

**RATLARDA GEBELİK SÜRESİNCE UYGULANAN
AKRİLAMİDİN FETAL BEYİN GELİŞİMİNE ...**

Mehmet Erman ERDEMLİ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
2. Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr Zümrüt DOĞAN
Doktora Tezi - 2015

**T.C. İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA GEBELİK SÜRESİNCE UYGULANAN AKRİLAMİDİN FETAL
BEYİN GELİŞİMİNE ETKİLERİNİN ve E VİTAMİNİ'NİN KORUYUCU
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

**Mehmet Erman ERDEMLİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

Danışman

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ

2. Danışman

Yrd. Doç. Dr Zümrüt DOĞAN

**Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 2015/92 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA - 2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Mehmet Erman ERDEMLİ'nin "Ratlarda Gebelik Süresince Uygulanan Akrilamidin Fetal Beyin Gelişimine Etkilerinin ve E Vitamininin Koruyucu Rolünün Araştırılması "** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/11/2015



Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Jüri Başkanı



Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU
Fırat Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Süleyman AYDIN
Fırat Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN
İnönü Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ
İnönü Üniversitesi
Üye



ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../2015 tarih ve 2015/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ratlarda sinir sisteminin kökeni ve anatomik yapısı	3
2.2. Nörotrofik faktörler	4
2.2.1. Beyin-Kökenli Nörotrofik Faktör (BDNF).....	4
2.2.1.1. BDNF etki mekanizması.....	5
2.2.1.2. Oksidatif stressin BDNF üzerine etkileri	6
2.3. Akrlamidin tarihçesi ve kimyasal yapısı.....	7
2.3.1. Akrlamidin kimyasal olarak oluşumu.....	9
2.3.2. Akrlamidin gıdalarda oluşumu.....	10
2.3.3. Akrlamidin gıdalarda bulunuşu.....	12
2.3.4. Besinlerin işlenmesi sırasında oluşan akrlamidi azaltma yolları	14
2.3.5. Akrlamidin toksik etkileri	15
2.3.6. Akrlamidin fetal hayat üzerindeki etkileri	15
2.4. E vitamini'nin tarihçesi ve kimyasal yapısı	17
2.4.1. E vitamini'nin metabolizması	17
2.4.2. E vitamini' nin antioksidan etki mekanizması.....	18
2.4.3. E vitamini'nin nöroprotektif etkisi.....	19
2.4.4. E vitamini içeren gıdalar.....	20
2.5. Tez çalışmasına dahil edilen parametreler hakkında genel bilgi	21
2.5.1. Glutatyon metabolizması	21
2.5.2. Lipid peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA).....	24

3. MATERYAL ve METOT	26
3.1. Hipotez	26
3.2. Araştırma tipi	26
3.3. Araştırma evreni ve örneklem büyüklüğü	26
3.4. Deney grupları.....	26
3.5. Değerlendirme yöntemi.....	28
3.5.1. Morfolojik yapı ve Gelişim parametreleri değerlendirme yöntemi	28
3.5.2. Histolojik değerlendirme yöntemi.....	28
3.5.3. Biyokimyasal analizler.....	29
3.5.3.1. Dokuların biyokimyasal analizlere hazırlanması	29
3.5.3.2. Redükte Glutasyon düzeylerinin ölçümü	29
3.5.3.3. Malondialdehit düzeylerinin ölçümü	29
3.5.3.4. Total Oksidan Kapasite düzeylerinin ölçümü	30
3.5.3.5. Total Antioksidan Kapasite düzeylerinin ölçümü.....	30
3.5.3.6. BDNF düzeylerinin ölçümü.....	30
3.5.4. İstatiksel Analizler	31
4. BULGULAR	32
4.1. Morfolojik yapı ve Gelişim parametrelerinin değerlendirilmesi	32
4.1.1. Grupların gelişim parametrelerine ait bulgular	35
4.1.2. Grupların fetus ağırlıklarının karşılaştırılması	36
4.1.3. Grupların CRL mesafelerinin karşılaştırılması	37
4.1.4. Grupların plasenta ağırlıklarının karşılaştırılması.....	37
4.1.5. Grupların fetal beyin ağırlıklarının karşılaştırılması.....	38
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	40
4.2.1. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	41
4.2.2. Grupların GSH düzeylerinin karşılaştırılması.....	42
4.2.3. Grupların TOK düzeylerinin karşılaştırılması.....	43
4.2.4. Grupların TAK düzeylerinin karşılaştırılması.....	44

4.2.5. Grupların BDNF düzeylerinin karşılaştırılması.....	45
4.3. Histolojik Bulgular.....	46
4.3.1. Kontrol grubuna ait histopatolojik bulgular.....	47
4.3.2. Mısır yağı grubuna ait histopatolojik bulgular.....	48
4.3.3. Akrilamid grubuna ait histopatolojik bulgular.....	49
4.3.4. E vitamini grubuna ait histopatolojik bulgular.....	50
4.3.5. Akrilamid + E vitamini grubuna ait histopatolojik bulgular.....	51
5. TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR	63
EK 1: ÖZGEÇMİŞ.....	75
EK 2: Çalışmada kullanılan fetuslara ait ağırlık, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlık ölçüm sonuçları.....	76
EK 3: Etik kurul onayı.....	78

TEŐEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasından sonlandırılmasına kadar, çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteklerini esirgemeksizin beni yönlendiren danışman hocam Tıbbi Biyokimya A.D Başkanı Prof. Dr. Yusuf TÜRKOZ'e, 2. danışmanım Yard. Doç. Dr. Zümrüt DOĞAN'a,

İstatistiksel analizler konusundaki desteklerinden dolayı Yard. Doç. Dr. Harika GÖZÜKARA BAĞ'a, histolojik analizler sırasında yardım ve desteklerinden dolayı Yard. Doç. Dr Ebru ELİBOL'a,

alışmalar sırasında benden yardımını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan memnuniyet duyduğum; Tıbbi Biyokimya asistan ve tüm çalışanlarına, bu projeye maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığına içtenlikle teőekkür ederim.

Yaşamımın her alanında ve her anında olduğu gibi eğitim hayatımda da destek ve sabırlarını esirgemeyen başta babam Prof. Dr A. Ümit ERDEMLİ ve aileme de teőekkür etmeyi bir borç bilirim.

ÖZET

Ratlarda Gebelik süresince uygulanan akrilamidin fetal beyin gelişimine etkilerinin ve E vitamini'nin koruyucu rolünün araştırılması

Giriş ve Amaç: Gıdaların yüksek sıcaklıklarda kızartılması ve fırınlanması sonucu bol miktarda akrilamid oluşmakta ve insanlar bu gıdaları tüketerek her gün belli miktarlarda akrilamid almaktadırlar. Gebe kadınlarda gebelik boyunca gıda kaynaklı akrilamide maruz kalmakta ve bebekleri muhtemelen bundan etkilenmektedir. Bu çalışma ile gebelik süresince sıçanlara verilen akrilamidin fetal beyin gelişimi ve beyin-kaynaklı nörotrofik faktör sentezi üzerine etkileri ortaya konularak akrilamidin nörotoksik etki mekanizması açıklığa kavuşturulmaya çalışıldı. Güçlü bir antioksidan ve nöroprotektif ajan olan E vitamininin; akrilamidin fetal beyinde meydana getireceği bu muhtemel zararlara karşı koruyucu etkileri test edildi.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde üretilen 250 gr ağırlığında 40 adet genç dişi Wistar albino türü rat kullanıldı. Bu araştırma için, İnönü üniversitesi tıp fakültesi deney hayvanları etik kurulundan etik onay alınmıştır (Onay no: 2015/ A-21). Ratlarda gebelik oluşturuldu. Gebe ratlar; Kontrol, Mısır yağı, E vitamini, Akrilamid, E vitamini+Akrilamid olmak üzere her bir grupta 8 gebe dişi olmak üzere 5 farklı gruba ayrıldı. Gebelikleri vajinal smear testi ile doğrulandı. Akrilamid çözeltisi çeşme suyunda, E vitamini çözeltisi ise mısır yağında hazırlanmıştır. Gebeliğin 1-20. günleri arasında: akrilamid ve E vitamini+akrilamid grubu ratlara 5 mg/gün/kg canlı ağırlık olacak şekilde akrilamid, E vitamini ve E vitamini+akrilamid grubu ratlara 100 mg/gün/kg canlı ağırlık olacak şekilde E vitamini ve mısır yağı grubu ratlara mısır yağı oral gavaj ile verildi. Ratlar deney süresi boyunca ad-libitum beslendiler. Gebeliğin 20. gününde fetuslar sezeryan ile alındı. Tüm gruplardan sezeryanla elde edilen fetusların morfolojik gelişim parametreleri ölçüldü. Fetal beyin dokularında lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid, redükte

glutasyon, total antioksidan kapasite, total oksidan kapasite, Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör düzeyleri analiz edildi ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubu verileri ile deney grubu verileri karşılaştırıldığında; akrilamid uygulanan grubun fetuslarının morfolojik gelişim parametrelerinin ciddi derecede bozulduğu, fetusların beyin dokularında malondialdehid, total oksidan kapasite seviyelerinin önemli derecede arttığı, beyin-kaynaklı nörotrofik faktör, redükte glutasyon ve total antioksidan kapasite seviyelerini ise azaldığı, histopatolojik bulgu olarak nöronlarda önemli derecede dejenerasyon ve hemorajik hasarların meydana geldiği tespit edilmiştir. Gebe ratlara E vitaminin akrilamidle beraber uygulanması ile, akrilamidin önemli derecede bozduğu fetal morfolojik gelişim parametrelerini önemli derecede düzelttiği, fetal beyin dokusunda malondialdehid, total oksidan kapasite düzeylerini önemli derecede düşürdüğü; beyin-kaynaklı nörotrofik faktör, redükte glutasyon ve total antioksidan kapasite seviyelerini ise önemli derecede artırdığı ve tüm bunların sonucu olarak fetus beyin dokusunda meydana gelen histopatolojik doku hasarlarını önemli derecede geriletmediği ortaya konulmuştur.

Sonuç: Günümüzde fast- food kültürünün ülkemizde de yaygın hale gelmesi sebebiyle gıda kaynaklı akrilamid toksisitesinden korunmak için insanların ve gıda kaynaklı akrilamidin fetus gelişimi üzerinde meydana getireceği muhtemel toksik etkileri en aza indirmek için gebe kadınların koruyucu olarak E vitamini içeren gıdaları günlük olarak yeterince tüketmesini tavsiye ediyoruz.

Anahtar kelimeler: Sıçan, Gebelik, Akrilamid, E vitamini, Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör, Oksidan ve Antioksidan Parametreler, Histopatoloji

ABSTRACT

Investigation of the effects of acrylamide applied during pregnancy on fetal brain development in rats and the protective role of the vitamin E

Introduction and Purpose: A liberal amount of acrylamide is produced as a result of frying or baking foods in high temperatures and individuals take certain amounts of acrylamide everyday by consuming these food items. Pregnant women are also exposed to acrylamide originating from food during pregnancy and their babies are probably affected. This study would attempt to determine the effects of acrylamide applied to rats during pregnancy on fetal brain development and brain-derived neurotrophic factor synthesis, hence to identify the neurotoxic mechanism of action of acrylamide, and would test the protective effects of the vitamin E, which is a powerful antioxidant and neuroprotective agent, against the possible damage that acrylamide would cause in the fetal brain.

Materials and Methodology: 40 young female Wistar albino rats weighing 250 grams each that were bred in İnönü University, Faculty of Medicine, Experimental Animals Breeding and Research Center were used in the study. For this research, it was taken ethical approval from the experimental animals ethics committee of Inonu University Faculty of Medicine, Malatya, TURKEY (Approval no: 2015/ A-21). (The rats were made pregnant). The rats were divided into five different groups of control, corn oil, vitamin E, acrylamide, and vitamin E + acrylamide with 8 pregnant rats in each group. 100 mg/kg/day body weight vitamin E dissolved in corn oil with oral gavage; 5 mg/kg/day body weight acrylamide dissolved in drinking water with oral gavage were administered to the 40 pregnant rats, which were determined as pregnant (+) by vaginal smear test, during the 1-20th days of the pregnancy. Rats were fed ad libitum during the experiment. On the 20th day of pregnancy, fetuses were removed using Caesar section. Morphological development parameters of the fetus obtained by Caesar section from all groups were measured. The levels of malondialdehyde (end-product of lipid peroxidation), reduced glutathione, total antioxidant capacity, total oxidant capacity, and brain-

derived neurotrophic factor were analyzed and histopathological examinations were performed in brain tissue of the fetus obtained by Caesar section from all groups.

Findings: Comparison of control group and study group data identified that acrylamide application damaged fetal development by suppressing fetal development parameters; caused degeneration in neuron structures in fetal brain tissue and caused hemorrhagic damages; dramatically decreased BDNF levels; increased malondialdehyde, total oxidant capacity levels and decreased reduced glutathione, total antioxidant capacity levels. On the other hand, it was determined that the vitamin E, a neuro-protectant and a powerful antioxidant, suppressed the effects of acrylamide on fetal development and fetal brain tissue damage in the above mentioned parameters.

Result: It is recommended to consume food containing vitamin E as a protection to minimize the toxic effects of food-oriented acrylamide on fetus development due to the widespread nature of fast-food culture in Turkey in today's life and the impossibility of protection from acrylamide toxicity.

Key words: Rat, Pregnancy, Acrylamide, Vitamin E, Brain-derived neurotrophic factor, Oxidant and Antioxidant Parameters, Histopatology

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- aa: Amino asit
ABD: Amerika Birleşik Devleti
AA: Akrilamid
ATP: Adenozin Trifosfat
BAD: Bcl-2 Associated Death Promotor Protein
Bcl-2: Apoptosis İle İlişkili Protein
BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BOS: Beyin Omurilik Sıvısı
CRL: Tepe Oturma Noktası Ölçümü
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
FAO: Birleşmiş milletler tarım ve gıda örgütü
FDA: Gıda ve ilaç dairesi
GSH: Redükte glutatyon
GSSG: Okside glutatyon
 γ -GT: Gama glutamil transpeptidaz
 γ -GCS: Gama glutamil sistein sentetaz
H• : Hidrojen Radikali
H₂O₂: Hidrojen peroksit
IARC: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
KPC: Kızarmış patates cipsi
MDA: Malondialdehit
NADP: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside)
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte)
NGF: Sinir Büyüme Hormonu
NO: Nitrik oksid
NT-3: Nörotrofin 3
NT-4: Nörotrofin 4
NOAEL: No observed adverse effect level
O₂: Singlet Oksijen
O₂• : Süperoksit Radikali
RNA: Ribonükleik Asit

ROO•: Lipid Peroksil Radikali

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOR: Serbest oksijen radikalleri

TAK: Total Antioksidan Kapasite

TOK: Total Oksidan Kapasite

TBA: Tiyobarbitürik asit

TÜBİTAK: Türkiye Bilimsel Araştırma Merkezi

WHO: Dünya sağlık örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizim.....	4
Şekil 2.2. Akrilamidin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.3. Maillard reaksiyonu ve akrilamid oluşumu.....	9
Şekil 2.4. Farklı moleküllerden akrilamid sentezi.....	10
Şekil 2.5. E vitamini'nin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.6. GSH'ın moleküler yapısı.....	21
Şekil 2.7. Glutasyon sentezi.....	23
Şekil 4.1. Kontrol grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü.....	32
Şekil 4.2. Mısır yağı grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü.....	33
Şekil 4.3. Akrilamid grubundaki 20 günlük fetusun hemorajlı görüntüsü.....	33
Şekil 4.4. E vitamini grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü.....	34
Şekil 4.5. Akrilamid + E vitamini grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü.....	34
Şekil 4.6. Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı.....	36
Şekil 4.7. CRL mesafelerinin gruplara göre dağılımı.....	37
Şekil 4.8. Plasenta ağırlıklarının gruplara göre dağılımı.....	38
Şekil 4.9. Beyin ağırlıklarının gruplara göre dağılımı.....	39
Şekil 4.10. Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	41
Şekil 4.11. Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	42
Şekil 4.12. Grupların TOK düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	43
Şekil 4.13. Grupların TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	44
Şekil 4.14. Grupların BDNF düzeylerinin dağılımı.....	45
Şekil 4.15. Kontrol grubu histolojik görüntüleri.....	47
Şekil 4.16. Mısır yağı grubu histolojik görüntüleri.....	48
Şekil 4.17. Akrilamid grubu histolojik görüntüleri.....	49
Şekil 4.18. E vitamini grubu histolojik görüntüleri.....	50
Şekil 4.19. Akrilamid + E vitamini grubu histolojik görüntüleri.....	51

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Amerikada sıklıkla tüketilen besinlerin akrilamid düzeyleri.....	12
Tablo 2.2. TÜBİTAK 'ın Türkiye' de çeşitli gıdalarda akrilamid tarama çalışması sonuçları.....	13
Tablo 2.3. Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği.....	20
Tablo 4.1. Grupların gelişim parametrelerine ait bulgular.....	35
Tablo 4.2. Grupların Biyokimyasal parametrelerine ait bulgular.....	40

1. GİRİŞ

Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi'nin (IARC 1994) akrilamidi (AA) 2A Grubu (İnsanlar için olası kanserojen) olarak sınıflandırmış olması dünyada akrilamidle ilgili çalışmaların artmasını sağlamıştır. İsveç Ulusal Gıda İdaresi (SNFA) ve Stockholm Üniversitesi tarafından 2002 yılı Nisan ayında yapılan bir basın açıklamasında “*KARBONHİDRATTAN ZENGİN GIDALARIN*” çeşitli kızarmış ve fırınlanmış gıdalarda KANSER oluşturma potansiyeline sahip bir kimyasal madde olan “AKRİLAMİD”in yüksek miktarlarda oluştuğunun tespit edildiğinin duyurulmasından sonra bu konuyla ilgili araştırmalar oldukça yoğunlaşmıştır. Çeşitli kimya endüstrisinde yaygın olarak kullanılan akrilamidin hayvanlar için nörotoksik, karsinojenik ve üreme sistemi için zararlı olduğu bilinmektedir. Gıdaların yüksek sıcaklıklarda kızartılması ve fırınlanması sonucu bol miktarda akrilamid oluşmakta ve insanlar bu gıdaları tüketerek her gün belli miktarlarda akrilamid almaktadırlar. Akrilamid plasentayı doğrudan geçip pre ve postnatal gelişim sırasında kemiriciler üzerinde hasarlara da yol açabilmektedir. Gebe kadınlarda gebelik boyunca gıda kaynaklı akrilamide maruz kalmakta ve bebekleri muhtemelen bundan etkilenmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda akrilamidin oluşum mekanizması, insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, gıda kaynaklı akrilamid oluşumunu azaltma yolları hakkında çeşitli bulgular elde edilmiştir. Ancak hala akrilamidin insan sağlığı üzerindeki muhtemel etkileri tam olarak bilinmemektedir.

E vitamini, serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı hücreleri koruyan güçlü bir antioksidan olup bunu serbest radikalleri daha az reaktif bileşiklere dönüştürerek sağladığı ifade edilmektedir. Antikarsinojenik ve nöroprotektif etkileri araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Aynı zamanda E vitaminin hücre proliferasyonu, inflamasyon ve hücre adezyonlarını azaltıcı yönde etki gösterdiği de ortaya konulmuştur. E vitamini plasentayı kolaylıkla geçerek fetusların beyin dokusuna giriş yapabilmektedir.

E vitamini, serbest radikaller tarafından hücrelerin yağ fazında meydana gelen oksidatif stresi engelleyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Özellikle beyin; antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeni ile oksidatif strese

karşı oldukça hassastır ve E vitamini gibi güçlü antioksidanların koruyucu etkisine ihtiyaç duymaktadır.

Bu araştırmada; gebelik boyunca akrilamide maruz kalan ratların fetuslarının beyinlerinde meydana gelen akrilamid kaynaklı gelişimsel hasarların araştırılması ve akrilamidin muhtemel nörotoksik etkilerine karşı E vitamini'nin koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

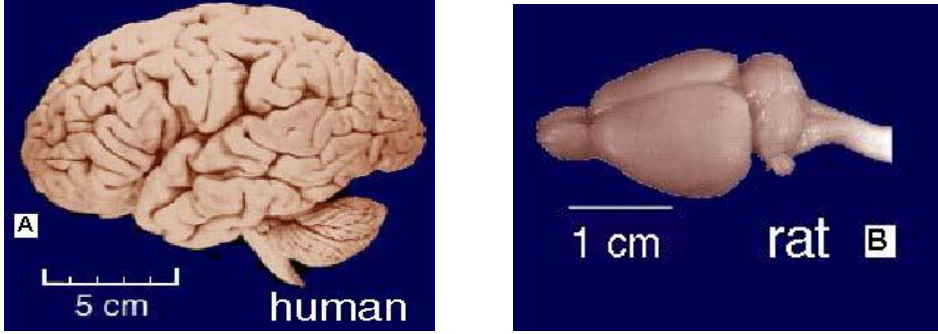
2.1. Ratlarda sinir sisteminin kökeni ve anatomik yapısı

Araştırmacı Galenin ilk denemelerinden bugüne deneysel çalışmalar klinik hekimliğe yol gösterici olmuştur. Tüm laboratuvar hayvanları arasında ise rodentler (kemirgenler) biyomedikal araştırmalar için en çok tercih edilen hayvanlardır (1, 2). İnsanın ve ratın embriyonik gelişimi arasındaki en önemli fark gebelik süresidir. Bu süre ratlarda 21–22 gün, insanlarda ise yaklaşık 267 gündür. Fertilizasyon ve blastula safhasında benzerlik göstermektedir (3). Ratlarda fetal hayatın 8-14. günleri organogenez dönemi olarak bildirilmiştir (4).

Ratlarlarda somit oluşumu 9. günün sonunda ve 10. günde başlar ve her gün yeni somitlerin ilave olmasıyla artarak 16. günde tamamlanır. Yaklaşık 65 somitin, 4'ü oksipital, 8'i servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral, 30'u kaudal bölgede bulunur (5). Ratlarda karakteristik olarak spinal cord, dorsal yarığın alt kısımlarında pyramidal şekilli kortikospinal iplikler içerir. Öte yandan, rat omuriliğinin organizasyonu diğer memeli türleri ile benzerdir ve 8 servikal, 13 torakal, 6 lumbal ve 4 sakral segmentten oluşur. Erişkin bir erkek ratta 113–125 mm uzunluğunda yaklaşık 0,7 gr ağırlığındadır (6, 7). Rat embriyosu yaklaşık 13 günlükken bütün organlarının belirgin olduğu bildirilmiştir (5). Ratlarda da tıpkı insanlarda ki gibi beyin; ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon- midbrain) ve arka beyin (rhombensefalon-hindbrain) oluşturacak şekilde bölümlere ayrılır. Beynin en büyük kısmı olan ön beyin, diensefalon ve telensefalon olarak iki alt bölümde incelenir. İki büyük serebral hemisferden oluşan telensefalon beynin en büyük kısmını oluşturur ve erişkin bir ratta 278 mm² kadar yüzey alanına sahiptir. Dikkat çekici iki özelliği; lisencephalos (gyrus ve sulcuslar bulunmaz), yani kıvrımları olmayan düz yapıda ve bulbus olfactoriusların oldukça büyük olmasıdır. Kortikal gri madde miktarı ise çok azdır. Ratlarda optik kiasma beyin tabanında bulbus olfaktoriusların hemen kaudalinde bulunur (7, 8).

Serebellum bol kıvrımlı bir görünüştedir. Orta, ortanın iki yanında birer yan lob ve bunların dış yanlarında kafatasının periotik kapsülün içinde yer alan parafloküler loblar olarak 5 ayrı bölümden oluşur. Parafloküler loblar kemirgenlere has bir özelliktir ve içine yerleştiği periotik kapsül petros kemiğin uzantısıdır. Beyin

ventrikülleri insandakine benzer özelliktedir. İnsanlarda olduğu gibi 12 çift kranial sinirleri vardır (7).



Şekil 2.1. İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizim A) girus ve sulcuslar belirgin, B) Rat beyni için tipik olan lisencephaloz görülmekte, beynin ön bölümünde belirgin halde görülen bulbus olfactoriuslar (9).

2.2. Nörotrofik faktörler

Nörotrofinler nöronal plastisite (sinir dokunun gelişmesi ve farklılaşması) açısından önem taşıyan hücre içi faktörlerdir. Birçok nörotrofin bildirilmiştir: Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4 (NT-4) gibi. Nörotrofinlerin merkezi sinir sisteminde hücre ölümünün (apoptozis) programlanmasında ve yürütülmesinde önemli rolleri vardır. Çeşitli iç ve dış nedenlere bağlı olarak azalma gösterdiklerinde beyinde etkiledikleri nöronların ölümü ile sonuçlanacak biyolojik olaylar zinciri tetiklenir (10, 11).

2.2.1. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)

BDNF sinirlerin büyümesinden sorumlu küçük dimerik bir protein olup nöronların gelişimi, öğrenme ve hafızada anahtar moleküldür (11). Beynin gelişim döneminde immatür nöronların büyümesini ve farklılaşmasını sağlar. Nöronların yaşamlarını sürdürmesinde rol oynar (12). Noradrenerjik ve serotoninerjik nöronların

gelişimini güçlendirip, onları toksik zedelenmelerden korur. Dendritlerin büyümesi üzerine olumlu etkisiyle nöronal devamlılık ve plastisiteyi düzenler (13-15).

Beyinde yaygın olarak bulunur ve ağırlıklı olarak nöronlarda sentezlenir. En fazla bulunduğu bölge hipokampus ve korteks serebridir (16). Bir çalışmada; fare korteksinden elde edilmiş nöron kültürüne BDNF uygulandığında dendrit ve sinapslarda gelişmenin arttığı gözlenmiştir (17). Bir başka çalışmada ise fare striatumunda hücrelerin bir grubuna BDNF geni implante edildikten sonra tüm hücelere nörotoksin uygulanmış, implantasyon yapılan hücrelerde diğer hücrelerin tersine serotonin ve dopamin kaybı gelişmediği gözlenmiştir (18). Elde edilen bu sonuçlar BDNF'nin nöronlar üzerinde koruyucu etkisi olduğu ve nöroplastisite ile ilişkisi olduğu görüşünü desteklemektedir (19).

2.2.1.2. BDNF 'nin etki mekanizması

BDNF'nin en önemli işlevsel özelliği; nöronları koruması ve nöronun hayatta kalımını sağlamasıdır (20). BDNF kendi tirozin kinaz reseptörüne bağlanır ve Ras/MAPK ve fosfotidilinozitol-3P kinaz/Akt yolak reaksiyonlarını kapsayan bir dizi büyüme ve hayatta kalımı tetikleyen hücre içi sinyal yollarını uyarır (21). Trk'nin (bir nörotrofin reseptörü olan tirozin kinaz) ekstrasellüler kısmında nörotrofin için ligand-bağlayıcı bölge, sitoplazmik kısmında ise bir protein tirozin kinaz bulunur. BDNF Trk reseptörüne bağlandığında protein kinaz aktive olur ve Grb, Sos gibi birleşecek proteinleri yakınına çeker, bunu küçük bir G proteini olan Ras'ın aktivasyonu izler. Aktive olmuş Ras bir seri proteinin fosforilasyonunu başlatır. Raf adlı bir protein kinazı aktive eder, bu da başka bir protein kinaz olan MAP (Mitojen Aktivatör Protein) kinaz kinazı aktive eder. MAP kinaz kinaz da MAP kinaz adlı başka bir protein kinazı aktive eder. Bu da pek çok substrat proteinlerini fosforile etmek suretiyle önemli bir proapoptotik protein olan Bcl-2 ile ilişkili ölüm destekleyici protein (BAD: Bcl-2 associated death promotor protein) üretimini durması ve temel antiapoptotik protein olan Bcl-2 ekspresyonunun artması yoluyla apoptozu inhibe etmektedir. BAD apoptotik sürecin içinde yer almaktadır ve bu sürecin durması ve yavaşlaması hücrenin zarar görmesini engellemektedir. Bu etkilerin ortaya çıkmasında cAMP yanıt elemanı bağlayan protein (CREB-cAMP

response element binding protein) önemli role sahiptir. Bu reseptörlerin uyarılması, yetişkinlerde nöral devrelerin yeniden düzenlenmesini gerçekleştiren sinaptik plastisitede rol alır (21, 22). Bir nöronun yaşamına devam etmesi için gerekli olan en önemli gereksinim, o nöronun uyarı alması ve sinaptik işlevlerine devam etmesidir. Uyarı almayan ve işlevleri durmuş nöronlarda apoptoz görülmektedir. Aktif nöronlarda ise işlevlere paralel olarak BDNF yapımında ve salınımında artış izlenmektedir. Alınan uyarılarla beraber BDNF hem yeni sinaptik oluşumlara yol açmakta hem de pro-apoptotik protein olan BAD yapımını engellemektedir. BDNF transkripsiyonunda rol oynayan CREB proteini aynı zamanda antiapoptotik olan Bcl-2 seviyesini de arttırmaktadır. CREB fosforilasyonunun engellenmesiyle apoptoz tetiklenir (21, 22–25). Nöronal aktivite, BDNF gen transkripsiyonunu, BDNF mRNA'nın dendritlere transportunu ve sinaptik aralığa BDNF proteininin salınımını stimüle etmektedir. BDNF, hipokampal ve kortikal nöronların yanı sıra bazal ön beyindeki kolinerjik nöronların hayatta kalımına da etki etmektedir (26).

2.2.1.3. Oksidatif stresin BDNF ve beyin üzerine olan etkileri

Yaşamın erken dönemlerinde, çevre koşullarının erişkin dönemde davranışları ve fizyolojik fonksiyonları etkilediği, bu anlamda sosyal ve biyolojik açıdan büyük önem taşıdığı bilinmektedir (27). Davranış ve fizyolojik fonksiyonlarda ortaya çıkan değişikliklerin altında yatan mekanizmalar bilinmemekle birlikte, sosyal çevrenin hipokampal BDNF ve nörogenezi modüle ettiği kabul gören bir görüştür (28, 29).

Tek veya tekrarlanan immobilizasyon stresinin ya da eksojen kortikosteron uygulamasının hipokampusta BDNF mRNA ve protein miktarını düşürürken (30), Adrenalektominin ise hipokampusta BDNF mRNA ve protein miktarını artırdığı gösterilmiştir (31). Nöronal yaşamda, gelişim sürecinde ve hasar sonrasında nörotrofik faktörler çok önemli rol oynamaktadır. Pek çok sistemde, nörotrofik desteğin yeterli olmaması apoptotik nöronal ölüme yol açmaktadır. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, bu desteğin azalmasının dopaminerjik hücrelerde dejenerasyona yol açtığı ortaya konulmuştur (32, 33).

BDNF geninin yapısı oldukça karmaşıktır. BDNF geninin aktivite-bağımlı kalsiyum ilintili düzenlenmesinde bir dizi işlemde ilk adım sitoplazmaya kalsiyum girişidir. Böylece BDNF ekson III ekspresyonunun indüksiyonu seçici olarak aktiflenir. Ancak bu aktivasyon için CREB (cAMP/Ca⁺⁺ response element binding protein) gerekli olmakla birlikte yeterli değildir. Aktivasyon için CREB'in Serin-133 bölgesinden cAMP bağımlı protein kinaz, kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz IV ya da mitojenle aktive edilen protein kinaz tarafından fosforilasyonu gerekmektedir (31). Yapılan bilimsel çalışmalarda artan oksidatif hasarın CREB'in seviyesini azalttığı, NF-kB gen ekspresyonunu arttırdığı, BDNF düzeyini azalttığı ve kognitif fonksiyonlara hasar verdiği belirlenmiş ve bu hasarın; BDNF'nin sinaptik plastisitedeki fonksiyonunun azalmasının synapsin I ve CREB moleküllerin modülasyonu aracılığıyla olduğu belirtilmiştir (34, 35).

Nöronal membranlar arasında kalsiyum (Ca⁺²) trafiğinin hızlı olması, oksijen tüketiminin yüksek olması, eksitotoksik aminoasitler; glutamat ve aspartatın varlığı, bazı nörotransmitterlerin kolay otookside olmaları, nöron zarlarında bulunan lipidlerin antioksidan enzimlerinin düşük seviyede olması, sitokrom P450 enziminin bazı beyin bölgelerinde bulunması, beyin metabolizmasının H₂O₂ oluşturması, yüksek oranda kolayca okside olabilen çoklu doymamış yağ asiti içermesinden dolayı beyin ve sinir dokusu oksidatif strese yatkınlık göstermektedir (36).

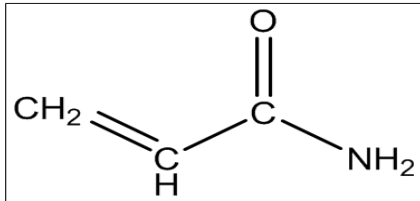
2.3. Akrilamid'in tarihçesi ve kimyasal yapısı

Akrilamid; ilk kez 1893 yılında Almanya'da Christian Moureau tarafından kimyasal bir bileşik olarak bulunmuştur. 1952-1954 yılları arasında ticari ve kimyasal amaçlı olarak Almanya'da kullanılmış bir vinil polimeridir. Akrilamid, kimyasal olarak sentezlenebilen oldukça toksik, doymamış çift bağ içeren bir amid olup; tekstil, kâğıt, kozmetik üretimi, içme sularının iyileştirilmesi gibi çok değişik endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (37).

Akrilamid ve bisakrilamid birimlerinin polimerizasyonu ile yüksek moleküler ağırlıklı polimerik özelliği olan poliakrilamid oluşumu söz konusudur. Poliakrilamid, matbaacılık ve tekstil sektöründe kâğıdın dayanıklılığını artırmada, atık suların arıtılması işleminin yoğunlaştırma basamaklarında, losyon, deodorant,

parfüm gibi birçok farklı kozmetik ürünlerin hazırlanması sırasında yağlı ve yumuşatıcı bir özellik kazandırmak için katkı maddesi olarak kullanıldığı bilinmektedir. Tüm bunlara ilaveten poliakrilamid, araştırma laboratuvarlarında elektroforez ve kromatografi gibi moleküler biyoloji alanında, proteinlerin ayırımı ve saflaştırılmasında yoğun olarak kullanılmaktadır (38). Konuyla ilgili son yapılan araştırmalarda, yüksek sıcaklık derecelerine maruz bırakarak hazırlanan besinlerde de akrilamid oluştuğu keşfedilmiştir. Yapılan araştırmalar, gıdaların 120 °C'nin üzerindeki sıcaklık derecelerinde pişirilmesi (özellikle kızartma, gril, ya da fırınlama) sırasında bol miktarda akrilamidin meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Pişirilme sırasında meydana gelen akrilamid miktarı, maruz bırakılan sıcaklık derecesi ve süresi ile doğru orantılı olarak artış göstermektedir (39).

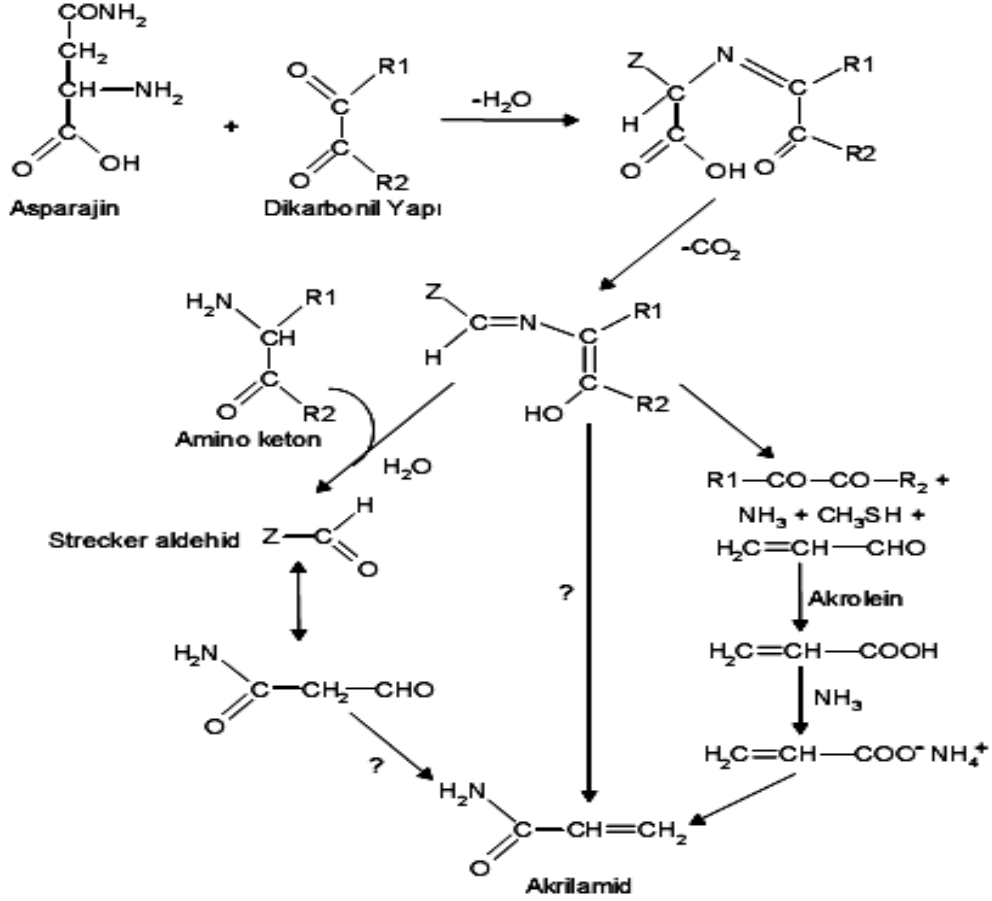
Akrilamid doymamış çift bağ içeren bir amiddir. Diğer isimleri etilen karboksamid, propenoik asit amid, akrilik amid ve vinil amiddir (39). Sıvı halde iken beyaz bir kristal gibi görülen akrilamid oda sıcaklığında kokusuz, tatsız, katı ve suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. Erime sıcaklığı 84.5°C, kaynama sıcaklığı 125.6°C'dir. Molekül ağırlığı 71.08 g/mol olan akrilamid suda ve diğer polar çözücülerde (aseton, metanol, etanol vb) kolaylıkla çözünürken; polar olmayan çözücülerde çözünmemektedir (40). Akrilamid; üre $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ve formaldehit (HCHO) veya glioksal $(\text{CHO})_2$, aldehitler (RCHO), aminler (R_2NH), tiyoller (RSH) gibi küçük reaktif moleküllerle reaksiyona girebilmektedir (41). Akrilamidin kimyasal yapısı Şekil 2.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.2. Akrilamidin kimyasal yapısı

2.3.1. Akrilamidin kimyasal olarak oluşumu

Gıda kaynaklı akrilamid 120 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda glukoz ya da fruktoz gibi monosakkaritlerle asparajin gibi aminoasitler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonu sonucunda spontan olarak oluşmaktadır (42). Maillard reaksiyonu ve akrilamid oluşumu Şekil 2.3.'de verilmiştir.

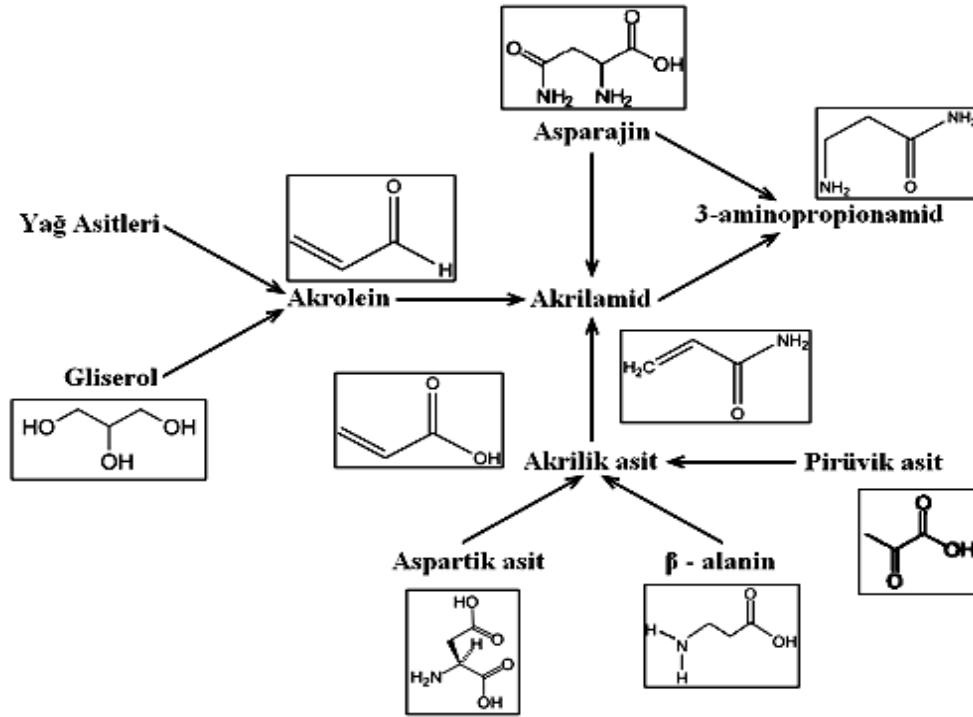


Şekil 2.3. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu

Proteinlerin yapısına giren standart 20 aminoasitten özellikle asparajin, akrilamid oluşturma kapasitesi en yüksek olan aa olarak bilinmektedir. Araştırmalar, akrilamid oluşumunda glukozun fruktoz ve galaktozdan daha etkili olduğunu göstermiştir (43).

Akrilamid oluşumunda asparajin aa kadar etkili olmasada; glutamin, sistin, arginin, metiyonin ve aspartik asit gibi aa'lerin de etkili olduğu gösterilmiştir (44).

Yapılan araştırmalarda, akrilamid oluşumunda sadece asparajin yolu olmadığı (aa kaynaklı); akrilik asit, akrolein gibi farklı maddeler üzerinden akrilamid oluşum yollarının da var olduğu ancak asparajin yolu kadar etkili olmadığı ortaya konulmuştur (41). Farklı moleküllerden akrilamid oluşum yolları Şekil 2.4.'de verilmiştir.



Şekil 2.4. Farklı moleküllerden akrilamid oluşum yolları

2.3.2. Akrilamidin gıdalarda oluşumu

Besinlerin pişirme süresi ve sıcaklık derecesi ile akrilamid oluşumu arasında korelasyon olduğu ve aynı gıda tiplerinin farklı ürünleri veya aynı ürünlerin farklı tarihlerde üretilmiş olanları arasında bile akrilamid içeriği bakımından değişkenlik meydana geldiği tespit edilmiştir (45). Pişirme Őeklinin de akrilamid oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir. Buna en güzel örnek, bazı çalışmalarda haşlanarak pişirilen gıdalarda akrilamidin oluşmadığı sonucunun bildirilmesidir (45). Süt, yağ ve Őekerin yüksek sıcaklıkta pişirilmesi sırasında hem bisküvilerde hem de muhallebilerde de maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşmakta ve sağlığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Ayrıca Maillard reaksiyonu nedeniyle sütteki proteinlerin

yapılarının bozulduğu, zararlı maddelerin meydana geldiği ve bunun sonucu olarak da karaciğerde toksik etkiye sebebiyet verdiği bildirilmiştir (46).

Gıdaların içinde yer alan asparajin aa ve indirgen şekerler (başlıca glukoz ve fruktoz) yönünden bileşimi, türü, saklama koşulları, mevsimsel değişiklikler de akrilamid oluşum miktarı üzerine farklılıklara yol açabilmektedir.

Bir araştırmada, su içeriğinin ve pH değerinin de akrilamid oluşumuna sebebiyet verdiği ve ortamda Maillard reaksiyonuna girmeye uygun diğer aminoasitlerin bulunmasının akrilamid oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (46).

Gıdalarda ısıtma işlemi sırasında akrilamid oluştuğunun kanıtlanması sonrası dünya genelinde birçok resmi kuruluş, gıdaların işlenmesi sırasında akrilamid oluşumunu azaltmaya yönelik çalışmalar başlatmışlardır. Yayınlanan raporlarda, yürütülmekte olan üretim basamaklarında yapılan iyileştirmelerle, patates cipslerindeki akrilamid miktarlarında % 30–40 oranında azalma sağlanabileceği ifade edilmiştir (47). Benzer öneriler ve durumlar oldukça yaygın kullanılan kahvaltılık gevrekler ve kahve için de söz konusudur. Fakat bu iyileştirmelerin patates cipsi üreticileri tarafından hangi yaygınlıkta uygulandığı belirsizliğini hala korumaktadır.

Farklı gıda işleme yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda akrilamid oluşum miktarının azaltılabilmesi için çok sayıda seçeneğin var olduğu belirtilmektedir. Bu seçeneklerden en verimli olan yöntem ise; akrilamid oluşumunda öncül madde olan asparajinin, pişirme öncesinde gıdaya katılan asparajinaz ile aspartata dönüştürülerek akrilamid oluşumunun baskılanmasıdır. Buna ilaveten gıdaların asparajin içeriklerinin azaltılmasına yönelik alternatif yöntemler de mevcuttur. Akrilamid oluşum miktarının azaltılması için önerilen diğer yöntemler ise temel gıda bileşenlerinin değiştirilmesi (Maillard reaksiyonuna asparajinle yarışmalı olarak giren aminoasitlerin katılması gibi) ve pişirme şartlarının değiştirilmesidir (sıcaklığın derecesinin düşürülmesi ve/veya uygulama süresinin kısaltılması gibi) (47). Oldukça zahmetli ve zor olan bu önerilerin işletmelerce uygulanıp uygulanmaması belirsizliğini korumaktadır. Bu noktada üretim yöntemlerinin tüketici memnuniyeti, ürünlerin besleyicilik özellikleri ve olası zararlı maddelerin oluşumu üzerine etkilerinin de değerlendirilmesi gerektiği göz ardı edilemez.

2.3.3. Akrilamidin gıdalarda bulunuşu

Akrilamid, insanlar üzerinde toksik etkilerinin gözlenebileceği dozların tam olarak bilinemediği kimyasallar grubunda değerlendirilmektedir. Akrilamidin de yer aldığı bu grup kimyasal maddeler, çok düşük konsantrasyonlar da dahi bir risk taşıyabilmekte olup bunlar için tamamen zararsız denmesi mümkün değildir.

24 Nisan 2002’de İsveç Ulusal Yiyecek Ajansı ve Stockholm Üniversitesi 120 °C’nin üzerindeki sıcaklık derecelerinde kızartılmış veya pişirilmış yiyeceklerde yoğun miktarlarda akrilamid olduğunu dünya kamoyuna paylaştıktan sonra çok sayıda kuruluşda kendi ülkelerindeki gıdaların akrilamid düzeylerini ve sınır değerlerini tespit etmek üzere çalışmalar yapmaya başlamışlardır.

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. FDA) 2002 yılından beri periyodik olarak her yıl piyasadan aldığı gıda numunelerinde akrilamid ölçümleri yapmakta ve bu sonuçları kendi Web sitesinden kamuoyuna duyurmaktadır (48). Amerikada sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içerikleri Tablo 2.2.’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Amerikada sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içerikleri

Besin/ Besin ürünleri	Akrilamid düzeyi (µg/kg)			
	Ortalama	Ortanca	Alt-üst	Örnek sayısı
Patates cipsi	1312	1342	170-2287	38
Patates kızartması	537	330	<50-3500	39
Hamur ürünleri	36	36	<30-42	2
Fırınlanmış ürünler	112	<50	<50-450	19
Bisküvi, kraker, tost	423	147	<30-3200	58
Kahvaltılık tahıllar	298	150	<30-1346	29
Mısır cipsi	218	167	34-416	7
Sütlü ekmek	50	30	<30-162	41
Balık ve deniz ürünleri	35	35	30-39	4
Kümes hayvanları	52	52	39-64	2
İnstant malt içecekleri	50	50	<50-70	3
Çikolata tozu	75	75	<50-100	2
Kahve tozu	200	200	170-230	3

Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu Marmara Araştırma Merkezi (TÜBİTAK-MAM) laboratuvarlarında gıdaların akrilamid düzeyi analizleri için piyasadan tesadüfi yöntemle ev yemekleri, kavrulmuş çerezler, ekmekek ve fırıncılık mamulleri, cipsler, kahve, bisküvi, kraker, çikolata, bebek mamaları, patates kızartmaları, geleneksel Türk tatlıları, pekmez, ızgara, kebab, döner ve köfte gibi geleneksel gıdalardan örnekler alınmıştır. 9 ay süren çalışmanın sonunda bu gıda ürünlerinin akrilamid düzeyleri tespit edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları Tablo 2.3.'de verilmiştir. TÜBİTAK-MAM tarafından yapılan bu analiz sonuçları, evde taze patatesin soyularak kızartılmasına oranla fast-food ürünü olarak doğranıp dondurulmuş patateste çok daha yüksek miktarda akrilamid oluştuğunu göstermektedir.

Tablo 2.2. Türkiyede sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içerikleri (49).

Gıda maddesi	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Pirinç pilavı	Ölçülebilir değerin altında
Tahin helvası	Ölçülebilir değerin altında
Kebab, döner, ızgara	Ölçülebilir değerin altında
Çavdar ekmeği	Ölçülebilir değerin altında
Beyaz ekmekek (kabukta)	40-160
Kızarmış ekmekek (hazır)	200
Hazır çorbalar	40-60
Tulumba tatlısı	40-45
Bebe bisküvisi	400-600
Bisküvi	70-130
Kraker	70-200
Kahvaltılık gevrekler	80-350

Cips, kraker, kahvaltılık gevrekler, bisküvi ve bebe bisküvileri ile patates ve ekmekek kızartmalarında akrilamidin önemli miktarlarda oluştuğu tespit edilmiştir. Tulumba tatlısı ve beyaz ekmeğin kabuğunda da kayda değer miktarda akrilamid bulunduğu ortaya konulmuştur. Fakat ekmeğin iç kısmında, ızgara, döner, tahin helvası, çavdar ekmeği, baklava ve pilavda ise akrilamid düzeyleri ölçülebilir

değerlerin altında bulunmuştur. Besinlerin haşlanması sırasında ise akrilamid oluşumunun söz konusu olmadığı ifade edilmiştir (49).

Bu sonuçların ışığında bilim insanları, çok yüksek düzeylerde akrilamid içeren gıdaların insan sağlığını tehdit eden bir problem olması nedeniyle, bu gıdaların yasaklanması ya da bu gıdaların ambalajlarına “insan sağlığına zararlı akrilamid maddesi içerir” uyarı yazısının konulması gerektiği yönünde görüş bildirmişlerdir (50).

2.3.4. Besinlerin işlenmesi sırasında oluşan akrilamidi azaltma yolları

1. Ticari olarak donmuş ve soğuk zinciri kırılmış patateslerin kullanımından vazgeçilmesi ve mümkünse düşük şeker içerikli patateslerin tercih edilmesi.
2. Patateslerin pişirme veya kızartma işlemi gerçekleşmeden önce ılık veya sıcak suda yada oda ısısında bekletilmesi.
3. Kızartma işleminden önce bekletilen patateslerin suyunun iyi arıtılması.
4. pH'yı düşürme: Akrilamid oluşumunu % 20-30 azaltmaktadır, Örneğin; patateslerin % 0.5-1.0 sitrik asit çözeltisinde < 20 dakika bekletmenin veya suda bekletmenin akrilamid oluşumunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir.
5. Patatesleri 8 °C'nin altında depolamanın indirgen şeker miktarını azalttığı gösterilmiştir (Bazı kaynaklara göre 6 °C).
6. Hazır gıdalara altın sarısı rengi vermek için glukoz/dekstroz solüsyonuna daldırmanın yapılmaması.
7. Galetaya bulanmış ürünlerin tekrar pişirilmesi önemli oranda akrilamid düzeyini artırmaktadır.
8. Derece/pişirme kuralları: başlangıç kızartma sıcaklığının 175 °C olması (tedrici olarak artış göstermemesi).
9. Geleneksel fırınlarda pişirme sıcaklığının 200 °C'yi, fanlı fırınlarda 190 °C'yi geçmemesi.
10. Pişirme süresi/ısının düşürülmesi, ancak tüm besinlerin; patojenleri öldürecek sıcaklık derecesinde ve yeterli süre pişirilmesi.

11. Asparajin düzeyinin kontrol edilmesi: Patatesin önemli bir bileşeni olarak yer alan aa seviyesinin kontrol edilmesinin pratik olduğu ile ilgili fikirler net değildir.
12. Asparajinaz enziminin kullanımı, asparajin-glukoz etkileşimini durdurmaktadır ancak net bilgi verilebilmesi için ileri çalışmalar gerekmektedir.
13. Tahıl ürünlerinde amonyum bikarbonat yerine sodyum hidrojen karbonatın yükseltgenme ajanı olarak kullanılması akrilamid düzeyini azaltmaktadır.
14. Kızartma işlemi öncesinde uygulanan haşlama işlemi patatesteki glukoz ve asparajin içeriğini azaltmıştır (50, 51).

2.3.5. Akrilamidin toksik etkileri

Akrilamid'in insan ve hayvan sinir sisteminde nörotoksositeye yol açtığı ve belli dozların üzerine çıkıldığında ise hayvanlarda kansere sebebiyet verdiği bilinmektedir. Kemiricilerde yapılan incelemeler; akrilamidin, gıdaların pişirilmesi sırasında oluşan diğer kanserojenlere benzer bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. İnsanlar için, gıda kaynaklı kanserojen ajanların etkileri tam olarak bilinmemektedir. Diyetle akrilamidin, diğer gıda kaynaklı kanserojenlere oranla daha yüksek düzeylerde bulunması, akrilamidin kanserojen olabileceği şüphesini ciddi derecede arttırmış ve araştırmalar bu noktaya yoğunlaşmıştır (52).

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar da, monomerik bir yapıya sahip olan akrilamidin gerek sinir gereksede üreme sistemlerinde hücresel hasara neden olduğu ve özellikle hormonal duyarlılığı olan dokularda tümör gelişimini indüklediği ifade edilmektedir (53). İnsanlar üzerinde yürütülmüş epidemiyolojik çalışmalarda gıda kaynaklı akrilamide yoğun olarak maruz kalan toplumlarda nörotoksosite açısından önemli bir yaygınlık olduğu ancak kanser riski için böyle bir yaygınlıktan bahsetmenin mümkün olmadığı ileri sürülmüştür (54, 55).

2.3.6. Akrilamidin fetal hayat üzerindeki etkileri

Araştırmacılar son zamanlarda akrilamidin fetusta meydana getirdiği hasarları; morfolojik, biyokimyasal ve histolojik olarak yoğun bir şekilde incelenmiş

ve bu araştırmaların sonuçları akrilamidin doza bağımlı olarak uygulanmasının fetal hayatta ciddi morfolojik, biyokimyasal ve histolojik anormalliklere yol açtığını ortaya koymuştur (56–58).

Allam ve ark. gebe ratlara gebeliğın 7. gününden doğuma kadar ve doğum sonrası laktasyon süresi boyunca oral yolla günlük 10 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid uygulamışlar ve yavru ratları morfolojik ve biyokimyasal yönden incelemişlerdir. Fetusların beyinlerinde granuler tabaka proliferasyonunda ve hücre farklılaşmasında gecikme ve Purkinje hücrelerinde kayıplar gözlemlenmiştir. Sonuç olarak akrilamidin prenatal ve perinetal dönemde uygulanmasının oksidatif strese neden olduğu ve biyokimyasal koruyucu mekanizmalarda bozulmalar ve ratların serebellumlarının gelişiminin ciddi derecede gerilediğı tespit edilmiştir (56).

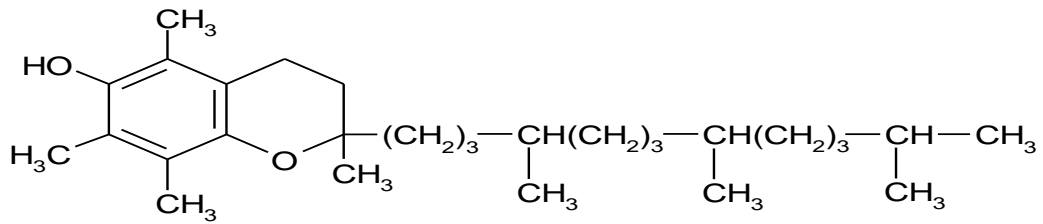
El-Sayad ve ark. ratlara gebelik sırasında 25 µg/kg akrilamidi içme sularına eklemiş ve akrilamid bakımından zengin içeriğe sahip % 33'ü kızartılmış patates cipsinden oluşan yemle beslemişlerdir. Gebeliğın 14., 16. ve 17. gün ve doğum sonrası fetusları morfolojik ve histopatolojik açıdan incelemişlerdir. Akrilamid ve kızartılmış patates cipsi uygulamasının karaciğer, böbrek ve kalp kasında benzer histolojik olgulara yol açtığını ayrıca vücut ağırlığı ve boyutunda, tepe-oturma mesafesinde azalmalara, kemiklerde gelişim geriliğine, düşüklere ve ölü doğumlarla karşılaştıklarını bildirmişlerdir. Gerek doğum öncesi ve gereksede doğum sonrası kızartılmış patates cipsi uygulanan grupta akrilamid uygulanan gruba göre uzantısal vücut kemiklerinin oluşmadığını ifade etmişlerdir. Bu sonuçları; gebelik döneminde aşırı patates kızartması tüketiminin insan sağılığı açısından son derece zararlı olabileceğı şeklinde yorumlamışlardır (57).

Ogawa ve ark. gebeliğın 10. gününden 21. güne kadar 0, 4, 20, 100 ppm akrilamidi içme sularına katarak fetuslar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 20 ve 100 ppm uygulanan gruplarda yeni doğan ratların beyin dokusunun hipokampus bölgesindeki nöronlarının olumsuz yönde etkilendiğini ve bunun akrilamid dozuna bağımlı olarak nörotoksisite ve gelişim bozukluğuna yol açabildiğini ifade etmişlerdir (58).

2.4. E vitamini tarihçesi ve kimyasal yapısı

Bishop ve Evans 1922 yılında ratların diyetlerine ekşimiş yağ katılarak beslenmeleri sonucunda ratlarda fotal reabsorbsiyon gözlemlenmiş ve bunun sebzelerdeki bir madde tarafından önlendiğini bildirmişlerdir. Bu bilinmeyen madde 1924 yılında Vitamin E olarak 'Sure' tarafından isimlendirilmiştir. Ratlara bu bileşik verildiğinde üreme performansını arttığı için, Evans bu bileşiğe (tokos = doğurmak, phero = taşımak ve bileşiğin bir alkol olması nedeniyle 'ol') 'tokoferol' adını vermiştir (59). Bu bileşikle yapılan sonraki araştırmalarda iki grup daha bulunmuş, bunlara gama ve delta tokoferol adı verilmiştir (60). Erhard Fernholz 1937 ve 1938 yıllarında alfa tokoferolün yapısını keşfetmiş ve 1938'de ise Karrer ve ark. alfa tokoferolü kimyasal olarak sentezlemeyi başarmışlardır (61).

Tokoferoller yapışkanimsi ve açık sarı görünümde olan maddelerdir. Lipitlerde ve birçok organik çözücülerde çözünürken suda çözünmezler. E vitamini ısıya, alkalilere, asitlere ve ışığa karşı dayanıklı iken ultraviyole ışıkta kolaylıkla bozulmaktadır (60). E vitamini aktivitesi gösteren bileşikler tokol veya tokotrienol çekirdeğine sahiptir. Her iki çekirdekte de 6-hidroksi kroman aromatik halkası vardır. Tokol ve tokotrienolu birbirinde ayıran 13 karbonlu yan zincirindeki çift bağların varlığıdır (59, 62). Tokoferoller kroman halkasındaki metil gruplarının yerlerinin ve sayısının farklı olmasıyla birbirlerinden ayrılır (63). E vitaminin kimyasal yapısı Şekil 2.5.'de verilmiştir.



Şekil 2.5. E vitaminin kimyasal yapısı

2.4.1. E vitamini'nin metabolizması

Ağız yoluyla alınan tokoferol genellikle iyi absorbe edilir (65). E vitaminin adsorbsiyonunu diğer yağda eriyen vitaminler gibi: safra tuzları ve yağlar

kolaylaştırır (60). İnce bağırsakta tokoferoller safranın yardımıyla emülsiyon haline gelir ve sonra emilirler. Maksimum emilim E vitamini alındıktan birkaç saat sonra görülür (63). Bozulmuş yağlar E vitaminini okside ederek bozulmasına sebep olur, mineral yağlar ise bu vitaminin emilimini engeller (60, 64).

Plazmada E vitamini β -lipoproteinlere bağlı olarak taşınmaktadır. Tokoferol safra ile düşük miktarlarda atılmaktadır. Yüksek dozda tokoferol verildikten sonra insan idrarında; [(2-3-hidroksi-3-metil -5-karboksi pentil) -3,5,6-trimetil hidrokinon ve tokoferolün gamma laktonu] tespit edilmiştir (65). E vitamini karaciğer ve yağ dokularında depo edilmektedir. Depolanma cinsiyet ve yaşa göre değişmektedir. Dişi hayvanların dokularında erkek hayvanlara göre daha fazla E vitamini bulunmuştur. E vitamini daha çok hipofizde, adrenal bezlerde, uterusu ve plasentada yüksek düzeyde depo edilmektedir (66). Tokoferol hücre içinde ise mitokondri, mikrozom ve lizozomlarda yağun olarak bulunmaktadır (60).

2.4.2. E vitamini'nin Antioksidan etki mekanizması

Özellikle α -tokoferol çok kolay oksitlenebilmektedir. E vitamininin yapısındaki α -tokoferol aktif reaktiflerle reaksiyona girerek oksidasyona duyarlı moleküllerin oksidasyondan korunmasını yada oksidasyonun azaltılmasını sağlayarak antioksidan aktivite gösterir. Hücrelerde antioksidanların konsantrasyonunun azalması dengeyi bozacağından oksidatif strese yol açmaktadır (67). Antioksidan maddeler genel olarak; oluşan serbest radikalleri süpürücü ve giderici etkileri ile bağlayarak veya kararlı hale getirerek (64) , zincir kırıcı etki ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak (68), baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak (69), onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olan biyolojik moleküler hasarı rejenere ederek (70), hücre kinaz kayıplarını önleyip oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak (68), organizmadaki SOD gibi antioksidanların sentezini artırarak etkilerini gösterirler (71).

Serbest radikallerin bulunduğu biyolojik ortamlarda E vitamini serbest radikalleri toplayarak peroksidasyonun erken döneminde zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini koruyarak oksidatif stres için ilk savunma hattını teşkil etmektedirler (71, 68).

Ayrıca singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil radikallerini indirgeyerek antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (69). Bu işlevini ise peroksidasyon reaksiyon zincirini sonlandırarak gerçekleştirmektedir. E vitamini'nin antioksidan etki mekanizmasının, oksidasyonun reaksiyon zincirini sonlandırarak meydana geldiği şeklinde bilinse de, günümüzde E vitamini'nin; radikal giderme, baskılama, onarma ve endojen savunmayı artırma mekanizmalarının tümünü kullanabildiği, bunun sonucunda da son derece güçlü bir antioksidan etki meydana getirdiği bildirilmektedir (71).

2.4.3. E vitamini'nin nöroprotektif etkisi

Özellikle beyin; antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeni ile oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve E vitamini gibi güçlü antioksidanların koruyucu etkisine ihtiyaç duyar (72). Birçok doku için güçlü bir antioksidan olan E vitamini kan-beyin bariyerini geçer ve güçlü bir nöroprotektif etki gösterir (73, 74). İntrauterin dönemde E vitamini plasentayı kolaylıkla geçerek büyük oranda fetusların beyin dokusu tarafından alınır (75).

Rota ve ark., E vitamini'nden yoksun diyetle beslenen ratların hipokampusundaki nöronlarda gen transkripsiyonunun, nörotransmisyon, beta amloid metabolizmasının, apoptosiz ve hormon metabolizmasının önemli derecede bozulduğunu bildirilmişlerdir (76). Deney hayvanlarında yapılan bir çalışma, düşük E vitamini seviyelerinin; glial fonksiyonları, nöron gelişimini, miyelizasyonu ve sinaptizasyonu bozulduğunu ortaya koymuştur (77). Betti ve ark. epilepsi modeli oluşturulan ve E vitamininden zengin bir diyetle beslenen ratların beyin dokusunda; oksidatif stresin, nöronal hücre ölümlerinin oldukça azaldığını bildirmişlerdir (78).

Galal ve ark. Deltamethrin indüklü nörotoksisite oluşturulan ratlara E vitamini uygulanmasının, beyin dokusunun antioksidan kapasitesini artırdığını ve antiapoptotik etki meydana getirdiğini bildirmişlerdir (79). Kosta ve ark. fosfamidon indüklü nörotoksisite oluşturulan ratlara E vitamini verilmesinin, beyin dokusunda oksidatif stresi azalttığını, öğrenme ve hafıza üzerinde olumlu yönde etki gösterdiğini tespit etmişler ve E vitamini'nin önemli bir nöroprotektan olduğuna karar vermişlerdir (80).

2.4.4. E vitamini içeren gıdalar

Başta tahıllar olmak üzere ıspanak, kabak, lahana, marul gibi yeşil sebzelerde, zeytinyağı, balık yağı, fındık, ceviz, ton balığı, sardalye, yumurta sarısı, domates ve patateste bol miktarda bulunur. Özellikle bir avuç fındık günlük E vitamini ihtiyacını büyük oranda karşılamaktadır. Günlük E vitamini ihtiyacı: bebeklerde 5–6 mg, 4–11 yaş arasındaki çocuklarda 7 mg ve 12 yaşından büyüklerde ise 8-10 mg kadardır (81). Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği Tablo 2.3.'de verilmiştir.

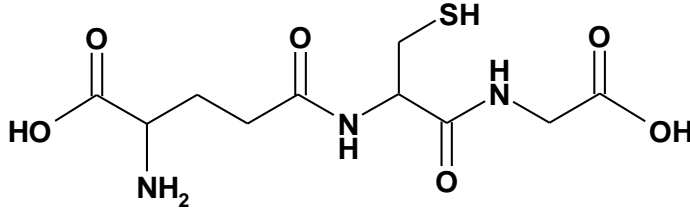
Tablo 2.3. Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği (82).

Gıdalar	□-tokoferol miktarı (mg/ 100 gr gıda)
Sebzelerde	90
Sıvı yağlarda	50
Tahıllar	45
Margarin	10.2
Fasulye	9
Koyun ve sığır eti	1.7
Tereyağında	1.6
Tavukta	1.6
Yumurta	10.7

2.5. Tez çalışmasına dahil edilen oksidatif stres parametreleri hakkında genel bilgi

2.5.1. Glutasyon metabolizması

Başlıca karaciğerde sentezlenen glutasyon tüm memeli dokularında bulunan nonprotein tiyol olup hücrenin antioksidan savunmasında görev yapmaktadır. Aktif grubu sistein aa bağlı serbest tiyol (-SH) molekülüdür (Şekil 4) (83).



Şekil 2.6. GSH'nin kimyasal yapısı

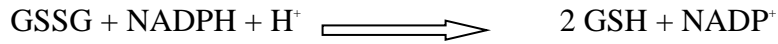
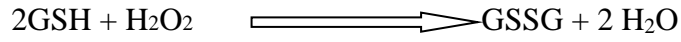
Glutasyonun % 85–90'ı sitozolde bulunurken geri kalan %10-15'i ise mitokondri ve diğer organellerde bulunmaktadır. Bazı durumlarda mitokondride de sitozoldeki düzeylere ulaşıldığı görülmüştür (84). Mitokondride glutasyon sentezini sağlayan enzimlerdeki herhangi bir hasarda meydana gelen glutasyon eksikliği, sitozolden mitokondriye glutasyon geçişi sağlanarak dengelenmektedir (84). Hücrelerde total glutasyon, serbest veya proteinlere bağlı (%15) olarak bulunur.

Serbest glutasyon çoğunlukla redükte formda (GSH) bulunur ve oksidatif stres anında okside forma (GSSG) dönüşür. Hücrelerde redoks halinde okside ve redükte formların oranı (GSH/GSSG) kritik öneme sahiptir. Normalde memeli hücrelerinde, glutasyon redoks çifti 1-10 mM konsantrasyon aralığında bulunur ve redükte glutasyon, okside forma göre daha üst seviyededir. Hücre dinlenme halindeyken bu oran 100'ü aşarken oksidatif stres modellerinde bu oran 10 ile 1 mM'a kadar düşebilmektedir (85) .

Dokular arasında GSH sirkülasyonu'nun devamlılığını sağlayan en önemli organlar karaciğer ve böbrektir. Ancak sirkülasyon; dalak, lens, eritrosit ve lökositler

tarafından da sağlanabilmektedir. Kalıcı hücre hasarı meydana geldiğinde, hücredeki GSH içeriği devamlılığını kaybeder. Değişik biyolojik dokularda GSH düzeylerinin ölçülmesi, çeşitli patolojik bozuklukların teşhis ve takibinde dikkate alınan bir parametredir (86).

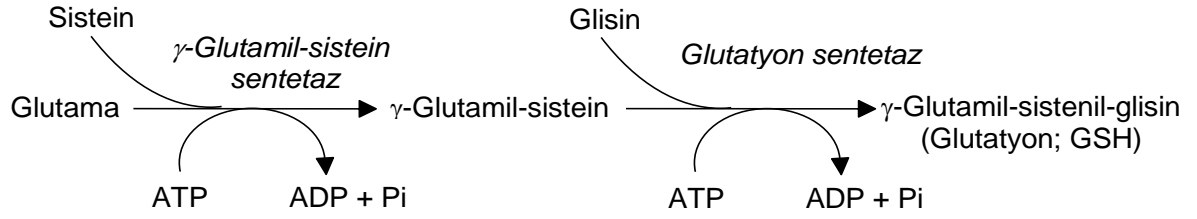
Hücrelerde birincil antioksidan bariyerin önemli bir molekülü olan GSH, serbest radikalleri detoksifiye ederek antioksidan etki gösterir. Bu amaçla serbest radikalleri süpürür ve hidrojen peroksidi (H₂O₂) azaltır. Hücrelerde oksidatif stresin etkisiyle oluşan H₂O₂, glutatyon peroksidaz (GSH- Px) enzimi ve GSH'ın etkisiyle suya yıkımlanır. Ancak GSH, GSSG dönüşür. GSSG daha sonra glutatyon redüktaz (GR) ile 2 mol GSH'a dönüştürülür.



Glutatyon bağımlı enzimler, hücrelerin korunmasında ikincil antioksidan bariyeri oluştururlar. Bunlar serbest radikallerin yayılmasını engelleyeceği gibi, serbest radikaller tarafından üretilen ürünlerin detoksifikasyonunu da sağlamaktadırlar. GSH bağımlı proteinlerin çoğu antioksidan ajanlar tarafından indüklenerek hücrenin antioksidan kapasitenin artmasıyla oksidatif stresin ortadan kaldırılmasını sağlar. Glutatyon S-Transferaz enziminin birçok pro-oksidan ajan tarafından indüklendiği görülmüştür (87).

Glutatyon hücrelerde iki farklı enzimin; γ -glutamilsistein sentetaz (γ -GCS) ve glutatyon sentetaz (GS)'in katalizi ile sentezlenir. Glutatyon sentezindeki birinci basamak γ -GCS enziminin katalizlediği reaksiyon olup hız sınırlayıcı basamaktır. Glutatyon konsantrasyonuna bağlı olarak feedback inhibisyonla kontrol edilir. γ -GCS, heterodimer yapıda olup katalitik aktiviteden sorumlu ağır subünite (katalitik subünite, GCS_h) ve enzimin glutamat için Km'inin düzenlenmesi ve feedback inhibisyonla sorumlu hafif subünite (düzenleyici subünite, GCS_i) olmak üzere iki üniteden oluşur. İkinci basamak γ -glutamil sistein dipeptidine glisin eklenmesiyle gerçekleşir ve GS enzimi tarafından katalizlenir. Bu basamakta ürün inhibisyonu yoktur, fakat doku spesifik salınım söz konusu olup en çok böbrekte bulunmuştur.

Glutatayon sentezi Şekil 2.7.'de verilmiştir (88, 89).



Şekil 2.7. Glutatayon sentezi

Glutatayon birçok fizyolojik role sahiptir ve hücre fonksiyonunda önemli görevleri vardır: Amino asitlerin hücrelere transportu (γ -glutamil döngüsü), proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezinde, enzimlerin aktif formlarının devamlılığında, heksoz mono fosfat yolunun düzenlenmesinde, radyasyon ve endotoksinlere maruz kalmalarda bunlara karşı koruyucu etkisi vardır.

γ -glutamil döngüsünde glutatayon, γ -glutamil transpeptidaz enzimi aracılığıyla enzime bağlı olarak belli hücrelere taşınır. γ -glutamil transpeptidaz enzimi, γ -glutamil amino asit ve sisteinil glisin oluşumuna önderlik eder. Daha sonra ise dipeptidaz ile sistein ve glisine ayrılır. γ -glutamil amino asitleri, intraselüler enzim γ -glutamil siklotransferaz enziminin substratı olup bu enzim tarafından serbest amino asitlere ve 5-okzoprolin'e dönüştürülür. 5-okzoprolin, glutamat oluşturmak için tekrar döngüye döner. 5-okzoprolin ve glutamat arasındaki denge nötral pH'da döngünün devamlılığı yönündedir, ancak bunun için enerjiye gereksinim vardır (90, 91). γ -glutamil transpeptidaz enzimi, dokuların epitellerinde bulunur ve çoğunlukla transportta (nefron, koroid pleksus, jejunum) görev alır (92). Bu enzim hücre membran yüzeyinin dış kısmında lokalize olurken glutatayon intraselüler olarak bulunur (91). Bu nedenle glutatayonun transportu γ -glutamil döngüsünün önemli bir basamağını oluşturur. γ -glutamil döngüsünde defekt olan hastalarda zekâ geriliği ve diğer beyin defektleri meydana geldiği ifade edilmiştir (83).

Transpeptidaz inhibitörü verildiği zaman plazma glutatayon seviyesi yükselir. Plazma glutatayonunun çoğu karaciğer tarafından karşılanır. Glutatayon plazmadan transpeptidazların aktivitesiyle uzaklaştırılır ve bu enzim çoğunlukla böbreklerde lokalize olmuştur. Böbreklerde kullanılan glutatayonun büyük kısmı organın kendi iç döngüsünden, böbrek hücrelerinden tubullere transfer edilerek karşılanırken geri

kalan miktar plazmanın glomerular filtrasyonu ile karşılaşır (93). Glutasyon birçok fizyolojik role sahiptir ve hücre fonksiyonunda önemli görevleri vardır: Amino asitlerin transportu, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezinde, enzimlerin aktif formlarının devamlılığında, heksoz mono fosfat yolunun düzenlenmesinde, radyasyon ve endotoksinlere maruz kalmalarda bunlara karşı koruyucu etkisi vardır.

Ayrıca septik şokun önlenmesinde de etki gösterir. Glutasyon transhidrojenasyon reaksiyonlarına katılarak diğer moleküllerin (Koenzim A, çeşitli enzimler ve proteinlerin) sülfidril gruplarını devamlılığını ve yapısının korunmasını sağlar. Birçok reaksiyon için redüksiyon kapasitesine sahiptir ve hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli rol oynar. Çeşitli ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görevli olup bunlarla etkileşerek markaptürik asit olarak dışkı ve idrarla atılmasını sağlarlar (94).

2.5.2. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu, çoğunluğu reaktif elektrofillerden oluşan çeşitli kompleks ürünlerin meydana gelmesi ile sonlanır. Bu ürünlerin çoğunluğu proteinlere ve DNA'ya bağlanarak toksik ve mutajenik etkiler meydana getirirler (95).

Uzun zincirli doymamış yağ asitleri bir veya daha fazla çift bağ içeren metilen gruplar içerirler. Metilen gruplar oksidan ajanlara karşı yüksek reaktiviteye sahiptir. Uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan ilk ürün peroksil radikalleridir. Serbest radikaller diğer moleküllerle birçok yolla reaksiyona girerler (96, 97). Eğer iki radikal ajan bir araya gelirse elektronlarını paylaşırlar ve kovalent olarak birbirine bağlanırlar. Hücrelerde bulunan birçok molekül radikal değildir. Ancak radikaller ile elektron alışverişinde bulunduğu anda kendileride radikal bileşiklere dönüşürler. Hidrojen atomu bir proton ve bir elektrona sahiptir. Bu nedenle radikal olarak isimlendirilir (97).

Bilinen serbest radikaller özellikle süperoksit ($O_2\cdot$) ve diğer reaktif oksijen türleri (H_2O_2 gibi) vücutta devamlı olarak üretilirler. Organizmalar bunlara karşı sadece antioksidan koruyucu sistemle değil aynı zamanda oksidatif hasar yapıcı moleküllerin birikmesini engelleyici tamir sistemleriyle de bu bileşiklere karşı

koruma sağlarlar (96).

Hidoksil radikali ($\cdot\text{OH}$) çok reaktif bir türdür, bütün biyolojik moleküllere hücum edebilir ve böylece serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatabilirler (96, 98). $\cdot\text{OH}$ radikali organizmada birden fazla şekilde oluşabilmektedir. Ya H_2O_2 ile metal iyonlarının transisyon reaksiyonuyla ya da suyun iyonize radyasyonla fizyona uğramasıyla oluşmaktadır (99). H_2O_2 , hücre membranını kolaylıkla geçer ve spesifik proteinlerin tiyol gruplarını okside ederek hücre içi olayların başlamasını tetikler. H_2O_2 birçok metabolik fonksiyona sahiptir (96). $\text{O}_2\cdot$ ve H_2O_2 radikalleri $\cdot\text{OH}$ radikaline göre daha az reaktif yapıdadırlar (96, 100). Ancak tamamen zararsız da değillerdir. Fazla miktarlarda oluşurlarsa oksidatif hasara sebep olabilirler. Buna ilave olarak $\text{O}_2\cdot$, birçok hücre tarafından, özellikle fagositler ve damar endotel hücrelerinde üretilen nitrik oksid (NO) ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna sebebiyet verebilmektedir. Peroksinitrit toksik etkiye sahip olmasının yanı sıra (-SH grubunun güçlü oksidanıdır) aynı zamanda $\cdot\text{OH}$ vermek üzere ayrışır (101). Aerobik organizmalarda fazla $\text{O}_2\cdot$ 'nin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından O_2 ve H_2O_2 'ye dönüştürülmesi önemli bir fizyolojik antioksidan koruma mekanizmasıdır (101).

Uzun zincirli doymamış yağ asitleri (özellikle araşidonat gibi 20 karbonlu veya daha uzun) serbest radikaller tarafından saldırıya uğrayarak okside edilirler ve lipid peroksidlerini oluştururlar. Doymuş yağ asitleri serbest radikal saldırılarına karşı daha dirençlidir. Lipid peroksidleri toksiktir ve hücre için hasar yapma kapasitesine sahiptirler. Lipid peroksidleri, yüksek ısıda hoş olmayan tat ve kokuya sahip ürünler (keton, asitler ve aldehitler) oluşturmak üzere ayrışır (102, 103). Lipid peroksidasyonunda, reaktif ara ürünler yoluyla aldehitler; malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksinonenal, isoprostanlar, pentan ve etan, 2,3 trans konjuge dienler ve kolesteroloksidler gibi son ürünler oluşmaktadır. Aldehitler, lipid hidroperoksidlerinin yıkımı sırasında oluşurlar ve biyolojik olarak aktiftirler. Bunlardan en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenal'dir (104). Oluşan bu aldehitlerden MDA, membran doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun bir işareti olup, lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olarak kabul edilir (104).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Hipotez

Ratlarda Gebelik süresince uygulanan akrilamidin fetal beyin gelişimine etkilerinin ve E vitamini'nin koruyucu rolünün araştırılması.

3.2. Araştırma tipi

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 2015/ A-21 nolu kararı ile onaylanmış deneysel hayvan çalışmasıdır.

3.3. Araştırmanın evreni ve örneklem büyüklüğü

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde (İNÜTF-DEHÜM) üretilen 250 ± 20 gr ağırlığında 40 adet genç dişi Wistar albino türü rat kullanıldı. Her 2 dişiye bir erkek şeklinde akşam saat 17'de ratlar özel kafeslere alındılar. Ertesi gün saat 08'e kadar aynı kafeste tutuldu. Bu sürenin bitiminde erkekler dişilerin yanından ayrıldı. Dişi ratlardan vajinal smear alınarak mikroskop altında incelendi ve smearda sperm görülen dişiler yarım günlük gebe olarak kabul edildi. Gebelikleri smear ile + olarak tanımlanmayan dişiler deney dışı bırakıldı. Gebe ratlar, İNÜTF-DEHÜM'de, 20 gün (gebelik dönemi) süreyle 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörlerle sürekli havalandırılan $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 'lik odalarda tutuldular. Deney süresi boyunca ad-libitum beslendiler. Gebeliğin 20. gününde fetuslar sezeryan ile alındı. Toplamda 204 adet fetus, morfolojik gelişim parametreleri olarak fetus ağırlığı, fetus CRL mesafesi, plasenta ve fetal beyin ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra histolojik değerlendirmede ve biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

3.4. Deney grupları

Grup 1: Kontrol grubu: Deney grupları ile eş zamanlı olarak çiftleştirilmiş 8 adet gebe rattan vajinal smearda sperm görülmüş 7 adet rat deney süresince gebeliğin 0. - 20. günleri arası ad-libitum beslendi. Gestasyonun 20. gününde sezeryan ile alınan 50 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri

ölçüldü. 50 adet fetusun beyin dokuları alındı. Bir kısım beyin dokuları malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH), total antioksidan kapasite (TAK), total oksidan kapasite (TOK) beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ölçümler için kullanıldı. Bir kısım beyin dokuları ise histolojik incelemeler için kullanıldı.

Grup 2: Mısır yağı grubu: Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 8 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile + olarak tanımlanan 6 adet gebe rat üretime alındıkları gün sonrası ve gebelikleri süresince her gün 1 ml mısır yağı oral olarak verildi (20 gün). Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 44 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 44 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 3: Akrilamid Grubu: Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 8 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile + olarak tanımlanan 6 adet gebe rat üretime alındıkları gün sonrası ve gebelikleri süresince (20 gün) oral gavaj ile günde bir defa 5 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 32 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 32 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 4: E vitamini grubu: Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 8 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile + olarak tanımlanan 6 adet gebe rat üretime alındıkları gün sonrası ve gebelikleri süresince (20 gün) oral gavaj ile günde bir defa 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 39 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 39 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 5: Akrilamid + E vitamini grubu: Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 8 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile + olarak tanımlanan 6 adet gebe rat üretime alındıkları gün sonrası ve gebelikleri süresince (20 gün) her gün oral gavaj ile 5 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid ve oral gavaj ile 100

mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 39 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 39 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Akrilamid uygulama yöntemi:

Gebeliğin 1.-20. günleri arası günde bir defa oral gavaj ile 5 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid uygulandı. (A8887 Sigma Acrylamide, içme suyu içerisinde çözülerek verildi) (105).

E vitamini uygulama yöntemi:

Gebeliğin 1.-20. günleri arası oral gavaj ile her gün 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamin uygulandı. (T3251 Sigma (\pm)- α -Tocopherol, Mısır yağı içerisinde çözülerek verildi) (106).

3.5. Değerlendirme yöntemi

3.5.1. Morfolojik yapı ve Gelişim parametreleri değerlendirme yöntemi

Çalışma sonunda fetal gelişim parametreleri olarak; fetus sayısı, fetus ağırlığı, fetus CRL mesafesi (Tepe-Oturma Noktası Uzunluğu), plasenta ve fetal beyin ağırlığı ölçüldü.

3.5.2. Histolojik inceleme yöntemi

Deneysel aşama sona erdiğinde, ratların beyin dokuları alınarak %10'luk formaldehit solüsyonu içiren numune kaplarına bırakıldı. Dokular 3 gün tespit amaçlı bu solüsyonda bekletildi. Tespit sonrası doku içindeki tespit solüsyonunun uzaklaştırılması amacıyla dokular çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra rutin histolojik doku takibi prosedürüne uygun olarak dehidrasyon ve parlatma işlemleri yapıldı. Son olarak takibi tamamlanan dokular parafin blok haline getirildi. Parafin bloklardan histolojik inceleme yapılabilmesi için 8 μ m kalınlıkta kesitler alındı. Elde edilen kesitler deparafinize edilerek hematoksilin-eozin (H-E) boyama yöntemi

uygulandı. Boyanan kesitler Carl Zeiss marka Axiocam ERc5 model dijital kamera ataçmanlı mikroskop ile incelenerek histopatolojik yönden değerlendirildi. Korteks serebri alanındaki nöronlar farklı objektiflerdeki görüntüler kullanılarak değerlendirildi.

3.5.3. Biyokimyasal analizler

Çalışma sonunda sıvı azot tankına alınan ve daha sonra -80 °C derin dondurucuda bekletilen fetal beyin dokularında MDA, GSH, TAK, TOK ve BDNF düzeyleri ölçüldü.

3.5.3.1. Dokuların Biyokimyasal analizlere hazırlanması

Derin dondurucuda muhafaza edilen fetal beyin dokuları çalışma günü çıkarılarak tartıldı. %10'luk homojenat oluşacak şekilde fosfat tamponu ilave edilerek buz içinde 1-2 dakika süreyle 12000 devir/dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Doku homojenatları 5000 rpm'de, +4 derecede, 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

3.5.3.2. Redükte Glutasyon (GSH) düzeyinin ölçümü

GSH analizi, Ellman'ın tarif ettiği yöntemle yapıldı (107). Analiz tüpünde bulunan GSH'nin 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi ve oluşan bu rengin ışık şiddetinin 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunarak GSH konsantrasyonunun tayin edilmesi şeklinde yapıldı.

3.5.3.3. Malondialdehid (MDA) düzeyinin ölçümü

MDA analizi Uchiyama ve ark. (108) yöntemine göre yapıldı. MDA konsantrasyonu, süpernatandaki MDA'nın 95 °C'de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli ürünün n-butanol fazından ekstrakte edilen süpernatanın spektrofotometre ile 535 ve 520 nm de ölçülmesiyle belirlendi.

3.5.3.4. Total Oksidan Kapasitenin (TOK) ölçümü

Total oksidan kapasitenin ölçümünde, ticari TOK ölçüm kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (109). TOK ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELİZA 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 µL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 25 µL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçülmesiyle TOK düzeyleri belirlendi.

3.5.3.5. Total Antioksidan Kapasitenin (TAK) ölçümü

Ticari TAK ölçüm kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (110). TAK ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELİZA cihazı 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 µL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 75 µL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçülmesiyle TAK düzeyleri belirlendi.

3.5.3.6. BDNF düzeyinin hesaplanması

Taze beyin dokuları seri olarak tartılarak sıvı azot tankına alındı. Daha sonra çalışma gününe kadar -80°C derin dondurucuda saklandı. Çalışılacağı zaman Boster Rat BDNF Sandwich ELISA Kit protokolüne uyularak PBS (pH 7,4) tamponu hazırlandı. Numuneler çözüldükten sonra beyin dokuları PBS tamponuyla 5 kat dilue edilerek 12000 rpm'de buz içinde homojenize edildi (IKA, Germany) ve 10.000xg'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatantlar alındı. Kit prosedürüne uygun olacak şekilde çalışma sonunda numuneler, 450 nm'de (Basic Radim Immunoassay

Operator (BRIO; Pomezia, Italy) ELİZA cihazında otomatik olarak ölçülerek BDNF düzeyleri belirlendi.

3.5.4 İstatiksel analizler

İstatiksel analizler SPSS 21,0 Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildi. Veriler normal dağılım göstermediği için ortanca (min–maks) ile özetlenmiştir. Grupların karşılaştırılması için Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal–Wallis testi sonrası ikili karşılaştırmalar Conover yöntemiyle yapılmıştır. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edilmiştir ($P \leq 0.05$).

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Yapı ve Gelişim parametrelerinin değerlendirilmesi

Tüm gruptaki gebe ratlardan sezeryan ile alınan toplam 204 adet fetusda ağırlık, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlıkları ölçüldü. Çalışmada kullanılan fetusların vücut ağırlığı, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlıklarına ait toplu sonuçlar Ek 1’de verilmiştir. Tüm gruptan örneklenen fetusların genel görünüşü Şekil 4.1-5’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü (fetusların görünümü: normal)



Şekil 4.2. Mısır yağı grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü (fetusların görünümü: normal)



Şekil 4.3. Akrilamid grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü (fetusların görünümü: deride yaygın hemoraji mevcut)



Şekil 4.4. E Vitamini grubundaki 20 günlük fetusun görüntüsü (fetusların görünümü: normal)



Şekil 4.5. Akrylamid + E Vitamini grubundaki fetusun görüntüsü (fetusların görünümü: normal)

4.1.1. Grupların gelişim parametrelerine ait bulgular

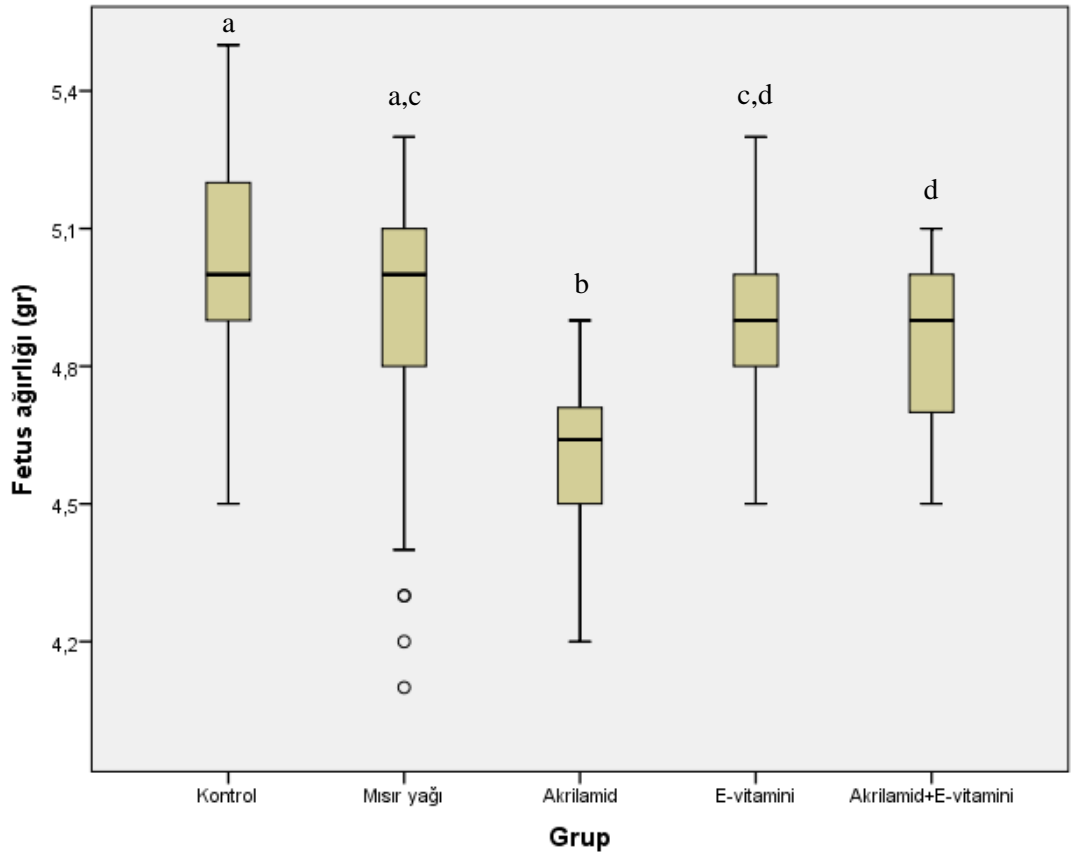
Çalışma sonunda akrilamid grubu da dahil diğer tüm gruplarda herhangi bir ekstremitte anormaliliğine rastlanmadı. Ancak akrilamid grubunda bazı fetusların derilerinde hemoraji gözlemlendi. E vitamini uygulaması ile akrilamid uygulamasından kaynaklanan deri hemorajileri tamamen ortadan kaldırılmıştır (Şekil 4.5.). Grupların gelişim parametrelerine ait tüm bulgular Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Grupların gelişim parametrelerine ait bulgular

Morfolojik parametre	Grup	N	Median	Minimum	Maximum	
Fetus ağırlığı (gr)	Kontrol	50	5,0	4,5	5,5	p<0.05
	Mısır yağı	44	5,0	4,1	5,3	
	Akrilamid	32	4,6	4,2	4,9	
	E vitamini	39	4,9	4,5	5,3	
	Akrilamid + E vitamini	39	4,9	4,5	5,1	
CRL mesafesi (mm)	Kontrol	50	40	37	42	p<0.05
	Mısır yağı	44	39	38	42	
	Akrilamid	32	38	35	39	
	E vitamini	39	40	38	41	
	Akrilamid + E vitamini	39	39	37	41	
Plasenta ağırlığı (gr)	Kontrol	50	0,70	0,55	0,80	p<0.05
	Mısır yağı	44	0,68	0,59	0,74	
	Akrilamid	32	0,59	0,49	0,65	
	E vitamini	39	0,67	0,60	0,73	
	Akrilamid + E vitamini	39	0,67	0,63	0,72	
Beyin ağırlığı (gr)	Kontrol	50	0,20	0,18	0,21	p<0.05
	Mısır yağı	44	0,20	0,18	0,21	
	Akrilamid	32	0,18	0,16	0,19	
	E vitamini	39	0,20	0,19	0,21	
	Akrilamid + E vitamini	39	0,20	0,18	0,21	

4.1.2. Grupların fetus ağırlıklarının karşılaştırılması

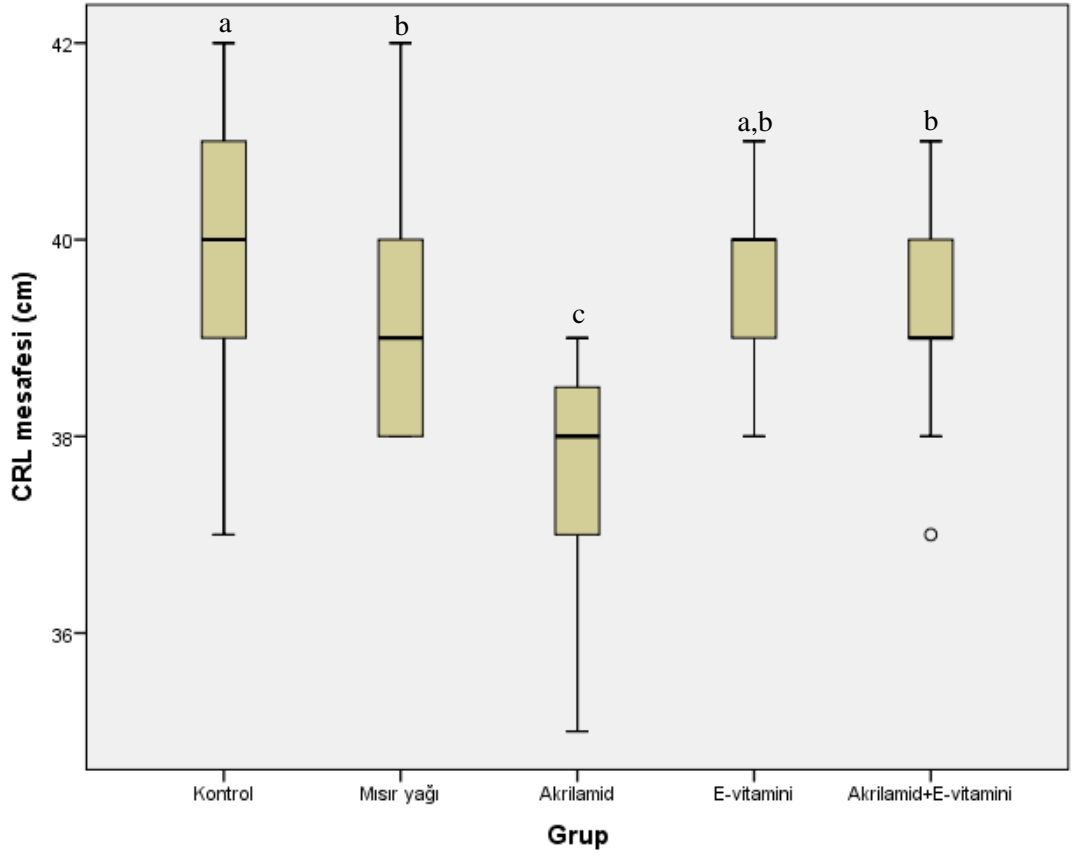
Yapılan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 20 günlük fetuslarda gelişim parametresi olarak incelenen fetus ağırlıkları, akrilamid uygulanması ile ciddi derecede azalırken ($p<0.05$), E vitamini uygulanmasıyla fetus ağırlığı anlamlı derecede artmıştır ($p<0.05$). Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı
*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.1.3. Grupların CRL mesafelerinin karşılaştırılması

Yapılan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 20 günlük fetuslarda gelişim parametresi olarak incelenen CRL mesafesi, akrilamid uygulanan grupta ciddi derecede azalırken ($p<0.05$), E vitamini uygulanan grupta ise anlamlı derecede artmıştır ($p<0.05$). CRL mesafesinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.7.'de verilmiştir.



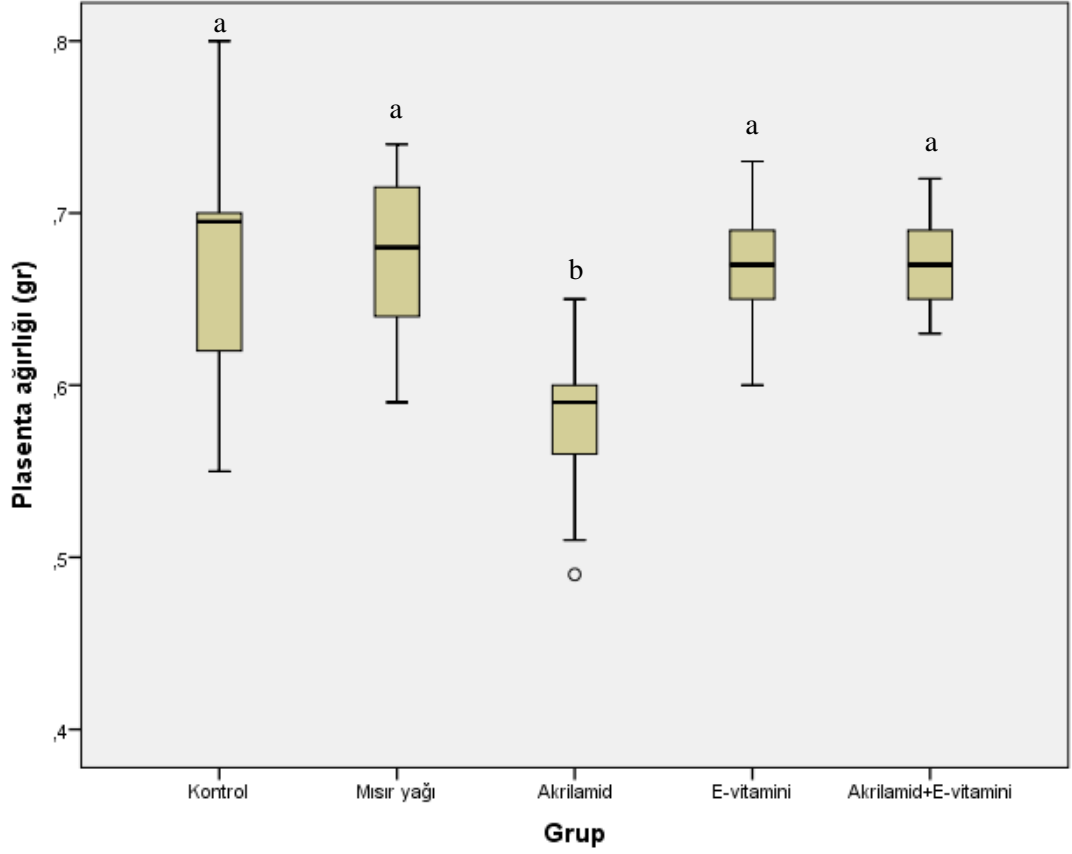
Şekil 4.7. CRL mesafesinin gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.1.4. Grupların plasenta ağırlıklarının karşılaştırılması

Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 20 günlük fetuslarda gelişim parametresi olarak incelenen plasenta ağırlığı, akrilamid uygulanan grupta önemli derecede azalırken ($p<0.05$), E vitamini uygulanan grupta ise ciddi

derecede artmıştır ($p<0.05$). Plasenta ağırlığının gruplara göre dağılımı Şekil 4.8.'de verilmiştir.

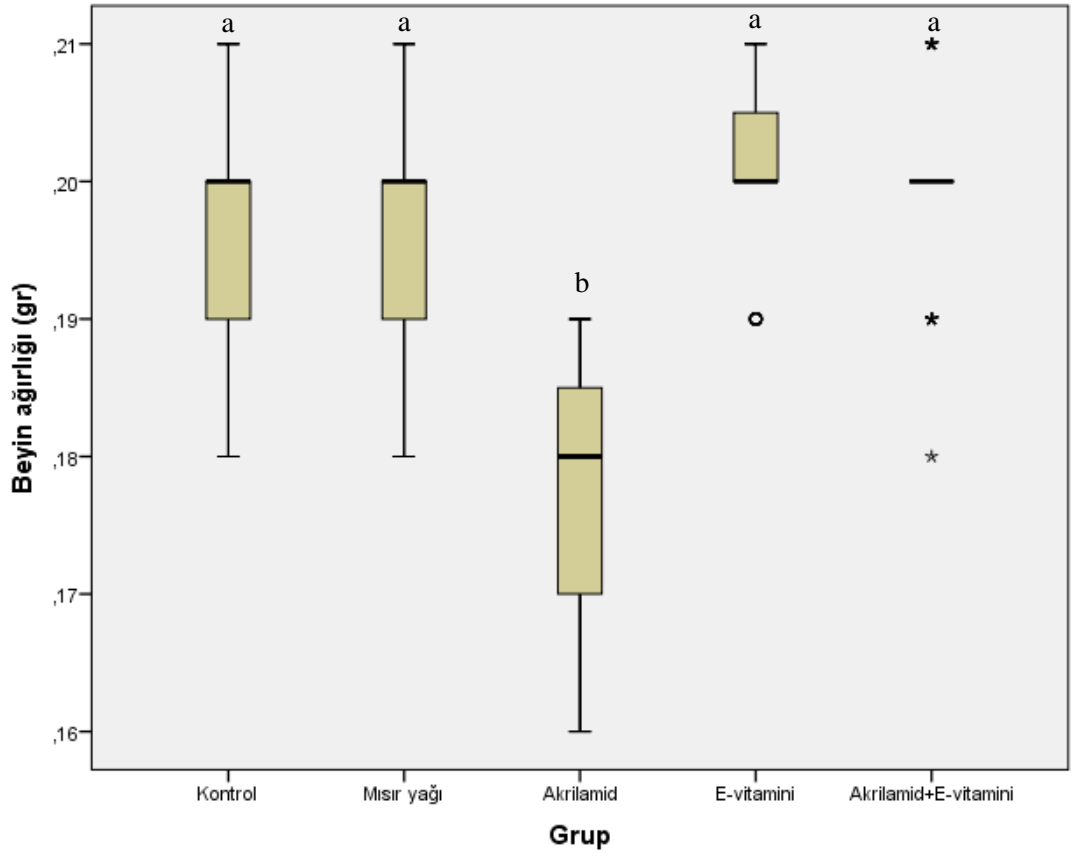


Şekil 4.8. Plasenta ağırlığının gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.1.5. Grupların fetal beyin ağırlıklarının karşılaştırılması

Grupların fetal beyin ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, fetal beyin ağırlığı, akrilamid uygulanan grupta anlamlı derecede düşerken ($p<0.05$), E vitamini uygulanmasıyla önemli derecede artmıştır ($p<0.05$). Beyin ağırlığının gruplara göre dağılımı Şekil 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Beyin ağırlığının gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığını ifade ediyor ($p < 0.05$).

Şekil 4.2. Biyokimyasal bulgular

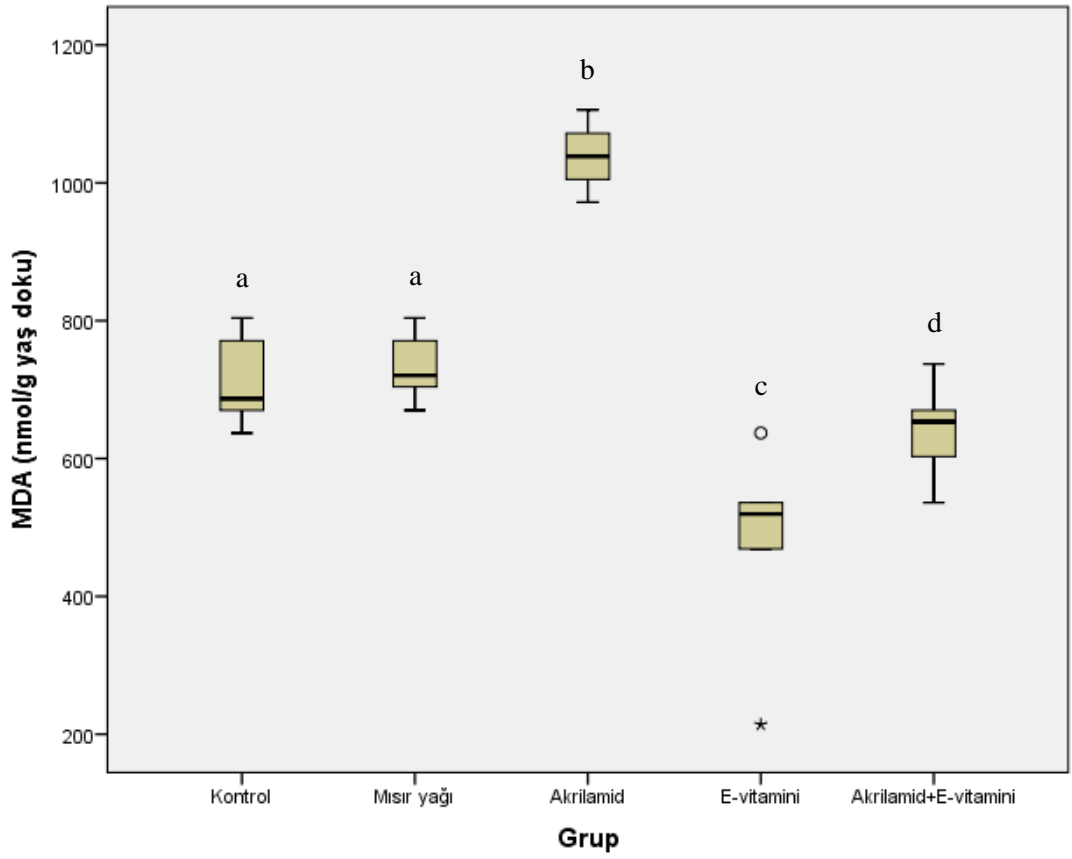
Grupların biyokimyasal parametrelere ait bulgular Tablo 4.2.'de verilmiştir

Tablo 4.2. Grupların Biyokimyasal parametrelere ait bulgular

Biyokimyasal parametreler	Grup	N	Median	Minimum	Max	P
GSH (nmol/g yaş doku)	Kontrol	6	718,0	647	763	p<0.05
	Mısır yağı	6	641,0	577	769	
	Akrilamid	6	468,0	429	538	
	E vitamini	6	705,0	577	769	
	Akrilamid + E vitamini	6	599,5	545	705	
MDA (nmol/g yaş doku)	Kontrol	6	687,0	637	804	p<0.05
	Mısır yağı	6	720,5	670	804	
	Akrilamid	6	1038,5	972	1106	
	E vitamini	6	519,5	214	637	
	Akrilamid + E vitamini	6	653,5	536	737	
TOK (µmolL)	Kontrol	7	63,8	60,0	69,1	p<0.05
	Mısır yağı	6	65,5	64,0	69,0	
	Akrilamid	6	75,5	72,0	78,0	
	E vitamini	6	26,5	23,0	29,0	
	Akrilamid + E vitamini	6	30,0	28,0	35,0	
TAK (µmolL)	Kontrol	7	0,96	0,92	1,00	p<0.05
	Mısır yağı	6	1,01	0,53	1,05	
	Akrilamid	6	0,59	0,54	1,67	
	E vitamini	6	1,43	1,10	1,51	
	Akrilamid + E vitamini	6	1,04	1,00	1,08	
BDNF (pg/ml)	Kontrol	6	452,5	308,0	478,0	p<0.05
	Mısır yağı	6	468,5	410,0	478,0	
	Akrilami d	6	51,0	33,0	216,0	
	E vitamini	6	607,0	530,0	877,0	
	Akrilamid+E vitamini	6	464,5	428,0	490,0	

4.2.1. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid grubu fetal beyin dokusu MDA düzeyleri istatistikî olarak anlamlı şekilde artış gösterirken ($p<0.05$), E vitamini uygulanması MDA düzeylerini istatistikî olarak önemli derecede düşürmüştür ($p<0.05$) ve kontrol grubu değerlerine getirmiştir. Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.10.'da verilmiştir.

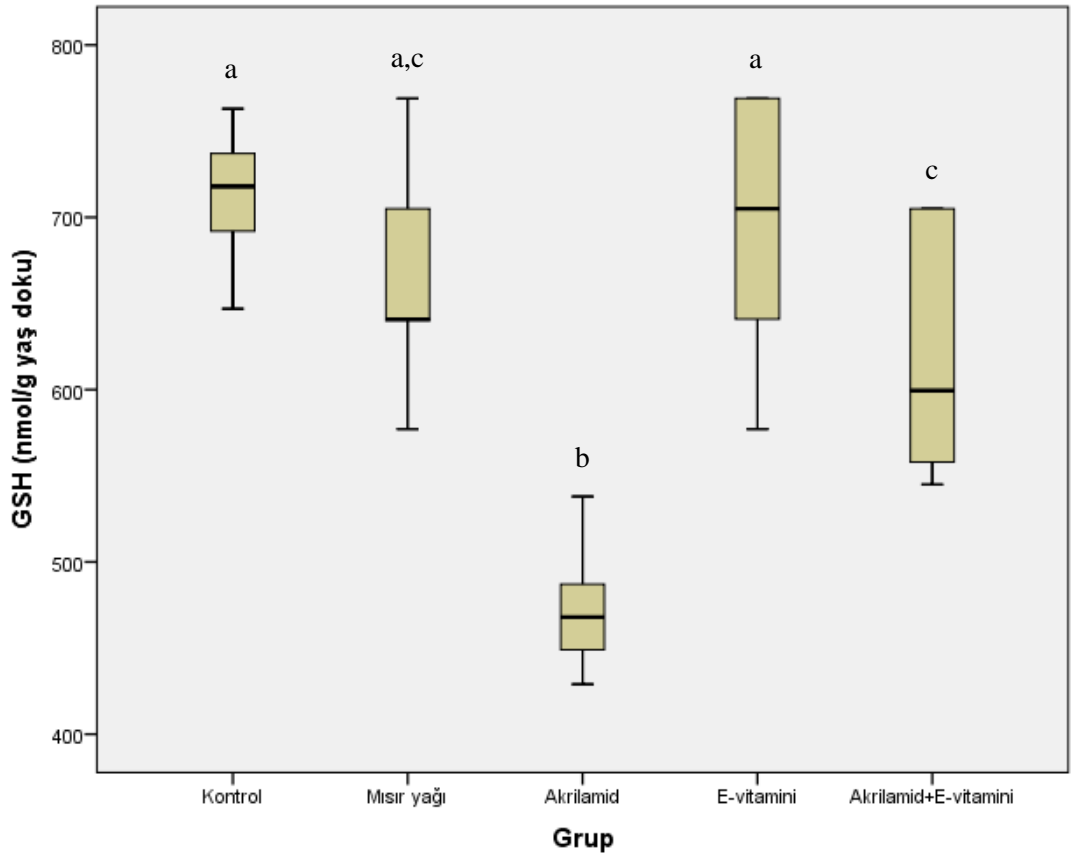


Şekil 4.10. Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.2.2. Grupların GSH düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid grubu fetal beyin dokusu GSH düzeyleri istatistikî olarak anlamlı derecede azalırken ($p<0.05$), E vitamini uygulanmasıyla GSH düzeyleri istatistikî olarak önemli derecede artmış ($p<0.05$) ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.11.'de verilmiştir.

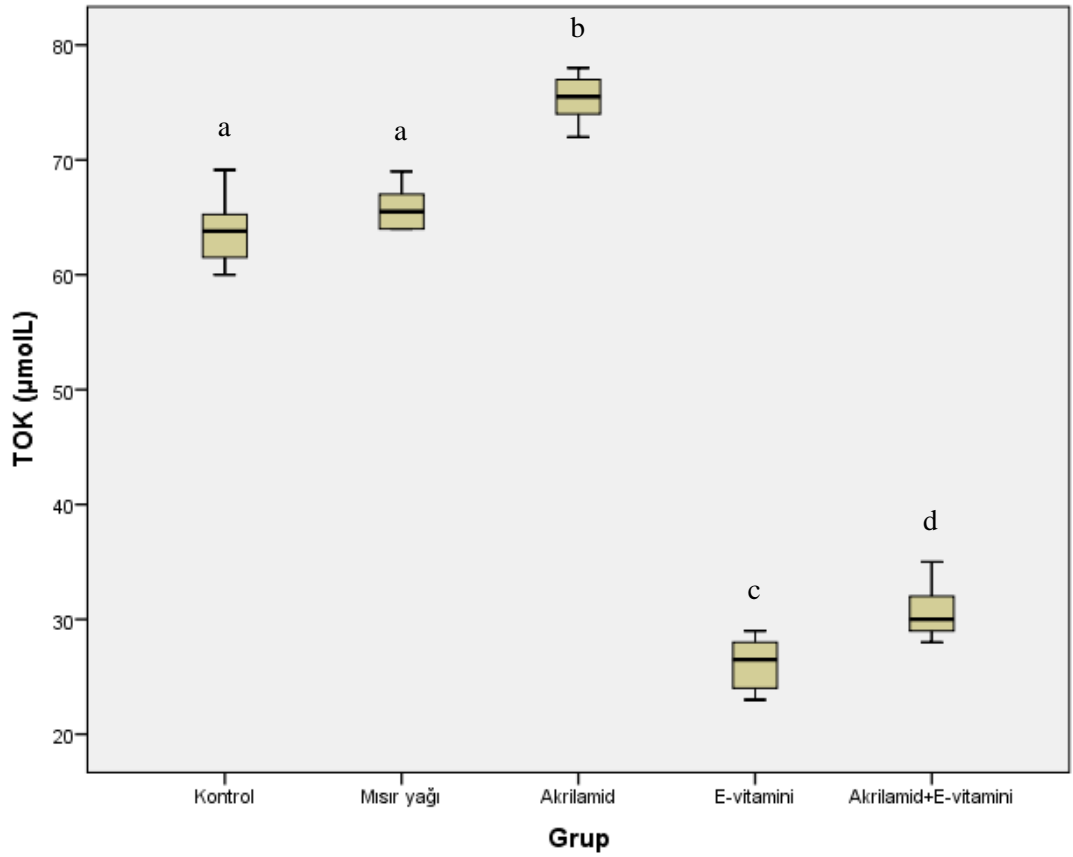


Şekil 4.11. Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.2.3. Grupların TOK düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu TOK düzeyleri istatistiki olarak anlamlı derecede artış gösterirken ($p<0.05$), E vitamini uygulanan grupta TOK düzeyleri istatistiki olarak önemli derecede azalmış ($p<0.05$) ve kontrol grubu değerlerine getirmiştir. Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.12.'de verilmiştir.

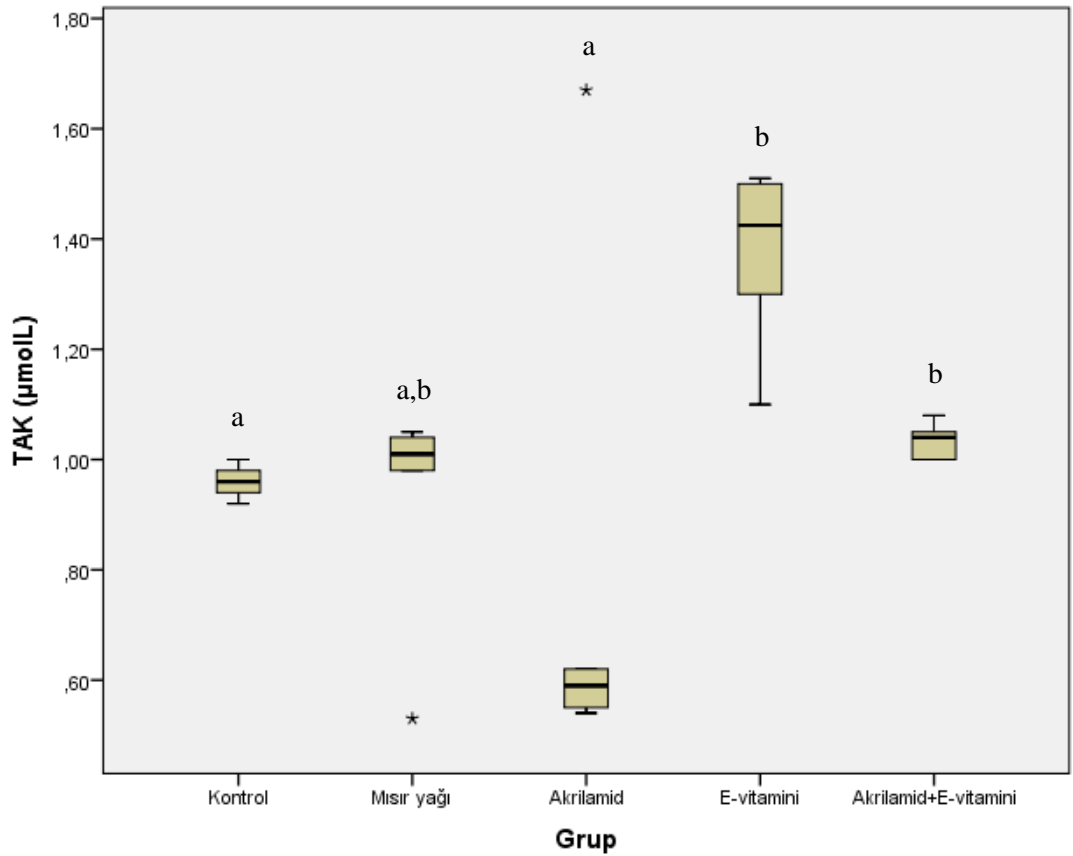


Şekil 4.12. Fetal beyin dokusu TOK düzeylerinin gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.2.4. Grupların TAK düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu TAK düzeyleri istatistiki olarak anlamlı derecede azalış gösterirken ($p<0.05$), E vitamini uygulanan grupta ise TAK düzeyleri istatistiki olarak önemli derecede artış göstermiş ($p<0.05$) ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Fetal beyin dokusu TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.13.'de verilmiştir.

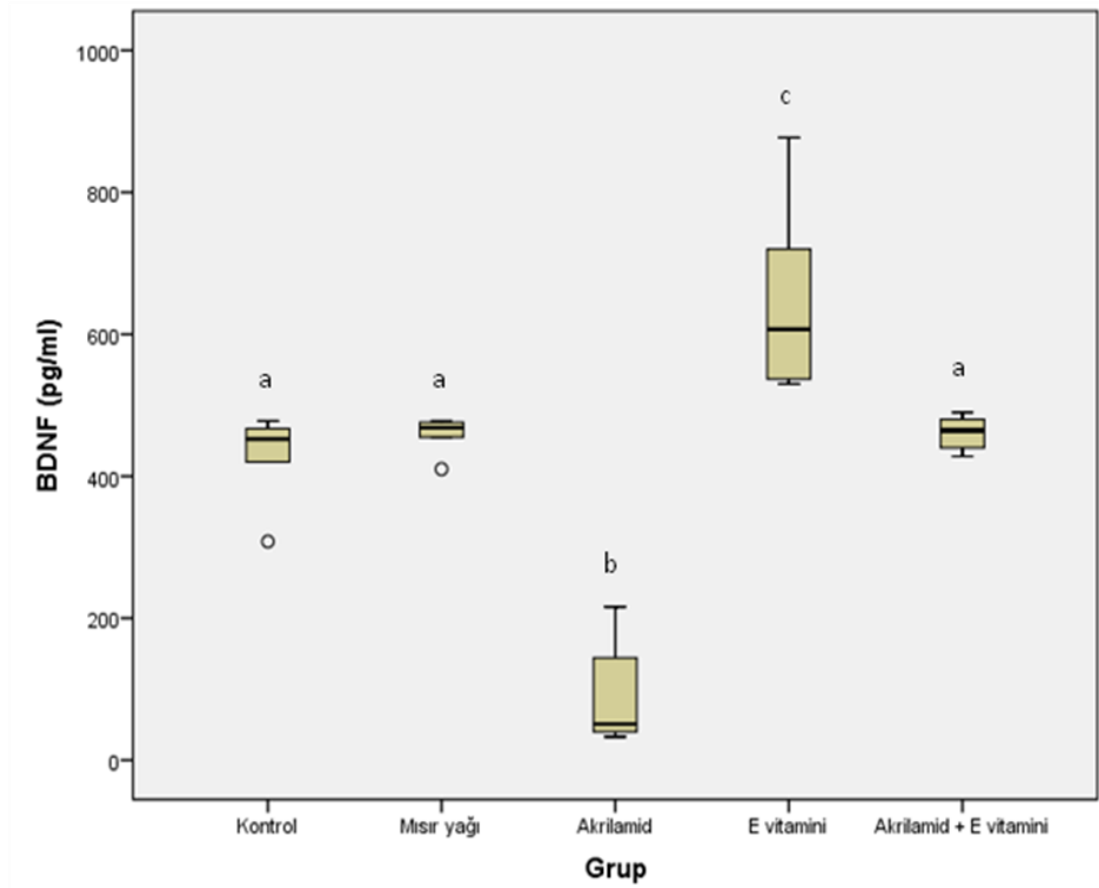


Şekil 4.13. Fetal beyin dokusu TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı

*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.2.5. Grupların BDNF düzeylerinin Karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu BDNF düzeyleri istatistikî olarak anlamlı derecede düşüş gösterirken ($p<0.05$), E vitamini uygulanmasıyla BDNF düzeylerinin istatistikî olarak anlamlı derecede yükseldiği ve kontrol grubuna yakın seviyelere çıktığı gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Fetal beyin dokusu BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.14. Fetal beyin dokusu BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı

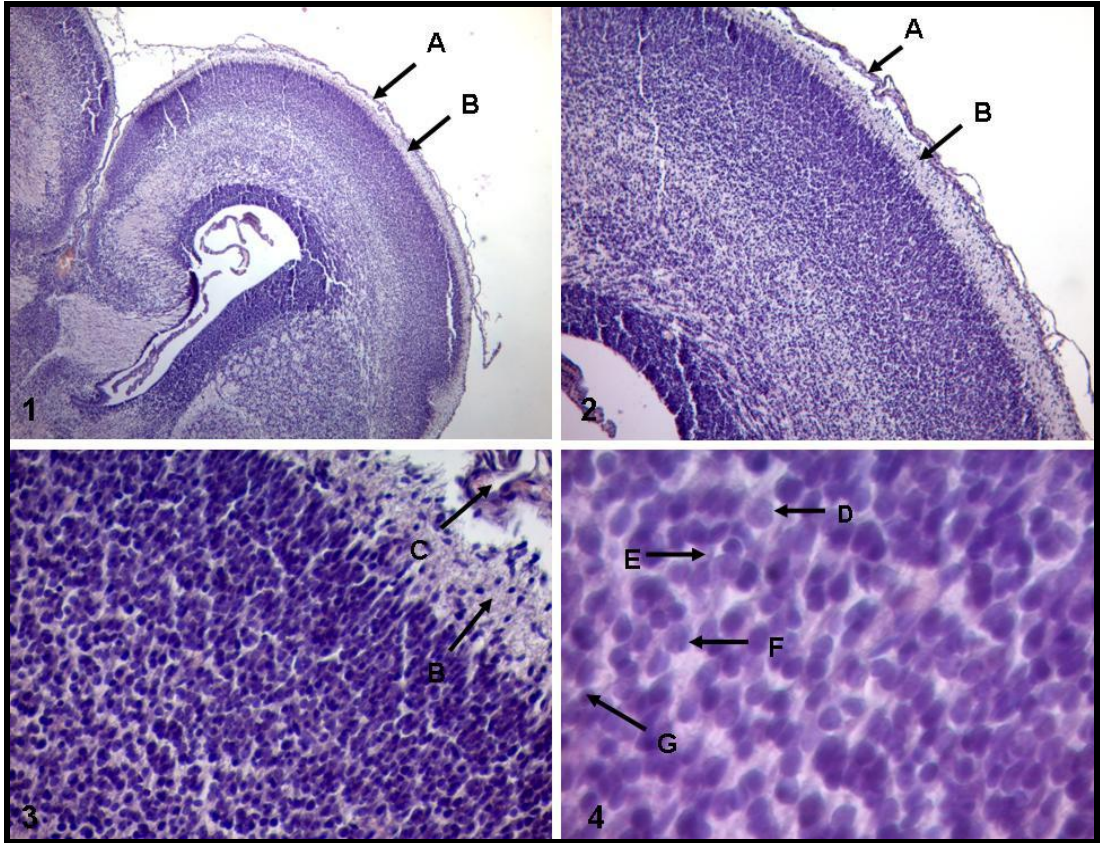
*Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade ediyor ($p<0.05$).

4.3. Histopatolojik Bulgular

Deney grupları fetal beyin dokularına ait kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Korteks serebri bölgesine ait nöronların yapıları ve sayısal yoğunluğu histopatolojik açıdan incelendi. Akrilamid grubuna ait fetus beyinlerinin korteks serebri bölgesinde bulunan nöronların sayısal yoğunluğu, kontrol ve diğer gruplara oranla azalmıştı. Ayrıca bölgedeki nöron tabakası kalınlığı da diğer gruplara kıyasla azalmıştı. E vitamini uygulanan gruplarda hem nöronların sayısal yoğunluğu hem de tabakanın kalınlığı akrilamid uygulanan gruba oranla artış göstermiştir. Fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grup hariç diğer gruplarda anlamlı bir fark görülmedi.

4.3.1. Kontrol grubuna ait histopatolojik bulgular

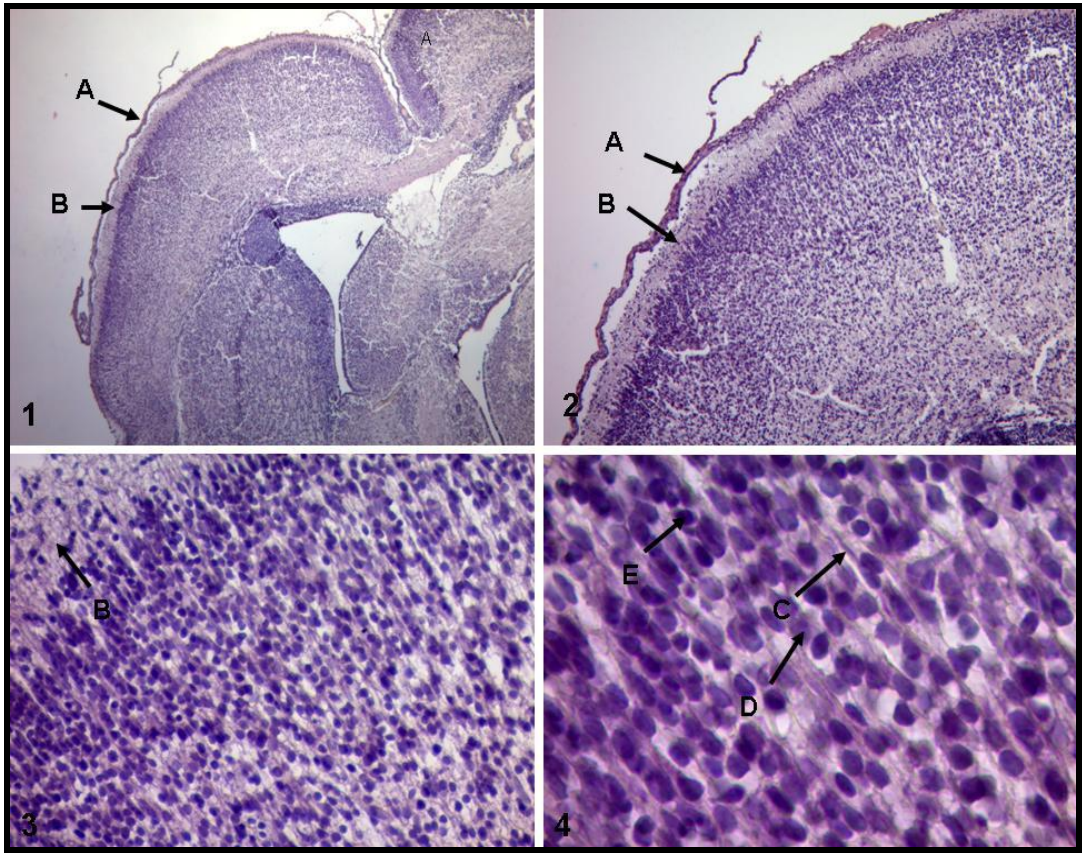
Korteks serebri dıştan gevşek bir bağ dokusu olan piamater ile sarılıydı. Piamaterin hemen altında korteks serebrinin en dış tabakası olan lamina molekülare görülmekteydi. Lamina molekülare dışındaki korteks serebri tabakaları birbirlerinden ayırt edilemedi. Kontrol grubuna ait kesitlerde, nöronların genel yapısı normal görünümdeydi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların perikaryonlarının sınırları düzgün; pramidal şekilli olarak izlendi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik ve belirgin çekirdekçikliydi. Nöronların uzantıları olan dendrit ve aksonları normal görünümündü. Ayrıca nöroglia hücrelerinin de normal görünümde oldukları izlendi. Kontrol grubuna ait fetal beyin dokusu histolojik görüntüleri Şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.15. Kontrol grubuna ait histolojik görüntüler: 1: x4, 2: x10, 3: x40, 4: x100'lük büyütme. A: korteks serebride piamater, B: lamina molekülare, C: kan damarı, D: sağlıklı piramidal nöronlar, E: nöron uzantıları, F: sağlıklı piramidal nöronlar, G: nöroglia hücreleri. H-E boyama.

4.3.2. Mısır Yağı grubuna ait histopatolojik bulgular

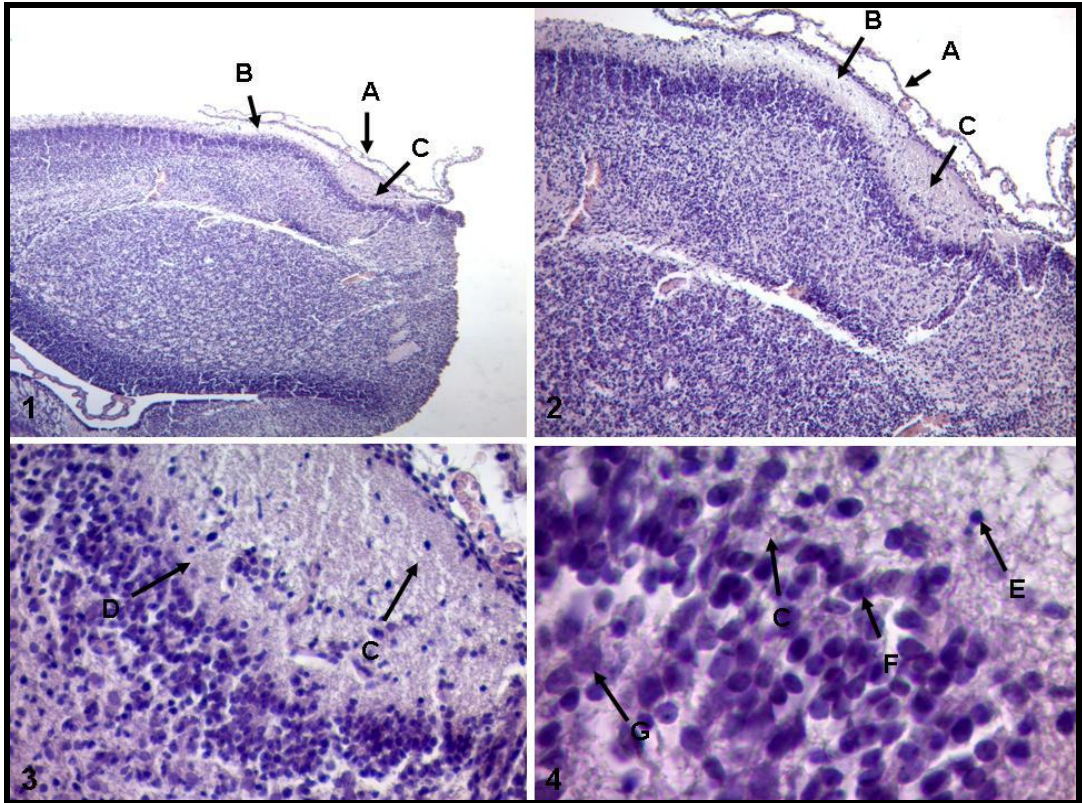
Mısır yağı grubuna ait kesitlerde, dokunun genel yapısı ve nöronlar normal görünümdeydi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların perikaryonlarının sınırları düzgün, piramidal şekilli olarak izlendi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik ve belirgin çekirdekçikliydi. Nöronların uzantıları olan dentrit ve aksonları normal genişlikteydi. Nöronlar düzgün bir dizilim gösterirken, nöroglia hücrelerinin de normal görünümde oldukları izlendi. Genel değerlendirmeye bakıldığında kontrol ve Vitamin E gruplarına benzer bir yapısal görüntü mevcuttu (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Mısır yağı grubuna ait histolojik görüntüler: 1:x4, 2: x10, 3: x40, 4: x100'lük büyütme. **A:** korteks serebride piameter, **B:** lamina molekülare, **C:** nöron uzantısı, **D:** sağlıklı nöron, **E:** nöroglia hücreleri. H-E boyama.

4.3.3. Akrilamid grubuna ait histopatolojik bulgular

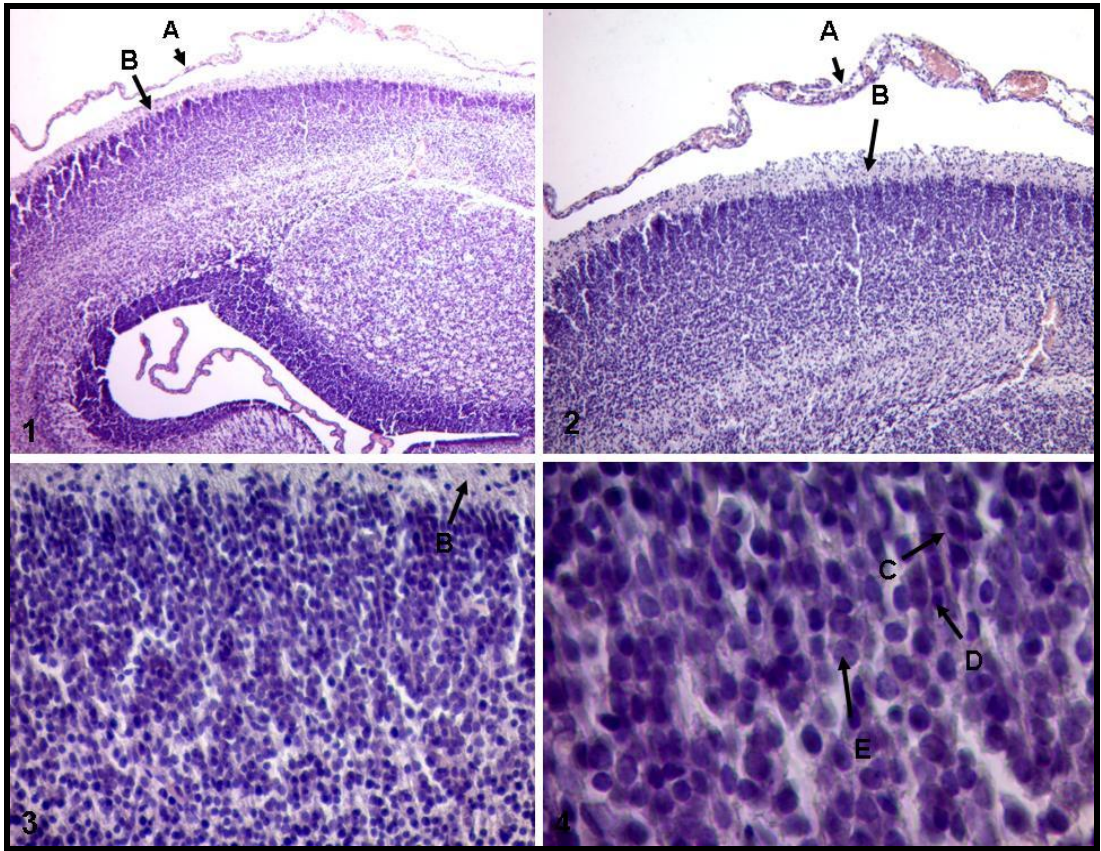
Yapılan ışık mikroskopik değerlendirme sonucu, nöronların hem hücre, hem de çekirdek sınırları düzensiz görünümdeydi. Ayrıca, bu gruptaki nöroglia hücreleri diğer gruplara kıyasla iri çekirdekli ve belirgin çekirdekçikli olarak izlendi. Korteks serebri bölgesindeki nöronların düzeni bozulmuştu. Nöronların sayısal yoğunluğu kontrol grubuna göre belirgin olarak azalmıştı. Ayrıca bazı alanlarda nöron kaybı dikkat çekiciydi. Dejenere olmuş nöronların bir kısmında ise periferel Nissl yoğunlaşması anlamına gelen kromatoliz bulgusuna rastlanmaktaydı. Bazı nöronlar ise çekirdekçikleri seçilemeyen, soluk boyanmış ve sitoplâzmaları ile ödemli görünümdeydi. Hücreler arası ortamda sınırları tam olarak tespit edilemeyen ölü hücre artığı olası yapılara rastlandı. Bu yapılar bazı kesitlerde nekrotik alanlar şeklinde göze çarpmaktaydı. Nöronlara ait nükleusların koyu piknotik görünümde ve şişerek yoğunluğunu kaybetmiş oldukları gözlemlendi. Nöron uzantılarının düzeni bozulmuştu (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Akrilamid grubuna ait histolojik görüntüler: 1: x4, 2: x10, 3: x40, 4: x100'lük büyütme. **A:** korteks serebri de piameter, **B:** lamina molekular, **C:** nöron kaybı olan alanlar, **D:** azalmış nöron tabakası kalınlığı, **E:** nöroglia hücreleri, **F:** dejenere nöronlar, **G:** ödemli nöron. H-E boyama.

4.3.4. E vitamini grubuna ait histopatolojik bulgular

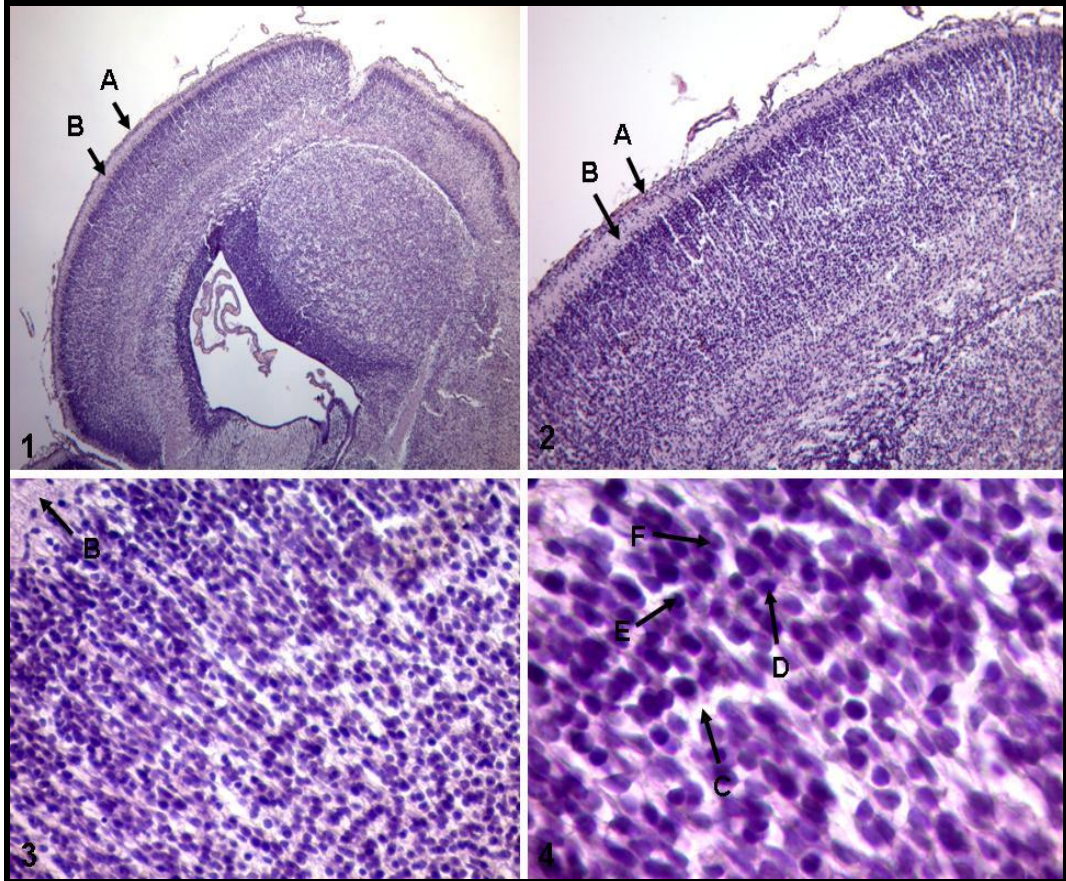
E vitamini grubuna ait kesitlerde, korteks serebrinin genel yapısı ve nöronlar normal görünümdeydi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların pramidal şekilleri ve düzgün sınırlı perikaryonları ile sağlıklı yapıda oldukları tespit edildi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik idi ve çekirdekçikleri belirgin olarak göze çarpmaktaydı. Nöronların uzantıları olan dendrit ve aksonları normal genişlikteydi. Piramidal nöronların düzgün dizilimli; nöroglia hücrelerinin de normal ve sağlıklı oldukları görüldü. Genel değerlendirmeye bakıldığında kontrol grubuna benzer bir yapısal görüntü mevcuttu (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. E vitamini grubuna ait histolojik görüntüler: 1: x4, 2: x10, 3: x40, 4: x 100' lük büyütme. **A:** korteks serebride piameter, **B:** lamina molekülare, **C:** nöron uzantıları, **D:** nöroglia hücreleri, **E:** sağlıklı piramidal nöronlar. H-E boyama.

4.3.5. Akrilamid + E vitamini grubuna ait histopatolojik bulgular

Korteks serebrideki nöronların histolojik yapısı kontrol grubundakilerle benzer görünümdeydi. Fakat nöronların sayısal yoğunluğuna bakıldığında kontrol grubuna göre az, akrilamid grubuna göre fazla olduğu gözlemlendi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemede nöronların pramidal şekilleri ve düzgün sınırlı perikaryonları ile sağlıklı yapıda oldukları tespit edildi. Ayrıca bu hücrelerin çekirdekleri ökromatik idi ve çekirdekçikleri belirgin olarak göze çarpmaktaydı. Fakat normal nöronların arasında yer yer akrilamid etkisinden kaynaklı, yer yer kromatini azalmış çekirdeğe, dar ve koyu boyanmış sitoplazmaya sahip nöronlar ile koyu bazofil bir nükleus yanında koyu boyanmış düzensiz sınırlı sitoplazmaya sahip piramidal nöronlar gözlenmekteydi. Nöronların uzantıları olan dendrit ve aksonları normal genişlikteydi. Nöroglia hücrelerinin de normal ve sağlıklı oldukları görüldü (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Akrilamid + E vitamini grubuna ait histolojik görüntüler: 1: x4, 2: x10, 3: x40, 4: x100'lük büyütme. **A:** korteks serebride piameter, **B:** lamina molekulare, **C:** nöron kaybı olan alanlar, **D:** dejenere nöronlar, **E:** nöroglia hücreleri, **F:** sağlıklı nöron. H-E boyama.

5. TARTIŞMA

Akrilamid, doğal olarak bulunmamakla birlikte oldukça yüksek kimyasal aktiviteye sahip α - β -ansature karbonil bileşiği olup oldukça yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Bu yaygın kullanım alanlarından en önemlisi endüstriyel alandır. İnsanlık için asıl tehlikeli olan, gıda kaynaklı akrilamidin oluşumudur. Çünkü gıda kaynaklı akrilamid günlük düzenli olarak vücuda alınır. Akrilamid karbonhidrat ve protein (özellikle asparajin aa) içeren gıdalarda yüksek sıcaklığın etkisi ile oluşmaktadır. Bu oluşum Maillard reaksiyonu ile gerçekleşmektedir. Oluşum kızartma ve fırınlama işlemi sırasında 120 °C üzerine çıkan pişirme işlemi sırasında meydana gelir (111). Haşlama işlemi sırasında akrilamid oluşumu ile ilgili risk olmadığı bildirilmiştir (112). Fetal beyin, gebelik süresince kullanılan farmakolojik ajanlardan etkilenmeye açıktır. Özellikle ilk trimestirde organogenez nedeniyle etkilenme majör malformasyonlara neden olabilirken diğer trimestirlerdeki etkilenme ise kendini daha çok disfonksiyonla göstermektedir (113).

Suda oldukça kolay çözünen akrilamid deney hayvanlarında plesantayı doğrudan geçer, fetüs dokularına ulaşır ve günlük alım miktarına bağlı olarak gelişim bozuklukları ve doku hasarlarına yol açar (114). Akrilamidin, perifer ve merkezi sinir sisteminde sinir aksonları üzerinde nörotoksik etki gösterdiği, sinir terminalleri boyunca membran bölünmesi ve tubulovasküler değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir, ancak nörotoksik etkinin mekanizması tam olarak ortaya çıkartılamamıştır (57). Akrilamidin nöropatilere ilaveten; ataksiye, deri ve vücut anomalileri, iskelet kası zayıflıkları, el ve ayaklarda malformasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (56). Tüm bu doku hasarlarının, akrilamidin neden olduğu oksidatif stresten kaynaklandığı ileri sürülmektedir (56, 115, 116).

E vitamini, α (alpha), β (beta), γ (gamma) δ (delta) olmak üzere 4 tokoferol formunda bulunabilen ve yağda çözünen önemli bir antioksidandır. Serbest radikaller tarafından hücrenin yağ fazında oluşturulan oksidatif stresi engelleyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Bu etkiyi, serbest radikalleri daha az reaktif bileşiklere dönüştürerek gerçekleştirmektedir (117-119). Birçok doku için güçlü bir antioksidan olan E vitamini kan-beyin bariyerini geçer ve güçlü bir nöroprotektif etki

gösterir (73,74). İntrauterin dönemde E vitamini plasentayı kolaylıkla geçer ve büyük oranda yavruların beyin dokusu tarafından alınır (75).

Özellikle beyin; antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeni ile oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve E vitamini gibi güçlü antioksidanların koruyucu etkisine ihtiyaç duyar (72).

Birçok teratojenik madde plasentadan geçip fetal dolaşıma katılarak doğum sonrası yapısal bozukluklara neden olmaktadır. Araştırmacılar fetal dönemde maruz kalınan ilaçların fetuslar üzerinde oluşturabileceği konjenital etkilerini morfolojik açıdan ve organ düzeyinde incelemişlerdir.

El-Sayad ve ark (57).., dişi sıçanlara gebeliğin 6. gününden itibaren gebelik süresince 30 mg/kg vücut ağırlığı akrilamid (AA) ve yaklaşık %30 kızarmış patates cipsi (KPC) içeren diyet uygulayarak fetusların üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Standart diyet (kontrol), AA ve KPC ile beslenmiş grupların fetuslarının morfolojik verileri karşılaştırılmıştır. Gebelik sırasında AA ve KPC içeren diyet verilen dişi sıçanlardan elde edilen fetuslarda; gecikmeli gelişim, azalmış vücut ve beyin ağırlığı gözlemlenmiştir. Alam ve ark gebe ratlara gebeliğin 7. gününden doğuma kadar (prenatal) ve doğum sonrası 28. güne kadar laktasyon süresince (perinatal) 10 mg/kg/gün oral yolla akrilamid uygulamışlardır. Gerek doğum öncesi (prenatal) gerek doğum sonrası (perinatal) uygulanan akrilamidin; yeni doğanların kilo gelişiminde ciddi oranda gerilemeye yol açtığını, kulak ve göz açılmasının ve tüylenmenin geçtiğini gözlemlenmiştir (56).

Ferguson ve ark., gebeliğin 6. gününden doğum sonrası 21 gün boyunca 0.1, 0.5, 1, 5 mg/kg AA oral gavaj yöntemiyle uyguladıklarında; doza bağımlı bir şekilde yavru ağırlıklarında azalma gözlemlediklerini bildirmişlerdir (120). Muralidhara, gebeliğin 6. gününden 19. gününe kadar dişilerin içme sularına 50, 100, 200 ppm akrilamid ilave etmiş ve koruyucu olarak inulini 2 g/kg vücut ağırlığı olacak şekilde oral gavaj yoluyla gebeliğin 0-19. günlerinde uygulamıştır. 200 ppm uygulanan grupta plasenta ağırlığında azalma, 100 ve 200 ppm uygulanan grupta ise fetal ağırlıkta azalma görüldüğünü ifade edilmiştir (121).

Bizim çalışmamızda da akrilamid uygulanan grupta; fetal ağırlıkta, plasenta ağırlığında, beyin ağırlığında ve CRL mesafesinde istatistikî olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. E vitamini uygulaması bu morfolojik verileri kontrol grubu düzeyine

döndürmüştür. Tüm bu gelişim parametreleriyle ilgili olarak elde ettiğimiz veriler, daha önce yapılmış araştırmaların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Alam ve ark gebe ratlara gebeliğin 7. gününden doğuma kadar (prenatal) ve doğum sonrası 28. güne kadar laktasyon süresince (perinatal) 10 mg/kg/gün oral yolla akrilamid uygulamışlardır. Bu araştırmacılar, AA'nın histolojik olarak granüler katmanda çoğalmayı, hücre göçü ve farklılaşmasını geçiktirdiği aynı zamanda Purkinje hücre kayıplarına yol açtığını gözlemlemişlerdir. Perinatal grubun purkinje hücrelerinin ultrayapısal incelemesi, mikroboşluk oluşumları ve hücre kaybının meydana geldiğini göstermiştir. Alam ve ark, bu çalışma ile prenatal ve perinatal akrilamid ya da metabolitlerinin biyokimyasal işleyişi engellediğini, oksidatif strese neden olduğunu ve gelişmekte olan sıçan beyincisinde yapısal değişikliklere yol açtığını ortaya koymuşlardır (56). El-Sayad ve ark. dişi sıçanlara gebeliğin 6. gününden itibaren gebelik süresince 30 mg/kg vücut ağırlığı akrilamid ve %30 KPC içeren diyetle, kontrol grubu ratlara ise standart diyet ile beslenmişler ve yavruların beyin dokularını histolojik yönden karşılaştırmışlardır. AA ve KPC uygulanmış hayvanların serebellar korteksinde yapılan ışık mikroskobu çalışmalarında Purkinje hücre sayısında ciddi azalma ve dahili granüler katmanlarda ciddi incelmeler gözlemlenmiştir. AA ve KPC uygulanmış annelerden doğan yavruların beyin Purkinje hücrelerinde ve nöronlarda önemli düzeyde hücre ölümünün varlığı belirlenmiştir. Ayrıca, Purkinje hücrelerinin ultrayapısal analizi, endoplazmik retikulümde değişimler, normal poliribozom yapısının bozulması, anormal biçimde farklılaşmış kristaya sahip ve şişkin mitokondriler ve anormal bir golgi düzeneği ortaya çıktığında tespit edilmiştir (57). Ogawa ve ark. gebeliğin 10. gününden 21. güne kadar 0, 4, 20, 100 ppm dozda uygulanan akrilamidin, gebe ratların fetusları üzerinde meydana getirdiği etkileri araştırmışlardır. 20 ve 100 ppm akrilamid uygulanan gruplarda yeni doğan ratların beyin dokusunun hipokampus bölgesindeki nöronlarının olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiştir. Bu araştırmacılar, gebelik sürecinde AA'ya maruz kalan fetuslarda doz bağımlı bir şekilde tip-3 öncül hücrelerin çoğalmamasını hedefleyen hipokampal nörojenezisi etkileyerek immatür granül hücrelerinin sayısında azalmayla ilerleyen ve bunların sonucunda

nörotoksisite ve gelişim bozuklukları ile sonlanan anormalliklerin meydana gelebileceğini ifade etmişlerdir (58).

Bizim sonuçlarımıza göre AA uygulanan grupta; nörogliaların nukleuslarında bozulma, nöronların sayısal yoğunluğunda azalma, bozulmuş nöron uzantıları, nöronlarda ödem, nöron kayıpları, ölü hücre sayısının artışı ve kromatoliz dikkat çekiciydi. Akrilamid + E vitamini grubunda ise AA Grubunun tersine, nöron kaybı olan alanlarda ve dejenere nöronlarda azalma, sağlıklı nöron sayısında artış olduğunu saptadık. Tüm bu histolojik veriler göz önüne alındığında bizim sonuçlarımız bu konu ile ilgili olarak önceden yapılmış araştırmaların bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

Tüm ökaryotik hücrelerde, normal fizyolojik metabolizma sırasında belli düzeyde serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; süperoksid anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), singlet oksijen (1O_2) ve peroksil radikali ($LOO\cdot$)'dir. Oksidatif stres, hücrelerde SOR'ların aşırı artışı veya antioksidanların düzeyinin düşmesi sonucunda oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması durumudur. Bu durumda, SOR'lar yeterli düzeyde detoksifiye edilemediği için hücrenin lipid, protein, karbonhidrat, DNA gibi yapısal makromoleküllerinde oksidatif hasarlanmalar meydana gelir (122). Fizyolojik şartlarda vücutta serbest radikaller sürekli oluşurken bu zararlı radikaller koruyucu antioksidan mekanizmalar tarafından detoksifiye edilmektedir. Bu antioksidan etkili yapılar; antioksidan enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon peroksidaz ve antioksidan glutatyon gibi), vitaminler (Vitamin A, E ve C) ve diğer organik, inorganik moleküllerden (Glutatyon, melatonin, selenyum) oluşmaktadır. Normal fizyolojik şartlar altında antioksidan sistemler ile serbest radikaller arasında bir denge söz konusudur ve bu denge sayesinde serbest radikaller zararsız hale getirilmektedirler. Bu dengenin oksidanlar tarafına doğru bozulması oksidatif stresin oluşmasına ve bunun sonucunda da hasarlayıcı olayların gerçekleşmesine sebebiyet vermektedir. Hücreler arası ve hücre içi major nonenzimatik antioksidan, redükte glutatyon (GSH) dir. GSH, oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinde indirgeyici güç olarak görev almaktadır. Hücrelerin GSH seviyesini etkileyen en önemli enzimler

glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSH-R) ve glutasyon S-transferaz (GST) dir (123).

Alzoubi ve ark., kronik E vitaminini uygulamasının, kronik uyku yoksunluğu tarafından tetiklenen kognitif yetersizlik üzerindeki potansiyel koruyucu etkisini ve kronik uyku yoksunluğu tarafından tetiklenen kognitif yetersizlik üzerinde E vitamininin olası moleküler hedefleri belirlemeye çalışan araştırmalar yapmışlardır (106). Uyku yoksunluğu sıçanlar üzerinde, modifiye edilmiş çoklu platform modeli kullanılarak başlatılmış ve diyetle sıçanlara 100 mg/kg E vitamini verilmiştir. Davranış ölçüm çalışması, radyal kol labirent testi (RKLТ) kullanılarak, mekansal öğrenme ve hafızanın sınanması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, hipokampus dokusunda GSH, GSSG ve GSH/GSSG, GPx, katalaz ve SOD gibi nonenzimatik ve enzimatik antioksidanların düzeyleri ölçülmüştür. Bu araştırmanın sonuçları, kronik uyku yoksunluğu her iki (kısa ve uzun dönem) hafızayı da bozmakta, ancak E Vitamini tedavisi hafızadaki bu bozulmayı ortadan kaldırmıştır. Ayrıca E vitamini, uyku yoksunluğunun tetiklediği hipokampüste SOD, katalaz, GPx aktivite seviyelerindeki azalmayı ve GSH/GSSG oranındaki düşüşü normal düzeylere döndürmüştür (106).

Galal ve ark. 0,6 mg /kg vücut ağırlığı olacak şekilde ratlara deltametrim (DM) uygulayarak oluşturduğu nörotoksisite modelinde, ratlara oral yolla 30 gün boyunca koruyucu olarak 200 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini vermişler ve sürenin sonunda ratların beyin dokusunda lipid peroksidasyonu (LPO) ürünlerinin, nitrik oksidin, DNA parçalanma oranının, CYP2E1, TP53 ve COX2 genlerinin ifade düzeylerindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Kontrol grubuna göre DM uygulanan grupta bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gözlemlenmiştir. Ayrıca DM uygulanan grupta, kontrol grup ile karşılaştırıldığında, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanların düzeylerinde de ciddi düşüşlerin varlığı gösterilmiştir. Bu ratlara E vitamini uygulanmasının; enzimatik ve nonenzimatik antioksidanların düzeylerini önemli derecede artırdığı, CYP2E1, TP53 ve COX2 genlerinin ifade düzeylerini ve DNA parçalanma düzeyini anlamlı oranda azalttığı ve tüm bunların sonucu olarak DM'nin nörotoksik etkilerini önemli derecede engellediği rapor edilmiştir (124).

Motamedshariaty ve ark. erkek ratlara 50 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde i.p yolla AA ve koruyucu olarak 100 mg/kg ve 200 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde i.p yolla rutin uygulamışlardır. AA'nın nörotoksik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada rutin uygulamasının, zaman ve doza bağlı olarak AA (5.46 mM) tarafından tetiklenen nöron ölümünü önemli ölçüde azalttığı ve sıçanların beyin dokusunda MDA seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir (125).

Lebda ve ark. erkek ratlara % 0.05 vücut ağırlığı olacak şekilde içme sularına 28 gün boyunca eklenen AA'nın, beyin dokusunda MDA seviyelerini anlamlı düzeyde artırdığını, GSH seviyelerini ise önemli oranda düşürdüğünü, bunların sonucu olarakta beyin dokusunda oksidatif stres ve oksidatif doku hasarlarının meydana geldiğini tespit etmişlerdir (126).

Diğer bir deneysel araştırmada Ghorbel ve ark., 21 gün süreyle dişi ratlara 20 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde oral gavajla AA uyguladıklarında, beyin dokusunda kontrol grubuna kıyasla MDA seviyelerinde anlamlı bir artış ve GSH seviyelerinde ise ciddi bir azalma olduğunu ortaya koymuşlardır (127).

Alam ve ark., gebe ratlara gebeliğin 7. gününden doğuma kadar (prenatal) ve doğum sonrası laktasyonun 28. gününe kadarki süreçte (perinatal) 10 mg/kg/gün AA oral yolla uygulayarak yaptıkları çalışmada; 28 günlük yavru sıçanların beyin dokusunda MDA seviyelerinde ciddi bir artış ve GSH seviyelerinde anlamlı bir azalış olduğu sonucunu elde etmişlerdir (56).

Krishna ve Muralidhara, gebeliğin 6-19. günleri arasında gebe ratların içme sularına 50, 100, 200 ppm AA ilave ederek yaptıkları deneysel araştırmada, 200 ppm AA uygulanmasının fetal beyin dokusunda MDA düzeyini anlamlı derecede artırdığını bildirmişlerdir (121).

Yonguc ve ark., diyabet modeli oluşturulan erkek ratlara 6 hafta boyunca 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitaminini oral yolla uygulamışlar ve ratların hipokampus dokularında TAK seviyelerinin, kontrol ve diyabet grubuna göre, anlamlı bir şekilde artış gösterdiğini ve TOK seviyelerinin ise önemli derecede azaldığını tespit etmişlerdir (128).

Benzer bir diğer çalışmada Hanzawa ve ark., 4 hafta boyunca erkek ratlara 10, 50, 500 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde α - tokoferol ve 0.75 mg/kg vücut ağırlığı fillokinon uyguladıklarında beyin dokusunda doza bağımlı olarak fillokinon

seviyelerinin önemli oranda düştüğünü vurgulamışlardır (129). Garey ve ark. gebeliğin 6-21. günlerinde anne ratlara ve doğum sonrası 85. güne kadar yavru ratlara 0, 0.1, 0.3, 1, 5 mg/kg/gün AA uyguladıklarında, 5 mg/kg/gün akrilamid uygulamasının yavruların öğrenme fonksiyonlarını, kontrol grubuna kıyasla ciddi derecede bozduğunu rapor etmişlerdir (130).

Gao ve ark., gebeliğin 1-21. günlerinde anne ratları günde 3 defa 1 er saat olacak şekilde 900 MHz elektromagnetik radyasyona maruz bırakmışlar ve elektromagnetik radyasyonun zararlı etkilerine karşı koruyucu olarak 5, 15, 30 mg/ml/gün E vitamini uygulamışlardır. Doğumu takiben E vitamini uygulanan annelerin yavrularının beyin dokularında doza bağımlı olarak SOD, GSH-Px seviyelerinin önemli derecede artış gösterdiğini ve MDA düzeylerinin ise azaldığını gözlemlemişlerdir (131).

Shirpoor ve ark., gebeliğin 7. gününden doğum sonrası 21. güne kadar (laktasyon süresince) ratlara 4.5 mg/kg/vücut ağırlığı etanol ve 300 mg/kg E vitamini uygulayarak yaptıkları deneysel çalışmada, etanol uygulanmış annelerin erkek yavru ratlarının testis dokusu TAK düzeylerinin anlamlı derecede düştüğünü, E vitamini uygulanmış annelerin erkek yavru ratlarının testis dokusu TAK düzeylerinin ise ciddi oranda artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır (132).

Ambrogini ve ark. dişi ratları, çiftleşme öncesi 2 hafta, gebelik ve laktasyon süresince α -tokoferol yönünden zengin diyetle besleyerek (15 g/kg pellet), yavru beyinlerinin α -tokoferol düzeylerini HPLC yöntemiyle ölçmüşlerdir. α -tokoferol yönünden zengin diyetle beslenen anne ratların yavrularının beyin dokusunda, kontrol grubuna kıyasla, α -tokoferol düzeylerinin anlamlı ölçüde artış gösterdiğini rapor etmişlerdir (133).

Herrera ve ark. ratlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun 21. gününe kadar 50 mg/L/gün arsenik içme sularına katılarak ve koruyucu olarak 500 mg/L/gün yağda çözünerek E vitamini uygulamışlar ve yavruların beyin dokusu oksidatif doku hasarı açısından incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, E vitamini uygulanan annelerin yavruların beyin dokusunda MDA seviyelerinin, arsenik uygulanan gruba göre ciddi derecede düştüğünü, GSH seviyelerinin ise anlamlı oranda artış gösterdiğini ortaya koymuştur (134).

Gebeliğin 1-20. günlerinde 5 mg/kg/gün AA verilerek yapılan çalışmamızda, AA'nın muhtemel nörotoksik etkilerine karşı koruyucu olarak 100 mg/kg/gün E vitamini verilmiştir. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan yavru ratların beyin dokusunda MDA, GSH, TAK ve TOK düzeyleri ölçülmüştür. Sonuç olarak AA uygulaması, yavru ratların beyin dokusunda MDA ve TOK seviyelerini ciddi derecede artırdığı, GSH ve TAK düzeylerini ise anlamlı derecede düşürdüğü, AA ile birlikte uygulanan E vitamini ise yavru ratların beyin dokusunda MDA ve TOK seviyelerini ciddi derecede azalttığı, GSH ve TAK düzeylerini anlamlı oranda artırdığı ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar AA uygulamasının yavru beyin dokularında oksidatif strese yol açtığını ve E vitamininin AA nörotoksitesine karşı koruyucu antioksidan etkilerinin tam olarak gerçekleştiğini göstermiştir. Bizim bu sonuçlarımız, yapılan diğer araştırmaların sonuçları ile uyum göstermiştir.

Yüksek yapılı memelilerde, beyin gelişimi sürecinde gelişimin hızlı pik yaptığı ve büyük bir kompleksite kazandığı döneme 'brain growth spurt' adı verilmektedir. Beynin bu gelişimsel dönemi insanda gebeliğin 2. trimestirinde 25. haftasında başlar, doğumla birlikte pik yapar ve daha sonra pik hızı yavaşlayarak yaşamın üçüncü yılında sonlanır. Bu fazda beyin ağırlığında hızlı artış, sinir hücresinin çoğalması, migrasyonu, farklılaşma, sinaptogenez ve apoptoz gibi çok sayıda fizyolojik değişim gerçekleşmektedir (113). Nörotrofik faktörlerden biri olan BDNF, beyin gelişiminin bu aşamalarında nöronların büyümesi, sinaptik fonksiyon ve nöral plastisitenin devamını sağlayan çok önemli bir beyin gelişim faktörüdür. BDNF'nin en önemli işlevsel özellikleri, nöronları koruması ve nöronun hayatta kalımını sağlamasıdır. BDNF, noradrenerjik ve serotonerjik nöronların gelişimini destekleyip, onları toksik hasarlardan korur. Dendritlerin büyümesi üzerine olumlu etkisiyle nöronal devamlılık ve plastisiteyi düzenler (16). Araştırmacılar oksidatif stresin beyinde BDNF düzeyini azalttığını vurgulamışlardır (34).

Artan lipid peroksidasyonu ile azalan BDNF düzeyleri arasında bir korelasyonun bulunduğu bildirilmiştir (34). BDNF düzeyindeki azalışın mekanizmasının, oksidatif stresin tetiklediği birçok mekanizmadan kaynaklanmasının muhtemel olacağı düşünülmektedir (34). BDNF düzeyindeki bu azalışın muhtemel mekanizmalarının, oksidatif strese bağlı olarak BDNF gen ekspresyonunun baskılanması, cyclic amp-response element binding protein (CREB)

seviyesinin azalması, Nükleer faktör kapa B (NF-kB) DNA-binding aktivitesindeki artış ve hücre içi enerjinin azalması olabileceği bildirilmektedir (34, 35). BDNF'nin sinaptik plastisitedeki fonksiyonunun synapsin I ve CREB moleküllerinin modülasyonu aracılığıyla olduğu belirtilmiş olup, oksidatif stres bu yapılar üzerinden BDNF düzeyini azalttığı ileri sürülmüştür (35).

Byrnes ve ark. etanolün teratojenik etkisini özellikle "brain growth spurt" döneminde gösterdiğini vurgulamışlardır (135). Bunun tersine Xiaoyu, doğum sonrası yavru ratlara nikotin uygulamasının yavru ratların frontal korteks ve hipokampusunda BDNF düzeylerinin azaldığını göstermiştir (136). Sakr ve ark. 2 ay boyunca egzersize tabi tuttıkları 4 haftalık ratlara koruyucu olarak günlük 100 mg/kg E vitamini uygulamışlardır. Araştırma sonuçları yavru ratların beyin dokusunda BDNF düzeylerini gen ekspresyon seviyesinde incelediklerinde egzersiz grubunda azalan BDNF gen ekspresyon seviyelerinin E vitamini uygulanmasıyla BDNF gen ekspresyon seviyesinin istatistikî olarak arttığını tespit etmişlerdir (137). Wu ve ark. 1 ay boyunca ratlara morris yüzme tankında sıvı perküsyon hasarı (FPI) modeli oluşturmuşlar ve koruyucu olarak 500 IU/kg E vitamini uygulayarak yaptıkları araştırmada BDNF seviyelerini takip etmişlerdir. Beyin dokusunda FPI uygulanmasıyla azalan BDNF seviyeleri'nin E vitamini uygulanmasıyla kontrol grubu değerlerine yaklaşacak düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (138).

Madhyastha ve ark. gebeliğin 1-10. günlerinde ratlarda stres modeli oluşturmuş ve gebelik boyunca koruyucu olarak 10 mg/kg gün resveratrolü oral yolla uygulamışlardır. Stress modelinin ve resveratrolün gebeliğin 1-10. günlerinde yavruların hipokampus dokusu BDNF düzeylerini incelediklerinde, stresin BDNF seviyelerini önemli oranda düşürdüğünü, resveratrol uygulamasının ise BDNF seviyelerini artırdığı rapor edilmiştir (139). Chakrabarty ve ark. gebe ratlara propiltiourasil (PTU) uygulayarak hipotirodizm modeli oluşturmuş ve doğum sonrası 3-7. günlerde yavruların beyin dokusunda BDNF düzeylerini incelediklerinde yavru ratların hipokampusunda BDNF düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir (140). BDNF düzeyinin azalmasına bağlı olarak nöronların büyüme ve farklılaşma potansiyelleri etkilenmekte, fonksiyonları azalmakta ve nöronlar canlılığını kaybetmektedir. Bu mekanizma, korteks serebrideki nöron sayısındaki anlamlı azalışı açıklamaktadır. Gebelik süresince AA uygulamasının, anne ratların yavrularının beyin dokusunda

BDNF düzeylerinin çok ciddi oranda azaldığı ve bu azalmaya bağlı olarak yavruların morfolometrik gelişim parametrelerinde dikkat çeken anormallikler meydana geldiği ve bu etkilerin E vitamini uygulaması ile tamamen geri döndürüldüğü bulguları dünyada ilk defa tarafımızdan ortaya konulmuştur. Konuyla ilgili olarak dünyada yapılan ilk çalışma olması ve elde edilen sonuçları açısından da oldukça orijinal bir araştırmadır.

Bizim araştırmamızda, AA uygulanan gruplardan elde edilen oksidan-antioksidan parametrelerin durumu, AA'nın fetal beyin dokusunda oksidatif strese yol açtığını göstermektedir. Muhtemelen, AA kaynaklı oksidatif stres ve sonrasında meydana gelen oksidatif doku hasarı fetal beyin dokusu BDNF seviyelerini azaltmıştır. AA ile beraber uygulanan E vitaminin ise, AA kaynaklı serbest radikalleri süpürücü etki ile ortadan kaldırdığı, bunun sonucunda da oksidatif stresi baskılayarak BDNF düzeylerini normal hale getirdiğini düşünüyoruz. BDNF artışının muhtemel mekanizması'nın, BDNF geninin transkripsiyonu ve/veya translasyonu aşamasında baskılayıcı etki gösteren serbest radikallerin E vitamini tarafından bertaraf edilmesinden kaynaklandığı kanaatindeyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

AA, fetusların beyin dokusunda GSH ve TAK düzeylerini önemli derecede düşürerek ($p<0.05$), MDA ve TOK seviyelerini anlamlı derecede artırarak ($p<0.05$) oksidatif strese ve sonrasında oksidatif doku hasarına yol açmıştır. Biyokimyasal ve histopatolojik bulgularımız bunu tam olarak doğrulamaktadır (Tablo 4.2. ve Şekil 4.17.) .

AA ile E vitaminin birlikte uygulanması, AA'nın fetus beyinlerinde meydana getirdiği oksidatif stresi baskılayarak oksidatif doku hasarını önemli derecede engellemiş ve güçlü bir antioksidan etki göstermiştir. Biyokimyasal ve histopatolojik bulgularımız bunu tam olarak teyid etmektedir (Tablo 4.2. ve Şekil 4.19.) .

Gebelik süresince AA verilen annelerin yavrularında beyin BDNF düzeyleri ciddi oran azalmıştır ($p<0.05$). AA ile E vitaminin birlikte uygulanması, fetus beyinlerinde BDNF seviyelerini önemli oranda artırarak normal düzeylere getirmiştir.

Gebelik süresince uygulanan AA'nın, yavruların beyin dokusunda BDNF düzeylerini önemli oranda düşürmesi nedeni ile beyin gelişiminin bundan etkilenmemiş olması mümkün değildir. Bu nedenle gebelik süresince uygulanan AA'nın fetusların beyin gelişim parametreleri üzerinde meydana getirdiği muhtemel anormallikleri ve doğum sonrası süreçte yavruların beyin gelişim parametrelerinin ve bilişsel fonksiyonlarının bundan etkilenip etkilenmediğinin araştırılarak tam olarak açığa çıkartılması gerekir.

Bu araştırma, AA'nın fetusların beyin dokusunda BDNF düzeylerini ciddi oranda azalttığını gösteren ilk çalışmadır. Bu nedenle, AA'nın fetus beyinlerinde BDNF düzeylerini azaltma mekanizmasının tam olarak ortaya çıkartılabilmesi için, BDNF geninin transkripsiyon aşamasının ve BDNF translasyon aşamasının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde fast-food kültürünün ülkemizde de yaygın hale gelmesi sebebiyle gıda kaynaklı akrilamid toksisitesinden korunmanın mümkün olmaması nedeniyle, gıda kaynaklı akrilamidin fetus gelişimi üzerinde meydana getireceği muhtemel toksik etkilerini en aza indirmek amacıyla gebe kadınların koruyucu olarak E vitamini içeren gıdaları yeterince tüketmelerini tavsiye ediyoruz.

KAYNAKLAR

1. Tıpta Hayvan Çalışmaları ve Etik: <http://thefuar.com/icerik.asp?id=398&Uid=2> 15.09.2015.
2. Hayvan Deneyleti Etiği: <http://uvt.ulakbim.gov.tr/tip/sempozyum7/altug.pdf> 15.09.2015.
3. Hacıoğulları M. Interleukin-12'nin Embriyonik Vitellus Kesesi Damarlanması Üzerine Etkiler Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2005.
4. Skosyeva A M. Comparative evaluation of the embryotoxic effect of various antibiotics. *Antibiot Khimioter* 1989, 34: 779–82.
5. Soysal H. Sıçan fetuslarında fenitoin, folik asit ve vitamin E'nin kemik gelişimi üzerine etkileri Doktora Tez. Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2010.
6. Deneklerin Histolojik Özellikleri Bunların Deneysel Çalışmalarda Sınırlayıcı Yönleri. <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-366.pdf> 2012.
7. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi (1. bs.). İstanbul: Argos.
8. Cantürk N Z, Sayek İ. Cerrahi Araştırma. İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri. 2005.
9. Phylogenetic Expansion of Cortical Surface Area: Erişim; <http://psyc254.uconn.edu/meds5377/cortexstudents.html> 15.09.2015
10. Stahl SM. Temel Psikofarmakoloji (2. Bs.). (B. Taneli, Y. Taneli, Çev.) İstanbul: FSH Matbaacılık, Yelkovan Yayınevi. 2003.
11. Tongiorgi E. Activity-Dependent expression of brain-derived neurotrophic factor in dendrites: facts and open questions. *Neuroscience Res* 2008, 61: 335–46.
12. Russo-Neustadt AA, Chen MJ. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant activity. *Curr Pharm Des* 2005, 11: 1495–510.
13. Horch HW. Local effects of BDNF on dendritic growth. *Rev Neurosci* 2004, 15: 117–29.
14. Horch HW, Katz LC. BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons. *Nat Neurosci* 2002, 5: 1177- 84.
15. Horch HW, Kruttgen A Portbury SD, Katz LC. Destabilization of cortical dendrites and spines by BDNF. *Neuron* 1999, 23: 353-64.

16. Cevher N. Bipolar Tip I Bozukluğu Olan Ergenlerde Serumda Beyinden Köken Alan Nörotrofik Faktör Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 2009.
17. Palizvan MR, Sohya K. Brain-derived neurotrophic factor increases inhibitory synapses, revealed in solitary neurons cultured from rat visual cortex. *Neurosci* 2004, 126: 955–66.
18. Frechilla D, Insausti R. Implanted BDNF-producing fibroblasts prevent neurotoxin-induced serotonergic denervation in the rat striatum. *Mol Brain Res* 2000, 76: 306–14.
19. Gülpınar D, Erol A, Mete I. Depresyon ve Nöroplastisite. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2000, 17: 100-10.
20. Nottebohm F. Why are some neurons replaced in adult brain. *J Neurosci* 2002, 22: 624–8.
21. Ghosh A, Carnahan J, Greenberg ME. Requirement for BDNF in activity-dependent survival of cortical neurons. *Science* 1994, 263(5153): 1618-23.
22. Dermirdaş A. Ratlarda Oluşturulan Depresyonda Venlafaksin Tedavisinin Hipokampus Beyin Kaynaklı Büyüme Faktörü Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta. 2006.
23. Nibuya M, Takahashi M, Russell DS. Chronic stress increases catalytic TrkB mRNA in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1999, 267: 81–4.
24. Bonni A, Brunet A, West, AE, Datta SR, Takasu MA, Greenberg M E. Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by 70 transcription-dependent and –independent mechanisms. *Science* 1999, 286: 1358–62.
25. Yulug B, Ozan E, Gonul AS, Kilic E. Brain-derived neurotrophic factor, stress and depression: A minireview. *Brain Res Bull* 2009, 78: 267–9.
26. Schmidt HD, Duman RS. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive like behavior. *Behav Pharmacol* 2007, 18: 391–418.
27. Morley-Fletcher S, Rea M, Maccari S, Laviola G. Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur J Neurosci* 2003, 18: 3367–74.

28. Branchi I, D'Andrea I, Sietzema J, Fiore M, Di Fausto V, Aloe L, Alleva E. Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BrdU-positive cells while increasing anxiety- and "depression"-like behavior. *J Neurosci Res* 2006, 83: 965–73.
29. Branchi I, D'Andrea I, Fiore M, Di Fausto V, Aloe L, Alleva E. Early social enrichment shapes social behavior and nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor levels in the adult mouse brain. *Biol Psychiatry* 2006, 60: 690-6.
30. Schaaf M J, Jong J, Kloet ER, Vreugdenhil E. Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone. *Brain Res* 1998, 813: 112–20.
31. Bozkurt MM. Değişik çevre koşullarının anne ve yavru sıçanlarda oluşturduğu davranış değişiklikleri ve hipokampus bdnf düzeyi üzerine etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul. 2006.
32. Beck KD, Valverde J, Alexi T, Poulsen K, Moffat B, Vandlen RA, Rosenthal A, Hefti F. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature* 1995, 373: 339-41.
33. Gash DM, Zhang ZM, Ovadia A. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature* 1996, 380: 252-5.
34. Kapczinski F, Frey BN, Andreazza AC, Anna MK, Cunha BM, Post RM. Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Rev Bras Psiquiatr* 2008, 30: 243-5.
35. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 2004, 19: 1699–707.
36. Aksu İY. Egzersizin sıçan beyninde oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 2006.
37. Dearfield KL, Abernathy CO, Ottley MS, Brantner JH, Hayes PF. Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutat Res* 1988, 195: 45–77.
38. Ghanayem BI, McDaniel LP, Churswell MI, Twaddle NC, Snyder R, Fennel RT. Role of CYP2E1 in the epoxidation of acrylamide to glisidamide and formation of DNA and hemoglobin adducts. *Toxicol Sci* 2005, 88 (2): 311–8.

39. Gloc BJ, Wozniak E, Czechowska AK. Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes. *Chemico-Biological Interac* 2004, 149: 137–149.
40. Overview of acrylamide toxicity and metabolism. JIFSAN/NCFST Workshop on acrylamide in Food and Toxicology and Metabolic Consequences Working Group, 2002.
41. Lingnert H, Grivas S, Jagerstad M, Skog K, Törnqvist M, Aman P. Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods. *Scand Nutr* 2002, 46(4): 159–72.
42. Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Robert MC, Riediker S. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* 2002, 419: 449–50.
43. Biederman M, Grob K. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen für Lebensmittel Hygiene* 2003, 94: 406–22.
44. Gertz C, Klostermann S. Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Eur J Lipid Sci Technol* 2002, 104: 762–71.
45. Rosen J, Hellenas KE. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst* 2002, 127: 880–2
46. Becalski A, Lau BP, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods: occurrence, sources and modelling. *J Agric Food Chem* 2003, 51(3):802–8.
47. JECFA-Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting, JECFA/64/SC, World Health Organization WHO. Rome Italy 2005, 7–17.
48. U.S. Food and Drug Administration. The Action Plans for Acrylamide in Food. 2002–5.
49. Margaretha J, Kertsin A, Skog B. Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutat Res* 2005, 574: 156–72.
50. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Health Implications of Acrylamide in Food, Report of a Joint FAO/WHO consultation. Health Organization, Geneva 2002. Available at <http://www.who.int/fsf/acrylamide/summaryreportfinal.pdt>, 15.09.2015

51. EU. Information on Ways to Lower the levels of Acrylamide Formed in Food (note of the meeting of experts on industrial contaminants in food: acrylamide workshop 2003: 20–1.
52. Yang HJ, Lee S H, Jin Y, Choi J.H, Han D U, Chae C, Lee M H and Han H C. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reprod Toxicol* 2005, 19: 527- 34.
53. Friedman M A, Dulak L H, Stedham M A. Lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 1995, 27: 95– 105.
54. Collins J J, Swaen G M, Marsh G M, Utidjian H M, Caporossi J C, Lucas L J. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J Occup Med* 1989, 31: 614–7.
55. Olesen P T, Olsen A, Frandsen H, Frederiksen K, Overvad K, Tjønneland A. Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health Study. *Int J Cancer* 2008, 122: 2094–100.
56. Allam A, AA El-Ghareeb, M Abdul-Hamid, A Baikry and MI Sabri. Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies. *Toxicol Industrial Health* 2011, 27(4): 291–6.
57. H. I. El-Sayyad, Mohamed H. Abou-Egla, Fawkia I. El-Sayyad, Heba A. El-Ghawet, Rajiv L. Gaur, Augusta Fernando, Madhwa H.G. Raj, Allal Ouhtit, Effects of fried potato chip supplementation on mouse pregnancy and fetal development. *Nutr* 2011, 27; 343–50.
58. Ogawa B, Wang L, Taniai TOE, Akane H, Suzuki K, Mitsumori K, Shibutani M. Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch Toxicol* 2012, 86: 779–90.
59. Horwitt MK. Vitamin E:A reexamination. *Amer J Clin Nutr* 1979, 29, 568.
60. Aras K, Erşen G, Karahan S. *Tıbbi Biyokimya*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1976
61. Evans HM. The Pioneer history of vitamin E. *Vitam Horm* 1976: 20: 379.
62. Zintzen H. *Vitamin E/selenium in ruminants. News and reviews* Basel: La Roche : 1972.

63. Hawk PB. Hawk's Physiological chemistry, Fourteenth Edition; Mc Graw-Hill; 1965.
64. Aras K, Erşen G, Karahan S. Tibbi Biyokimya. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1976.
65. Korner FW, Voom J. Vitamins. Basel: La Roche, 1978.
66. Combs GF, Noguchi T, Scott ML. Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membranes. *Federation Proc* 1975, 34: 11.
67. Jialal I, Fuller CJ. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol* 1993, 16: 16-9.
68. Van-Der-Meulen JH, McArdle A, Jackson MJ, Faulkner JA. Contraction – induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: The role of vitamin E. *J Appl Physiol* 1997, 83: 917-23.
69. Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 1991, 53: 1050-5.
70. Evelson P, Ordonez CP, Liesuy S, Boveris A. Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in Mouse skin exposed to UVA radiation. *J Photochem Photobiol B* 1997, 38: 215-9.
71. Stratton SP, Liebler DC. Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: Effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochem* 1997, 36: 12911-20.
72. Won SJ, Kim DY, Gwag BJ. Cellular and molecular pathways of ischemic neuronal death. *J Biochem Mol Biol* 2002, 35: 67–86.
73. Sung S, Yao Y, Uryu K. Early vitamin E supplementation in young but not aged mice reduces beta levels and amyloid deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 2004, 18: 323–5.
74. Behl C, Davis J, Cole GM, Schubert D. Vitamin E protects nerve cells from amyloid beta protein toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 1992, 186: 944–50.
75. Hidiröglu N, Madere R, McDowell LR. Maternal transfer of vitamin E to fetal and Neonatal guinea pigs utilizing a stable isotopic technique. *Nutr Res* 2001, 21: 771-83.
76. Rota C, Rimbach G, Minihane AM, Stoecklin E, Barella L. Dietary vitamin E modulates differential gene expression in the rat hippocampus: potential implications for its neuroprotective properties. *Nutr Neurosci* 2005, 8: 21–9.

77. Gohil K, Schock BC, Chakraborty AA, Terasawa Y, Raber J, Farese RV, Packer L, Cross CE, Traber MG. Gene expression profile of oxidant stress and neurodegeneration in transgenic mice deficient in alpha-tocopherol transfer protein. *Free Radic Biol Med* 2003, 35: 1343–54.
78. Betti M, Mineli A, Ambrogini P, Ciuffoli S, Viola V, Gali F, Canonico B, Lattanzi D, Colombo E, Sestili P, Cuppini R. Dietary supplementation with alpha-tocopherol reduces neuroinflammation and neuronal degeneration in the rat brain after kainic acid-induced status epilepticus. *Free Rad Res* 2011, 45(10): 1136–42.
79. Galal MK, Khalaf AAA, Ogaly HA, Ibrahim MA. Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC Complement Altern Med* 2014, 14: 458.
80. Kosta P. Effect of piracetam and vitamin E on phosphamidon-induced impairment of memory and oxidative stress in rats. *Drug Chem Toxicol* 2013, 36(1): 48–54.
81. <http://tr.mydearbody.com/vitaminler/e-vitamini.html>, 15.09.2015
82. http://tr.wikipedia.org/wiki/E_vitamini, 15.09.2015
83. Meister A, Larsson A. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ -glutamyl cycle. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic basis of inherited disease*. 6th ed. New York: McGraw-Hill 1989, 855–68.
84. Martensson J, Lai JCK, Meister A. High affinity transport of glutathione is part of a multi-component system essential for mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 7185–9.
85. Chai YC, Ashraf SS, Rokutan K, Johnston Jr RB, Thomas JA. S-thiolation of individual human neutrophil proteins including actin by stimulation of the respiratory burst: evidence against a role for glutathione disulfide. *Arch Biochem Biophys* 1994, 310: 273–81.
86. Reed DJ, Fariss MW. Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol Rev* 1994, 36: 235–45.
87. Cnubben NHP, Rietjens IMC, Wortelboer M, Zanden HV, Bladeren PJ. The interplay of glutathione related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001, 10: 141–52.
88. Meister A. On the enzymology of amino acid transport. *Science* 1973, 180: 33–9.

89. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Ann Rev Biochem* 1983, 52: 711 – 60.
90. Wilson H. Canan RK. The glutamic acid– pyrrolidonecarboxylic acid system. *J Biol Chem* 1937, 119: 309–405.
91. Meister A. Current status of the γ -glutamyl cycle. Functions of glutathione in liver and kidney. Berlin: Springer-Verlag 1978, 43–59.
92. Meister A, Tate SS, Ross LL. Membrane bound γ -glutamyl transpeptidase. In: Martinosi A, editor. *The enzymes of biological membranes*, vol. 3. New York: Plenum 1976, 315– 47.
93. Griffith OW, Meister A. Glutathione: Interorgan translocation, turnover and metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979, 76: 5606–10.
94. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1999, 31: 273– 300.
95. Porter N A. Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *Acc Chem Res* 1986, 19: 262–8.
96. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine* (2nd ed). Oxford. Clarendon Pres 1989.
97. Sies H. *Oxidative stress, oxidants and antioxidants*, New York: Academic Pres 1991.
98. Clarendon P, Sonntag VC. *The chemical basis of radiation biology*. London: Taylor and Francis 1987.
99. Fridovich I. Superoxide dismutase: an adaptation to a paramagnetic gas. *J Biol Chem* 1989, 264: 7761–4.
100. Slater F T. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984, 222: 1-15
101. Radi R, Beckman IS, Bush KM. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 1990, 266: 4244–50.
102. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. *Int Sci Food Agric* 1991, 54: 495–11.
103. Esterbauer H, Schaur RG, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde, and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991, 11: 81–8
104. Lawrence JM and Adrienne B. Free radical tissue damage: protective role of

- antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987, 1: 441–5.
105. Ogawa B, Ohishi T, Wang L, Takahashi M, Taniyai E, Hayashi H, Mitsumori K, Shibutani M. Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Arch Toxicol* 2011, 85: 987–94.
106. Alzoubi KB, Khabour OF, Rashid BA, Damaj IM, Salah HA. The neuroprotective effect of vitamin E on chronic sleep deprivation-induced memory impairment: The role of oxidative stress. *Behav Brain Res* 2012, 226: 205–10.
107. Elman G L. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1979, 95: 351–8.
108. Uchiyama M, Mihara M. Determination of MDA precursor in tissue by TBA test. *Anal Biochem* 1978, 36: 271–8.
109. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005, 38(12):1103–11.
110. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004, 37(4): 277–85.
111. Tyl R, Crump K. Acrylamide in Food. *Food Stan Agen* 2003, 5: 215–22.
112. Becalski A, Lau BP, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods; occurrence, source. Los Angeles CA. AOAC. Annual Meeting 2002, 22–6.
113. Dağ E. Sıçanlarda maternal dönemde lamotrigine ve Topiramate kullanımının yavrularda beyin gelişimi ve bilişsel fonksiyonlara etkisi. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi. Elazığ. 2006.
114. Edwards PM. The insensitivity of the developing rat foetus to the toxic effects of acrylamide. *Chem Biol Interact* 1976, 12: 13–8.
115. El-Sayyad HI, El-Gammal HL, Habak LA, Abdel-Galil HM, Fernando A, Gaur RL, Ouhtit A. Structural and ultrastructural evidence of neurotoxic effects of fried potato chips on rat postnatal development. *Nutr* 2011, 27(10): 1066–75.
116. Sathya N, Muralidhara P. Mitigation of acrylamide-induced behavioral deficits, oxidative impairments and neurotoxicity by oral supplements of geraniol (a monoterpene) in a rat model. *Chemico-Bio Interact* 2014, 223: 27–37.
117. Azzi A, Aratri E, Boscoboinik D, Clément S, Özer NK, Ricciarelli R, Spycher S. Molecular basis of α -tocopherol control of smooth muscle cell proliferation. *Biofac* 1998, 7: 3–14.

118. Reiter E, Jiang Q, Christen S. Anti-inflammatory properties of alpha- and gamma-tocopherol. *Mol Aspects Med* 2007, 28: 668–91.
119. Naito Y, Shimozawab M, Kurodab M, Nakabeb N, Manabeb H, Katadab H, Kokurac S, Ichikawad H, Yoshidaa N, Noguchie N, et al. Tocotrienols reduce 25-hydroxycholesterol-induced monoendothelial cell interaction by inhibiting the surface expression of adhesion molecules. *Atherosclerosis* 2005, 180: 19–25.
120. Ferguson SA, Garey J, Smith ME, Twaddle NC, Doerge DR, Paule MG. Prewaning behaviors, developmental landmarks, and acrylamide and glycidamide levels after pre- and postnatal acrylamide treatment in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2010, 32: 373–82.
121. Krishna G, Muralidhara P. Inulin supplementation during gestation mitigates acrylamide-induced maternal and fetal brain oxidative dysfunctions and neurotoxicity in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2015, 49: 49–58.
122. Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med* 1991, 91: 302-13.
123. Sanchez AR, Almedia A, Medina JM. Oxidative stress in preterm rat brain is due to mitochondrial dysfunction. *Pediat Res* 2002, 51 (1): 34–9.
124. Mona K Galal, Khalaf AA, Ogaly HA and Ibrahim MA. Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC Complement Alternat Med* 2014, 14: 458.
125. Motamedshariaty VS, Farzad SA, Nassiri-Asl M and Hosseinzadeh H. Effects of rutin on acrylamide-induced neurotoxicity. *DARU J Pharmaceut Sci* 2014, 22: 27.
126. Lebda MA, Gad SB, Rashed RR. The effect of lipoic acid on acrylamide-induced neuropathy in rats with reference to biochemical, hematological, and behavioral alterations. *Pharm Biol* 2015, 53(8): 1207-13.
127. Ghorbel I, Elwej A, Jamoussi K, Boudawara T, Kamoun NT and Zeghal N. Potential protective effects of extra virgin olive oil on the hepatotoxicity induced by co-exposure of adult rats to acrylamide and aluminum. *Food Funct* 2015, 6: 1126–35.
128. Yonguc GN, Dodurga Y, Adiguzel E, Gundogdu G, Kucukatay V, Ozbal S, Yilmaz I, Cankurt U, Yilmaz Y, Akdogan I. Grape seed extract has superior beneficial effects than vitamin E on oxidative stress and apoptosis in the hippocampus of streptozotocin induced diabetic rats. *Gene* 2015, 555: 119–26.

129. Hanzawa F, Sakuma E, Nomura S, Uchida T, Oda H and Ikeda S. Excess α -tocopherol decreases extrahepatic phyloquinone in phyloquinone-fed rats but not menaquinone-4 in menaquinone-4-fed rats. *Mol Nutr Food Res* 2014, 58: 1601–9.
130. Garey J, Paule MG. Effects of chronic low-dose acrylamide exposure on progressive rotarod performance in adolescent rats. *Neuro Toxicol* 2007, 28: 998–02.
131. Gao X, Luo R, Ma B, Wang H, Liu T, Zhang J, Lian Z, Cui X. [Interference of vitamin E on the brain tissue damage by electromagnetic radiation of cell phone in pregnant and fetal rats]. *Wei Sheng Yan Jiu* 2013, 42(4): 642-6.
132. Shirpoor A, Norouzi L, Hasan M, Ansari K, Ilkhanizadeh B, Karimipour M. The Protective Effect of Vitamin E on Morphological and Biochemical Alteration Induced by Pre and Postnatal Ethanol Administration in the Testis of Male Rat Offspring: A Three Months Follow-up Study. *J Reprod Infertil* 2014, 15, 3.
133. Ambrogini P, Ciuffoli S, Lattanzi D, Mineli A, Bucherelli C, Baldi E, Betti M, Cuppini R. Maternal dietary loads of α -tocopherol differentially influence fear conditioning and spatial learning in adult offspring. *Physiol Behav* 2011, 104: 809–15.
134. Herrera A, Pineda J, Antonio MT. Toxic effects Of perinatal arsenic exposure on the brain of developing rats and the beneficial role of natural antioxidants. *Environ toxicol pharmacol* 2013, 36: 73-9.
135. Byrnes ML, Reynolds JN, Brien JF. Effect of prenatal ethanol exposure during the brain growth spurt of the guinea pig. *Neurotoxicol Teratol* 2001, 23: 355–64.
136. Wang Xiaoyu. The exposure to nicotine affects expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in neonate rats. *Neuro Sci* 2014, DOI 10. 1007/s10072-014-1934-y.
137. Sakr HF, Abbas AM, El Samanoudy AZ. Effect of Vitamin E on Cerebral Cortical Oxidative Stress And Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene Expression Induced By Hypoxia and Exercise in Rats. *Physiol Pharmacol* 2015, 66, 2: 191-02.
138. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Vitamin E Protects Against Oxidative Damage and Learning Disability After Mild Traumatic Brain Injury in Rats. *Neurorehabil Neural Repair* 2010, 24(3): 290–8.

139. Madhyastha S, Sekhar S, Rao G. Resveratrol improves postnatal hippocampal neurogenesis and brain derived neurotrophic factor in prenatally stressed rats. *Int J Dev Neurosci* 2013, 31: 580–5.
140. Chakraborty G, Magagna-Poveda A, Parratt C, Umans JG, MacLusky NJ, Scharfman HE. Reduced Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Neonatal Rats after Prenatal Exposure to Propylthiouracil (PTU). *Endocrinol* 2012, 153(3): 1311–6.

ÖZGEÇMİŞ

03.01.1985 tarihinde Isparta'da doğdu. İlk orta ve lise eğitimini Malatya'da tamamladı. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu.2008 yılında aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji A.D Yüksek lisansa başladı. 2009 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya A.D.'da yüksek lisansa başladı, Yüksek Lisansını 2011 yılında, doktorasını ise 2015 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya A.D.'da, tamamladı.

EK 2: Çalışmada kullanılan rat fetuslarına ait ağırlık, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlık ölçümleri

Fetus no	Fetus ağırlığı (gr)					CRL mesafesi (mm)					Plasenta ağırlığı (gr)					Beyin ağırlığı (gr)				
	Kontrol	Mısır yağı	Akrilamid	E vitamini	AA+E vitamini	Kontrol	Mısır yağı	Akrilamid	E vitamini	AA+E vitamini	Kontrol	Mısır yağı	Akrilamid	E vitamini	AA+E vitamini	Kontrol	Mısır yağı	Akrilamid	E vitamini	AA+E vitamini
1	5,1	4,5	4,9	4,5	4,9	38	39	38	39	39	0,7	0,64	0,57	0,65	0,68	0,21	0,2	0,19	0,21	0,2
2	5,3	4,4	4,6	4,9	5	41	38	36	38	40	0,7	0,62	0,56	0,64	0,65	0,2	0,21	0,18	0,2	0,19
3	5	4,3	4,5	5	4,8	40	38	37	39	41	0,68	0,64	0,57	0,6	0,64	0,2	0,2	0,17	0,19	0,2
4	4,7	4,2	4,4	4,8	4,7	41	38	39	40	40	0,7	0,69	0,55	0,63	0,66	0,19	0,21	0,18	0,2	0,2
5	4,8	4,3	4,6	4,9	4,7	41	39	38	41	40	0,69	0,6	0,56	0,65	0,67	0,2	0,19	0,19	0,2	0,21
6	4,9	4,7	4,5	5,1	4,9	39	39	36	40	41	0,63	0,63	0,6	0,67	0,64	0,2	0,19	0,18	0,19	0,2
7	5	4,8	4,6	5	5	38	38	37	40	39	0,65	0,65	0,49	0,68	0,65	0,21	0,2	0,19	0,21	0,2
8	4,9	5	4,7	4,9	4,9	39	41	36	39	39	0,7	0,68	0,54	0,7	0,67	0,19	0,19	0,17	0,2	0,2
9	5,3	4,9	4,5	4,9	4,8	40	40	38	40	40	0,62	0,66	0,51	0,64	0,7	0,21	0,21	0,19	0,2	0,2
10	5,2	5,3	4,6	4,8	4,7	41	40	36	41	41	0,7	0,7	0,53	0,65	0,68	0,2	0,2	0,18	0,19	0,19
11	5,3	4,9	4,4	4,9	5	39	41	39	40	39	0,68	0,71	0,54	0,67	0,69	0,19	0,21	0,19	0,2	0,2
12	5,1	5	4,3	5	5,1	39	42	38	39	40	0,65	0,72	0,59	0,69	0,7	0,2	0,19	0,18	0,21	0,21
13	4,9	5,1	4,6	5,1	4,9	42	41	37	38	39	0,69	0,69	0,6	0,63	0,71	0,21	0,2	0,17	0,19	0,2
14	4,6	5,2	4,3	5	4,7	41	40	36	39	38	0,8	0,73	0,59	0,64	0,68	0,2	0,21	0,18	0,2	0,21
15	4,7	5,3	4,6	4,9	4,8	41	42	38	40	37	0,7	0,7	0,6	0,66	0,69	0,18	0,2	0,17	0,21	0,2
16	4,7	5	4,7	4,8	5	41	41	39	40	38	0,71	0,69	0,58	0,69	0,68	0,2	0,19	0,19	0,21	0,19
17	4,8	4,9	4,8	4,9	4,9	40	40	38	39	39	0,7	0,7	0,59	0,63	0,65	0,18	0,2	0,18	0,2	0,2
18	4,9	5	4,5	5	5,1	39	41	37	38	38	0,8	0,76	0,57	0,64	0,63	0,19	0,21	0,17	0,2	0,21
19	5	5,1	4,7	4,8	5	38	38	36	40	40	0,65	0,64	0,58	0,66	0,69	0,21	0,2	0,17	0,19	0,2
20	4,9	4,9	4,6	4,9	4,8	38	39	38	41	39	0,62	0,66	0,6	0,69	0,7	0,2	0,19	0,18	0,2	0,2
21	5	5	4,5	5	4,9	39	40	39	40	38	0,7	0,7	0,61	0,71	0,71	0,18	0,18	0,19	0,21	0,19
22	5,2	4,8	4,8	4,7	4,7	40	41	36	40	40	0,65	0,64	0,59	0,69	0,67	0,2	0,19	0,17	0,19	0,21
23	5,3	5	4,5	5	4,8	41	39	37	39	40	0,62	0,64	0,64	0,68	0,65	0,19	0,21	0,18	0,2	0,2
24	5,2	4,9	4,6	4,9	4,6	41	39	38	40	40	0,7	0,67	0,6	0,65	0,66	0,21	0,2	0,17	0,2	0,21
25	5,1	5	4,7	4,8	4,7	41	37	39	40	39	0,71	0,7	0,62	0,67	0,72	0,2	0,18	0,18	0,2	0,19
26	5,2	5,1	4,8	5,1	4,8	40	38	37	39	40	0,7	0,69	0,6	0,68	0,7	0,18	0,2	0,19	0,19	0,2
27	5,1	5,2	4,7	5	4,9	42	41	38	39	40	0,73	0,73	0,59	0,65	0,69	0,19	0,19	0,17	0,21	0,21
28	5,2	5,3	4,4	4,9	5	41	40	39	41	40	0,8	0,79	0,63	0,67	0,71	0,21	0,2	0,18	0,2	0,2
29	5,1	5	4,6	5	4,8	40	39	37	39	39	0,66	0,68	0,64	0,69	0,72	0,2	0,21	0,19	0,19	0,21
30	5,3	5	4,9	4,8	4,7	40	40	36	40	41	0,7	0,7	0,6	0,7	0,69	0,2	0,2	0,17	0,2	0,19
31	5,2	5,2	4,7	4,9	4,8	40	38	35	40	40	0,71	0,71	0,62	0,72	0,64	0,21	0,19	0,18	0,19	0,2

32	5,1	5,1	4,6	5	4,9	40	39	36	41	39	0,75	0,73	0,65	0,73	0,67	0,2	0,18	0,17	0,2	0,2
33	5	5	4,8	5,1	5	41	41	37	40	39	0,73	0,7	0,63	0,71	0,65	0,19	0,19	0,17	0,2	0,2
34	5,2	4,9		5,2	4,6	42	40		39	38	0,8	0,76		0,7	0,64	0,2	0,2		0,21	0,21
35	5	4,8		5	4,5	38	38		39	39	0,66	0,63		0,69	0,67	0,21	0,19		0,2	0,2
36	5,3	4,7		4,8	4,7	39	38		40	40	0,7	0,63		0,7	0,7	0,2	0,18		0,21	0,19
37	5	5		5,1	4,8	37	39		41	40	0,75	0,7		0,66	0,68	0,21	0,19		0,2	0,2
38	4,9	4,9		4,7	4,5	38	30		40	39	0,7	0,69		0,65	0,65	0,2	0,19		0,21	0,21
39	4,9	5,1		5,2	4,6	40	41		39	38	0,75	0,71		0,69	0,66	0,19	0,18		0,2	0,2
40	4,8	4,8		5		41	40			39	0,69	0,65		0,68		0,2	0,19		0,19	
41	4,6	4,9				41	39			39	0,71	0,7				0,21	0,2			
42	4,7	5,2				42	38				0,69	0,63				0,2	0,21			
43	4,6	4,9				39	41				0,7	0,71				0,21	0,2			
44	4,7	5				41	40				0,64	0,62				0,2	0,2			
45	4,9	4,8				42	38				0,63	0,63				0,2	0,2			
46	5					40					0,65					0,19				
47	4,9					41					0,7					0,2				
48	5,2					39					0,68					0,19				
49	5,1					41					0,69					0,19				
50	5,2					40					0,65					0,2				
51	5,1					41					0,71					0,21				

EK:3 Etik kurul onay sayfası



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 13-02-2015
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2015/A-21
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar-Albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 40 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : Erişkin/250 gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof.Dr Yusuf TÜRKÖZ'ün yürütücüsü olduğu "Ratlarda Gebelik süresince uygulanan akrilamidin fetal beyin gelişimine etkilerinin ve E vitamini'nin koruyucu rolünün araştırılması" isimli 2015/A-21 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Katılmadı
Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ
Başkan

Katılmadı
Prof.Dr. Nigar VARDI
Üye

Katılmadı
Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ
Üye

Katılmadı
Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ
Üye

Katılmadı
Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ
Üye

Katılmadı
Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN
Üye

Katılmadı
Salih AVCI
Sivil Üye

Katılmadı
Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU
Sivil Üye