, TAS ve TOS düzeyleri, kan viskozite ölçümleri ve ATP düzeyi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Ölçümler için başlıca spektrofotometre (Helios beta) , soğutmalı santrifüj (Sigma 3K30), Luminometre (Biotek, Synergy HT), Viskozimetre (Brookfield RVDV-II+P) diğer laboratuvar malzemeleri ve standart çözeltiler kullanılmıştır.

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 13.02.2013 tarih ve 13/20 No'lu kararı ile etik açıdan uygun bulunarak onaylanmıştır.

3.1.DENEY GRUPLARI VE PROTOKOL

Çalışmada kullanılan denekler ile random yöntemiyle altı (n=10) grup oluşturuldu.

1-Kontrol grubu (KONT): 14 gün boyunca 1 ml/kg Serum Fizyolojik gavaj yolu ile uygulanmış olan grup,

2-MSG 4 grubu (MSG4): 14 gün boyunca 4 mg/kg MSG gavaj yolu uygulanmış olan grup,

3-MSG 8 grubu (MSG8): 14 gün boyunca 4 mg/kg MSG gavaj yolu uygulanmış olan grup,

4-Melatonin grubu (MEL): 14 gün boyunca 10 mg/kg melatonin intraperitoneal uygulanmış olan grup,

5-MSG 4 + Melatonin grubu (MSG4+MEL):10 mg/kg melatonin intraperitoneal uygulanmaya başlandıktan bir gün sonra 14 gün boyunca 4 mg/kg gavaj yoluyla MSG uygulanmış olan grup,

6-MSG 8 + Melatonin grubu (MSG8+MEL):10 mg/kg melatonin intraperitoneal uygulanmaya başlandıktan bir gün sonra 14 gün boyunca 8 mg/kg gavaj yoluyla MSG uygulanmış olan gruptur.

Uygulamalar her gün sabah 9:00-10:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir.

3.2. KAN VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Sıçanlar, 14 günlük enjeksiyon ve gavaj uygulamasının bitiminden 1 gün sonra anestezisi altında uyutularak her bir sıçanın kalbinden 8-9 cc kan heparinize enjektörlere alınmıştır. Enjektöre alınan kan, hematolojik parametreler, tam kan viskozitesi için tam kan olarak ayrılmıştır. 2,3-Difosfogliserat (2,3-DPG), Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Kapasite (TAS) için ayrılan kan 3000 devirde 5 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrılmış kalan kısım ise ATP düzeylerinin ölçümlerinde kullanılmak için eritrosit paketi haline getirilmiştir.

Kan alma işlemlerinden sonra anestezisi altındaki hayvanlar kalplerine potasyum klorür (KCl) enjekte edilerek ex edilmişlerdir.

Karaciğer doku örnekleri alınarak % 0,9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Doku örnekleri TAS, TOS ve ATP düzeyleri çalışılmak üzere analiz gününe kadar -20°C'de saklandı.

3.3. ERİTROSİT PAKETLERİNİN HAZIRLANMASI

Heparinli enjektöre alınan kan, 3000g'de 5 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrılmış; geriye kalan eritrosit süspansiyonu fosfat tamponuyla 3 kez yıkanarak eritrosit paketi

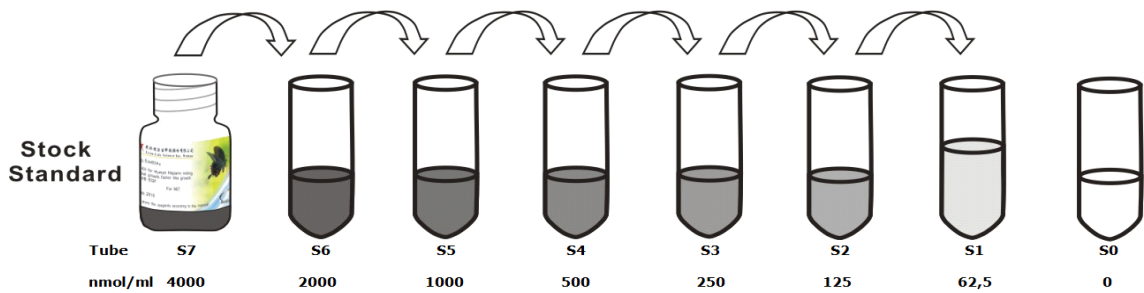
hazırlanmıştır. (Fosfat tamponu (100 ml için) : 0,7 g NaCl, 0,9 g NaH₂PO₄, 0,064 g KH₂PO₄, 0,1 g Glukoz) (143). Elde edilen plazma örneği ve eritrosit paketleri 2,3-DPG, ATP düzeyi, TAS ve TOS seviyelerinin ölçümü için -20°C'de saklanmıştır.

3.4. HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜLMESİ

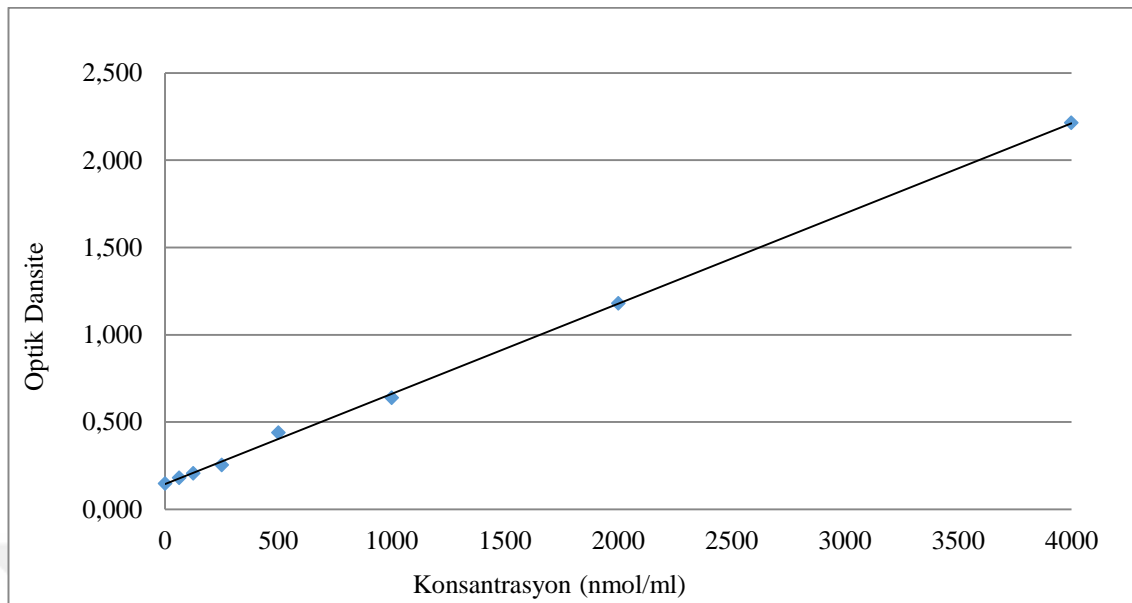
Hematolojik parametreler olarak eritrosit sayıları, hemotokrit, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV değerleri elektronik hematoloji analizöründe (Seimens Advia 2120İ) kan örneklerinin alındığı aynı gün ölçülmüştür.

3.5. ERİTROSİT 2,3 DİFOSFOGLİSERAT (2,3-DPG) MİKTARININ ÖLÇÜMÜ

Eritrosit içerisinde değişen 2,3 DPG düzeyleri Elisa kiti (Eastpiopharm), kullanılarak yapıldı. -20 °C'de saklanmış olan eritrosit paketi örnekleri oda sıcaklığına getirilmiş. Bir kuyucuğa 100µl örnek ve 7 kuyucuğa 100µl standartlar koyulup üzeri kapatılmıştır. 37 °C de 2 saat inkübe edilmiştir. Herbir kuyucuğa Biotin-antibody solüsyonundan 100µl eklenmiş ve 1 saat 37 °C de bekletilmiştir. Bu kuyucuklardan solüsyonlar uzaklaştırılacak şekilde boşaltma işlemi uygulanmış ve üç defa yıkanmıştır. Horseradish Peroxidase (HRP) –avidin solüsyonundan 100µl eklenmiştir. 1 saat 37 °C de bekletilmiştir. Daha sonra solüsyonları uzaklaştırılacak şekilde yıkama işlemi uygulanmıştır. Substrat olarak 90µl TMB (3,3', 5,5' tetramethylbenzidine) katılmış ve ışıktan korunmuştur. 15-30 dakika 37 °C de inkübe edilmiştir. Sonrasında reaksiyon durdurma amaçlı kullanılan stop solüsyon (sülfürik asit) 50µl ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Herbir örneğin optik dansitesi 5 dakika içerisinde bilgisayar programlı Elisa cihazında (Perkin Elmer) 450 nm'de okunmuştur.



Şekil 3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması



Şekil 3.2. Eritrosit 2,3 DPG Standart Eğrisi

Standart 2,3 DPG çözeltisinden uygun seyreltmeler 0-4000 nmol/ml arasında 7 farklı seyreltme ile standart çözeltiler hazırlanmış (Şekil 3.1), herbirinin optik dansitesi 450 nm’de okunarak Şekil 3.2 de görülen standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin 2,3 DPG miktarları bu standart eğri kullanılarak mmol/ml olarak ifade edilmiştir.

3.6.ATP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ

ATP ölçümünde kullanılan kit (Molecular Probes, İnvitrogen) metabolik olarak aktif hücrelerin tamamında mevcut bulunan ATP’nin bioluminesans esasına dayanmaktadır. Bioluminesans yönteminde ATP’den ışık oluşumunu katalizleyen bir enzim olan, “lusiiferaz” kullanılmaktadır.

-20°C’de saklanmış olan eritrosit paketleri ve karaciğer doku homojenatı oda sıcaklığına getirildi. Ölçümlerde kullanılmak üzere standart reaksiyon çözeltisi hazırlandı.

Standart reaksiyon çözeltisinin hazırlanması;

a-50µL reaksiyon tamponu 950 µL distile su ile 1 mL’ye tamamlandı. Buna 1 mL D-Luciferin stok solüsyonu eklenerek 10 mM D-luciferin hazırlandı. Hazırlanan D-Luciferinin kullanılana kadar ışıktan zarar görmesini önlemek için aliminyum folyoyla kaplandı.

b-25 mg Dithiothreitol (DTT) 1,62 mL distile suda çözünerek 0.1M'lık DTT hazırlandı.

Daha sonra; 8.9 mL dH₂O, 0.5 mL 20X Reaction Buffer, 0.1 mL 0.1 M DTT (b'de hazırlanan), 0.5 mL of 10 mM D-luciferin (a'da hazırlanan), 2.5 µL'lik firefly luciferase'dan 5 mg/mL kullanılarak, 10 mL standart reaksiyon çözeltisi hazırlandı.

Kuyucuklara hazırlanan standart reaksiyon çözeltisi ve numunelerinden (eritrosit veya karaciğer doku örnekleri) 10 ar µL konarak luminometre de (Biotek, Synergy HT) analiz edildi. Analizler sonrası. ATP konsantrasyonu bilinen standart örneklerin değerleri kullanılarak standart eğri elde edildi. Bu eğri her bir örneğin ATP konsantrasyonunun hesaplanmasında kullanıldı. Hesaplanan değerler % değişim olarak değerlendirildi.

3.7.TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİNİ

Deney ve kontrol gruplarına ait plazma ve karaciğer doku örneklerinde total antioksidan kapasite tayinleri Erel tarafından geliştirilen yöntemle hazır ticari kit (Total Antioxidant Status (TAS), Rel Assay Diagnostic) kullanılarak yapıldı (85).

-20 °C'de saklanmış olan plazma oda sıcaklığına getirilmiştir. Deneyler için kullanılan elisa plate kuyucuklarına 5'er µL standart (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 µmol Eq. /L), kontrol ve deney grubu örnekleri pipetlendi. Her bir örnek için çift kuyucuk kullanıldı. Her bir kuyucuğa 200 µL Reaktif 1 (0.4 mol/L asetat tamponu pH: 5.8) pipetlendi. Elisa cihazında 620 nm dalga boyunda bütün örneklerin kör absorbans okuması yapıldı. Her bir kuyucuğa 20 µL Reaktif 2 (pH: 3.60, 30 mmol/L asetat tamponu içerisinde ABTS.+) pipetlendi. 4 dakikalık inkübasyon sonrasında 620 nm dalga boyunda absorbanslar yeniden okundu. Okunan absorbans değerlerinden okunan kör değerleri çıkarıldı.Elde edilen absorbanslar kullanılarak standart grafiği hazırlandı ve bu grafikten yararlanılarak bütün örneklerdeki total antioksidan kapasite miktarı mmol Trolox Eq /L cinsinden belirlendi

3.8.TOTAL OKSİDAN DURUM TAYİNİ

Deney ve kontrol gruplarına ait plazma ve karaciğer doku örneklerinde total oksidan durum tayini Erel tarafından geliştirilen yöntemle göre Elisa kiti (Total Oxidant Status (TOS), Rel Assay Diagnostics) kullanılarak yapıldı (84).

-20 °C’de saklanmış olan plazma örnekleri oda sıcaklığına getirilmiştir. Deneyle için kullanılan elisa plate kuyucuklarına sırasıyla 35’ er µL standartlar sırasıyla (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µmol H_2O_2 Eq / L), kontrol ve deney grubu örnekleri pipetlendi. Her bir örnek için çift kuyucuk kullanıldı. Her bir kuyucuğa 225 µL Reaktif 1 (pH:1.75, 25 mM H_2SO_4 çözeltisi içerisinde 150 µM ksilenol turuncusu, 140 mM NaCl ve 1.35 M gliserol) pipetlendi. Elisa cihazında 590 nm dalga boyunda bütün örneklerin kör absorbans okuması yapıldı. Her bir kuyucuğa 11 µL Reaktif 2 (25 mM H_2SO_4 çözeltisi içerisinde 5 mM Fe+2 iyonu ve 10 mM o-dianisidin) pipetlendi. 4 dakikalık bir inkübasyon sonrasında her örnek absorbansı 590 nm dalga boyunda okundu. Okunan absorbans değerlerinden okunan kör değerleri çıkarıldı. Absorbans değerleri kullanılarak standart grafik hazırlandı ve bu grafik yardımıyla her örnekteki total oksidan miktarı µmol H_2O_2 Eq /L olarak hesaplandı.

3.9.OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) HESAPLANMASI

OSİ hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$OSİ=[(TOS, \mu\text{mol } H_2O_2\text{equivalent/L}) / (TAS, \text{mmol Troloxequivalent/L}) \times 100]$$

3.10.TAM KAN VE PLAZMA VİSKOZİTE ÖLÇÜMÜ

Tam kan ve plazma viskozitesi ölçümü Cone-plate tipi viskozimetre ile gerçekleştirildi. Tam kan ve plazma viskozitesi ölçümü için, 500 µL kan ve plazma örnekleri bekletilmeden kullanıldı. Viskozite ölçümleri 36.5°C’de, 45 s⁻¹,75 s⁻¹,225 s⁻¹ olmak üzere üç farklı “shear rate”de ölçüldü. Sonuçlar sentipause (centipousse; cP) olarak ifade edildi.



Şekil 3.3. Tam kan ve Plazma Vizkosite Ölçümü İçin Kullanılan Viskozimetre

3.11. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bulguların değerlendirilmesinde, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 17.0 programı kullanılmıştır. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi testi ile Student-Newman Keuls testi kullanılmıştır. Anlamlılık $p < 0.05$ olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Sıçanların uygulamalar öncesi vücut ağırlıkları ortalama $222,78 \pm 6,97$ iken 14 günlük uygulama sonrasında ise $225,32 \pm 6,18$ olarak tespit edilmiştir. MSG uygulamasının vücut ağırlıklarında hafif bir artışa sebep olduğu saptanmışsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tüm grup hayvanlardan alınan kan örneklerindeki hematolojik parametreler; Eritrosit sayıları(RBC),Hematokrit değeri (HCT), %Hemoglobin miktarı(HGB) ile Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ve Ortalama eritrosit volümü(MCV) değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

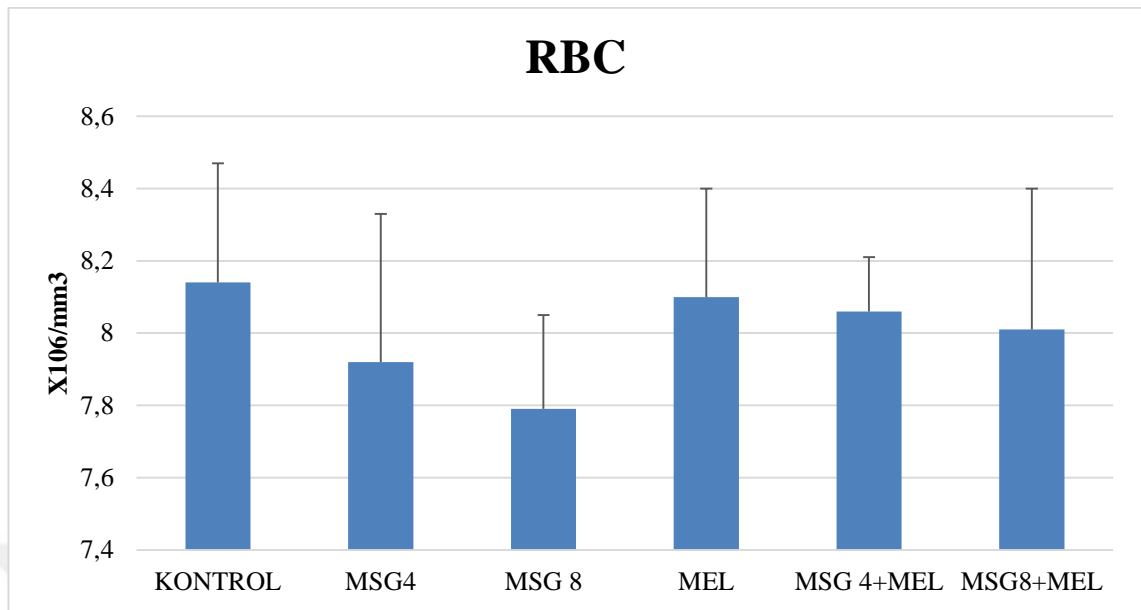
Tablo 4.1. Hematolojik parametre değerleri

	KONTROL (n=10)	MSG4 (n=10)	MSG 8 (n=10)	MEL (n=10)	MSG 4+MEL (n=10)	MSG8+MEL (n=10)
RBC($\times 10^6/\text{mm}^3$)	8,14 \pm 0,33	7,92 \pm 0,41	7,79 \pm 0,26	8,10 \pm 0,30	8,06 \pm 0,15	8,01 \pm 0,39
HCT (%)	44,94 \pm 1,49	45,68 \pm 1,82	45,73 \pm 0,73	43,05 \pm 1,23*	44,33 \pm 0,70*#	44,98 \pm 1,71* [‡]
HGB (%/gr)	14,84 \pm 0,28	14,43 \pm ,71*	14,06 \pm 0,34*	14,63 \pm 0,31	14,72 \pm 0,14	14,75 \pm 0,40 [‡]
MCV (fl)	55,23 \pm 0,96	57,72 \pm 1,25*	57,47 \pm 1,88*	56,60 \pm 2,28	56,48 \pm 0,57 [#]	55,22 \pm 0,80 [‡]
MCH(pg)	18,37 \pm 0,47	18,26 \pm 0,32	18,01 \pm 0,34	18,16 \pm 0,42	18,28 \pm 0,45	18,17 \pm 0,63
MCHC(g/dl)	33,17 \pm 0,69	31,62 \pm 0,42*	31,60 \pm 0,64*	32,16 \pm 0,94*	32,18 \pm 0,37* [#]	32,14 \pm 0,25* [‡]

MSG; Monosodyum Glutamat, MEL; Melatonin

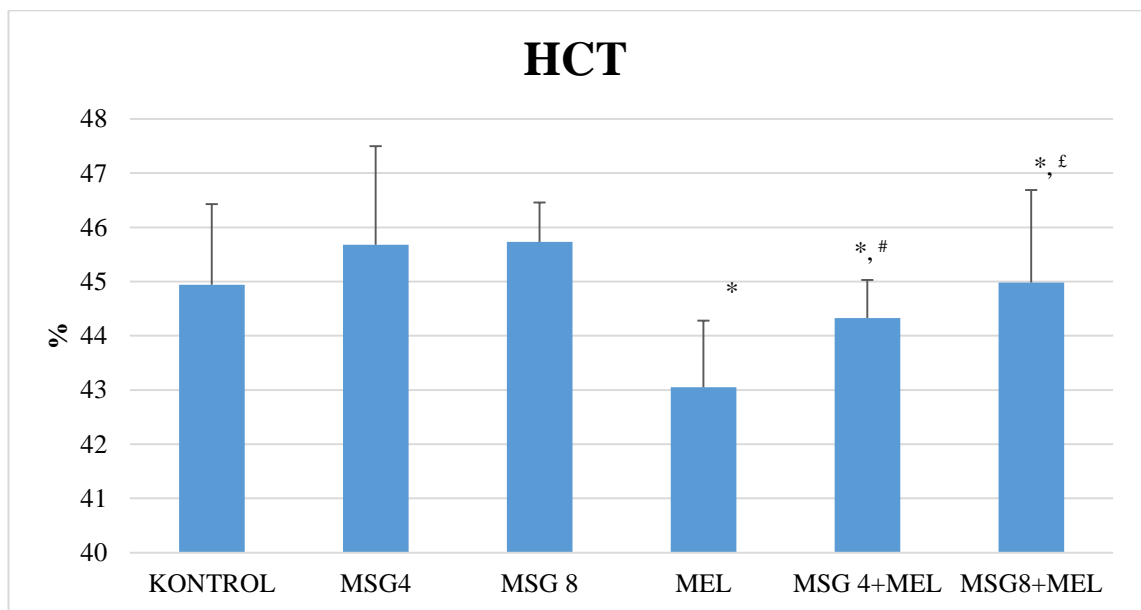
Değerler ort \pm standart sapma olarak verilmiştir.

* Kontrol grubuna göre ($p < 0,05$), # 4 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$), [‡] 8 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$)



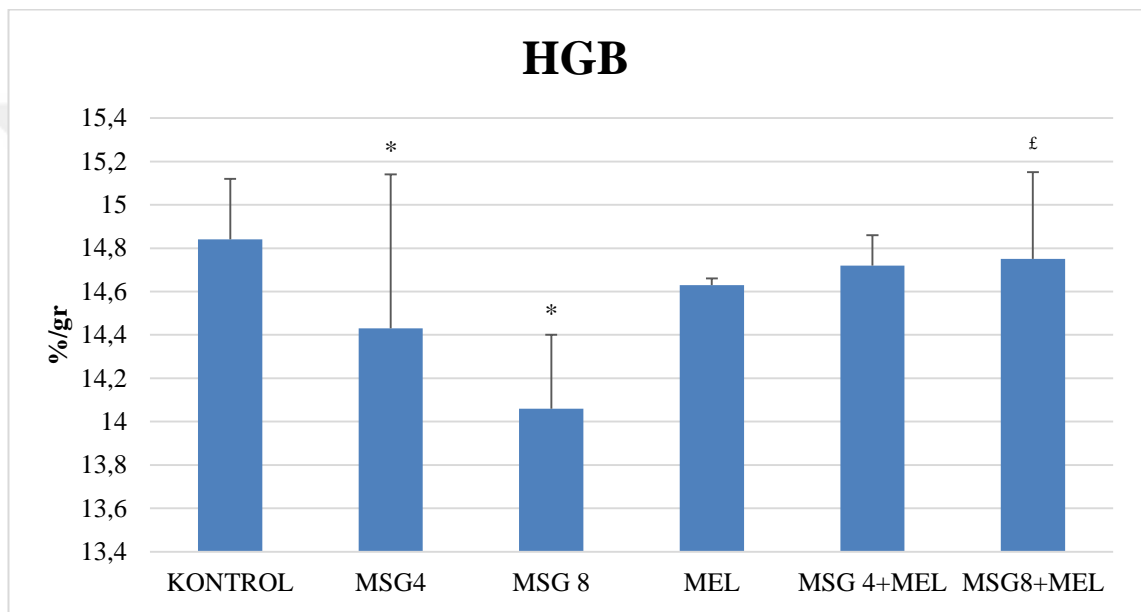
Şekil 4.1. Eritrosit(RBC) sayıları

MSG toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubu hayvanlara göre ortalama eritrosit sayısı azalmış, Melatonin uygulaması tüm parametrelerdeki değişiklikleri baskılamış ve kontrol grubu düzeylerine getirdiği gözlenmişse de, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). (Şekil 4.1)



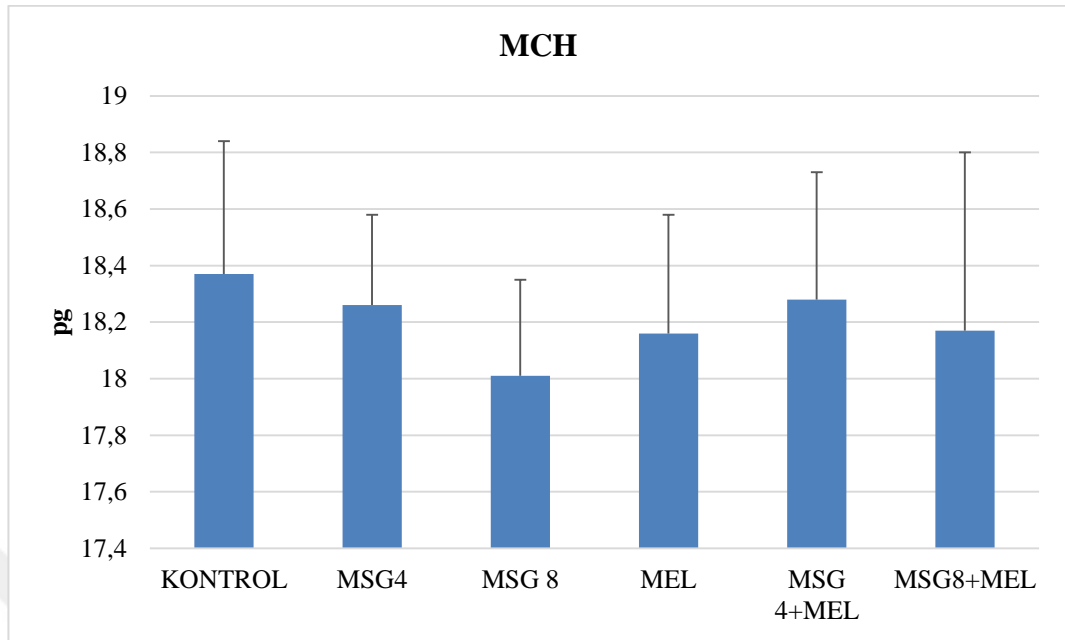
Şekil 4.2. Hematokrit(HCT) değerleri

MSG uygulanan her iki grupta hematokrit değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ancak bu artış istatikselsel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). MEL ve MSG4+MEL gruplarının ortalama hematokrit değerleri, kontrol grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.05$). MSG uygulaması ile artan hematokrit değerleri MEL uygulaması ile azalmıştır. MSG4+MEL grubunun hematokrit ortalaması, MSG4 grubundan; MSG8+MEL grubunun hematokrit ortalaması, MSG8 grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.05$) (Şekil 4.2).



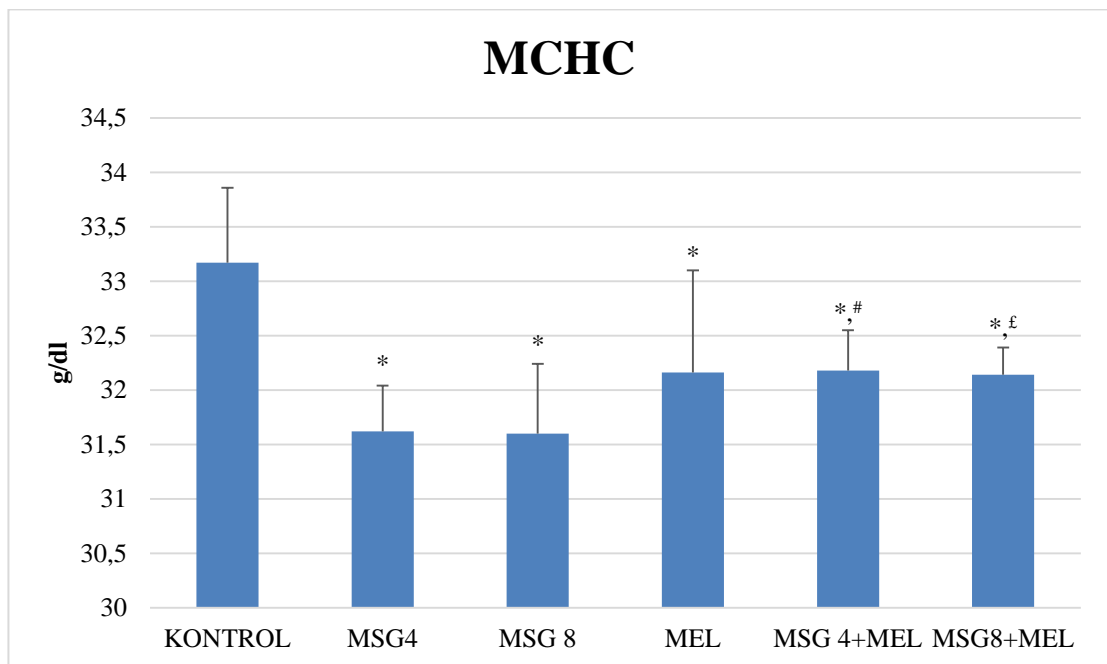
Şekil 4.3. % Hemoglobin(HGB) miktarları

Her iki doz MSG uygulaması % Hemoglobin miktarlarını Kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaltmıştır ($p<0.05$). Her ne kadar bu azalış MEL uygulaması ile baskılanmış olsa da istatikselsel olarak anlamlılık sadece, MSG8 grubu ile MSG8+MEL grupları arasında tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diğer grupların % hemoglobin miktarları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Şekil 4.3).



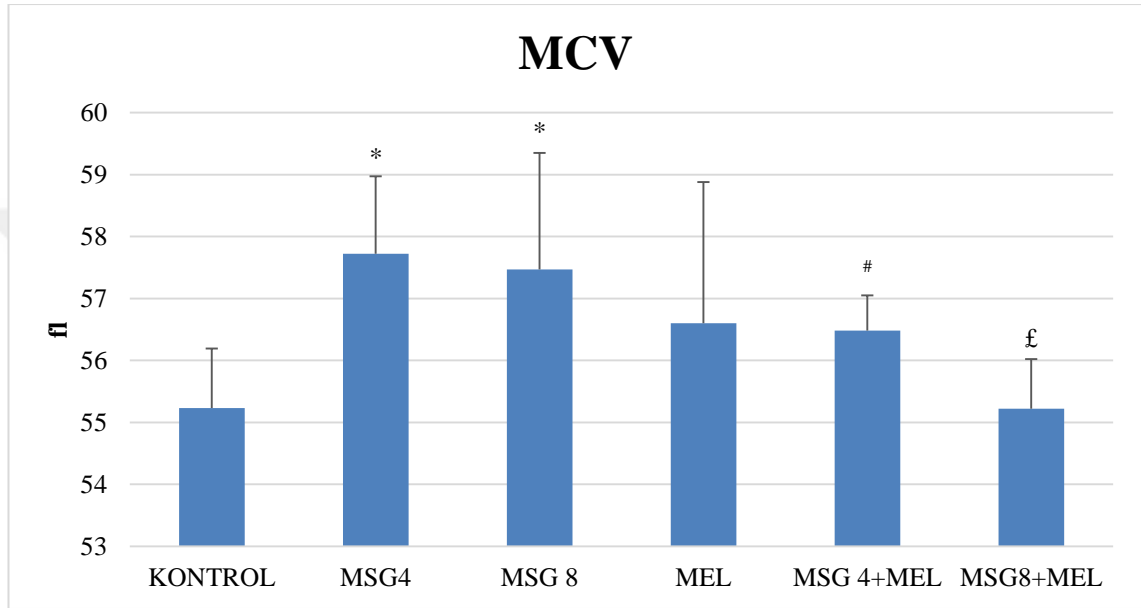
Şekil 4.4. Ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) değerleri

MSG toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubu hayvanlara göre ortalama MCH değerleri azalmış, Melatonin uygulaması tüm gruplardaki bu azalışı kısmen baskılayarak ve kontrol grubu düzeylerine getirdiği gözlenmiştir. Ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). (Şekil 4.4)



Şekil 4.5. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri

MCHC ortalama değerleri, tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı Şekilde dŖktr ($p<0.05$). Bu azalış her ne kadar bütün gruplarda tespit edilmiş olsa da MEL uygulanması sonucu bu azalış baskılanmıŐtır. MSG4 grubunun MCHC ortalaması, MSG4+MEL grubundan; MSG8 grubunun MCHC ortalaması, MSG8+MEL grubundan anlamlı Şekilde dŖk tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.6. Ortalama eritrosit volümü(MCV) değerleri

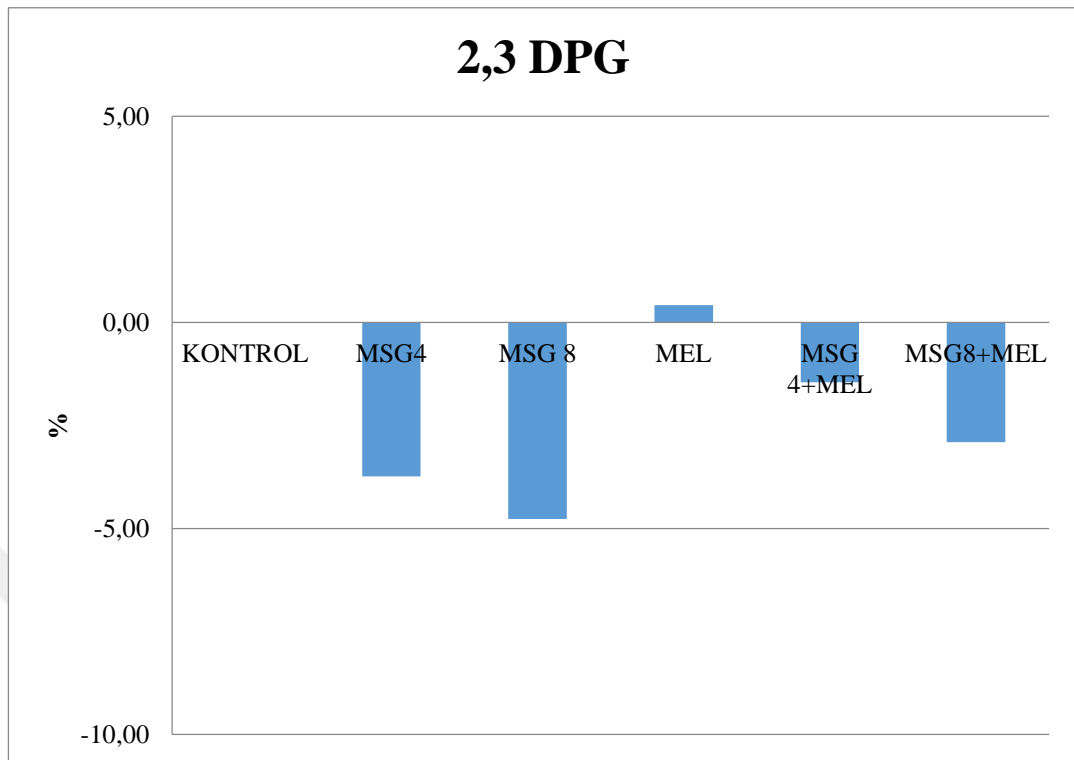
MSG grubu hayvanlarda, kontrol grubuna göre ortalama eritrosit hacmi değerleri anlamlı Şekilde yüksektir ($p<0.05$). Melatonin verilmesi gerek 4 mg gerekse 8 mg MSG ile beslenen hayvanlarda eritrosit hacimlerinde saptanan artıŐları önlemiŐtir. MSG ve MEL'in birlikte verildiği gruplar ile MSG verilen grupların MCV değerleri arasındaki farklılık istatistiksel aıdanda anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). (Şekil 4.6)

Eritrosit 2,3DPG ile Eritrosit ve Karaciğer dokusundaki ATP düzeyleri tablo 4.2’de verilmiştir.

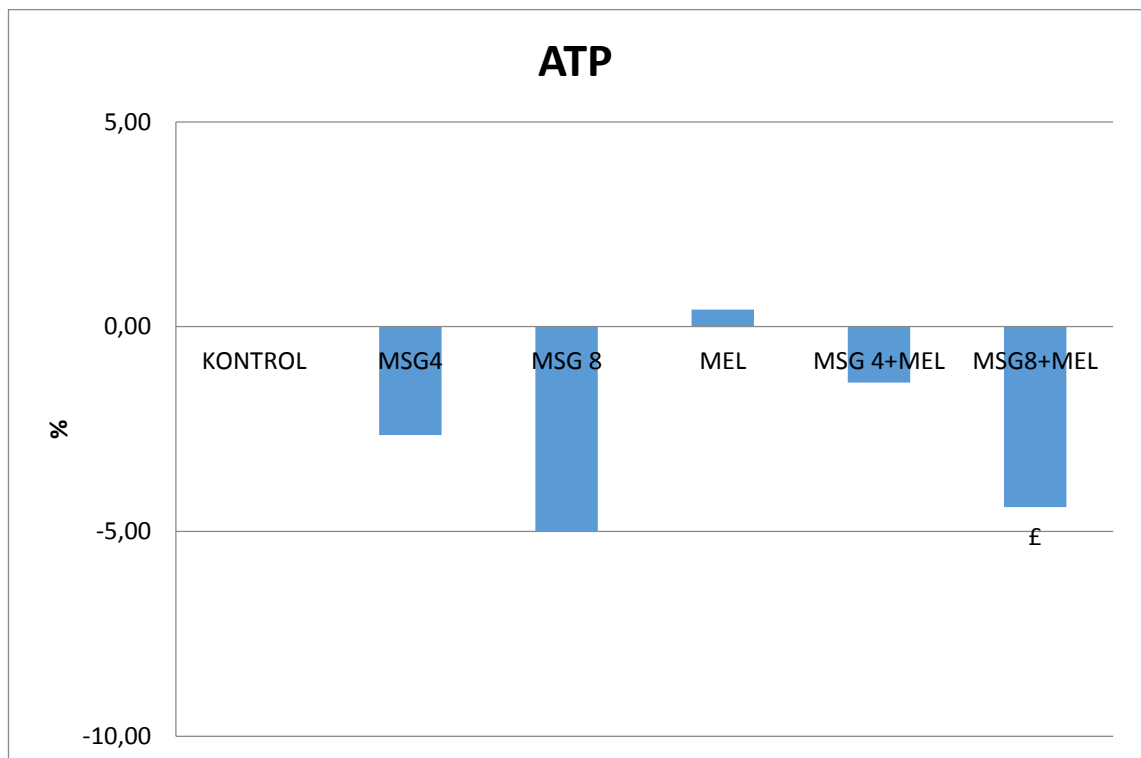
Tablo 4.2. Eritrosit 2,3DPG ile Eritrosit ve Karaciğer dokusundaki ATP düzeyleri

	Kontrol (n=10)	MSG4 (n=10)	MSG 8 (n=10)	MEL (n=10)	MSG 4+MEL (n=10)	MSG8+MEL (n=10)
2,3 DPG (mmol/ml)	4,82±0,71	4,64±0,50	4,59±0,26	4,84±0,57	4,75±0,14	4,68±0,38
% Değişiklik	0,00	-3,73	-4,77	0,41	-1,45	-2,90
Eritrosit ATP Düzeyi	483,10±15,37	470,30±14,55	458,90±15,83	485,10±15,81	476,50±19,08	461,80±17,09
% Değişiklik	0,00	-2,65	-5,01	0,41	-1,37	-4,41
Karaciğer ATP Düzeyi	292,60±22,56	283,80±10,95	275,30±18,86	294,90±17,67	287,20,20±16,66	284,30±16,36
% Değişiklik	0,00	-3,01	-5,91	0,79	-1,85	-2,84

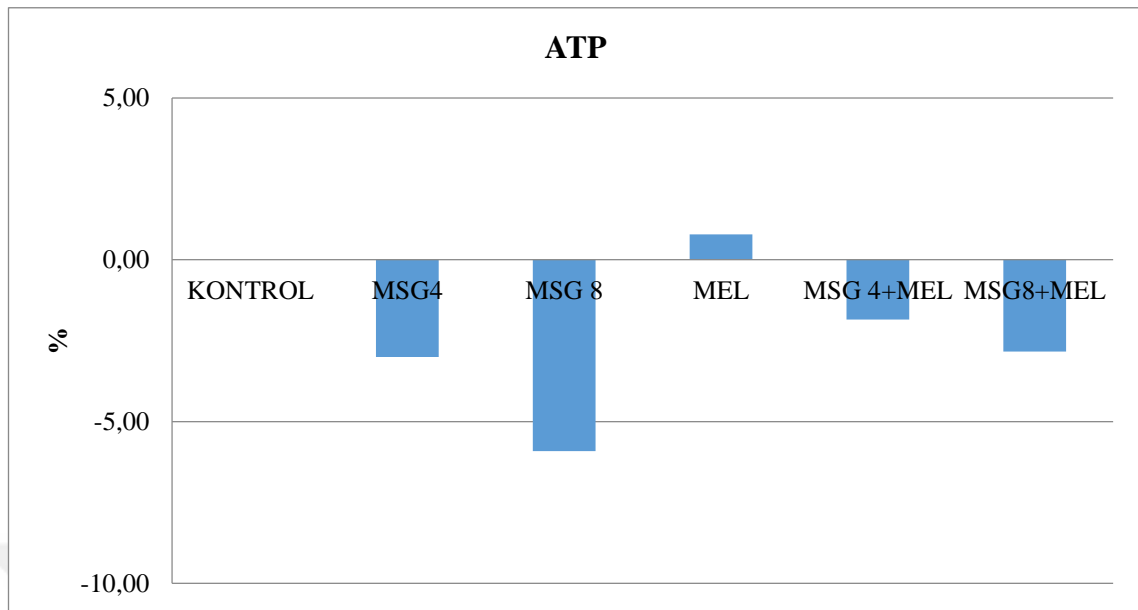
MSG; Monosodyum Glutamat, MEL; Melatonin
Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.7. Eritrosit 2,3 DPG % değişim oranları



Şekil 4.8. Eritrosit ATP % değişim oranları



Şekil 4.9. Karaciğer doku örneklerinde ATP % değişim oranları

MSG toksisitesi eritrosit 2,3 DPG ve ATP düzeylerini düşürmüş olmasına rağmen bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca MSG toksisitesi karaciğer dokusundaki ATP düzeylerini de eritrosit ATP düzeylerine paralel olarak düşürmüş olmasına rağmen bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). MSG toksisitesi yaratılıp koruyucu olarak melatonin verilen gruplarda ise bu düşüş ne kadar baskılanmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9)

Plazma örneklerindeki Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Düzeyleri (TOS) ile Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) sonuçları tablo 4.3'de görülmektedir.

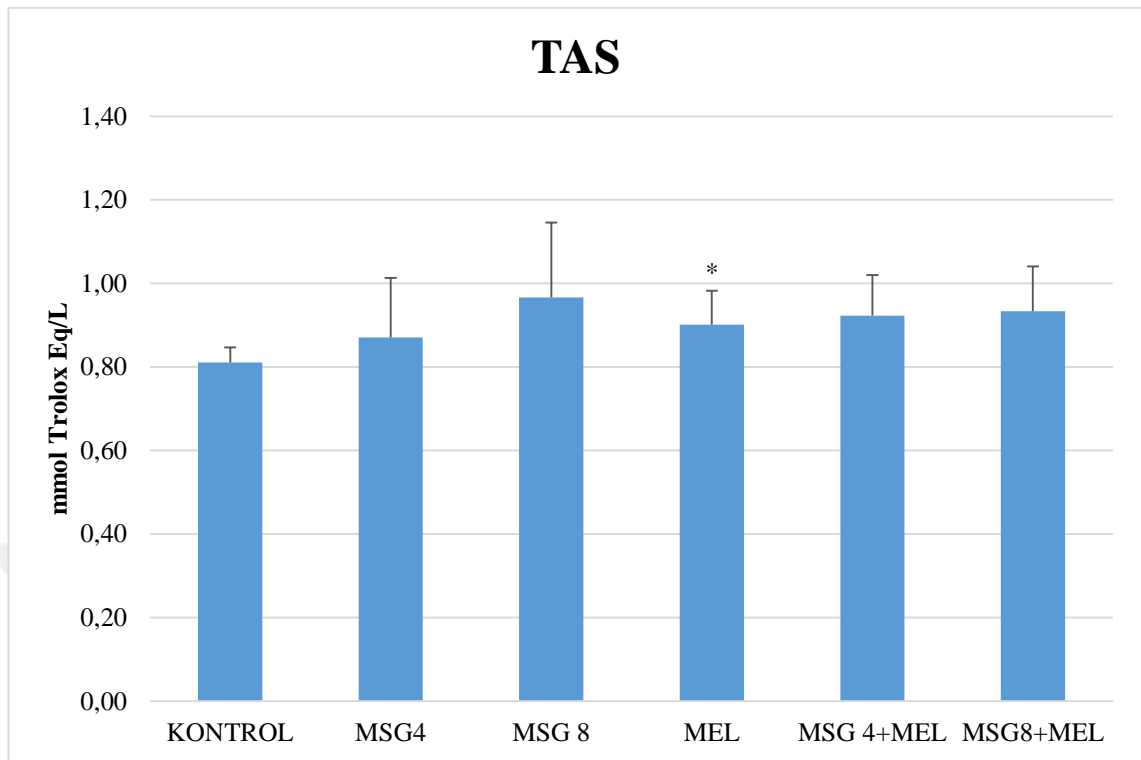
Tablo 4.3. Plazma Total Oksidan ve Antioksidan düzeyleri

	Kontrol (n=10)	MSG4 (n=10)	MSG 8 (n=10)	MEL (n=10)	MSG 4+MEL (n=10)	MSG8+MEL (n=10)
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	0,69 \pm 0,43	0,78 \pm 0,11	0,83 \pm 0,30	0,67 \pm 0,13	0,73 \pm 0,08 [#]	0,82 \pm 0,10 [£]
TAS (mmol Trolox Eq/L)	0,81 \pm 0,04	0,87 \pm 0,14	0,97 \pm 0,18	0,90 \pm 0,08*	0,92 \pm 0,10	0,93 \pm 0,11
OSİ	0,85 \pm 0,29	0,92 \pm 0,21	0,87 \pm 0,20	0,75 \pm 0,17	0,80 \pm 0,15	0,88 \pm 0,11

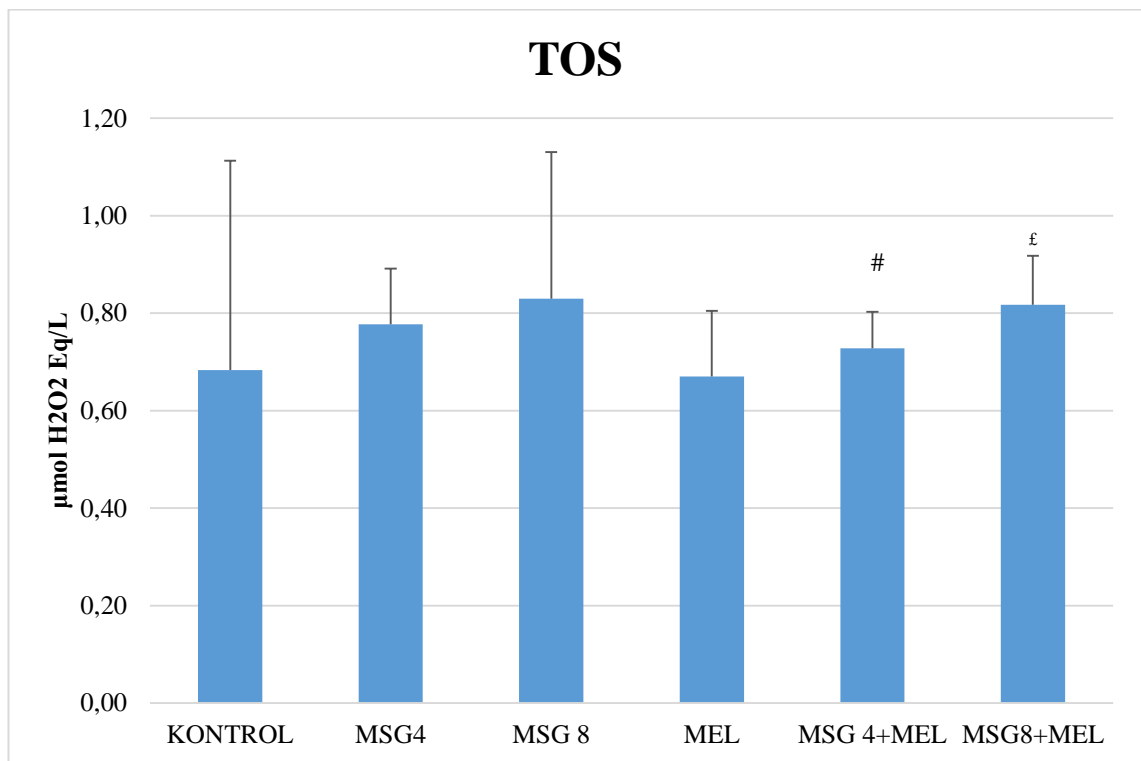
MSG; Monosodyum Glutamat, MEL; Melatonin

Değerler ort \pm standart sapma olarak verilmiştir.

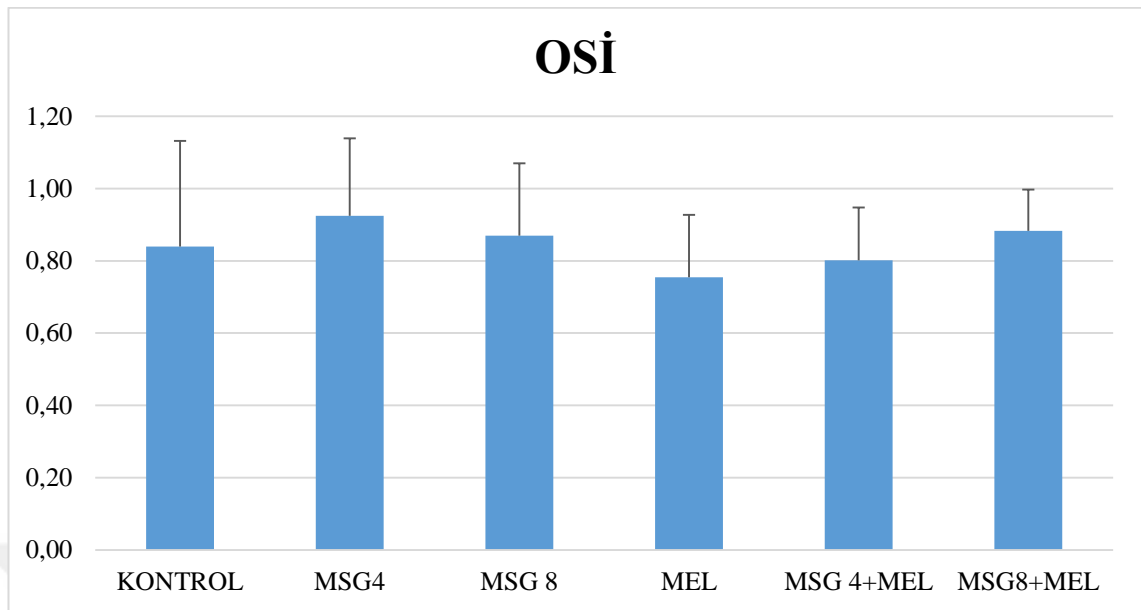
* Kontrol grubuna göre ($p < 0,05$), # 4 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$), £ 8 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$)



Şekil 4.10. Plazma Total Antioksidan Kapasite (TAS) değerleri



Şekil 4.11. Plazma Total Oksidan Durum (TOS) değerleri



Şekil 4.12. Plazma Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değerleri

Plazma TAS, TOS ve OSİ değerlerinde meydana gelen değişiklikler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, TAS ve TOS değerlerinde MSG dozundaki artışa paralel bir artış tespit edilmiştir. MEL grubunda TAS değerlerindeki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Diğer gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişim olmamıştır ($p > 0,05$). MSG toksisitesine karşı koruyucu olarak melatonin uygulaması sonucu, TAS, TOS ve OSİ değerleri incelendiğinde; MSG4 grubunun TOS düzeyi, MSG4+MEL grubundan; MSG8 grubunun TOS düzeyi, MSG8+MEL grubunda anlamlı şekilde düşüş olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Diğer değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12).

Karaciğer doku örneklerindeki Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Düzey (TOS) sonuçları Tablo 4.4'de verilmiştir.

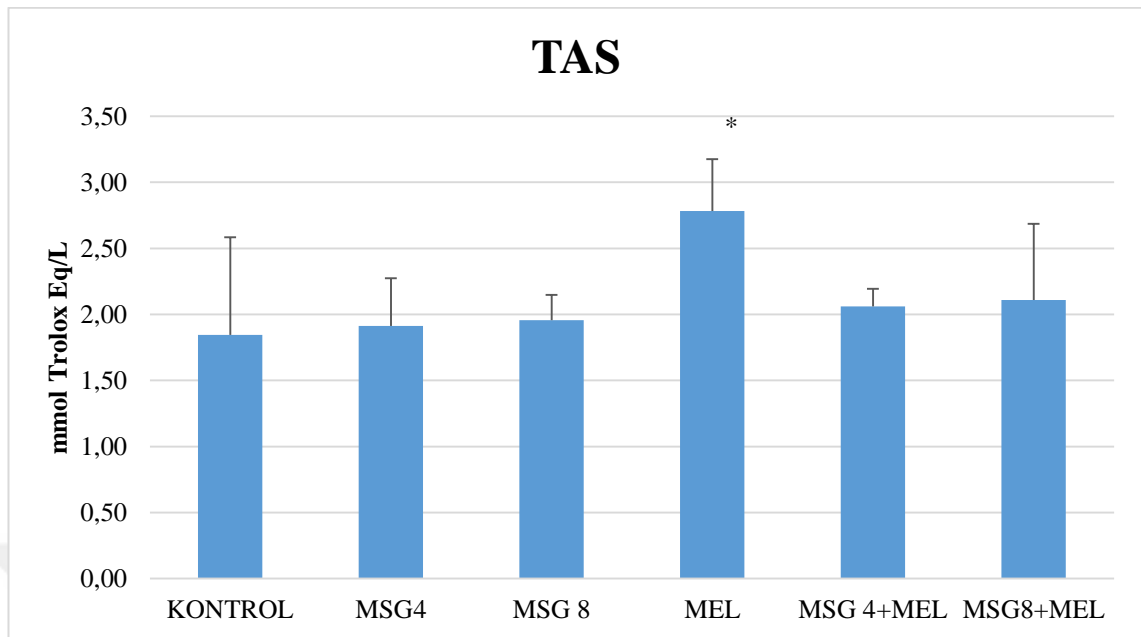
Tablo 4.4. Karaciğer dokusunda total oksidan ve antioksidan düzeyleri

	Kontrol	MSG4	MSG 8	MEL	MSG 4+MEL	MSG8+MEL
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	28,18 \pm 7,90	32,47 \pm 4,84*	36,60 \pm 5,82*	22,78 \pm 5,98	23,58 \pm 11,54 [#]	23,10 \pm 4,20 [£]
TAS (mmol Trolox Eq/L)	1,85 \pm 0,74	1,91 \pm 0,36	1,96 \pm 0,19	2,78 \pm 0,39*	2,06 \pm 0,13	2,03 \pm 0,58
OSİ	15,27 \pm 6,81	16,96 \pm 5,04	18,70 \pm 3,29	8,18 \pm 2,66	11,44 \pm 5,78	11,38 \pm 2,65

MSG; Monosodyum Glutamat, MEL; Melatonin

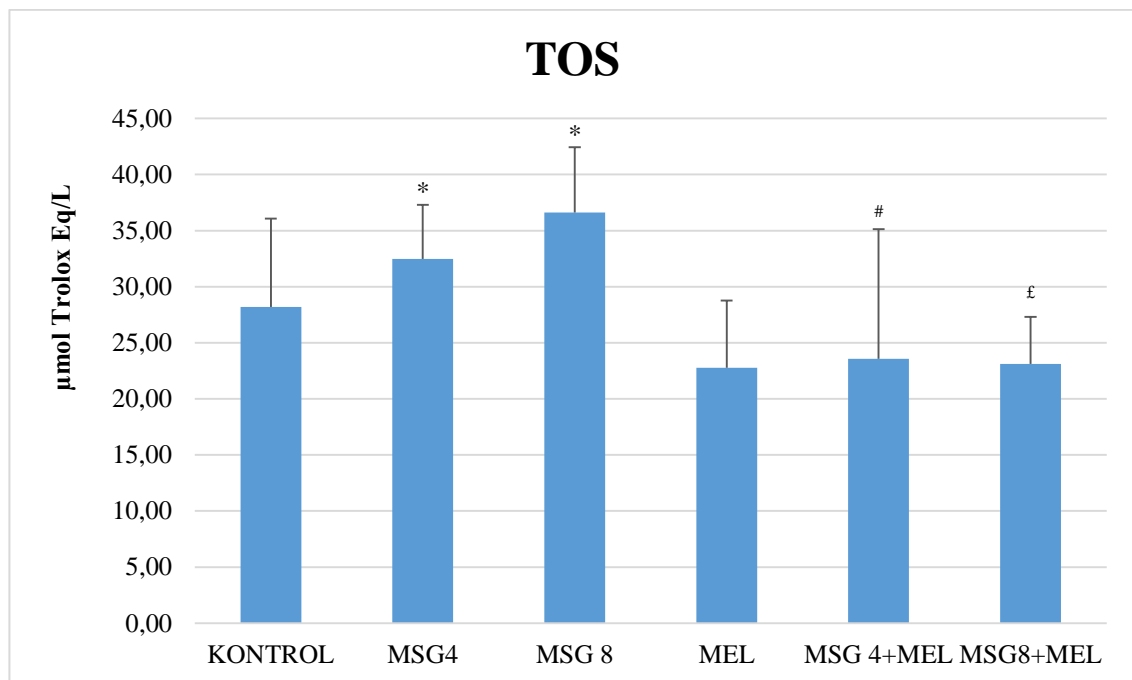
Değerler ort \pm standart sapma olarak verilmiştir.

* Kontrol grubuna göre ($p < 0,05$), # 4 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$), £ 8 mg/kg MSG uygulanan gruba göre ($p < 0,05$)



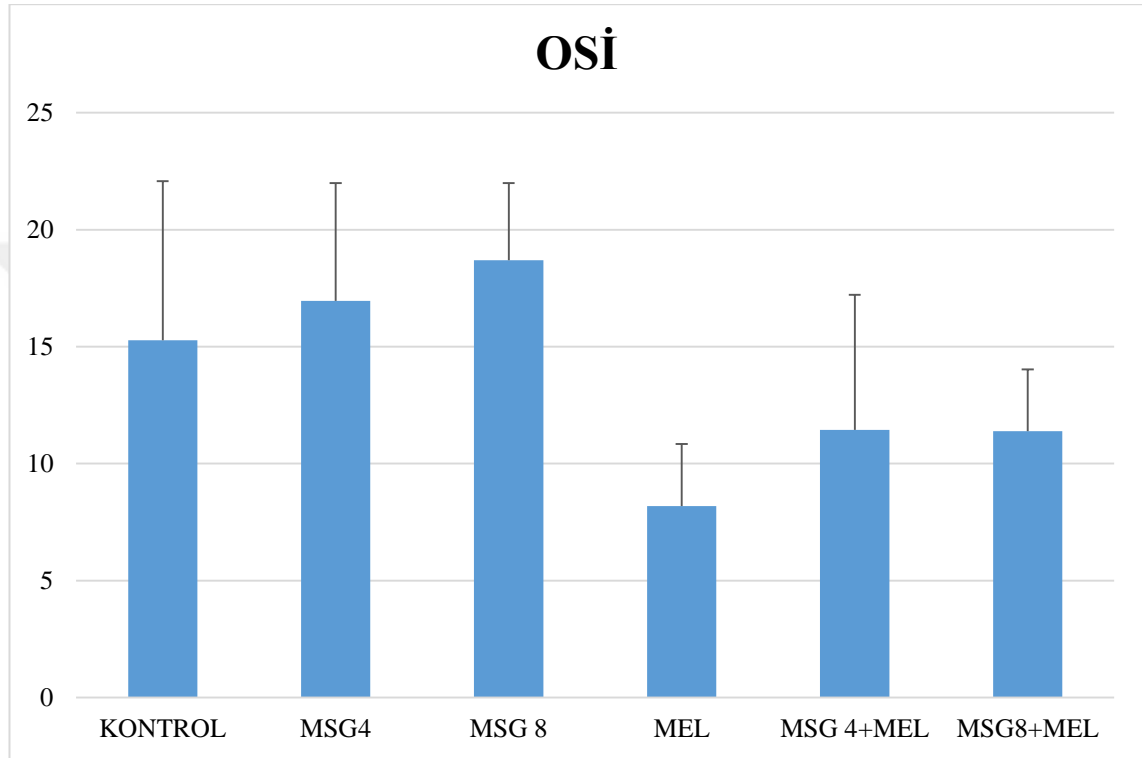
Şekil 4.13. Karaciğer dokusu TAS değerleri

Karaciğer dokusundaki total antioksidan düzeyleri incelendiğinde bütün gruplarda kontrol grubuna göre artış meydana geldiği gözlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark sadece MEL grubunda tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Melatonin uygulaması sonucu TAS değerleri MSG uygulanan gruplara göre artış göstermiş olsada bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). (Şekil 4.13)



Şekil 4.14. Karaciğer dokusu TOS değerleri

Karaciğer doku örneklerinde, TOS değerleri her iki doz MSG uygulamasında da istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana getirmiştir ($p<0.05$). Melatonin uygulaması ise TOS değerlerindeki bu artışı baskılayarak azaltmıştır. Bu azalış; MSG4 grubu ile MSG4+MEL grubu arasında ve MSG8 grubu ile MSG8+MEL grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). (Şekil 4.14).



Şekil.4.15: Karaciğer dokusu OSİ değerleri

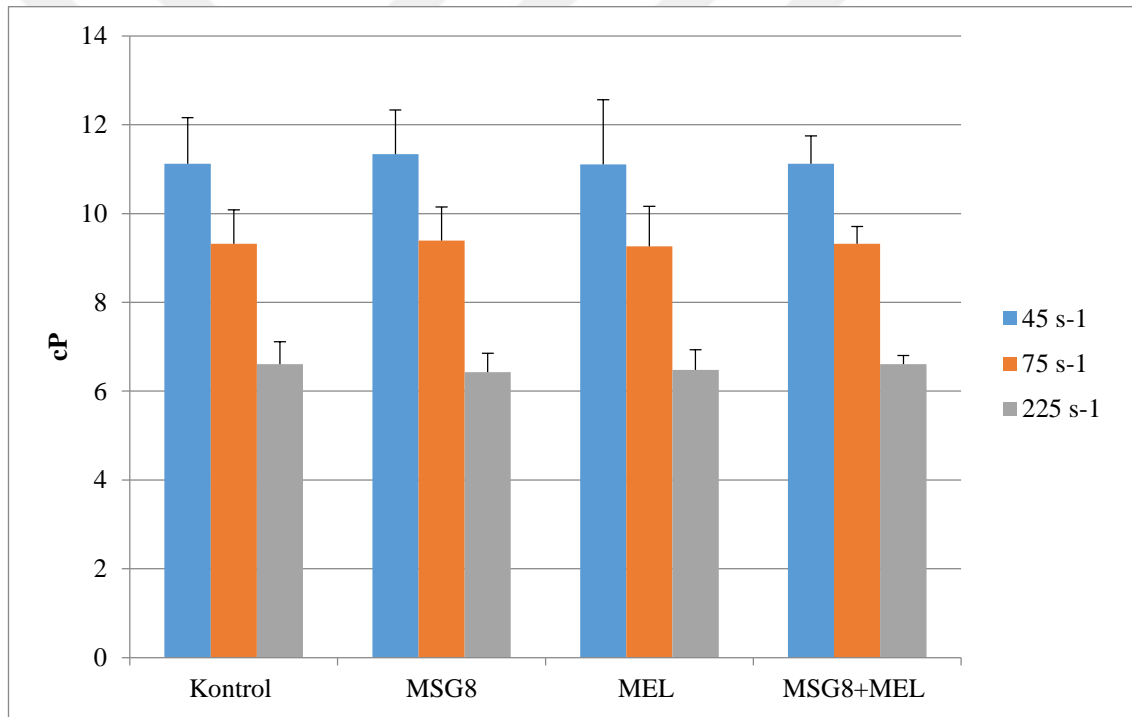
MSG verilen gruplarda kontrol grubuna göre OSİ değerlerinde görülen artışın Melatonin uygulanan tüm gruplarda bir düşüş gösterdiği, özellikle tek başına MEL verilen grupta bu düşüşün en yüksek olduğu görülmüştür. Ancak OSİ değerleri açısından gruplar arasında görülen bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.15).

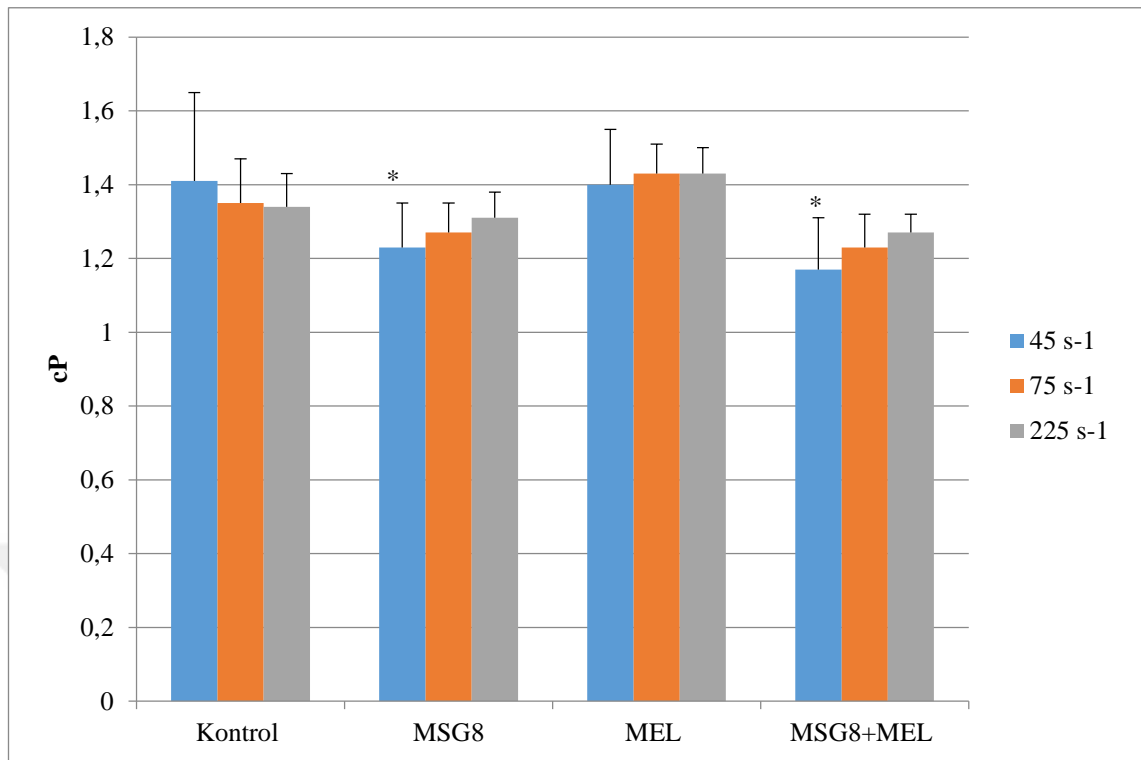
Kan ve plazma örneklerinin üç farklı kayma hızında ki viskozite değerleri ise Tablo 4.5 ile Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 de verilmiştir.

Tablo 4.5. Viskozite değerleri

	PLAZMA			TAM KAN		
	45 s (cP)	75 s (cP)	225 s (cP)	45 s (cP)	75 s (cP)	225 s (cP)
Kontrol (n=8)	1,41±0,24	1,35±0,12	1,34±0,09	11,12±1,04	9,32±0,76	6,61±0,50
MSG8 (n=8)	1,23±0,12*	1,27±0,08	1,31±0,07	11,34±0,99	9,39±0,76	6,43±0,42
MEL (n=8)	1,40±0,15	1,43±0,08	1,43±0,07	11,11±1,45	9,26±0,90	6,48±0,45
MSG8+MEL (n=8)	1,21±0,11*	1,23±0,09	1,27±0,05	11,12±0,63	9,32±0,39	6,61±0,19

MSG; Monosodyum Glutamat, MEL; Melatonin
Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir.
* Kontrol grubuna göre (p<0,05)

**Şekil.4.16** Grupların Tam Kan Viskozite düzeyleri



Şekil.4.17 Grupların Plazma Viskozite düzeyleri

MSG toksisitesi oluşturulan ratlarda, gerek 75s gerekse 225s kayma hızlarında hem tam kan hemde plazma viskozite değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Ancak 45s kayma hızında MSG8 grubunda plazma viskozite değerlerinde anlamlı bir düşüş olurken, MSG8+MEL verilen grupta viskozite değerlerinin anlamlı bir değişim göstermediği saptanmıştır ($p > 0.05$). Melatoninin viskozite açısından bir etkisi olmamıştır. (Şekil 4.16, Şekil 4.17)

5. TARTIŞMA SONUÇ

Günümüzde besinlerin üretim ve tüketim ilişkileri gıda katkı maddelerinin kullanımını teknolojik bir zorunluluk olarak ortaya koymaktadır. Endüstrinin gelişmesi ile besin üretiminin ve işlenmesinin artması gıda katkı maddeleri kullanımını da artırmıştır. Ev dışında çalışanların artması, beslenme alışkanlıklarının değişmesi, besin hazırlama için az zaman kalması veya besin hazırlama için az vakit harcama isteği, yarı-hazır veya ticari olarak tamamen hazırlanmış olan besin üretimini teşvik etmiş, bu da gıda katkı maddeleri kullanımını kaçınılmaz kılmıştır. Günümüzün en önemli konularının başında besin güvencesinin ve besin güvenliğinin sağlanması gelmektedir. Gıda güvencesi insanlara, sürdürülebilir, yeterli ve dengeli beslenmelerini sağlayacak çeşitlilik ve miktarda ve ekonomik olarak erişilebilir gıda arzı olarak tanımlanabilir. Besin güvencesinin sağlanmasında besin üretiminin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması önem kazanmaktadır. Bu durumda da gıda katkı maddeleri kullanımı kaçınılmaz olmuştur. Her ne kadar katkı maddelerinin gıda endüstrisi açısından yararları olsada bu maddelerin kullanımının insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri dikkate alınmalıdır. Çünkü, yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı bilinçsiz beslenme ve hazır tüketimin artmasının bir sonucu olarak insanların daha fazla gıda katkısı tüketimine sebep olabileceği ve bu tüketim artışının sağlık üzerinde olumsuz etki yaratabileceği de göz ardı edilmemelidir.(3)

Birçok çalışmada gıda katkı maddelerinin canlı sistemler üzerine olumsuz etkiler gösterdiğine dair sonuçlar açıklanmıştır. Gıdalara tat artırıcı olarak ilave edilen maddelerden biride monosodyum glutamattır. MSG, ABD, AB ve Türk mevzuatlarına göre kullanımı yasal olan bir gıda katkı maddesi olmasına rağmen değişik organ ve sistemlerde, Çin Restoranı Sendromu olarak da bilinen toksik etkileri olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir.

Olney (52), MSG'nin deri altı enjeksiyonunun yetişkin sıçanların beyinde akut lezyonlara yol açtığını ve büyüme hormonu, eşey hormonu ve tiroid hormonlarının seviyesinde değişikliklere sebep olduğunu bildirmiştir. Kemirgen ve memeli yavrularına ağızdan ve cilt altından MSG verildiğinde gelişmekte olan beyin dokusu, hipotalamus ve hipokampusta akut nöronal nekroza yol açtığı ve sıçan yavrularının retinasında hasarlar meydana getirdiği belirtilmiştir (47,48). Sıçanlarda MSG kullanımını üzerine yapılan çalışmalarda MSG'nin vücuttaki enerji miktarını arttırarak obeziteye sebep olduğu (49,50) ve aynı zamanda vücuttaki karbonhidrat, lipid ve protein seviyesini değiştirdiği bildirilmiştir (51). Aji (156) MSG içeren besinlerin tüketilmesinden sonra besin zehirlenmelerinin ortaya çıktığını bildirmiştir. Çeşitli araştırmacılar tarafından baş ağrısının sebeplerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalarda monosodyum glutamat içeren yiyeceklerin migren atağını ortaya çıkaran faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (44). Ayrıca MSG'nin yüksek dozlarının; nöroendokrin anormalliklerine, nörodejenerasyon ve nörotoksisiteye neden olmakla birlikte farklı organlarda oksidatif zarara yol açtığı saptanmıştır.(30,45,157,158)

Aerobik organizmalarda, moleküler oksijenin varlığı ve bunların elektron alma eğiliminden dolayı, hücrelerde sürekli reaktif oksijen türleri ve bunun sonucu olarak da lipid peroksidasyon ürünleri oluşur(159). Bu nedenle eritrositler sürekli olarak hücre içi ve hücre dışı serbest radikallere maruz kalırlar. Çünkü poliansatüre yağ asitlerince zengin olan eritrosit zarları birden çok mekanizma ile sürekli olarak süper oksit anyonlarının oluşmasına neden olurken aynı zamanda granülositler, makrofajlar ve metabolik aktif hücrelerde de süperoksit anyonu üretilir(160,161). Eritrositlerde lipid peroksidasyonunun artmasının bir diğer nedeni de serbest radikaller artarken antioksidanlarda görülen azalmadır. Normal eritrosit, oksidatif hasara karşı oldukça dirençlidir, Çünkü etkin bir korunma mekanizması oluşturan CAT, SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzim sistemine sahiptir. Ancak alman toksik madde oranı enzim kapasitesini aşarsa serbest radikaller, zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşenlere dönüşmesiyle sonuçlanır. Böylece membran yapısı bozulur ve buna bağlı olarakta eritrosit fonksiyonları olumsuz yönde etkilenir. Gıda katkı maddelerinin bir kısmı hücrede böyle bir toksik etki göstermektedir. Son yıllarda bazı ürünlerin olumsuz etkilerinin azaltılması veya önlenmesi yönünde çeşitli antioksidan maddeler ile yapılan

çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Ancak MSG toksisitesinin eritrositler üzerindeki etkileri ile melatoninin koruyucu olup olmayacağı konusu hakkında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız, MSG toksitesi ve bu toksistede koruyucu olarak melatonin takviyesi sonrası eritrositlerdeki değişimi inceleyen ve bu parametreleri kontrol grubu ile karşılaştıran ilk araştırmadır.

Hemoreoloji kanı, kan hücrelerini ve damarların fonksiyonlarını ve birbiriyle olan etkileşimlerini, kan akımının özelliklerini inceleyen bilim dalıdır (162). Bu alanda yapılan çalışmalar sonucunda eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, HCT, tam kan ve plazma viskozitelerinin hemoreolojik parametreleri oluşturan faktörler olduğu belirlenmiştir (163,164). Özellikle eritrositlerde şekil bozukluğuna neden olan faktörlerin hemoreolojik parametrelerde değişim gösterdiği bilinmektedir (165). Literatürde MSG toksisitesinin hemoreolojik parametreler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma sayısı sınırlı olup, incelenen parametreler arasında yalnızca eritrosit deformabilitesi ve CBC sonuçları yer almaktadır. Ashaolu ve ark.(166) ratlarda MSG'nin hematolojik parametreler üzerine etkisini inceledikleri araştırmada, 14 gün boyunca 5,5 g/kg oral olarak MSG uygulamaları sonrasında; Hb, RBC, HCT de azalma MCV, MCHC artma gözlenmiştir. Ogunyemi ve ark. (167) 30 gün boyunca 150 mg/kg MSG uyguladıkları ratlarda RBC ve Hb'nin azaldığını MCV ve MCH'nin arttığını gözlemlemiştir. Helen ve ark. (168) 21 gün boyunca besin içeriklerinin %1, %2,5 ve %5'i oranında MSG uyguladıkları ratlarda RBC ve Hb'nin azaldığını MCV ve MCH'nin arttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamız ise literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir. MSG toksitesi sonucu MCV ve HCT değerlerinde artış, MCHC ve HGB değerlerinde ise azalma görülmüştür (TABLO 4.1)Antioksidan olarak kullanılan melatonin uygulaması tüm parametrelerdeki değişiklikleri baskılamış ve kontrol grubu düzeylerine getirdiği görülmektedir.

Akışkanlığın tersi anlamına gelen viskozite ise bir sıvının akıma karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır. Kanın akıma karşı gösterdiği direnç ise tam kan viskozitesidir. Kanın viskozitesi, hematokrit, plazmanın içeriği ve kan elemanlarının reolojisi gibi belli özelliklerden etkilenmektedir. Hematokrit değerindeki artış, tam kan viskozitesinin artışına sebep olmaktadır (144,147,168). Literatürlerde MSG ve viskozite tayini ile ilgili bir çalışma olmasa da bizim çalışmamız da; MSG toksitesi oluşturulan ratlarda kontrol grubu hayvanlara göre tam kan viskozitesinde hafif bir artış olsa da istatistiksel olarak

anlamli değildir. MSG toksisitesi yaratılan ve koruyucu olarak melatonin verilen gruplarda ise tam kan viskozitesindeki artış büyük oranda önlenerek kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. MSG toksisitesinin hematokrit değerlerinde ki artışa sebep olması ve kan viskozitesini etkileyen temel faktörlerden biri olan fibrinojen düzeylerindeki artışın tam kan viskozitesindeki artışa sebep olması muhtemeldir.

Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin sağlık açısından önemli etkileri vardır. Oksidan (serbest radikal) üretimi antioksidan savunma mekanizmaların üretiminin üzerine geçtiği anda oksidatif stres oluşur ve sonuç olarak hücreler oksidatif hasara maruz kalır (48) Oksidatif stres sonucu görülen olaylardan biri de lipid peroksidasyonunun artmasıdır (169). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmaları, eritrositlerin fonksiyonlarına ait çeşitli parametreler ve membran bütünlüğünün, lipid peroksidasyonundaki artıştan olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir (170). Oksidatif stresteki artış nedeniyle meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkileyerek eritrositlerin deformabilite yeteneğinde ve yaşam sürelerinde azalmaya yol açabilmektedir (171) Diğer yandan antioksidanlar eritrosit zarlarını oksidatif stresten korumakta (8,172) ayrıca reaktif oksijen türevleri olan süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlenmesini sağlamaktadırlar (173). Pineal bez tarafından salgılanan bir hormon olan melatonin, endokrin sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonun artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi bir çok fizyolojik işlevlerde görev alır. Aynı zamanda melatoninin güçlü bir antioksidan karakterde olduğu ve dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediğini bildirilmiştir. Bunun yanında Melatoninin oksidatif strese maruz bırakılan eritrositlerin içine girmek suretiyle hücreyi koruduğu saptanmıştır (9).

İbrahim ve ark.(174) 14 gün boyunca 0,6- 6 ve 60 mg/kg MSG uyguladıkları ratlarda MDA konsantrasyonlarının arttığını ve lipid peroksidasyonuna sebep olduğunu gözleyerek, Vitamin C uygulamasının artmış olan oksidatif stresi ve etkilerini baskıladıklarını tespit etmişlerdir.

Farombi ve ark.(30) 10 gün boyunca 10 mg/kg MSG uyguladıkları ratlarda karaciğer, böbrek ve beyin dokularında MDA'yı artırarak oksidatif toksisiteye sebep olduğunu Vitamin C, Vitamin E ve quercetin'in bu artış baskıladığını göstermişlerdir.

Elatrash ve ark.(175) 4 hafta boyunca 1,5 mg/kg MSG uyguladıkları ratlarda karaciğer ve böbrekte oksidatif hasar meydana getirerek toksik etki gösterdiğini Ginkgo biloba uygulmasının ise bu etkileri baskılayarak antioksidan etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Pavlovic ve ark.(45), erkek Wistar sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda MSG ile muamelenin timuslarda oksidatif stresi uyardığını ve MSG ile bu uyarılmanın T-hücrelerinin apoptozisini de önemli derecede ($p<0.01$) arttırdığını göstermişlerdir. Singh ve ark.(176) 4 mg/g MSG uygulamasının fare karaciğer dokularında oksidatif stresi indüklediğini göstermişlerdir. Rohmawati ve ark.(177) dişi sıçanlarda MSG toksisitesi sonucu ovaryumda oluşan oksidatif stresi Vitamin C ve Vitamin E ile inhibe edildiğini göstermişlerdir.

Mediha ve ark.(178) 8 hafta boyunca 1 gr/kg uyguladıkları MSG'nin karaciğerde oksidatif hasara bağlı toksisite meydana getirdiğini propolisin ise bu etkiyi azalttığını belirtmişlerdir.

Ahluwali ve ark.(179) 4 ve 8 mg/kg MSG uyguladıkları farelerde; Eritrositlerdeki total glutasyon, Glutasyon redüktaz ve lipid peroksidasyon miktarlarının arttığını göstererek MSG'nin eritrositlerde oksidatif stres meydana getirdiklerini göstermişlerdir.

Vücuttaki oksidatif stresi ve antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için oksidan ve antioksidan moleküllerin bireysel ölçümü yerine total olarak ölçümünü sağlayan yöntemler mevcuttur (84,85). TOS düzeyinin, TAS düzeyine oranlanmasıyla OSI hesaplanmaktadır. OSI vücudun oksidan antioksidan dengesinin yönünü belirtir. Çalışmamızda MSG'nin oluşturduğu oksidatif stresi ve melatoninin antioksidan etkilerini araştırmak için TAS, TOS düzeyleri ile OSI değerleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarında MSG toksisitesi oluşturulan ratlarda TAS ve OSI düzeylerinde kontrol grubuna göre artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TOS değerleri açısından bakıldığında antioksidan olarak uygulanan melatonin takviyesinin MSG toksisitesi oluşturulan hayvanlardaki atışı baskıladığı görülmüştür. Bütün bu sonuçlar yukarıda özet olarak verilen literatür bilgileri ile uyumludur. Bütün bu veriler değerlendirildiğinde MSG'nin eritrositlerde oksidatif hasara sebep olduğu, melatoninin ise antioksidan etki göstererek bu hasarı baskıladığı görülmüştür.

Karaciğer doku örneklerindeki TOS seviyelerindeki artış, MSG toksisitesinin oksidatif strese sebep oluşturduğunu göstermektedir. Oluşan bu hasar ise melatonin takviyesiyle önlenmiştir.

Eritrositler yapıları, metabolizmaları ve fonksiyonları yönünden diğer vücut hücrelerinden farklı özelliktedirler. Olgun eritrositlerde diğer hücrelerdekinin aksine nükleus, mitokondri ve ribozom gibi organellere sahip değildirler (113,114). Eritrositler ihtiyaçlarını anaerobik glikoliz yolundan sağlarlar (180,181). Anaerobik glikoliz sonucunda ATP kazancı fazla olmamakla birlikte eritrositlerin enerji ihtiyacı için yeterlidir (182). Diğer taraftan 2,3-DPG' ın eritrositlerin enerji metabolizmalarında önemli bir yeri vardır. Oksijen yetersizliğinin olduğu durumlarda daha fazla 2,3-DPG sentezlenerek hemoglobine bağlanır. Böylece, daha fazla miktarda oksijen serbest bırakılarak dokulara gitmesi sağlanır. 2,3-DPG miktarı azalırsa oksijen taşıma kapasitesi azalır ve sonuçta dokularda, organlarda oksijenlenme sağlanamaz. 2,3-DPG düzeyinde azalma, oksihemoglobin dissosiasyon eğrisinde sola kayma gözlenir. Oksijenin hemoglobine affinitesinin azalması sonucu dokulara daha fazla oksijen taşınmasına yol açmaktadır. Diğer yandan organizmada herhangi bir nedenle aşırı miktarda üretilen oksidan maddeler, nükleik asitler, lipidler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlarla etkileşerek, hücre hasarı ve ölümü ile sonuçlanan zararlı etkilere neden olurlar (183). Oksidan maddelerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi, glikolitik ATP sentezinin azalması ve ATP kullanımının artması yönündedir. Oksidanlar glikolitik ATP sentezi inhibisyonunu gliseraldehid- 3-fosfo dehidrojenaz (GADPH) seviyesinde gerçekleştirir (184). Shagirta ve ark.(185) Tarafından ratlarda oluşturulan kadmiyum toksisitesi sonucu Total ATP ase aktivitesinde azalma meydana geldiği, melatoninin ise bu azalışı baskıladığını göstermişlerdir. Bhatti ve arkadaşları ratlarda malathionla oluşturdukları toksisite sonucu Total ATP ase aktivitesinde azalma meydana geldiği, melatoninin ise bu azalışı baskıladığını göstermişlerdir (186).

Çalışmamızda eritrosit ATP ve 2,3 DPG miktarlarında görülen azalma Melatonin takviyesi ile baskılanmasına rağmen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu azalmanın nedeni olarak MSG'nin eritrositlerde oksidatif hasar oluşturmasına bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Diğer yandan oksidatif stresten en fazla etkilenen doku olarak kabul edilen karaciğer dokusundaki sonuçlarımız da eritrosit içi ATP ve 2,3 DPG sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; gıdalarda lezzet artırıcı bir katkı maddesi olarak kullanılan MSG karaciğer dokusunda ve eritrositlerde oksidatif hasara neden olmakta aynı zamanda eritrositlerde lipid peroksidasyonu meydana getirmektedir. Çalışmamızda MSG'nin, MCHC ve hemoglobin miktarlarında azalmaya; MCHC ve hematokrit değerlerinde artışa neden olduğu görülmüştür. Bütün bu değişiklikleri antioksidan olarak kullanılan melatoninin koruyucu etki göstererek kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı tespit edilmiştir. MSG'nin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma oluşturmada ve ortaya çıkan lipid peroksidasyonun olumsuz etkilerine karşı melatoninin etkili olabileceği görülmüştür.

Elde edilen bilgiler ışığında, oksidatif stres ve buna bağlı lipid peroksidasyonu oluşturan MSG'nin tam kan viskozitesinde artışa yola açarken, eritrosit ATP düzeylerinde azalmaya yol açarak eritrositlerin membran yapısında bozulmalara neden olduğu, buna karşılık melatoninin; MSG kaynaklı bu değişiklikleri olumlu yönde değiştirerek koruyucu bir etki meydana getirdiği görülmüştür.

Bütün bu sonuçlar Melatoninin, eritrositler ve karaciğer dokusunda MSG kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres oluşum riskini azaltacağı ve oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan zararlı etkilere karşı antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Gıda katkı maddeleri tüketiminden kendimizi tamamen soyutlamamızın mümkün olmadığı günümüzde, yaygın olarak kullanılan MSG ile klinik çalışmalar, kullanım miktarı ve kullanım süresi dikkate alınarak sürdürülmelidir. Bu çalışmalar her geçen gün artan hazır gıda tüketimine bağlı olarak hem insan sağlığını koruma açısından hem de literatür bilgileri açısından önemli katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Briggs DR. Food Additives. Wahlgvist ML(Ed). Food and Nutrition. Allen & Unwin Pty Ltd. Australia, 1997.
2. JECFA, Safety evaluation of certain food additives and contaminants. In: 63rd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, Switzerland. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, WHO Food Additives Series, No. 54. 2005
3. Akbulut M, Gıda Katkı Maddeleri: Fonksiyonları ve Kaynakları. 1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi 2011; 59-68
4. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford Science Publications, 2000; 157-162.
5. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Spraul AD, Conti M. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 2000; 3: 373-384
6. Kuypers FA. Red cell membrane damage. J Heart Valve Dis. 1998; 7: 387-395
7. Sivilotti ML. Oxidant stress and haemolysis of the human erythrocyte. Toxicol Rev. 2004; 23: 169-188
8. Sarkar S, Yadav P, Bhatnagar D. Cadmium Induced Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes In Rat Tissues: Role Of Vitamin E and Selenium. Trace Elem. Electro. 1997; 14: 41-45
9. Galati G, Sabzevari O, Wilson JX, O'brien PJ. Prooxidant Activity and Cellular Effects Of Phenoxyl Radicals Of Dietary Flavonoids and Other Polyphenolics. Toxicology 2002: 177; 91-104
10. Arendt J. Melatonin. Clin Endocrinol 1998; 29: 205-209

11. Guerrero JM, Reiter RJ. A brief survey of pineal gland-immune system interrelationships. *Endocrin Res.* 1992; 18: 91-113
12. Zang LY, Cosma G, Gardner H, Vallyathan V. Scavenging of reactive oxygen species by melatonin. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1425: 469-477
13. Longoni B, Salgo MG, Pryor WA, Marchiafava PL. Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci.* 1998; 62: 853-859
14. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 30 Haziran 2013 , sayı: 28693
15. Altuğ T. Gıda katkı maddeleri. *Hekim ve Yaşam*, İstanbul,1999: 29-31
16. Altuğ T. Gıda Katkı Maddeleri. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*,2001: 74,254
17. Özkaya İ. Gıda katkı maddeleri ve toksinler, Deomed Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2004: 39-44
18. Hill AM, Belsito DV. Systemic contact dermatitis of the eyelids caused by formaldehyde derived from aspartame. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 258-259.
19. Breiteneder H. Thaumatin-like proteins-a new family of pollen and fruit allergens. *Allergy* 2004; 59: 479-481
20. Hedge VL, Venkatesh YP. Anaphylaxis to excipient mannitol: evidence for an immunoglobulin E-mediated mechanism. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1602-1609
21. Koskela HO, Hyvarinen L, Brannan JD, Chan HK, Anderson SD. 2004. Coughing during mannitol challenge is associated with asthma. *Chest* 2004; 125: 1985-1992
22. Olney JW. *Missouri Nature.* 1970; 227:8
23. Bellisle F, Monneuse MO, Chabert M, Larue-Achagiotis C, Lanteaume MT, Louis-Sylvestre J. Monosodium glutamate as a palatability enhancer in the European diet. *Physiol Behav* 1991; May;49(5):869-73
24. Chevassus H, Renard E, Bertrand G, Mourand I, Puech R, Molinier N, Bockaert J, Petit P, Bringer J. Effects of oral monosodium (L)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2002; 53(6):641-3

25. Nijima A, Togyama T, Adachi A. Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste). *Experientia* 1980 Feb 15; 36(2): 232-4
26. Rogers PJ, Blundell JE. Umami and appetite: effects of monosodium glutamate on hunger and food intake in human subjects. *Physiol Behav* 1990 Dec; 48(6): 801-4
27. Hu L, Fernstrom JD, Goldsmith PC. Exogenous glutamate enhances glutamate receptors subunit expression during selective neuronal in the ventral arcuate nucleus of postnatal mice. *Neuroendocrinology* 1998 Aug; 68(2): 77-88
28. Sisk DR, Kuwabara T. Histologic changes in the inner retina of albino rats following intravitreal injection of monosodium L-glutamate. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1985; 223(5): 250-8
29. Narayanan SN, Kumar RS, Paval J, Nayak S. Effects of Ascorbic Acid on the Monosodium Glutamate-Induced Neurobehavioral Changes in Periadolescent Rats. *Bratisl Lek Listy* 2010; 111(5): 247-52
30. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum Exp Toxicol* 2006 May; 25(5): 251-9
31. Bunyan J, Murrell EA, Shah PP. The induction of obesity in rodents by means of MSG. *Br J Nutr.* 1976 Jan; 35(1): 25-3
32. Kanarek RB, Meyers J, Meade RG, Mayer J. Juvenile-onset obesity and deficits in caloric regulation in MSG-treated rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1979 May; 10(5): 717-21
33. Pepino MY, Finkbeiner S, Beauchamp GK, Mennella JA. Obese women have lower MSG taste sensitivity and prefer higher concentrations than do normal-weight women. *Obesity (Silver Spring).* 2010 May; 18(5): 959-65
34. Colucci PE, Grovum WL. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. The effect of monosodium glutamate on the palatability of straw diets by sham-fed and normal animals. *Br J Nutr.* 1993; 69(1): 37-47
35. Rogers PJ, Blundell JE. Umami and appetite: effects of monosodium glutamate on hunger and food intake in human subjects. *Physiol Behav.* 1990 Dec; 48(6): 801-4

36. Bellisle F, Monneuse MO, Chabert M, Larue-Achagiotis C, Lanteaume MT, Louis-Sylvestre J. Monosodium glutamate as a palatability enhancer in the European diet. *Physiol Behav.* 1991; May;49(5): 869-73
37. Macho L, Fickova M, Jezova, Zorad S. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. *Physiol Res.* 2000; 49 Suppl 1: 79-85
38. Nagata M, Suzuki W, Maruyama H, Takeda S, Aburada M, Miyamoto K. Diabetic syndrome in the Chinese hamster induced with monosodium glutamate. *Experientia.* 1980 Feb 15; 36(2): 232-4
39. Chevassus H, Renard E, Bertrand G, Mourand I, Puech R, Molinier N, Bockaert J, Petit P, Bringer J. Effects of oral monosodium (L)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2002; 53(6): 641-3
40. Corder R, Saudan P, Mazlan M, McLean C, Gaillard RC. Depletion of hypothalamic growth hormone-releasing hormone by neonatal monosodium glutamate treatment reveals an inhibitory effect of betamethasone on growth hormone secretion in adult rats. *Neuroendocrinology* 1990; 51(1): 85-92
41. Nagata M, Suzuki W, Maruyama H, Takeda S, Aburada M, Miyamoto K. Type 2 diabetes mellitus in obese Mouse model induced by monosodium glutamate. *Exp Anim.* 2006 Apr; 55(2): 109-15
42. Toth L, Karscu S, Feledi J, Kreutzberg GW. Neurotoxicity of monosodium L-glutamate in pregnant and fetal rats. *Acta Neuropathol.* 1987; 75(1): 16-22
43. Bojanic V, Bojanic Z, Najman S. Diltiazem prevention of toxic effects of monosodium glutamate on ovaries in rats. *Gen Physiol Biophys.* 2009; 28 Spec No: 149-54
44. Özbenli T. Patogenezi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi* 1994; 11(1): 59-66
45. Pavlovic V, Pavlovic D, Kocic G, Sokolovic D, Jevtovic-Stoimenov T, et al. Effect of monosodium glutamate on oxidative stress and apoptosis in rat thymus. *Mol. Cell, Biochem.* 2007; 303: 161-166

46. Zhang N, Huan Y, Huang H, Song GM, Sun SJ, Shen ZF. Atorvastatin improves insulin sensitivity in mice with obesity induced by monosodium glutamate. *Acta Pharmacologica Sinica* 201; 31: 35-42.
47. Olney JW, Ho OL. Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cystein. *Nature* 1970; 227: 609-11.
48. Kubo T, Kohira R, Okano T, Ishikawa K. Neonatal glutamate can destroy the hippocampal CA1 Structure and impair discrimination learning in rats. *Brain Res* 1993; 616: 311-14
49. Bergen HT, Mizuno TM, Taylor J. Hyperphagia and weight gain after gold-thioglucose and monosodium glutamate: relation to hypothalamic neuropeptide. *Y. Endocrin* 1998; 139: 4483-4488
50. Mozes S, Sefcikova Z, Lenharde L, Raeeck L. Obesity and changes of alkaline phosphatase activity in the small intestine of 40-80-day old subjects to early postnatal overfeeding of monosodium glutamate. *Physiol. Res.* 2004; 53: 177-186.
51. Walker R, Lupien JR. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J. Nutr.* 2000; 130 (4S suppl): 1049-1052
52. Olney J. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969; 164: 719-721.
53. Dündar Y, Aslan R. Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 1999; 9: 1-39
54. Sheppard D, Lampiris HW. Antifungal agents. Katzung BG(eds). *Lange Basic & Clinica Pharmacology* (8 th). Mc Graw –Hill New York 2001; 814-822
55. Bennet JE. Antimicrobial agents. Molinioff PB, Ruddon RW. (eds). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of therapeutics* (9th). Mc Graw –Hill New York 1996; 1175-1190
56. Coşkun O, Armutçu F, Kanter M, Kuzey GM. Protection of endotoxin-induced oxidative renal tissue damage of rats by vitamin E or/and EGb 761 treatment. *J Appl Toxicol.* 2005; 25(1): 8-12
57. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 2006; 36: 327-358

58. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91: 31-38
59. Floyd RA. DNA damage and repair in *Oxidative Damage and Repair*. Davies KJA. Ed. Pergamon Press 1992; 32; 175-180
60. Natio Y, Lee MC, Kato Y, Nagai R, Yonei Y. Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine* 2010; 7(5): 36-44
61. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 1-75
62. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 1988; 63: 381-389
63. Çam H. Sıçanlarda aspirin ile uyarılan gastritin önlenmesinde kafeik asit fenetil esterinin etkinliğinin araştırılması. Doktora tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi 2007.
64. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York, USA, Oxford University Press 2000: 534-537
65. De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 202-226
66. Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis free radicals and aging. *Free Radical Biology and Medicine* 2002; 33: 29-36
67. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer RF, Limson J, Weintraub ST et al. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin transformation. *Free Rad Biol Med* 2000; 29: 1177-85
68. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Review*, 2000; 32: 307-326
69. Meagher EA, Fitzgerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000; 28: 1745-1750

70. Eken A. Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. İçinde: Yücel O, Genç O. (Editörler). Küçük Deney Hayvanlarından Rat, Ankara, Journal of Clinical and Analytical Medicine Kitap Serisi, 2012; 69-73
71. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonun klinik önemi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2004; 35: 140-149
72. Gitto E, Pelligroni S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ. Oxidative stres of the newborn in the pre and postnatal period and the clinical utility of melatonin. J.Pineal Res.2009; 46: 128-139
73. Gilbert DL, Colton CA. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach. Mc Graw –Hill New York 2002; 856-867
74. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol 2005; 29; 4(1): 5
75. Halliwell B. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase: solutions to the problem of lung with oxygen. New Phytol 1974; 73: 1075-1086
76. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2004; 13: 56-65
77. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. Sports Medicine (Auckland, N.Z.) 2006; 36: 327-358
78. Parke DV. Nutritional Antioxidants and Disease Prevention; Mechanism of Action. In: Antioxidants in Human Health and Disease, Basu TK, Temple NJ, Garg ML. (Editors). UK: CABI Publishing, 1999
79. Nishikimi M, Fukuyama R, Minoshima S, Shimizu N, Yagi K. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. The Journal of Biological Chemistry 1994; 269: 13685–13688
80. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chemistry and Physics of Lipids 1987; 45: 337–351

81. Van Bebber IP, Boekholz WK, Goris RJ, Schillings PH, Dinges HP, Bahrami S, Redl H, Schlag G. Neutrophil function and lipid peroxidation in a rat model of multiple organ failure. *The Journal of Surgical Research* 1989; 47: 471–475
82. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress. a review, *Canadian Journal of Applied Physiology* 2004; 29: 245-263
83. Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis free radicals and aging. *Free Radical Biology and Medicine* 2002; 33: 29–36
84. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 38: 1103-11
85. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 277-285
86. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13: 56-65.
87. Şıktar E. Farklı Oda Sıcaklıklarında Uzun Süre Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Isı Stresinin Serbest Radikal ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi. Doktora Tezi , Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2008
88. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med*. 1997, 336: 186-195
89. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958; 80: 2587
90. Palaoğlu ÖS, Beşkonaklı E. Pineal bez ve yaşlanma. *Geriatrici* 1998; **1(1)**: 13-18
91. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J Med Biol Res* 1993; 26: 1141-1155
92. Ataş M. Diabetik Ratlarda retina lipit peroksidasyonu üzerine melatoninin etkisi. Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ 1998
93. Mert Y. İnsanda Melatonin, T3, T4 düzeyleri ve eksojen melatoninin serum T3 ve T4 düzeylerine etkileri. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne 2001

94. Yıldırım N. Bronşial astmalı hastalar ile sağlıklı bireylerde melatonin, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeyleri ve lateralite ile ilişkilerinin Araştırılması. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta 1999
95. Aydoğdu N. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinde eksojen melatoninin böbrek fonksiyonuna etkisi. Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne 2003
96. Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. Genel Tıp Dergisi 2009; **19(3)**: 137-143
97. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Paredes SD, Mayo C, Sainz RM. Melatonin and reproduction revisited. *Biology of reproduction* 2009; **81**: 445-456
98. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57-60
99. Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. *J Pineal Res* 1998; 24: 96-101
100. Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J* 1996; 10: 891-896
101. Amamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *J Pineal Res* 1996; 21: 108-113
102. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1265-1272
103. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444- 458
104. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D-X. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 199; 17: 347-357

105. Bettahi I, Guerrero JM, Reiter RJ, Osuna C. Physiological concentrations of melatonin inhibit the norepinephrine-induced activation of prostaglandin E2 and cyclic AMP production in rat hypothalamus: a mechanism involving inhibition of nitric oxide synthase. *J Pineal Res.* 1998; 25:34-40
106. Reiter RJ. Melatonin: Clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003;17:273-285
107. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 1988; 29: 205-229
108. Guyton AC, Hall JE. *Medical Physiology.* Çeviri; Çavusoglu H, Çağlayan Yegen B. Nobel Matbaacılık. İstanbul 2007; 455-458
109. Fung YC, *Biomechanics, Mechanical Properties of Living Tissues.* Springer-Verlag, Berlin 1993; 328-330
110. Noyan A. *Fizyoloji Ders Kitabı, 2. Baskı,* Ankara, Meteksan Baskı Tesisleri, 1992; 323-336,445-446.
111. Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N, et al. Enhancement of red blood cell aggregation by plasma triglycerides, *Clin Hemorheol Microcirc* 2001; 24: 247-255
112. Kathukhin LN, Kazennov AM, Maslova MN, et al. Rheologic properties of mammalian erythrocytes: relationship to transport ATPases. *Comp Biochem Phys* 1998; 120: 193-498
113. Noyan A. *Fizyoloji, 6. baskı.* Ankara: Meteksan, 1989: 669
114. Bhagavan NV. *Biochemistry, 2. baskı.* Philadelphia: JB Lippincott Company, 1979: 198, 721
115. Hekimler Birliği Vakfı: *Sodeman's Fizyopatoloji.* Türkiye Klinikleri Yayınevi Güner Matbaası, Ankara 1992: 1149-1163
116. Öbek A. *İç Hastalıkları.* Güneş Yayınevi, İstanbul 1990: 46-89
117. Rahmani-Jourdhevil D, Mourayre Y, Vague P, Boyer J, Juhan-Vague I. In vitro insulin defect on ATPase activities in erythrocyte membrane from insulin dependent diabetics. *Diabetes* 1987; 36: 991-95

118. Terziođlu M, Candan G, řahin G, Dursun ř, Yiđit G, Sipahiođiu F. Glikosillenmiř hemoglobinin (HbGle) dűzeyine gűre gruplandırılmıř Tip I diabetiklerde 2.3 DPG, kan gazları ve asid baz denge parametreleri arasındaki iliřkilerin incelenmesi. Diabet Yıllıđı 1988; 6: 72-81
119. Lozoff B, Brittenham GM, Wolf AW, et al. Iron deiciency Anemia and iron therapy effects on infant developmental test performance pediatrics 1987; 79; 981-95
120. Benesch R, Benesch RE. Intracellular Organik phosphates as regulators of oxygen release by hemoglobin. Nature 1993; 221: 618-622
121. Luque J, Diedreich D Gnsolia S. Binding of 2,3-DPG to oxyhemoglobin. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 36: 1019-1023
122. Martin DW. The Chemistry of Respiration, Martin W, Mayes PA, Rodwell, VW ve Granner DK. Harper's Review of Biochemistry, Los Altos, Lange Medical Publications 1995; 610-620
123. Baskurt OK. Hemoreolojide temel ve kavramlar, 2. Ululas Tromboz, Hemostaz ve Anjioloji Kongresi Bildiri Kitabı, The Marmara Hotel, İstanbul, 07-08 Kasım 2001; 33-42.
124. Seaman GV, Swank RL. The influence of electrokinetic charge and deformability of the red blood cell on the flow properties of its suspensions. Biorheology 1997; 4: 47-59
125. Dima-Roy AK, Ray TK, Sinha AK. Control of erythrocyte membrane microviscosity by instilin. Biochim. Biophys Acta. 1985; 816; 187-90
126. Menleř G, Erűz B. Harper'in Biyokimyası. İR arış Yayınevi İstanbul 1986; 687-713
127. Jain SK, Levine SN, Duett J, Hollier B. Elevated lipid peroxidation levels in red blood cells of streptozotocin treated diabetic rats. Metabolism 1990; 39: 971-5
128. Shin S, Ku Y, Park MS, et al. Measurement of red cell deformability and whole blood viscosity using laser-diffraction slit rheometer. Rheology 2004; 16: 85-90
129. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford Science Publications, 2001: 22-24

130. Öbek A. İç Hastalıkları. Güneş Yayınevi, İstanbul 1990: 46-89
131. Şimşek G. Eritrosit membranının yapısı ve eritrosit membran bozuklukları. Trakya Ü. Tıp Fak. Der. 1995; 12: 281-286
132. Devehat C, Vimeux M, Bondoux G, Khodabandehlov T. Red blood cell aggregation in diabetes mellitus. İm. Angiol. 1990; 9: 11-15
133. Nehal M, Venugopal P and Baquer N'Z. Changes in the lipid composition of red blood cells in hyperglycemic rats. Biochra İnt 1990; 22: 243-8
134. Bono A, Laimi G. Cataina A, Sarno A, Pandolfo L. Red cell peroxide metabolism in diabetes mellitus. Horm Metabol. Res 1987; 19: 264-66
135. Dima-Roy AK, Ray TK, Sinha AK. Control of erythrocyte membrane microviscosity by instilin. Biochim. Biophys Acta. 1985; 816: 187-90
136. Moore RD. Effects of insulin upon ion transport, Biochim Biophys. Acta. 1983; 737; 1-49.
137. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Spraul AD, Conti M. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 2000 ; 3 : 373-384
138. Kuypers FA. Red cell membrane damage. J Heart Valve Dis. 1998 ; 7: 387-395
139. Sivilotti ML. Oxidant stress and haemolysis of the human erythrocyte. Toxicol Rev. 2004; 23: 169-188
140. Yerer MB, Yapıslar H, Aydoğan S, Yalcin O, Baskurt O. Lipid peroxidation and deformability of red blood cells in experimental sepsis in rats: The protective effects of melatonin. Clin Hemorheol Microcirc. 2004; 30: 77-82
141. Mates JM, Perez-Gomez C, Castro IN. Antioxidant enzymes and human disease. Clin Biochem 1999; 32: 595-603
142. Blakely WF. Hydrogen peroxide induced base damage in DNA. Ratiat Res 1990; 121: 338-343
143. Walter T. Effect of Iron-Deficiency Anaemia on Cognitive Skills in Infancy and Childhood. Bailli Eres Clinical Haematology. 1994; 7: 815-827
144. Merrill EW. Rheology of blood. Physiol Rev 1969; 49: 863-888

145. Stoltz JF, Singh M, Riha P. Hemorheology in Practise. Netherlands: IOS Press 1999: 1116
146. Rampling MW. Red cell aggregation and yield stres. In: Low GDO, ed. Clinical Blood Rheology. Boca Raton: FL:CRC Press, 1988; 1-64
147. Lowe GDO, Barbenel JC. Plasma and blood viscosity. In: Lowe GDO, eds. Clinical Blood Rheology. Vol 1. Boca Raton:CRC Press 1988: 11-44
148. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. Semin Thromb Hemost 2003; 29: 435–450.
149. Dintenfass L, Lake B. Exercise fitness, cardiac work and blood viscosity factors in patients and normals. Eur Surg Res 1976; 8: 174-184
150. Lowe G, Rumley A, Norrie J, Ford I, Shepherd J, Cobbe S, Packard C. Blood rheology, cardiovascular risk factors, and cardiovascular disease: the West of Scotland Coronary Prevention Study. Thrombosis and haemostasis 2000; 84: 553-558
151. Pehlivan F. Biyofizik. Hacettepe–Taş Kitapçılık Kırtasiye, Elektronik Ticaret Ltd. Şti., Ankara 1997, 223- 250
152. Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. Biochemistry, çeviri editörü Altan N. 6. baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara 2000; 46-50
153. Baskurt OK. Rheologic properties of blood.Doğa-Tr.J.of Medical Sciences 1990; 14: 433-437.
154. Gapinska, AM, Jaroszyk, F, Elikowski, W, Kubisz, L. The effect of acetylsalicylic acid and acenocoumarin on rheological properties of blood studied on patients after myocardial infarction. Current Topics in Biophysic 2004; 28; 3-8
155. Reinhart WH. Hemorheology: blood flow hematology. Schweiz Med Wochenschr 1995; 125: 387–95
156. Aji DY. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Besin Zehirlenmeleri Sempozyumu,1998; 153-162

157. Moreno G, Perelló Gaillard RC, Spinedi E. Orexin stimulates hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function, but not food intake, in the absence of full hypothalamic NPY-ergic activity. *Endocrine* 2005; 26: 99-106
158. Chaparro-Huerta V, Rivera-Cervantes MC, Torres-Mendoza BM, Beas-Zarate C. Neuronal death and tumor necrosis factor- α response to glutamate-induced excitotoxicity in the cerebral cortex of neonatal rats. *Neurosci. Lett* 2002; 333: 95-98
159. Sözmen EY, Onat T, Tanyalçın T, Erilaçın S. Eritrositlerin antioksidan enzimlerde yaşa bağlı değişiklikler. *Biyokimya Dergisi*. 1993; 18(3): 83-89
160. Das SK, Nair RC. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *Br J Haematol* 1980; 44:87-92,
161. Libudzisz Z, Paitkiewicz A: Kefir production in Poland. *Dairy Industries International* 1990; 55(7):31 -33
162. Copley AL. Fluid mechanics and biorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 1990;10: 3-19
163. Mchedlishvili G. Basic factors determining the hemorheological disorders in the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 30: 179–180
164. Stuart J, Nash GB. Red cell deformability and haematological disorders. *Blood Rev.* 1990; 4: 141-147
165. Mohandas N, Chasis JA, Shohet SB. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape. *Semin Hematol* 1983; 20: 225-242
166. Ashaolu JO, Ukwanya VO, Okonoboh AB. Effect of monosodium glutamate on hematological parameters in Wistar rats. *International Journal of Medicine and Medical* 2011; 3(6): 219-222
167. Ogunyemi IO, Tola M, Ojokuku AS, Odesanmi OS. Haematological effect of ethanolic extract of *Uvaria chamae* on monosodium glutamate (MSG)-induced toxicity in sprague-dawley rats. *Annals of Biological Research* 2015; 6 (7): 17-22

168. Hellen DBM, Areas MA, Borelli P, Reyes FGR. Evaluation of Biochemical, Hematological and Histological Parameters in Non Diabetic and Diabetic Wistar Rats. Fed with Monosodium Glutamate Food and Nutrition Sciences 2013; 4: 66-76
169. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford Science Publications 2000; 157-162
170. Altınova A, Aktürk M, Törüner F, Arslan. Type I Diabetes Mellitus and Insulin Resistance: Review. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 2007; 27: 406-412
171. Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. Clin. Sci (Lond) 2005; 109: 143-59
172. Thang J, Kusaka I, Massey A, Rollins S, Zhang J. Increased RhoA translocation in aorta of diabetic rats. Acta Pharmacol Sin 2006; 27 (5): 543-548
173. Sarkar S., Yadav P., Bhatnagar D. Cd Induced Lipid Peroxidation and The Antioxidant System In Rat Erythrocytes: Role Of Antioxidants. J. Trace Elem. Med. Biol 1997; 11: 8–13
174. Ibrahim OMS, Abdulhamza NN, Abbass HK: Some Hematological and Histological Impact of sub-acute exposure to Mono Sodium Glutamate in Mice Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference, 2012; 127-131
175. Elatrash AM, Abd El-Haleim SZ. Protective Role of Ginkgo biloba on Monosodium Glutamate: Induced Liver and Kidney Toxicity in Rats. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 2015; 6(1): 1433-1441
176. Singh P, Mann KA, Mangat HK, Kaur G. Prolonged glutamate excitotoxicity: effects on mitochondrial antioxidants and antioxidant enzymes. Mol. Cell Biochem. 2003; 243(1-2): 139-145.
177. Rohmawati W, Istiananingsih Y, Nurdiana N, Barlianto W, Dwijayasa PM. Vitamin C-E and Monosodium Glutamate-Induced Ovarian Toxicity. Cukurova Medical Journal 2014; 39 (3): 517-524

178. Madiha AA, Hala FA, Ebtessam MMG. The Possible Ameliorative Effect of Propolis in Rat's Liver Treated with Monosodium Glutamate (MSG). *Nat Sci* 2012; 10(12): 209-219
179. Ahluwalia P, Malik VB, Studies on effect of monosodium glutamate (MSG) on various fractions of lipids and certain carbohydrate metabolic enzymes in liver and blood of adult male mice. *Toxicol Lett.* 1994 Oct; 74(1): 69-77
180. Campbell PN, Smith AD. *Biochemistry illustrated*, 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1988: 186
181. Mayes PA. Glycolysis and the oxidation of pyruvate. In: Harper PA, Rodwell VW, Mayes PA. *Review of physiological chemistry*. Lange Medical Publication, 1990; 199: 163-7
182. Danishefsky I. *Biochemistry of medical sciences*. Boston: Little Brown and Company, 1978;184: 468
183. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nut.* 1993; 57(Suppl): 715S-25
184. Yerer MB, Aydoğan S. Oksidatif Stres Ve Antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2000;1: 49-53
185. Shagirtha K, Muthumanı M, PRABU SM. Melatonin abrogates cadmium induced oxidative stress related neurotoxicity in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2011; 15: 1039-1050
186. Bhatti GK, Sidhu IPS, Bhatti JS. Protective Effect of Melatonin Against Malathion Induced Alterations in Antioxidant Defense System and Morphology of Erythrocytes in Wistar Rats. *Journal of Basic & Applied Sciences* 2013; 9: 438-446

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Suat ŞAHİN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 20 Eylül 1977, Kayseri

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 312 210 22 92

Fax:

email: suattaz@hotmail.com

Yazışma Adresi: Kayseri İl Milli Eğitim Müdürlüğü ARGE Birimi

Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü	Devam ediyor
Lisans	KTÜ Biyoloji Öğretmenliği	1999
Lise	Kayseri Lisesi	1994

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2002- Halen	Kayseri İl Milli Eğitim Müdürlüğü	Biyoloji Öğretmeni

YABANCI DİL

İngilizce