

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

**BENZODİAZEPİN GRUBU İLAÇLARLA BAĞIMLILIK OLUŞTURULMUŞ
RATLARIN KAN VE DOKULARINDA ESER ELEMENT VE İLAÇ ETKEN
MADDE DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

ÖZNUR GÜNGÖR

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**MALATYA
2011**

Tezin Başlığı: BENZODİAZEPİN GRUBU İLAÇLARLA BAĞIMLILIK
OLUŞTURULMUŞ RATLARIN KAN VE DOKULARINDA ESER ELEMENT VE
İLAÇ ETKEN MADDE DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Tezi Hazırlayan: Öznur GÜNGÖR

Sınav Tarihi: 28.Şubat.2011

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof.Dr. Mehmet YAMAN

Prof.Dr. Ergun EKİNCİ

Prof.Dr. İsmet YILMAZ

Doç.Dr. Birgül CUMURCU

Yrd.Doç.Dr. Nurhayat ÖZDEMİR (Danışman)

Prof.Dr. Asım KÜNKÜL
Enstitü Müdürü

Onur Sözü

Doktora Tezi olarak sunduğum “Benzodiazepin Grubu İlaçlarla Bağımlılık Oluşturulmuş Ratların Kan ve Dokularında Eser Element ve İlaç Etken Madde Düzeylerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Öznur GÜNGÖR

TEŐEKKÜR

Çalıőmalarım sırasında beni yönlendiren ve her konuda yardımını esirgemeyen danışman hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR'e;

Deneysel çalıőmalarımın bir kısmını yaptığım İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi çalıőanlarına ve Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi çalıőanlarına;

Deneysel çalıőmalarımda bilgi, birikim ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Sn. Doç. Dr. Burhan ATEŐ, Arő. Grv. Ali ERDOĞAN, Arő. Grv. Sezen KURŞUN'a, manevi desteğini esirgemeyen bölüm elemanlarına;

ve bana her zaman destek olan aileme;

Teőekkür ederim.

Ayrıca,

2010/ 36 no'lu proje kapsamında bu çalıőmayı destekleyen **İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine** teőekkür ederim.

ÖZET

Doktora Tezi

BENZODİAZEPİN GRUBU İLAÇLARLA BAĞIMLILIK OLUŞTURULMUŞ RATLARIN KAN VE DOKULARINDA ESER ELEMENT VE İLAÇ ETKEN MADDE DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Öznur GÜNGÖR

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

xi + 141 sayfa

2011

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

Benzodiazepinler (BDZs) antiepileptik hipnotik, teskin edici, antikonvülsan, sedatif, kas gevşetici ve amnezik özellikleri ile farmasötik aktif ilaçların büyük ve önemli bir sınıfını oluşturmaktadır. Benzodiazepinler ve metabolitleri tüm vücuda ve özellikle limbik sistem, hipotalamus, talamus ve serebrospinal sıvıya dağılırlar. Birçoğu plazma proteinlerine bağlanır ve idrarla dışarı atılırlar. İz elementler insan sağlığı ve hastalıklarında önemli bir rol oynar. Gerekli ve gerekli olmayan iz elementlerin her biri hücre, doku ve sıvılar içerisinde yüksek miktarlarda bulunurlarsa toksik olabilirler.

Bu çalışmada, beş farklı çalışma grubu oluşturularak ratlara altı hafta boyunca günde 2 doz intraperitoneal yolla genellikle psikiyatri de kullanılan diazem ve dormicum ilaçları verildi. Klinik olarak bağımlı hale getirilen deney hayvanlarından alınan serum örneklerinde kalitatif element analizi SEM-EDX ile yapıldı. Beyin, karaciğer, böbrek dokuları ve serum örneklerinde Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb elementleri ICP-MS de analizlendi. Hg element analizi Grafit fırınlı AAS de yapıldı. Ön işlem olarak sıvı- katı ekstraksiyonu kullanılıp hazırlanan serum örneklerinde etken maddelerin analizi için GC-MS kullanıldı. Etken madde analiz sonuçlarını desteklemek amacıyla IR alındı. Serum ve dokularda SOD, CAT, GSH-Px aktivitesi, protein tayini, yağ asit oksidasyonu UV-VIS da ölçüldü. Serum örnekleri için rutin biyokimyasal analizler Aeroset Otoanalizör sisteminde çalışıldı.

Deneysel sonuçlara göre; ilaç uygulamaları ile hem dokularda hem de serumda enzim aktivitesi, MDA, eser elementler ve ölçülen enzimlerin kofaktörü olarak görev alan Fe, Mn, Zn, Se düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler gözlemlenmiştir. Her iki ilaç grubu arasında kontrol grubuna göre; serum için ürik asit, kolesterol, albumin düzeylerinde; karaciğer için Se, Zn, Mg düzeylerinde; böbrek için Sn, Cr, Mn düzeylerinde ve beyin için Ca, Sn, Sr düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler bulundu. Analizlenen bu değişimler SPSS 16.0 paket programına göre değerlendirildi.

ANAHTAR KELİMELELER: Benzodiazepin, ICP-MS, UV-VIS, SOD, CAT, GSH-Px, MDA.

ABSTRACT

PhD. Thesis

THE ANALYSIS OF LEVELS OF TRACE ELEMENTS AND DRUG ACTIVE INGREDIENTS IN BLOOD AND TISSUE SAMPLES OF RATS ADDICTED WITH BENZODIAZEPINE DERIVATIVES

Öznur GÜNGÖR

İnönü University
Institute of Natural Sciences
Department of Chemistry

xi + 141 pages

2011

Advisor: Assistant Prof. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR

Benzodiazepines constitute a large and important class of pharmaceutical active drugs with antiepileptic hypnotic, tranquillizing, anticonvulsant, sedative, muscle relaxant, due to amnesic properties. BDZs and metabolites are distributed throughout the body and more specifically in the limbic system, particularly the hypothalamus, thalamus and cerebrospinal fluid. Many of them are bound to plasma proteins and are excreted by the urine. Trace elements play an important role in human health and diseases. These elements take part in different metabolic pathways. If they were found in excessive concentrations, each of essential and nonessential trace element may show toxic effects in cells and tissues.

In this study, five working groups of rats were formed by giving two doses psychiatric drugs (diazepam, dormicum) intra-peritoneally per day for six weeks. The serum samples were collected from clinically addicted animals and the percentage of elements was determined by SEM-EDX. Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb elements were analysed using ICP-MS from brain, liver and kidney tissue and serum samples. Hg analysis was performed by GFAAS. GC-MS was used for analysis with serum samples using solid phase extraction. The active ingredient in order to support the results of the analysis were elucidated by the IR. Serum and tissue samples SOD, CAT, GSH-Px activity, protein determination, fatty acid oxidation were measured with UV-VIS. The routine biochemical assays of serum samples were analyzed by an Aeroset autoanalyzer system.

The results showed that both in serum and in tissues the enzyme activity, MDA, trace elements and the levels of cofactors (Fe, Mn, Zn, Se) for enzymes under investigation were observed in significant changes. The changes in uric acid, cholesterol, albumin levels in serum, Se, Zn, Mg levels in liver, Sn, Cr, Mn levels in kidney and Ca, Sn, Sr levels in brain were significantly differed in drug treated animals compared to control group. The statistical analysis was carried out by the SPSS 16.0 package program.

KEYWORDS: Benzodiazepines, ICP-MS, UV-VIS, SOD, CAT, GSH-Px, MDA.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SEMBOL VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1. Toksikoloji.....	4
2.1.1. Kimyasalların Zehirlilikleri ve Toksisite Dozları.....	4
2.2. Benzodiazepin.....	6
2.2.1. Tarihçesi.....	6
2.2.2. Farmokinetik özellikleri.....	7
2.2.3. Farmakolojik özellikleri.....	7
2.2.4. Psişik ve Fiziksel Bağımlılık.....	10
2.2.4.1. GABA ve GABAerjik sistem.....	13
2.2.5. Madde bağımlılığının ilaçla tedavisi ve kullanım süresi.....	14
2.2.6. Benzodiazepinlerin yan etkileri.....	15
2.2.7. Deneyde kullanılan metabolitler.....	17
2.2.7.1. Midazolam (Dormicum).....	17
2.2.7.2. Diazepam (Diazem) (Lizan) (Nervium).....	18
2.3. İz elementler.....	20
2.3.1. Alüminyum.....	22
2.3.2. Antimon.....	23
2.3.3. Arsenik.....	23
2.3.4. Bakır.....	23
2.3.5. Baryum.....	25
2.3.6. Civa.....	25
2.3.7. Çinko.....	25
2.3.8. Demir.....	26
2.3.9. Fosfat.....	27
2.3.10. Gümüş.....	27
2.3.11. Kadmiyum.....	28
2.3.12. Kalay.....	29
2.3.13. Kalsiyum.....	29
2.3.14. Kobalt.....	29
2.3.15. Krom.....	30
2.3.16. Kurşun.....	30
2.3.17. Magnezyum.....	31
2.3.18. Mangan.....	32
2.3.19. Molibden.....	32
2.3.20. Nikel.....	32

2.3.21.	Potasyum.....	33
2.3.22.	Selenyum.....	33
2.3.23.	Sodyum.....	34
2.3.24.	Stronsiyum.....	34
2.3.25.	Sülfite- Sülfat.....	35
2.4.	Kan örneklerinin alınışı.....	35
2.5.	Analizde kullanılan analitik teknikler.....	36
2.5.1.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	36
2.5.2.	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrofotometresi.....	37
2.5.3.	Elektron Mikroskop.....	38
2.5.4.	Ultraviyole- Görünür Işık Absorpsiyon Spektrofotometre.....	41
2.5.5.	İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi.....	42
2.5.6.	İnfared Spektrometre.....	44
2.6.	Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi.....	44
2.6.1.	Oksidatif Hasar.....	44
2.6.2.	Serbest Radikaller.....	45
2.6.2.1.	Serbest Radikallerin Membran Lipitlerine Etkileri.....	46
2.6.3.	Antioksidan Savunma Sistemleri.....	46
2.6.3.1.	Enzimatik Antioksidanlar.....	47
2.6.3.1.1.	Süperoksit Dismutaz (SOD).....	47
2.6.3.1.2.	Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	48
2.6.3.1.3.	Katalaz.....	48
2.6.4.	Rutin Biyokimyasal Analizler.....	49
2.6.4.1.	Albümin.....	49
2.6.4.2.	Glukoz.....	50
2.6.4.3.	Kreatinin.....	50
2.6.4.4.	Ürik Asit.....	51
2.6.4.5.	Trigliserid.....	51
2.6.4.6.	Kolesterol.....	52
2.6.4.7.	Total Protein.....	53
2.6.4.8.	Bun (Kan Üre Azotu).....	53
2.6.4.9.	AST (Aspartat transaminaz), ALT (Alanin transaminaz).....	53
2.7.	Analizde kullanılan ayırma teknikleri.....	53
2.7.1.	Sıvı- Katı Ekstraksiyon (SPE).....	56
2.8.	Kaynak özetleri.....	58
3.	MATERYAL VE METOD.....	61
3.1.	Kullanılan kimyasallar.....	61
3.2.	Kullanılan ilaçlar.....	62
3.3.	Deneyisel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	62
3.4.	Deneylerde Kullanılan Hayvanlar.....	62
3.5.	Deneyisel çalışmalarda kullanılan aletler.....	63
3.6.	Materyal.....	68
3.7.	Metot.....	68
3.8.	Deneylerde Kullanılan Malzemeler.....	69
3.9.	Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	70

3.10.	Serum ve Dokularda Enzim Aktivite Tayini.....	70
3.10.1.	Dokuların Homojenizasyonu.....	71
3.10.2.	Protein Tayini.....	71
3.10.3.	Katalaz Aktivite Tayini.....	71
3.10.4.	Se-Bağımlı Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini.....	72
3.10.5.	Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini.....	73
3.10.6.	Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi.....	74
3.10.7.	Verilerin İstatiksel Analizi.....	74
3.11.	ICP-MS ve Grafit Fırınlı AAS Cihazlarında Metal Analizi.....	75
3.12.	GC-MS Cihazında Etken Madde Analizi.....	76
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	77
4.1.	Ağırlık Değişimi.....	77
4.2.	Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları.....	80
4.3.	SEM-EDX analiz sonuçları.....	82
4.4.	Enzim Aktivite analiz sonuçları.....	82
4.5.	ICP-MS analiz sonuçları.....	85
4.6.	GC-MS analiz sonuçları.....	102
4.7.	IR analiz sonuçları.....	103
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ.....	104
5.1.	ICP-MS sonuçları.....	104
5.2.	Grafit Fırınlı AAS’de civa elementinin sonucu.....	110
5.3.	Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları.....	110
5.4.	MDA ve Enzim Aktivite sonuçları.....	111
5.5.	CAT, SOD ve GSH-Px enzimleriyle kofaktör olarak görev alan metal düzeylerinin değişimi.....	112
5.6.	GC-MS ile elde edilen etken madde sonuçları.....	115
6.	KAYNAKLAR.....	122
	EK 1.....	133
	EK 2.....	136
	EK 3.....	138
	EK 4.....	140
	ÖZGEÇMİŞ.....	141
	Etik Kurul Belgesi	
	Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Ağız yoluyla alınan ilacın insan vücudunda geçirdiği evreler.....	9
Şekil 2.2.	Bağımlılık oluşum süreci.....	11
Şekil 2.3.	Madde bağımlılığını etkileyen faktörler.....	12
Şekil 2.4.	Midazolamın molekül yapısı.....	18
Şekil 2.5.	Diazepamın molekül yapısı.....	19
Şekil 2.6.	Ağır metal etkilerinin derişimle değişimi.....	21
Şekil 2.7.	Grafit fırın.....	37
Şekil 2.8.	Taramalı elektron mikroskobunun şematik görünüşü.....	39
Şekil 2.9.	Elektron demeti ile numune arasındaki etkileşim.....	40
Şekil 2.10.	Sıklıkla kullanılan örnek hazırlama yöntemleri.....	55
Şekil 2.11.	SPE kolonun yapısı.....	56
Şekil 2.12.	SPE mikroplakalar.....	56
Şekil 2.13.	Çeşitli ticari SPE kolon ve diskleri.....	57
Şekil 2.14.	Vakum manifoldu.....	57
Şekil 2.15.a.	SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri.....	58
Şekil 2.15.b.	SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri.....	58
Şekil 3.1.	SEM sistemi.....	64
Şekil 3.2.	GC-MS sistemi.....	65
Şekil 3.3.	AAS sistemi.....	66
Şekil 3.4.	ICP-MS sistemi.....	67
Şekil 3.5.	Genel işlem basamağı.....	68
Şekil 3.6.	Kan ve Doku örneklerinin alınış şeması.....	70
Şekil 3.7.	UV-VIS sistemi.....	71
Şekil 3.8.	ICP-MS ve GFAAS de analiz öncesi örnek hazırlama şeması.....	75
Şekil 3.9.	GC-MS de analiz öncesi örnek hazırlama şeması.....	76
Şekil 4.1.	Kontrol Grubu Olarak Kullanılan Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimi.....	77
Şekil 4.2.	Diazem İlacı Verilmiş Olan Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimi.....	78
Şekil 4.3.	Diazem İlacının Taşıyıcısı Olan Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimi.....	78
Şekil 4.4.	Dormicum İlacı Verilmiş Olan Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimi.....	79
Şekil 4.5.	Dormicum İlacının Taşıyıcısı Olan Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimi.....	79
Şekil 4.6.	Deney hayvanlarından alınan serum örneklerine göre Rutin Biyokimyasal analiz sonuçlarının değişimi.....	81
Şekil 4.7.	Deney hayvanlarından alınan serum örneklerine göre Rutin Biyokimyasal analiz sonuçlarının değişimi.....	81
Şekil 4.8.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Na($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi.....	85

Şekil 4.9.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mg($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi.....	86
Şekil 4.10.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Al(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	86
Şekil 4.11.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan K($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi.....	87
Şekil 4.12.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ca($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi.....	87
Şekil 4.13.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan V(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	88
Şekil 4.14.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cr(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	88
Şekil 4.15.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mn(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	89
Şekil 4.16.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Fe(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	89
Şekil 4.17.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ni(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	90
Şekil 4.18.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cu(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	90
Şekil 4.19.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Zn(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	91
Şekil 4.20.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan As(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	91
Şekil 4.21.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Se(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	92
Şekil 4.22.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Rb(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	92
Şekil 4.23.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sr(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	93
Şekil 4.24.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Nb(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	93
Şekil 4.25.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mo(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	94
Şekil 4.26.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ag(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	94
Şekil 4.27.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cd($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi.....	95
Şekil 4.28.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sn(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	95
Şekil 4.29.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sb(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	96
Şekil 4.30.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ba(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi.....	96
Şekil 4.31.	ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan	

Şekil 4.32.	Pb(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi..... Grafit Fırınli AAS'de serum ve yaş dokuda bulunan	97
Şekil 4.33.	Hg(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi..... Etken maddesi diazepam olan diazem ilacının GC-MS analiz sonucu.....	97 102
Şekil 4.34.	Etken maddesi midazolam olan dormicum ilacının GC-MS analiz sonucu.....	102
Şekil 4.35.	Kontrol grubu deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.....	103
Şekil 4.36.	Diazem ilacının verildiği deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.....	103
Şekil 4.37.	Dormicum ilacının verildiği deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.....	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Benzodiazepinlerin farmakolojik özellikleri.....	8
Çizelge 3.1.	Kullanılan kimyasallar ve özellikleri.....	61
Çizelge 3.2.	Deney hayvanı olarak kullanılan ratların genel özellikleri.....	63
Çizelge 3.3.	Kullanılan cihazlar.....	63
Çizelge 3.4.	SEM cihazının özellikleri ve çalışma şartları.....	64
Çizelge 3.5.	GC- MS cihazının özellikleri ve çalışma şartları.....	65
Çizelge 3.6.	AAS cihazının özellikleri ve çalışma şartları.....	66
Çizelge 3.7.	ICP-MS cihazının özellikleri ve çalışma şartları.....	67
Çizelge 3.8.	Çalışılan ilaçların doz miktarları.....	69
Çizelge 3.9.	Anestezik ajanlar.....	69
Çizelge 3.10.	Mikrodalga fırında böbrek ve beyin dokularının çözünürleştirme işlemi.....	76
Çizelge 3.11.	Mikrodalga fırında serum ve karaciğer dokusunun çözünürleştirme işlemi.....	76
Çizelge 4.1.	Serum örneklerinden elde edilen Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları.....	80
Çizelge 4.2.	Yaş doku (böbrek, beyin, karaciğer) ve kan serum örneğinden elde edilen analiz sonuçları.....	83
Çizelge 4.3.	Yaş doku (böbrek, beyin, karaciğer) ve kan serum örneğinden elde edilen analiz sonuçları.....	84
Çizelge 4.4.	Serum örneklerinde ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları.....	98
Çizelge 4.5.	Beyin dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları.....	99
Çizelge 4.6.	Böbrek dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları.....	100
Çizelge 4.7.	Karaciğer dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları.....	101

SEMBOL VE KISALTMALAR

AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ALT	Alanin Transaminaz
AST	Aspartat Transaminaz
BSA	Bovine Serum Albumin
BUN	Kan Üre Azotu
BZ1	Benzodiazepin reseptörü 1
BZ2	Benzodiazepin reseptörü 2
BZDs	Benzodiazepinler
CAT	Katalaz
DAD	Fotodiyot dedektör
ED	Eşik değeri
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FDA	Amerikan besin ve ilaç dairesi
GABA	Gama- aminobütirik asid
GABAerjik	GABA'yı nörotransmitter olarak kullanan
GC	Gaz Kromatografisi
GC- MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrofotometresi
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Glutatyon disülfür
GST	Glutatyon-S-transferaz
HDL	İyi kolesterol
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
HPLC-UV	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi-Ultraviyole
HPLC-PDA	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi-fotodiyot dedektör
IARC	Uluslar arası kanser araştırma merkezi
ICP-MS	İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
ICP-OES	İndüktif Olarak Eşleş. Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
IM	Kas içi enjeksiyon, intramüsküler
IP	Karın içi enjeksiyon, intraperitoneal
IR	İnfared Spektrometre
IS	İç standart
ID	Deri içi enjeksiyon, intradermal
IV	Damar içi enjeksiyon, intravenöz
LD50	Öldürücü doz
LDL	Kötü kolesterol
MÇD	Maksimum çalışma değeri
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometre
ÖD	Önerilen değer
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
RIA	Radioimmün assay
ROS	Reaktif oksijen ürünleri

RP-HPLC	Ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografi
SC	Deri altı enjeksiyon, subkutan
SEM	Taramalı Elektron Mikroskop
SOD	Süperoksit dismutaz
SPE	Sıvı-katı ekstraksiyonu
TBA	2-ThioBarbitürik asit
TCA	Triklorasetik asit
SSS	Santral sinir sistemi
UV-VIS	Ultraviyole- Görünür Işık Absorpsiyon Spektrofotometre

1) GİRİŞ ve AMAÇ

Ruhsal sağlık alanında psikolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklarda (psikofarmakolojik) ilaç verilmesi çok yaygın bir terapi yöntemidir. Bu ilaçlar ruhsal şikâyetleri mevcut oldukça çok hastanın yaşam kalitesini artırmıştır. İlaç sayesinde hastalığın belirtilerine karşı mücadele edilebilir veya şikâyetlerin tekrarlanması önenebilir.

İlaçlar psikolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklara karşı mücadele vermek için veya önlemek için etkin olabilir. Psikofarmakolojik ilaçların etkin olup olmayacağı ve olursa ne derece etkin olacağı hastadan hastaya ve durumdan duruma farklı olabildiği için ancak pratikte kullanarak belli olur. İlaçların tercih edilen etkisi yanı sıra daima yan etkileri de vardır. Hem dozajı uygun, hem etkin, hem de kişi için çekilebilir nitelikte olan bir ilaç bulmak uzun zaman alır ve sabır ister. İlaçların işlevselliğini ve yan etkilerini değerlendirmek için ve gereken yerde değişiklik yapılabilmesi için uzmanca refakat edilmesi gerekir.

Psikolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklarda nedenini bulup tedavi etmek veya olabildiği kadar iyi derecede idare etmeyi öğretmek için ilaç kullanılması yeterli gelmez. Rahatsızlığı iyi tedavi edebilmek için teşhis ve bir tedavi planı yapılması gerekir.

İlaç psikolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklara karşı mücadele için veya önlemeye yönelik kullanılabilir de buna yol açan nedenleri ortadan kaldırmaz. Psikoza karşı mücadele için veya önlemeye yönelik (antipsikotik) ilaçlar vardır; karamsar duygulara (depresyona) karşı mücadele için veya önlemeye yönelik (antidepresan) ilaçlar(1) vardır; duygu durum dalgalanmasına karşı mücadele için (duygu durum dengeleyici) ilaçlar vardır; korkuya karşı (sakinleştirici ve antidepresan) ve uykusuzluğa karşı (uyku ilacı) mücadele için ilaçlar vardır.

Çalışmamızda kullandığımız Benzodiazepinler insanların günlük hayatlarında karşılaştıkları güçlüklerin, üzüntülerin ve sıkıntıların neden olduğu sinirlilik ve hiddet gibi reaksiyonları önlemek üzere kullanılan ilaçların başında gelirler. Benzodiazepin grubundan ilacın uyku özelliğine veya sakınleştirici özelliğine sahip olması dozajına ve etkin olduğu süreye bağlıdır. Ayrıca etkisi kişiden kişiye de farklıdır. Benzodiazepinler kişinin stres ve düşünce dolu zor bir dönemi atlattırması ve bu arada bitkin düşmemesi için geçici olarak etkin bir çözüm olabilir. Benzodiazepinlerin rizikolu yönü ise

bağımlılık yapabilmelidir. Sakinleştirici özelliğe sahip benzodiazepinler en fazla iki ay boyunca kullanılabilir.

Sağlıklı bir kişinin kan yapısı ile çeşitli hastalıkları olan ve bu sebeple ilaçlar kullanan kişilerin kan yapısı aynı değildir. Organizma temel olarak organik ve inorganik maddelerden kurulmuştur. Organik yapıyı; protein, lipid, karbonhidrat, hormon gibi maddeler, inorganik yapıyı ise su ve mineraller oluşturur. Alınan ilaçların özelliklerine göre kanımızdaki kimi değerler yükselirken kimi değerlerin de düşmesi kaçınılmazdır. Bu sebepten yola çıkarak benzodiazepin grubu ilaçlardan kullanan ratların kanındaki iz element miktarlarının değişimi incelenmiştir. İz elementlerin insan sağlığı ve hastalıklarda önemli bir rolü olup metabolizma fonksiyonlarının devamı için gereklidirler. Bu elementler hücre ve dokuların farklı metabolik yollarında görev alırlar. Gerekli ve gerekli olmayan iz elementlerin her biri hücre, doku ve sıvılar içerisinde yüksek miktarlarda bulunurlarsa toksik olabilirler.

Çalışmamızda Benzodiazepin etken maddelerini içeren piyasada yeşil reçeteye satılan ve en çok kullanılan iki ilaç gruplandırılmış ratlara intraperitoneal uygulandı. Kullanılan her iki ilaçta uyku verici olup diazem uzun etkili, dormicum ise kısa etkili ilaçlardır. Çalışmada ağırlıkları 180-240 gram arasında değişen, toplam 46 adet Wistar albino cinsi genç yetişkin dişi ratlar kullanıldı (n=46). Deney süresince ratlar, 12 saat aydınlık/ karanlık, havalandırılmalı ve sabit sıcaklık odalarda, özel kafeslerde, rat yemi ile beslenerek ve içebildikleri kadar çeşme suyu verilerek barındırıldı. Deney devam ederken üçüncü haftada SEM-EDX çalışması için kan alındıktan sonra deney hayvanlarından 3 tanesi öldü. Çalışmanın başlangıcında deney hayvanları işaretlendirilerek 5 gruba ayrıldı; kontrol grubu, diazem ve diazem taşıyıcı grup ayrıca dormicum ve dormicum taşıyıcı grup. Altı hafta boyunca günde iki doz (Diazem için 1 mg/kg, Dormicum için 0,75 mg/kg) ilaçlar verildi, haftada bir kere kilo takibi yapıldı. Deney sonlandırıldığında kan ve doku örnekleri yapılacak çalışmalara uygun şekilde muhafaza edildi.

Deney sonlandırıldığında kontrol grubu öncelikli olmak üzere çalışılan diazem ve dormicum ilaçları verilmiş olan ratların serumları sıvı-katı faz ekstraksiyonundan geçirilip Agilent 6890 GC'ye bağlı 5973N Mass Selective Detektör'den oluşan GC/MS ile etken maddelerin analizi yapıldı. Elde edilen GC/MS sonuçlarına göre deney

hayvanlarına verilen ilaçların etken maddelerinin yapıları aynen kalmayıp yapı değişikliği söz konusudur. Yapı tayinini aydınlatmak amacıyla Perkin Elmer Spektrum 100 İnfrared Spektrometresi kullanıldı.

Kan ve doku örneklerinde (beyin, böbrek, karaciğer) eser halde bulunan (Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb) metallerin değişimini incelemek üzere Agilent 7500ce ICP- MS cihazı kullanıldı. LEO EVO 40'a bağlı SE-BSE dedektör'den oluşan SEM cihazında deneyin üçüncü haftasında alınan tam kan ve serum örneklerinde (Na, Mg, Al, K, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Ba, Hg, Pb, Si, P, S, Ca, V, Cr, Mn, Rb, Sr, Zr, Nb, Ag, In, Sn, Bi) eser halde bulunan metallerin % miktarlarını belirlenmek amacıyla SEM-EDX'ları çekildi. ICP-MS cihazında kullanılan iç standarttan dolayı Hg elementi incelenemediği için Perkin Elmer AAnalyst 800 Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazının Grafit Fırın sisteminde analizi yapıldı.

Kan ve doku örneklerinin ön işlemlerinde Sonics VCX130 sonifikatör, IKA-Werke T25 Homojenizatör ve Nüve NF 800R mikro santrifüjü kullanılarak enzim (Glutasyon peroksidaz, Katalaz, Süper oksit dismutaz) çalışması, protein tayini ve yağ asit oksidasyonu Shimadzu 1601 UV- VIS spektrofotometre cihazında yapıldı.

Turgut Özal Tıp Merkezinin biyokimya laboratuvarında deney hayvanlarının kan serum örnekleri kullanılarak Abbott marka Aeroset Otoanalizöründe rutin biyokimyasallardan; Glikoz, Bun, Kreatinin, Ürik Asit, Trigliserid, Kolesterol, Total Protein, Albümin, AST, ALT analizleri yapıldı.

2) KURAMSAL TEMELLER

2.1. TOKSİKOLOJİ

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların canlı biyolojik sistemlerde yapısal ve işlevsel değişiklik şeklinde gözlenen zararlı etkilerinin kalitatif ve kantitatif olarak incelenmesi ve bu araştırmalardan sonra elde edilen verilerin insan dahil tüm yararlı canlıların zararlı etkilerden korunması ve kimyasal maddelerin güvenirliliklerinin saptanması için kullanılması ile uğraşan, multidisipliner, hem çok eski hem modern anlamda çok yeni, gelişen ve öngörüselle niteliği olan bir bilimdir.

2.1.1. Kimyasalların Zehirlilikleri ve Toksikite Dozları

Doz zehirlenmeyi belirleyen faktördür. Uygun kullanılmadığı takdirde her madde zararlı, olumsuz etkiler meydana getirir. Her zaman olmasa da çoğunlukla toksisiteyi doz belirler.

Kimyasalların akut ve kronik zehirliliklerini ifade etmek için terimler ve tanımlardan yararlanır. Bunlar arasında en önemlileri şunlardır:

• Öldürücü doz (LD50):

Uluslararası literatürde toksik kimyasal maddelerin zehirleyici etkilerini (toksikiteelerini) belirtmek için, "öldürücü doz" olarak bilinen ve kısaca "LD50" ile ifade edilen doz ifadelerinden yararlanır. Bir defada alınan ve deney hayvanlarının %50'sinin iki haftalık bir süre içinde ölümlerine neden olan ve vücut ağırlığının kilogramı başına belirtilen doz, "LD50 veya öldürücü doz" olarak tanımlanır. Örneğin herhangi bir zehirli madde için öldürücü doz, $LD50 = 100 \text{ mg/kg}$ vücut ağırlığı olarak ifade edilmişse, 50 kg ağırlığındaki bir kişi için bir defada alınan 5 gramlık bir dozun "öldürücü olduğuna" hükmederiz. LD50 değerleri "kimyasalların akut toksisiteelerini belirten birer ölçüt" olarak değerlendirilirler. Kimyasalların öldürücü doz değerlerine göre toksisiteeleri şöyledir: a)Çok zehirli kimyasallar: Öldürücü doz değerleri 25 mg' dan daha düşük olan kimyasallar ($LD50 < 25 \text{ mg/kg}$ ağırlık). b)Zehirli kimyasallar: Öldürücü doz değerleri 25- 200 mg aralığında bulunan kimyasallar ($LD50 > 25 \text{ mg/kg}$ - $LD50 < 200 \text{ mg/kg}$). c)Az zehirli kimyasallar: Öldürücü doz değerleri 200- 2000 mg aralığında bulunan kimyasallar ($LD50 > 200 \text{ mg/kg}$ - $LD50 > 200 \text{ mg/kg}$).

• **Gizli süre (kuluçka süresi):**

Kimyasalların önemli toksisite ölçütlerinden bir diğeri de "kuluçka dönemi" veya "gizli süre" olarak tanımlanan kriterdir. Zehirli maddenin alınması ile zehirlenme belirtilerinin ortaya çıkması arasında geçen süreye "kuluçka süresi" veya "gizli süre" denir. Gizli süre birkaç saniye ile yüz yıl gibi çok farklı zaman dilimlerine karşılık gelebilir. Akut zehirlenmelerde gizli sürenin çok kısa olmasına karşın, kronik zehirlenmelerde bu süre yıllarca uzayabilir. Bu tür kronik zehirlenmelerde toksinin vücutta birikmesi, uzun bir süre zarfında gerçekleşebilir. Özellikle kurşun, civa vb. ağır metal zehirlenmeleri, uzun bir gizli süre sonunda ortaya çıkabilir.

• **Eşik değeri (ED):**

Bazı laboratuarlarda ve işyerlerinde, kişinin sürekli olarak "aynı tür kimyasala (veya kimyasallara) maruz kalması" söz konusudur. Böyle durumlarda günlük iş yaşamında maruz kalınan kimyasalın (veya kimyasalların) öldürücü dozu pek yarar sağlamaz. Kişilerin kimyasallara sürekli maruz kaldıkları durumlarda Kimyasalların "eşik değerleri" ve "maksimum çalışma değerleri" çok yararlıdır. Bu değerlerin bilinmesi, sağlık sorunlarının önlenmesine yönelik tüm önlemlerin alınmasına meydan verir. Bir kimyasalın uzun süreli ve sürekli olarak vücuda girmesine karşın, toksik etki göstermeyen dozuna "eşik değeri, ED" denir.

• **Maksimum çalışma değeri (MÇD):**

Bir iş gününü 8 saat kabul ederek, bir kişinin 8 saatlik bir sürede maruz kalabileceği herhangi bir toksik kimyasalın izin verilen zaman ağırlıklı ortalama derişimine (miktarına) ise, "maksimum çalışma derişimi, MÇD" denir. MÇD değerleri ppm (milyondaki oranı) veya ağırlık/m³ cinsinden (g/m³; mg/m³) verilebilir.

• **Önerilen değer (ÖD):**

Bu değerlerin dışında bazı üretici firmalar ile işçi ve halk sağlığına ilişkin gönüllü veya resmi kuruluşlar da çeşitli dozlar önerebilirler. Bu tür dozlara "önerilen doz, ÖD" denir. ÖD değerleri, daima öneren kuruluş adı ile birlikte belirtilmelidir.

2.2. BENZODİAZEPİN

2.2.1. Tarihçesi

1960'ların sonlarına kadar sıkıntı ve uykusuzluk için barbitüratlar kullanılıyordu. Bu ilaçlar bağımlılığa sebep olmaları, bırakıldığında ciddi kesilme belirtileri ortaya çıkarılmaları ve anksiyete bozukluklarının tedavisinde etkinliklerinin sınırlı olması nedeniyle yerlerini benzodiazepinlere kaptırmışlardır. 1959'da klordiazepoksidin bulunması ve benzer bir farmakolojik profile sahip birçok ilacın gelişmesiyle bu ilaçlar anksiyete bozuklukları, uykusuzluk, adale spazmı, alkol kesilmesi, epilepsi tedavisi için ve postoperatif tedavide yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanılmışlardır. Klordiazepoksid ve diazepam başta olmak üzere alprozalam, klorazepat, oksazepam, flurazepam, klonazepam ve temazepam gibi birçok benzodiazepin sentezlendi ve tedaviye sunuldu [1]. Halen dünyada 40 civarında benzodiazepin türevi ilaç bulunmaktadır ve bugüne kadar 8 adet benzodiazepin türevi FDA'dan (Amerikan Besin ve İlaç Dairesi) anksiyete tedavisinde kullanılabilir onayı almıştır. Bu ilaçlar sırasıyla klordiazepoksid, diazepam, oksazepam, klorazepat, lorazepam, prazepam, alprozalam ve halazepamdır [2].

Benzodiazepinler benzen ve yedi köşeli diazepam halkasından oluşurlar. Benzodiazepinlerin bir kısmının diazepam halkasının beşinci pozisyonunda ikinci bir benzen halkası mevcuttur ve buradaki farklılık ilacın terapötik özelliklerini belirler. 1977'de santral sinir sisteminde (SSS) benzodiazepin reseptörlerinin tarif edilmesinden sonra benzodiazepinlerde önemli gelişmeler olmuştur. İki tip benzodiazepin reseptörü tarif edilmiştir (BZ1, BZ2). BZ1 reseptörleri özellikle uykuya aracılık eder. BZ2 reseptörleri kognisyon, bellek ve motor kontrolle ilişkilidir [3, 4]. Sedatif ve hipnotik etkileri başta olmak üzere birçok farmakolojik etkilerine tolerans gelişmesi ve barbitüratlara göre daha yavaş gelişse de bağımlılık yapmaları ve kötüye kullanımları bu ilaçların da kullanımını sınırlamıştır. Günümüzde benzodiazepinler de kontrollü reçeteleşen ilaçlar arasındadır.

2.2.2. Farmokinetik Özellikleri

Etki sürelerine göre üç gruba ayrılır;

- Uzun Etkili Benzodiazepinler (Etki süresi 1–3 gün); Diazepam, Flunitrazepam, Flurazepam, Klonazepam, Klordiazepoksit
- Orta Etkili Benzodiazepinler (Etki süresi 10–20 saat); Alprazolam, Bromazepam, Temazepam
- Kısa Etkili Benzodiazepinler (Etki süresi 2–8 saat); Midazolam, Triazolam

2.2.3. Farmakolojik Özellikleri

Benzodiazepinlerin kısa etkili olanları, uzun etkili olanlarına göre genellikle daha yüksek bağımlılık yapma potansiyeline sahiptirler (Çizelge2.1.). Bütün bu ilaçların öfori yapıcı ve sedatif etkilerine karşı tolerans oluştuğu halde, diğer santral etkilerine karşı oluşmaz. Bu nedenle, alkol bağımlılığında olduğu gibi, kişide bilinç bulanıklığı ve diğer mental bozukluklar mevcuttur. Bu durum, kişinin görevini yapmasını, çevreye uyumunu ve yükümlülüklerini yerine getirmesini engeller. Solunum merkezini deprese edici etkiye karşı da tolerans gelişmez; bu ilaçlar aşırı dozda kullanıldıklarında veya fazla miktarda alkolle birlikte alındıklarında solunumu durdurarak öldürürler.

Benzodiazepinler, barbitürlara ve diğer hipnosedatif ilaçlara göre, günümüzde daha sık kullanılan ilaçlardır. Bunların çeşitli üyelerinin (diazepam, klordiazepoksit, klonazepam, nitrazepam, flunitrazepam, flurazepam, lorazepam, oksazepam, bromazepam vd.) bağımlılık oluşturduğu saptanmıştır. Bunlardan bağımlılık oluşturma yönünden en fazla incelenen, aynı zamanda en fazla kullanılan benzodiazepin olan diazepamdır. Deney hayvanlarında ve insanlarda yapılan incelemeler, diazepamın pozitif pekiştiri yapma gücünün pentobarbital, sekobarbital, amobarbital, alkol ve kokaininkinden daha düşük olduğunu göstermiştir. Bazı incelemelerde diazepamın anksiyeteli deneklere plasebodan daha fazla zevk vermediği ve ona tercih edilmediği bulunmuştur. Öte yandan, flunitrazepam keyif artırıcı etkinliği yüksek olan ve kötüye kullanılma potansiyeli fazla olan bir benzodiazepindir. Uzun süre günde 60–120 mg gibi yüksek dozlarda diazepam kullananlarda belirgin bir fiziksel bağımlılık meydana geldiği görülmüştür.

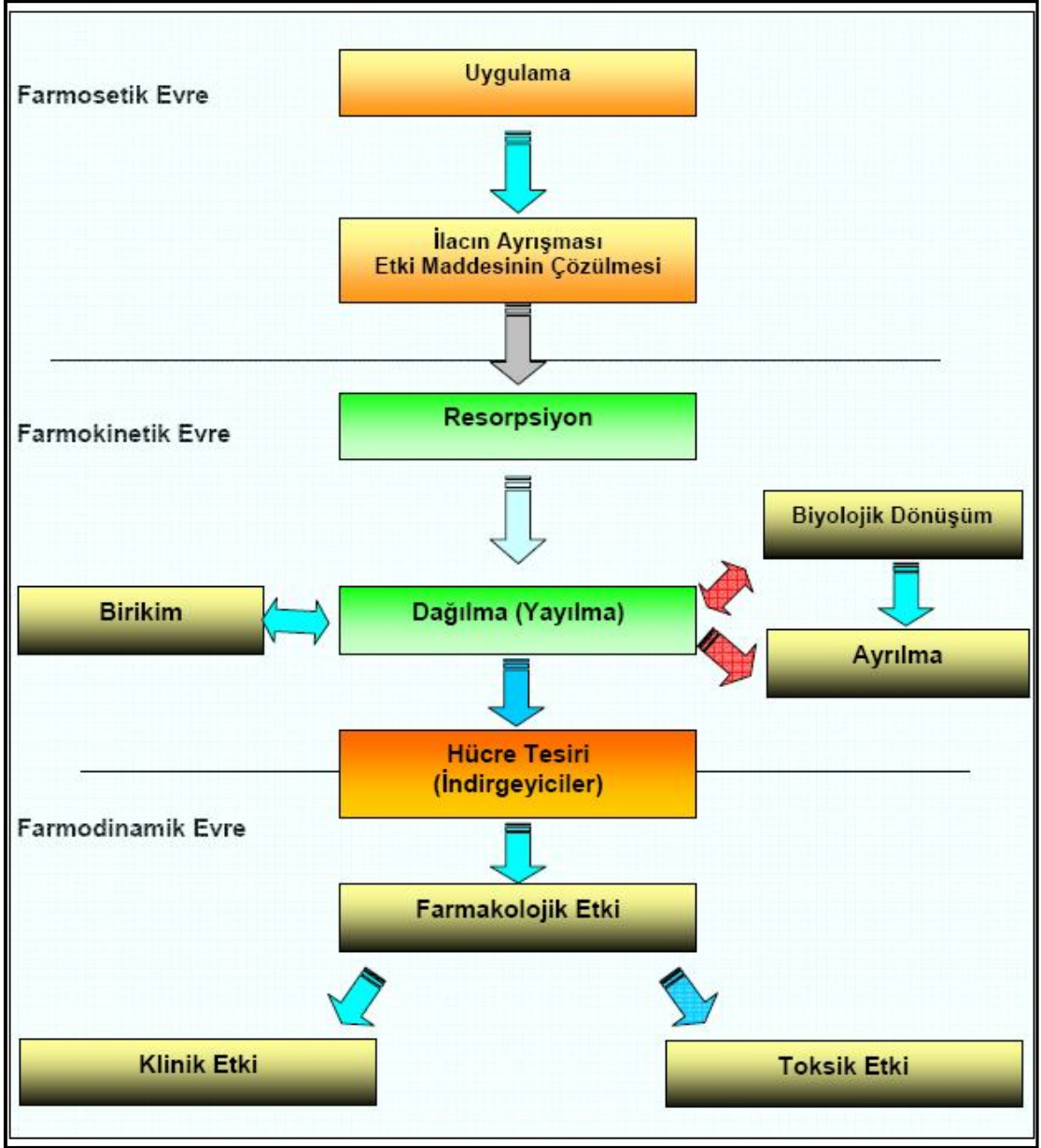
Benzodiazepinlerin terapötik indeksleri geniştir ve beş temel etkileri vardır; anti-anksiyete, sedasyon, antikonvülzan etki, kas gevşemesi ve amnezi. Analjezik etkileri yoktur. Karaciğerde metebolize edilirler ve metabolitleri de aktiftir. Eliminasyon yarı ömürleri bireyler arasında geniş ölçüde değişkenlik gösterir. Bunun nedeni kişilerin biyotransformasyon kapasiteleri ve ilaç dağılım hacimleri bakımından fark göstermeleridir. Değişkenlikte rol oynayan bir faktör de yaştır. Yaşlılarda yarılanma ömrü belirgin olarak daha uzundur. Benzodiazepinler güvenlik indeksi yüksek olan ilaçlardır. SSS depresanları ile birlikte alınırsa nispeten kolay bir şekilde intoksikasyon ve koma oluştururlar. Teratojenik etkisi nedeniyle gebeliğin ilk trimesterinde kullanılmamalıdır [3, 5, 6].

Benzodiazepinler büyük oranda plazma albüminine bağlanır. Bu nedenle plazma albümin düzeyinde, karaciğer, böbrek hastalıkları veya beslenme bozukluğuna bağlı azalma olduğunda, etkileri şiddetlidir. IV uygulamadan sonra ilk aşamada başta SSS olmak üzere damardan zengin dokulara, ikinci aşamada bu dokulardan kas ve yağ dokusuna dağılır. Başlangıçtaki klinik etkileri limbik depresyonla gelişen gerginlik ve anksiyetenin giderilmesi ile anterograf amnezidir. Orta derecede dolaşım ve solunum depresyonu yaparlar [7].

Ağız yoluyla alınan ilacın insan vücudunda geçirdiği evreler kısaca Şekil 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Benzodiazepinlerin Farmakolojik Özellikleri

Benzodiazepinler	Eşdeğer doz	Emilim hızı	Yarılanma ömrü	Etki süresi
Diazepam	5 mg	hızlı	2-4 gün	uzun
Klorazepat	7.5 mg	hızlı	2-4 gün	uzun
Klordiazepoksid	10 mg	orta	2-4 gün	uzun
Klonazepam	1 mg	orta	2-3 gün	uzun
Oksazepam	15 mg	yavaş	8-12 saat	orta
Medazepam	10 mg	yavaş	2-3 gün	orta
Alprazolam	0,5 mg	orta	14 saat	orta
Lorazepam	1 mg	orta	10-20 saat	orta
Triazolam	0,25 mg	orta	2-5 saat	kısa



Şekil 2.1. Ağız yoluyla Alınan İlacın İnsan Vücudunda Geçirdiği Evreler [8]

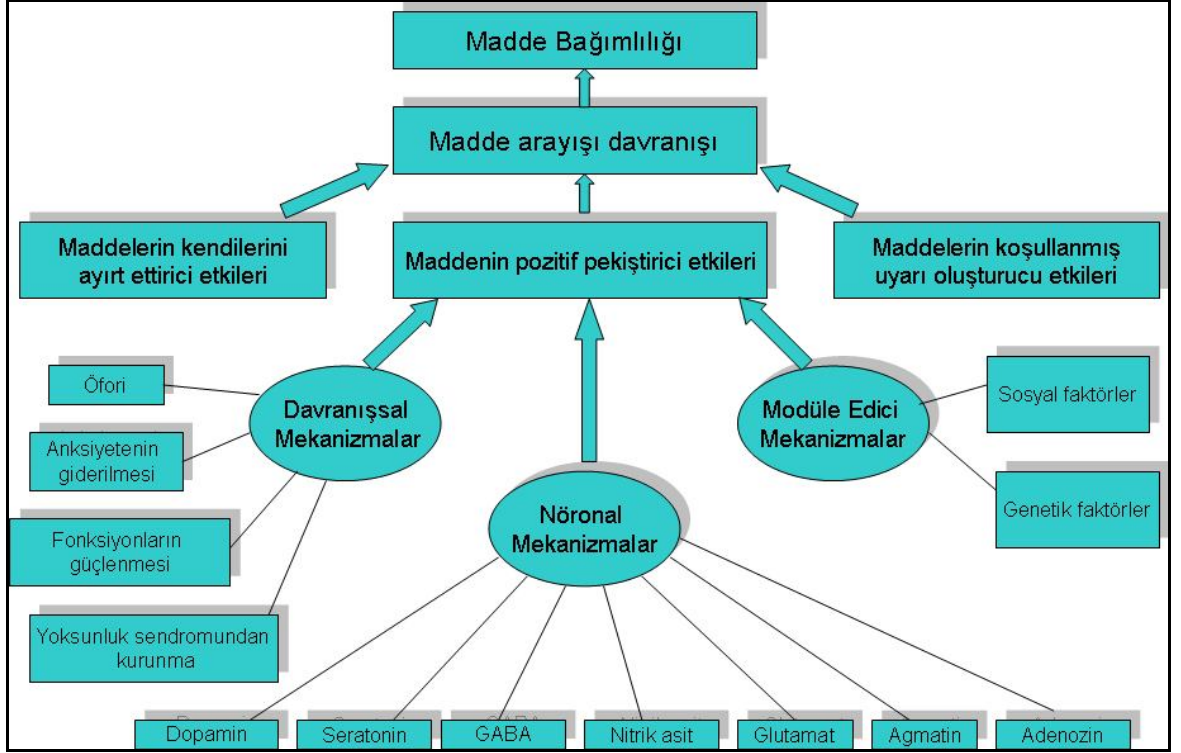
2.2.4. Psikişik ve Fiziksel Bağımlılık

Bağımlılık yapan maddeler belli bir süre kullanıldığında insanlarda ve deney hayvanlarında bağımlılık oluştururlar. Oluşan bağımlılık “psikişik (psikolojik)” veya “fiziksel” (fizyolojik) nitelikli olabilir. Kişiler çok defa bağımlılık yapıcı maddeleri kaygıyı giderici ve rahatlatıcı etkileri nedeniyle kötüye kullanırlar. İlk temas veya deneme genellikle kaygılı ve gergin bir dönemde kendini daha iyi hissetme çabası ile gerçekleşir. Gerçekten de bu maddelerin ilk alındıklarında kendini iyi ve güçlü hissettirici (öforizan) ve kaygıyı giderici (anksiyolitik) etkileri vardır. Bunun nedeni alınan maddenin beynimizin ödül sistemini uyarıcı etkisidir. Ancak bu maddeler kendi özelliklerine ve kişinin yatkınlığına göre değişebilen kısa bir süreçte kişide maddeye karşı şiddetli bir istek oluşturmaya başlarlar. Psikolojik bağımlılık olarak da tanımlayabileceğimiz bu süreçte maddeyi alma isteği giderek maddeye karşı aşırma düzeyinde bir özleme (crawing) dönüşür. Özlem o kadar şiddetlidir ki maddeyi alma bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu süreçte kişi madde alımını sürdürürken maddenin başlangıçtaki keyif verici etkilerine tolerans gelişmeye başlar. Yani kullanıcı aynı keyifli duyguları hissedebilmek için daha fazla madde almak zorunda kalır. Geç süreç olarak da ifade edebileceğimiz bu dönemde maddeye fiziksel (fizyolojik) bağımlılık gelişir. Fiziksel bağımlılık basitçe maddenin kronik kullanımı sırasında beyinde ters adaptasyon gelişimi olarak da ifade edilebilir. Fiziksel bağımlılık gelişiminin en iyi göstergesi maddenin belli bir süre kullanımının ardından ani olarak kesilmesini izleyen dönemde ortaya çıkan “yoksunluk krizi” belirtileridir. Kişi bundan sonra “keyif almak için değil”, “kriz geçirmemek için” madde alımını sürdürür. Yani geri dönüşü oldukça güç bir kısır döngüye girer[9, 10]. Bağımlılık oluşum süreci Şekil 2.2’de ifade edilmiştir.



Şekil 2.2.Bağımlılık Oluşum Süreci

Madde bağımlılığı çok yönlü ve birçok faktör tarafından etkilenen karmaşık bir beyin hastalığıdır. Madde bağımlılığını etkileyen faktörler Şekil 2.3’de görülmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi madde bağımlılığı birçok faktörün katılımı ile oluşan veya birçok faktör tarafından etkilenen karmaşık bir olaydır. Bu durum sorunun çözümünü, yani ilaçla veya başka bir yöntemle etkili bir biçimde tedavi edilmesini de oldukça güçleştirmektedir.



Şekil 2.3. Madde Bağımlılığını Etkileyen Faktörler [11]

Bağımlılığa Yol Açan Etkenler:

1- İlacın pekiştiri yapması:

a. Pozitif Pekiştiri: ilacı almakla kendisinde oluşacak etkilere özlem duyma. Örneğin keyif, öfori. Madde arayışı vardır. Beyinde ilacın etki gösterme hızı pozitif pekiştiriye artırır.

b. Negatif Pekiştiri: ilacı alamama neticesinde oluşabilecek istemediği kötü etkilerden kaçınma. (keyif düşüşü, yoksunluk sendromları vb.)

Yoksunluk Sendromu; SSS'de depresan maddenin kesilmesiyle ortaya çıkan belirtilerdir.

2- Yatkınlık:

a. Kişilik yapısı

b. Genetik polimorfizm: Alkol suistimalinde etkili.

c. Alışkanlıklar.

3- Çevresel Etkenler:

- a. Kültürel Ortam: Batıda alkol günlük hayatın bir parçası. Alkol ve sigara toplumca onaylanan maddelerdir.
- b. Maddeyi Bulma Olanığı: Sosyal çevreyle ilişkilidir.

2.2.4.1. GABA ve GABAerjik Sistem

GABA ve GABAerjik sistemde oluşan adaptasyonun özellikle alkol ve sedatif-hipnotik ilaçlara karşı gelişen fiziksel bağımlılıkta rolü olduğuna işaret eden çalışmalar yapılmıştır. GABA santral sinir sisteminde en yaygın inhibitör nörotransmitterdir. GABA-A reseptörü, benzodiazepin reseptörü ve klorür iyonoforu ile birlikte alkol ve benzodiazepinler gibi sedatif-hipnotiklerin etki mekanizmasında önemli bir role sahiptir. Bilindiği gibi GABA nöronal düzeyde hücre içine Cl⁻ girişini artırır ve elektrofizyolojik düzeyde bir postsinaptik inhibisyon yapar. GABA'nın bu etkileri benzodiazepinler, barbitüratlar ve alkol tarafından potansiyelize edilmektedir. GABA'nın etkilerini bu şekilde potansiyelize eden maddelerin anksiyolitik etkilere sahip olduğu da bilinmektedir. Deney hayvanlarında GABA-A reseptör antagonistleri ve benzodiazepin ters (invers) agonistlerinin sedatif-hipnotiklerin antikonflikt etkilerini bloke ederken, GABA-A reseptör agonistlerinin bu etkileri güçlendirmesi bunun en güçlü kanıtlarından biridir.

Flumazenil gibi bazı benzodiazepin reseptör antagonistlerinin de doza bağımlı bir şekilde alkol yoksunluk sendromunun bazı semptomlarını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir [12]. Bu noktadan hareket ile alkol ve sedatif-hipnotiklerin anksiyolitik ve sedatif etkilerinin bu maddelere gelişen bağımlılıkta ödüllendirici ve pozitif pekiştirici rolü olduğu ileri sürülmüştür. Amigdala, ventral ön beyin, olfaktör tüberkül ve globus pallidum gibi anatomik bölgelerde GABAerjik aktivitenin yukarıda bahsedilen etki düzeneği ile sedatif-hipnotiklerin ve alkolün yaptığı ödüllendirmeye ve pozitif pekiştiriyeye önemli bir katkısı olduğu düşünülmektedir [13].

2.2.5. Madde Bağımlılığının İlaçla Tedavisi ve Kullanım Süresi

Madde bağımlılığı sosyal, ekonomik, genetik, psikolojik ve nörolojik boyutları olan son derece karmaşık bir olgudur. Madde bağımlılığı düzelme (remisyon) ve nüks (relaps) dönemleri ile seyreden kronik bir beyin hastalığıdır. Diğer birçok kronik hastalıkta olduğu gibi madde bağımlılığının tedavisi de semptomatik niteliktedir. Maddeyi kötüye kullanan ve bağımlı olan bir kişi aşırı doz kullanımına bağlı toksik etkiler, yoksunluk döneminde ortaya çıkan belirtiler, kronik madde kullanımına bağlı nörolojik, psikolojik veya diğer tıbbi belirtiler ve bağımlılığın kendisi için tedaviye ihtiyaç tutabilir [14].

Madde bağımlılığının ilaçla kesin tedavi edilebilir bir problem olduğunu iddia etmek veya bu iddiayı desteklemek sadece yeni bağımlılar oluşumuna yardımcı olur ve bilimsel olarak da gerçeği yansıtmaz. Henüz madde bağımlılığını kökten tedavi eden etkili bir ilaca sahip değiliz. Tedavinin, bağımlı olduktan sonra, irade gücü veya ilaçlar yardımı ile tekrar kişilerin eski haline dönebileceği şeklinde ifade edilmesi hatalı ve yeni bağımlılar oluşmasını teşvik edicidir.

Benzodiazepinler türünden ilacı kesmek çok zor gelebilir. Alınmasına sebep olan korku ve uyku sorunları olan asıl nedenler yeniden boy gösterebilir. Bu ilacı alıştırarak kesmek için gerekli zaman kullanılan miktar ve süreye bağlıdır. Bu tür ilaçlar belirli süre vücutta kaldığı için kestikten hemen sonra yoksunluk belirtileri mevcut olmayıp birkaç gün sonra ortaya çıkar. Bu tür ilaçlar yıllarca kullanıldıysa alıştırarak kesmek için de hatta birkaç ay gerekebilir.

Benzodiazepinlerde yoksunluk belirtileri şunlar olabilir:

- Uykusuzluk durumu fenalaşır,
- Korku ve buna bağlı panik atakları, hızlanan kalp atışı, terleme, titreme, mide ve bağırsak rahatsızlığı,
- Baş ağrısı,
- Kaslarda sancı ve kramp gibi şikâyetler,
- Koordine sorunları,
- Alınganlık,
- İşığa, sese ve dokunulmaya karşı aşırı hassasiyet.

Uzun süreli benzodiazepin tedavisi sırasında uygulanabilecek bir yöntem Benzodiazepin tatilidir. Amaç; biriken metabolitleri vücuttan temizlemektir. Uzun etkili benzodiazepinler için ilaç bırakma süresi 1 haftadan uzun olmalıdır. Orta ve kısa etkili benzodiazepinlerde 2–7 gün arası ilaç bırakılır [15]. Ortaya çıkacak çekilme belirtilerini tolere edebilme konusunda hastalar cesaretlendirilmeli, amaç açıklanmalıdır. İlaç kesilmeye karar verildiğinde ortalama 2–4 haftaya yayılmalıdır. Kısa yarı ömürlü benzodiazepinler kullanılıyorsa, uzun yarı ömürlü eş değer doz benzodiazepin kullanımına geçilmeli ve her gün terapötik doz % 5–10 azaltılarak tedavi düzenlenmelidir [16]. Gerekirse fenobarbital türevlerine geçip bu ilacın kademeli azalımı ile tedavi sürdürülmelidir. Epileptik yatkınlığı olanlarda karbamezapin eklenmesi ile ilaç azaltışı gerçekleştirilmelidir.

Benzodiazepin çekilme sonrası sendromu (Postwithdrawel Syndrome) terimi İngiliz Psikiyatrisinde kullanılan yoksunluk belirtilerinin aylar hatta yıllar sonra devamına verilen bir tanımdır. Benzodiazepin tedavisi tekrar başlasa bile devam edebilir ve klinik olarak anksiyeteden ayrılamaz. Gerginlik, belirsiz bir korku, huzursuzluk, titreme, çarpıntı ve gastrointestinal belirtiler ön plandadır. Kognitif terapi yararlı olabilir.

2.2.6. Benzodiazepinlerin Yan Etkileri (Bağımlılık, Yoksunluk, Tolerans)

Benzodiazepin bağımlılığına oldukça sık rastlanmakla birlikte, bunun diğer madde bağımlıları dışında kimde gelişeceğini saptamak mümkün değildir. Bu ilaçlar hem reçeteyle hem de yasadışı kaynaklardan temin edilebilirler. Reçete edilmiş benzodiazepin kullanan kişiler nadiren bunları kötüye kullanırken bu ilaçları yasadışı yollardan satın alanlarında da bir kısmında bağımlılık ya da kötüye kullanım gelişmeyebilir.

Genel olarak bakıldığında benzodiazepinler uzun dönemde üç grup hastada kullanılmaktadır. Birinci ve en büyük grubu kronik, ağır medikal hastalığı olan hastalar oluşturur. İkinci grup ise panik bozukluğu olan hastalardır. Bu grup hastalarda benzodiazepin kötüye kullanımının herhangi bir delili yoktur ve sıklıkla doz azaltılarak kesilir ve tedaviye yeni grup antidepresanlarla devam edilir. Üçüncü grup ise kronik psikiyatrik bozukluğu olan ve akut strese karşı yenilenen dozlarda benzodiazepin kullanan hastalardır. Bu grup hastalarda kişilik bozukluğu da varsa kronik kullanım ve

bağımlılık gelişebilir. Bu nedenle benzodiazepinlerin alkol ve madde bağımlıları ile borderline kişilik bozukluğu olan hastalarda kullanımından kaçınılmalıdır.

Kısa süreli benzodiazepin kullanımında genellikle tolerans, bağımlılık, çekilme etkileri gözlenmez. Ancak kısa etkililerde bu kural her zaman geçerli değildir. Kısa süreli etkin ilaçlar kullanırken dozajının etkisi bitmesiyle bazen yoksunluk etkileri ortaya çıkabilir. Bu belirtileri haksız yere asıl hastalığınızın belirtileri veya yan etkisi olarak görülebilir. İlacı kullandığınız süre ilerledikçe etkisi de azalır (buna toleranslık denir). Yani aynı etkiyi hissedebilmeniz için gittikçe fazla sayıda hap yutmanız gerekir. Sedatif, hipnotik ve anksiyolitik etkilerine karşı kısmen tolerans gelişebilir ve kademeli doz artışı gerekli olabilir. Daha az bir grup hastada ise sedasyon etkisine tolerans gelişirken anksiyolitik etki aynen devam eder ve uzun süre ilaç kullanılabilir.

Yoksunluk belirtileri hastanın ilacı ne kadar süre aldığına, ilaç dozuna, yarı ömrüne ve ne dozda azaltıldığına bağlıdır. Kronik benzodiazepin kullanımı sonucu doza bağlı olmaksızın da % 50 hastada hafif yoksunluk belirtileri gözlenir [17]. Orta derecede yoksunluk belirtileri; uykusuzluk, baş dönmesi, baş ağrısı, anoreksi, kulak çınlaması, görme bulanıklığı ve titremedir. Bunların bir kısmı anksiyete belirtileri ile karışır. Bu belirtiler ilacın beraberinde alkollü içki alındığında veya bazı başka ilaçlarla birlikte kullanılırsa şiddetlenir. Ağır yoksunluk belirtileri ise hipotansiyon, hipertermi, nöromuskuler irritabilite, psikoz ve epileptik nöbetlerdir. Kısa yarı ömürlü benzodiazepinlerde bu belirtiler daha şiddetli olarak gözlenir.

Uzun süre dozu arttırmadan ilaç kullanan hastalarda ise aylar hatta yıllar boyu ilaç kullanımını sürdürülebilir. Buna rağmen her 6–12 ayda bir hastanın durumu kontrol edilmeli ve ilacı bırakmaya hazır olup olmadığı araştırılmalıdır. Psikosomatik dengesini kararlı bir doz uygulamasıyla sürdüren hastalara potansiyel bir ilaç bağımlısı gözüyle bakılmamalıdır.

Benzodiazepin doz aşımında solunum depresyonu, koma, nöbet ve hatta ölüm gözlenebilir [18]. Benzodiazepin reseptör antagonisti olan flumazenil kullanımı ile benzodiazepin doz aşımı artık daha rahat tedavi edilebilmektedir. Flumazenil intravenöz olarak 0,2 mg olarak uygulanır ve hastanın bilinç durumuna göre toplam 3 mg'a kadar doz arttırılabilir.

2.2.7. Deneyde Kullanılan Metabolitler

2.2.7.1. Midazolam (Dormicum)

Midazolam 1,4 benzodiazepin türevidir. Kimyasal formülü 8-kloro-6-(2-fluorfenil)-1-metil-4-H-imidazo-(1,5-a) (1,4)- benzodiazepin hidroklorittir [19]. Midazolamın molekül yapısı Şekil 2.4.'de verilmiştir.

SSS depresyonu yapan, imidazol grubu içeren kısa etki süreli bir benzodiazepindir. Fryer ve Walser tarafından 1976 yılında sentezlenmiştir [20]. Bu gruptaki diğer ilaçlardan farklı olarak imidazol halkası içermesi suda erime özelliği verir. Bu nedenle enjeksiyonu ağrı ve irritasyona yol açmaz. Midazolam karaciğerde 3 major metabolitine yıkılır. Midazolamın major metabolitleri farmakolojik olarak aktif değildir. Metabolitlerinin aktif olmaması ve yarı ömrünün kısa olmasından dolayı rebound etkisi yoktur. Kan-beyin bariyerini hızlı geçer. Eliminasyonunun hızlı oluşuyla diğer benzodiazepinlerden ayrılır [7, 21]. Kısa süreli cerrahi veya teşhis amaçlı işlemler için tek başına veya bir narkotik ajan ile beraber kullanılır. IV, IM, IP, rektal veya nazal yolla uygulanabilir. En sık uygulama yolu IV yoldur [22]. Midazolam kuvvetli bir sedatif olduğu için yavaş yavaş verilmelidir. 2 dk. veya daha uzun uygulama süresi daha uygundur. Asla tek bir büyük vuruş dozu verilmemelidir. Hızlı ve aşırı IV dozlar solunum depresyonu ve durması ile sonuçlanabilir. Eğer derhal saptanıp müdahale edilmezse ölüm veya hipoksik ensefalopati ile sonuçlanabilir [22]. Başlangıç IV dozu 0,5–1,0 mg gibi çok küçük bir doz olabilir ama sağlıklı yetişkinde 2,5 mg' i aşmamalıdır. İstenen etkiye ulaşmak için titrasyon yapılması daha uygundur. Yeterli dozun en önemli göstergesi anlaşılmasız bulanık konuşmalardır [21, 22]. IV enjeksiyondan sonra genellikle 3–5 dk. içinde sedasyon elde edilebilir. Etki süresi IV enjeksiyondan sonra 1–6 saat devam edebilir ve bu süre içerisinde hastalar motor ve bilişsel yetenekler gerektiren (araba kullanmak gibi) işler yapmamalıdır. Yarılanma ömrü 1,2 saatten 2,3 saate kadar değişebilir [21, 22]. Midazolam benzodiazepinlere aşırı duyarlılığı olanlar veya akut dar açılı glokomda kullanılmamalıdır. IV uygulamadan sonra görülecek yan etkiler hıçkırık, bulantı, kusma, aşırı sedasyon, baş ağrısı, öksürük ve enjeksiyon yerinde ağrıdır [22].

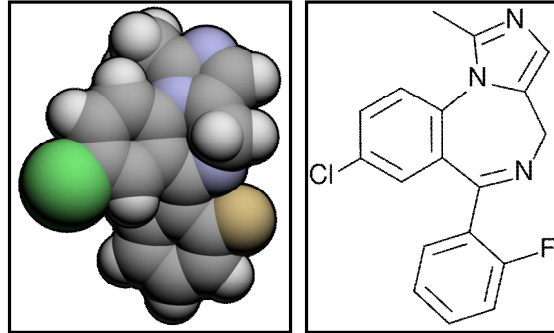
Midazolam plazma proteinlerine %94-96 oranında bağlanır. Karaciğerde mikrozomal oksidasyonla metabolize edilir. Çok az kısmı değişime uğramadan idrarla

atılır. Midazolamın temel metaboliti alfa hidroksi midazolam, diğer iki küçük metaboliti 4-hidroksi midazolam ve alfa-4-dehidroksi midazolamdır. Midazolam primer olarak karaciğerde metabolize edilir. Bu nedenle karaciğer sirozlu hastalarda sedasyonun süresi uzadığı için dikkatli kullanılmalıdır [19].

Midazolam suda çözünmesine karşın, pH'a bağımlı çözünürlüğe sahiptir. Parenteral solüsyonun pH'ı 3,5 olarak saptanmıştır. Asit solüsyonlarda (pH<4) suda çözünürlüğünü korurken, fizyolojik pH'da taşıdığı halka kapanarak yağda çözünabilir bir ilaç haline gelmektedir. Parenteral injeksiyonu lokal tahrişe neden olmaz [23].

Kullanımda olan midazolam preparatları (Dormicum) 1 mg veya 5 mg midazolam, %0,8 NaCl, %0,1 disodyum asetat ve %51 benzil alkol içerir [24].

Vücuda verilen midazolamın %40-50'si karaciğer tarafından metabolize edilir. Midazolam vücuttan hızla hidroksi metabolizması ve bunu takiben glukuronidasyon ile elimine olur. %60-80'i idrarda glukuronit olarak gözükür. Yapılan çalışmalar midazolamın böbrek fonksiyonları üzerine toksik etkisi olmadığını göstermektedir [25].



Şekil 2.4. Midazolamın molekül yapısı.

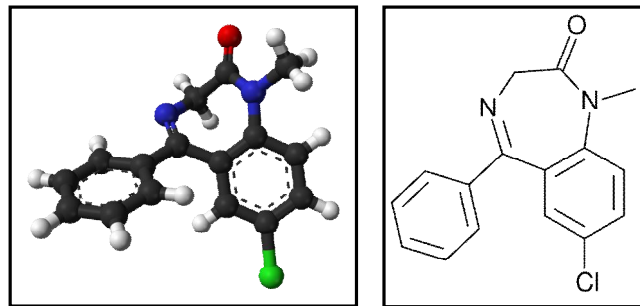
2.2.7.2. Diazepam (Diazem) (Lizan) (Nervium)

Diazepam 1,4 benzodiazepin türevidir. Kimyasal formülü 5-fenil-7-kloro-1-metil-1,3-dihidro-2-H-(1,4)- benzodiazepin-2-on[19]. Diazepamın molekül yapısı Şekil 2.5.'de verilmiştir.

1959'da sentez edildi. Etki başlangıcı hızlıdır ve etki süresi 2-4 saattir. Renksiz kristal bazdır, suda çözünmez. Lipid ve organik çözücülerle erir. Plazma proteinine %98 bağlanır. Karaciğerde metabolize olur. Yarılanma süresi yaklaşık otuz saattir. Aktif metabolitlerinin yarılanma süreleri ise, 36-90 saat arasındadır. Dolayısıyla,

sedasyon amacıyla tekrarlı uygulanımı ya da infüzyonu uygun değildir. Oral, rektal ve parenteral preparatları vardır. Midazolam gibi diazepam da diagnostik ve kısa süreli cerrahi işlemler için tek başına veya bir narkotikle beraber bilinçli sedasyon sağlamak için kullanılmaktadır. IV, IM veya IP yoldan uygulanabilir. IM yol oldukça ağrılıdır [7, 22]. Sağlıklı yetişkinde IV dozu 2–20 mg arasındadır ama 10 mg veya daha azı yeterlidir. İstenen etki elde edilinceye kadar her 2 dk. da bir 1–2 mg.lık dozlar uygulanabilir [22]. Sırası ile sersemlik, amnezi, nihayet bilinç kaybı yapar [7]. Bazen görme bozukluğu, baş ağrısı, bellek bozukluğu ve agresif davranış şekli oluşturabilir. Fizyolojik bağımlılık, yoksunluk sendromu yapar. Midazolamda olduğu gibi bulanık konuşma yeterli dozun göstergesidir. Yaşlılarda daha düşük dozlar uygulanmalıdır. IV enjeksiyondan sonra sedasyon 3–5 dk içinde başlar [22]. Diazepam dokulara oldukça irritandır bu nedenle geniş venlerden uygulanması daha uygun olur. Çökelme olacağı için başka ilaçlarla karıştırılmamalı ve dilüe edilmemelidir. Yan etkileri venöz trombozis, flebit, apne ve hipotansiyondur [22]. Diazepam birçok işlemde önce oral premedikasyonda kullanılabilir. Anksiyolitik olarak çok etkilidir. 50 yaşından fazla hastalar için premedikasyondan 5 mg ve daha az oral diazepam yeterlidir [7, 22].

Biyotransformasyonla diazepamın aktif üç metaboliti oluşur. Bunlardan en önemlisi N-demetildiazepamdır. Diazepama benzer bir farmakodinamik profile sahiptir, fakat daha uzun bir yarı ömrü vardır. Hidroksilasyonla yine aktif metaboliti olan oksazepam dönüşür. Fakat aktif bu metabolit, glukuronik asit ile konjüge edildiği ve idrarla atıldığı için nispeten kısa ömre sahiptir. Üçüncü aktif metaboliti, temazepam olup, diazepamın hidroksillenmiş ürünüdür.



Şekil 2.5. Diazepamın molekül yapısı.

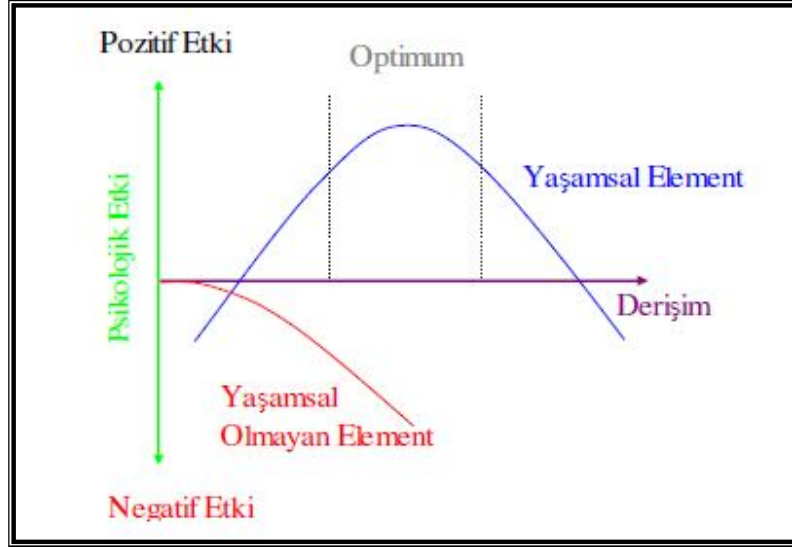
2.3. İz Elementler

Doğada 92 element ve bunların insan sağlığı üzerinde pek çok etkiye sahip olan yüzlerce izotopu bulunmaktadır. Vücudumuzda biyolojik fonksiyonlarda görev alan bu elementleri makro ve iz elementler şeklinde iki grup altında toplamak mümkündür. Eğer bir elementin vücut içindeki miktarı 100 mg/kg' dan fazla ise makro, az ise iz element olarak kabul edilmektedir. Kalsiyum (Ca), fosfor (P), potasyum (K), sodyum (Na), magnezyum (Mg), klor (Cl) gibi elementler vücudumuz için makro, demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu), iyot (I), mangan (Mn), selenyum (Se), krom (Cr), kobalt (Co), alüminyum (Al), vanadyum (V), molibden (Mo), kalay (Sn), arsenik (As), civa (Hg), nikel (Ni), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), antimon (Sb), talyum (Tl), sülfür (S), rubidyum (Rb), niyobyum (Nb), indiyum (In) ve baryum (Ba) gibi elementler ise iz elementlerdir. Bütün bunların ışığında iz elementler canlı dokularda çok az miktarlarda fakat mutlaka bulunması gereken elementler şeklinde tanımlanabilir [26].

Biyolojik etkinliklere katılma derecelerine göre, ağır metaller yaşamsal ve yaşamsal olmayan metaller olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların; organizma yapısında belirli bir derişimde bulunması gereklidir. Ayrıca bu metaller biyolojik tepkimelere katıldıklarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmalıdır. Örneğin bakır hayvanlarda ve insanlarda kırmızı kan hücrelerinin ve birçok yükseltgenme ve indirgenme tepkimesinin vazgeçilmez parçasıdır. Buna karşın, yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük derişimler de dahi psikolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilmektedirler (Şekil 2.6). Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan cıvadır. Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı dikkate alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin nikel bitkiler de toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz düzeyde bulunması gereken bir elementtir.

Vücudumuzun doğal dengesi yaşamamızın ve beslenmemizin tüm alanlarında önemlidir. Şayet bu denge özellikle iz elementlerden kaynaklanıyorsa daha da can alıcıdır. İnsan sağlığının dengeli bir şekilde devam ettirilmesinde hücre sıvısı, vücut dokuları ve organlar içinde bulunan otuza yakın iz elementin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İnsan vücuduna iz elementlerin alınımı başlıca besin ve hava yoluyla olmaktadır. Örneğin birçok toksik iz element (Cd, Hg ve Pb gibi) kirlenmiş şehir havasından, termik santrallerden, belirli endüstri kuruluşlarından kaynaklanan kirli

havanın solunması yoluyla vücuda alınırken, diğer birçok iz element ise beslenme yoluyla vücuda alınmaktadır [26].



Şekil 2.6. Ağır Metal Etkilerinin Derişimle Değişimi

Bir element yetersiz alındığında herhangi bir olumsuzluğa sebep oluyorsa o elementin vücut için gerekli olduğuna inanılır. Gerekli iz elementlerin günlük 15–80 µg arasında mutlaka alınmaları gerekmektedir. Gerekli iz elementlerin günlük alınmaları gereken miktarın altında, toksik iz elementlerin ise üzerinde alınmaları durumunda çeşitli olumsuzluklar görülmektedir. Örneğin krom (Cr) ve vanadyumun (V) yetersiz alınması durumunda şeker hastalığının ortaya çıktığı rapor edilmiştir [27, 28]. Bir takım genetik bozukluklarda iz element alımını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Buna örnek olarak Menke ve Wilson hastalıkları verilebilir. Menke hastalığı bağırsak mukozası ve böbreklerin epitelooid hücrelerinde bakır birikimine sebep olan X kromozomuna bağlı bir hastalıktır. Bu birikim bakırın diğer dokular tarafından emilimine engel olarak, bireyi ölüme dahi götürebilmektedir. Wilson hastalığı ise karaciğer ve beyinde yine yüksek miktarda bakır toplanmasıyla ilgili kalıtsal bir hastalıktır [29].

İz elementler vücutta denge halinde buldukları zaman birçok yaşamsal olayda görev almaktadırlar. Bunlara örnek olarak antioksidant olarak görev yapmaları, çeşitli enzimlerin kofaktörü olmaları, membranlar için dengeleyici görev yapmaları, hormonların fonksiyonlarına yardımcı olmaları (örneğin tiroit hormonundaki iyot gibi),

asimilasyon işlemine katılmaları, metalloenzim ve metalloproteinlerin yapısal bileşeni olmaları, insan sağlığı için toksik olan minerallere karşı koruyucu görev yapmaları, çeşitli maddelerin dolaşım sisteminde taşınmasına yardımcı olmaları, yaraların tamiri ve azaltılması işlemine katılmaları ile çalışma ve öğrenme kabiliyetlerini hızlandırmaları verilebilir. Ayrıca vücudumuzda her gün küçük elektriksel uyarıların üretilmesinde ve ilgili dokulara iletilmesinde bu iyonik ve iz elementler rol oynamaktadır. Bu uyarılar olmadan kalbimizdeki tek bir kas bile görevini yerine getiremediği gibi, beyin fonksiyonlarını gerçekleştirememekte, hücreler su basıncını dengelemek için osmozı başaramamakta ve besinleri alamamaktadır [28, 30].

Farklı canlılarda iz elementlerin konsantrasyon ölçümünde kan, plazma ve idrar gibi vücut sıvıları ile kıl ve saç gibi yapılar kullanılabilir [31, 32]. İz elementler ve bunların vücuttaki fonksiyonları konusunda bilgilerimiz hala sınırlıdır fakat bu konudaki çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Gelecekte dokularda depolanan iz elementlerin insan sağlığı üzerindeki rolleri hakkında daha fazla bilgi elde edileceği ve bunların hastalıkların teşhisinde biyolojik belirleyiciler gibi kullanılabileceği düşünülmektedir [33, 34].

Bir örneğin içerdiği iz bileşenin saptanmasında; ölçümlerdeki bağıl yanılmanın büyük olması yanında analitin örnek içinde homojen dağılmaması nedeniyle örnek alma ve hazırlama aşamaları da büyük önem taşımaktadır. İz analizlerde doğru, duyar ve tekrarlanabilir sonuçlara ulaşılabilmesi; yalnızca ölçüm yönteminin amaca uygun olmasıyla başarılmaz. Uygulanan örnek hazırlama yönteminin hem örneğin kirlenmesine ve analit kaybına izin vermemesi, hem de analitin %100 oranında ölçülebilir forma dönüştürülmesini sağlaması gerekmektedir.

2.3.1. Alüminyum

İnsanlar için Al temel besin maddelerinden değildir. Fosfat tuzları halinde kompleks olarak su ve gıdalardan alınır. Gıda ile dışarı atılır. Uzun süre fazla miktarda alüminyum hidroksitin alınması vücuttan fosfatların kaybına neden olur.

Alüminyum tuzları suların renginin ve bulanıklığının giderilmesinde sık sık kullanılmaktadır. Alüminyum fosfat şeklinde kullanılan bileşiklerin sindirim sistemi tarafından emildiği bilinmektedir [35].

Dokularda bulunan kalsiyum ve potasyum gibi mineraller ile alüminyum arasında bir korelasyonun bulunduğu ve beyin dokusunda alüminyumun artması ile bu minerallerin azaldığı görülmüştür [36]. Farklı nörolojik dokularda bulunan kalsiyumun dağılımı ile alüminyum/manganez arasında da bir korelasyonun bulunduğu bu korelasyonun bozulması ile sinir sisteminin etkilenerek Parkinson hastalığına yol açtığı belirlenmiştir [35].

2.3.2. Antimon

Kimyasal özellikleri, farmakolojik ve toksikolojik etkileri arsenik metaline benzer. Fizyolojik yaşam için gerekli bir element olmadığından normal koşullarda organizmada bulunmaz [37].

Antimon, çevrede doğal olarak bulunur. Birçok endüstride kullanılmaktadır. Özellikle antimon ile çalışan kişiler antimon tozu soluyarak etkilerinden sıkıntı çekmektedirler. İnsanlar antimona nefes alarak, su içerek ve antimon içeren gıdaları tüketerek maruz kalabilirler. Ayrıca toprakla, suyla ve antimonlu bileşiklerle deri teması ile de maruz kalınabilir. Eğer antimona maruz kalma devam ederse ciddi sağlık sorunları oluşabilir. Örneğin akciğer hastalıkları, kalp sorunları, ishal, ciddi kusma ve mide ülseri, karaciğer ve böbrek yetmezliği görülebilir.

2.3.3. Arsenik

Arsenik bileşiklerinin toksik etkisi, bileşiğin kimyasal ve fiziksel şekline, vücuda giriş yerine, alınan miktara ve alınma süresine, gıda içindeki reaksiyonu etkileyen elementlerin varlığına, yaş ve cinsiyetine bağlıdır. İnorganik arsenik organik arsenikten daha toksiktir. Eğer suda 0,05 mg/L arsenik bulunursa, arsenik elementlerinin kimyasal yapısı ve saptanması önerilmektedir [38, 39].

2.3.4. Bakır

İnsan metabolizmasında bakır esas elementlerden birisidir. Yetişkinlerin günde 2,0 mg bakıra ihtiyaç duyduğu tahmin edilmektedir. İnsan kanında ise litrede 0,8 mg Cu²⁺ iyonu vardır. Eritrosit oluşumunda doku demirimin serbest bırakılmasında, kemik, merkezi sinir sistemi ve bağ doku gelişmesinde önemli rol oynar. Fazla miktarda alınması halinde mukoza iltihaplanması, damar hastalıkları, karaciğer ve böbrek hastalıkları ve depresyonla seyreden merkezi sinir sistemi irritasyonu görülebilir.

Bakır, çinko, demir ve molibden gibi metallerin kombinasyonu şeklinde maruziyeti durumunda, bu metallerin karşılıklı etkileşimlerinin bir sonucu olarak böbrek dokusunda demir düzeyinin olumsuz yönde etkilendiği ve aynı zamanda karaciğer dokusundaki bakır ile de bir ilişkisinin olduğu görülmüştür [40, 41]. Yüksek oranlarda bakır birikmesi halinde, karaciğer dokusunda molibden oranının düştüğü açıklanmıştır [42]. Bakır ile molibdenin birlikte kullanılmasıyla yumurtalıklardan steroid salınımı ile lüteinize edici hormonların serbest kalma oranında azalma olacağı bildirilmiştir. Aynı çalışmada bakır-çinko metallerine birlikte maruz kalınması halinde molibden düzeyinin daha da düşmesine neden olabileceği bildirilmiştir [40].

Bakır elementi vücudumuzu güneşin zarar verici morötesi ışınlarından korur. Çünkü rengini koyulaştırarak deriyi mor ötesi ışınlardan koruyan melanin pigmentinin oluşmasını sağlayan enzimin bir parçasını da bakır elementi oluşturur [43].

Bakır çok yaygın kullanılan bir metal olmakla birlikte alınan bakır vücuttan atılmadığında Wilson hastalığına neden olmaktadır. Bakırın neden olduğu bu hastalık, birçok organda ve dokuda özellikle de karaciğerde, beyinde ve gözde toksik seviyelerde bakır depolanması ile karakterize edilir. Bakırın karaciğerde birikimi hızla artarak, toksik karaciğer hasarına yol açar. Bu hasar bakırın serbest radikal oluşumunu arttırıcı etkisiyle hücrel proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanmasıyla ve hepatik metalloenzimlerden diğer metalleri ayırmasıyla oluşur. Genelde beş yaşına gelen bir hastada, seruloplazmine bağlı olmayan bakır dolaşıma yayılarak hemolize uğrar ve beyin, kornea böbrekler, kemik eklemler, paratiroidler gibi bölgelerde patolojik değişimlere neden olur. Bu sırada bakırın idrarla atılımı belirgin şekilde artmıştır. Wilson hastalığı karaciğerdeki hafif veya şiddetli değişikliklerle kendini gösterir. Bu değişiklikler sırasıyla: hafif ya da orta şiddette izlenen yağlı değişim, akut hepatit, kronik hepatit ve siroz.

Serum bakır düzeyinin normalden yüksek olması hiperkupremi olarak tanımlanır. Serum bakır düzeyinin normalden düşük olması hipokupremi olarak tanımlanır.

Bakır, sitokrom a, katalaz, tirozinaz, monoaminooksidaz, askorbik asit oksidaz, ürikaz, süper oksit dismutaz, lizil oksidaz, dopamin hidroksilaz, seruloplazmin gibi çeşitli enzimlerin yapısına katılır veya bu enzimlerin aktiviteleri için gereklidir.

2.3.5. Baryum

Baryum insan beslenmesi için gerekli olan esas maddelerden değildir. Baryum sülfat gibi baryumun suda erimeyen şekilleri çok güçlükle absorbe olur ve çok az toksitesi vardır. Suda eriyebilen baryum tuzları kolay emilirler ve bu şekilde % 50 den fazla miktarı vücuda girer. Normal olarak gıdalarla çok az miktarda baryum absorbe olur. Emilen baryumun büyük miktarı kemiklerde toplanmakta ise de böbrek, karaciğer ve kalpte de saptanmıştır. Baryumun vücut içinde izlediği yol kalsiyumda olduğu gibidir. Ancak kalsiyumdan daha süratle atılır. Alınan baryumun yaklaşık 1/4 ü 24 saat içinde atılır. Eğer suda eriyebilen tuzları fazla miktarda alınırse akut toksik etki yapar. Az miktarda alınması, nefes alıp vermede zorluğa, kan basıncının artmasına, kalp ritmi değişikliklerine, mide tahrişine, kas güçsüzlüğüne, sinir reflekslerinde değişikliklere, beyinde ve karaciğerde şişkinliğe, böbrek ve kalp rahatsızlıklarına neden olabilmektedir.

2.3.6. Civa

Civa oda sıcaklığında sıvı olan bir metaldir. İnorganik ve organometalik formları bulunmaktadır. Bütün bileşikleri zehirli olup, canlılar için tehlikelidir. Civa bileşiklerinin pek çoğu doğal kaynaklıdır. Civa bileşiklerinin tamamı zehirli olmakla beraber, özellikle metal civa ve alkil bileşikleri daha çok zehirlidir. Metalik civa ve civa buharlarının solunumuyla meydana gelen zehirlenmeler daha seyrek olmakla beraber, çoğu kez ölümlü sonuçlanan ciddi olaylara yol açması bakımından önem taşır. Bu bileşikler vücutta daha uzun süre kalarak karaciğer ve böbrekte birikerek özellikle böbrekler düzeyinde tubuler nekrozislere neden olduğu bildirilmiştir [44, 45]. Civanın bu organlardan başka beyinde de biriktiği ve sinir sistemini özellikle motor fonksiyon sistemlerini etkilediği ve sinirsel sendromların meydana geldiği bilinmemektedir [46]. Dünya Sağlık Örgütü tarafından şehir alanlarında 0,1–5 ng/m³, endüstriyel alanlarda 0,5–20 ng/m³ ve kent alanı dışında 0,001–6 ng/m³ olması gerektiği belirtilmektedir. [47]. Civa plasentadan geçer, çok küçük miktarda civayla kronik olarak karşılaşan gebelerde fetüs olumsuz etkilenebilir.

2.3.7. Çinko

Çinko gerek insan ve gerekse hayvanlar için gerekli esansiyel elementlerdendir. Çinkonun vücutta çok çeşitli fonksiyonları vardır. Bazı enzim çeşitleri ve enzimatik

etkinliklerle, protein sentezi ve karbonhidrat metabolizması için canlı yapıda bulunması gerekli olan bir elementtir. Çevrede, havada su sistemlerinde ve bütün canlılarda çinko varlığına rastlanır [46]. Et ve süt ürünleri çinko yönünden zengindir. Baklagiller ve balık zengin çinko kaynağıdır.

Normal bir insan gıdalarla ortalama günde 12 mg çinko almaktadır. İçme suyuyla alınan miktar 400 mikro gramı geçmez. Hava ise insanlar için düşük gıda kaynağıdır. Biyokimyasal yönden çinkonun önemi bazı enzimlerin aktivasyonu için, vazgeçilmez bir madde oluşundan kaynaklanmaktadır. Çinko karbonik anhidraz, alkol ve laktat dehidrogenaz enzimlerinin önemli yapı taşlarından birini oluşturur [38, 48, 49, 50].

Vücut gelişimi için son derece önem taşıyan bir eser element olan çinko, özellikle cenin aşamasındaki gelişimde ve küçük çocukların beslenmesinde oynadığı rol ile göze çarpar. Çünkü bu element hücredeki genetik madde olan DNA'nın oluşumu için gereklidir. Bu nedenle de cenindeki çinko eksikliği büyüme gecikmesine, vücutta bozuk oluşumlara ve kromozomlarda anormalliklere yol açar. Doğumdan sonraki çinko eksikliği ise cüceliğe, cinsel gelişimde gecikmeye, saç dökülmesine ve deri problemlerine neden olur [43].

Gerek insan ve gerekse hayvanlarda çinkonun absorpsiyonu, protein, vitamin ve metallerin alınması gibi birçok faktörlerden etkilenmektedir. Alınan çinkonun fazlası vücuttan atılır, dokularda birikim olmaz.

Çinko bağışıklık sistemi için esansiyel iz elementtir. Fakat aynı zamanda diğer organ sistemleri için de çok önemlidir. Yaraların iyileşmesi, görme duyusunun güçlenmesi, kanın stabilizasyonu, vücuttaki alkali dengesinin muhafazası, soğuk algınlığı ve gripten korunmak için gerekli bir mineraldir. Diyabet hastalığı, böbrek hastaları çinko eksikliği tehlikesiyle karşı karşıyadırlar. Çinko eksikliği vücudu enfeksiyon hastalıklarına karşı savunmasız bırakır.

2.3.8. Demir

Demir insan organizmasında özellikle alyuvarların yapısında bulunan, hemoglobinin fonksiyonel bir parçası olması yönünden önemlidir. Demirin biyokimyasal reaksiyonlar yönünden özellikle solunum sistemi yönünden büyük görevleri vardır. Hayvansal organizma büyük kısmıyla alyuvarlarda yer alan demir içeriğini tekrar tekrar kullanma yeteneğindedir. Bu nedenle günlük demir gereksinimi

oldukça ufaktır. Bu çocuklar için 10–15 mg arasında değişir, büyüklerin demir gereksinimi de kadın, erkek, genç veya yaşlı oluşuna göre farklılık gösterir. Genç kadınlarda ve emziren annelerde 18 mg kadardır. Vücuttan dışkı, idrar ve terle atılan demir miktarı ise sadece 1 mg civarındadır. Fazlası karaciğer, kemik iliği ve dalak ta toplanır. Demirin büyük miktarının sindirilmesi sonucu haemochromatosis olarak bilinen (normal düzenleyici mekanizmasının etkisiz işlemi) demir birikiminden dolayı dokuya zararlı durum ortaya çıkar [39, 48, 49].

Demirin gereğinden yüksek olması da sağlığa zararlıdır. Anormal ölçüde yüksek düzeylerdeki demir, karaciğerde siroza, pankreasta fibrosise yol açabilmekte, şeker hastalığına ve kalp rahatsızlıklarına neden olabilmektedir [43].

Bir hemoglobin molekülünün oluşabilmesi için bakır içeren bir enzim gerekir. Bu nedenle vücuttaki hemoglobinin derişimi yalnızca demir düzeyine değil, aynı zamanda bakır derişimine de bağımlıdır. Bakır derişimi yüksek olduğunda demir fazla miktarda harcanır. Ayrıca molibdenin fazla miktarda vücuda alınması bakır emilimini azaltır ve hemoglobin oluşumunu yavaşlatır [43].

2.3.9. Fosfat

Biyolojik olarak fosfor metabolizması kalsiyum metabolizması ile birlikte gözden geçirilir. Fosfor canlı organizma için vazgeçilemez bir elementtir. Organizmada kalsiyumla beraber başlıca kemiklerde bulunur. Doğal sularda organik ve inorganik şekillerde bulunur. Bitki ve hayvan gelişiminde gerekli bir elementtir. Birçok mineralin yapısında bulunmasına rağmen, alkali topraklardaki çözünürlüğünün az olması nedeniyle sudaki miktarı sınırlandırılmıştır. Suya kaya ve topraklardan geçebildiği gibi, yapay gübrelere ve endüstriyel atıklardan da geçebilir. Fosfatın varlığı su depolarındaki alglerin çoğalmasını kolaylaştırır. Bu da içme sularında koku ve tat problemi yaratır. Yüzeysel sulardaki fazlalığı da azota bağılı olarak yine alglerin çoğalmasına ve o yüzeysel sudaki canlı hayatı etkilemesine neden olur.

2.3.10. Gümüş

Gümüş, gözler ve derinin gri-mavi renk aldığı argyria hastalığına neden olur. 0,4-1,0 mg/ L aralığındaki konsantrasyonlar böbrekler, karaciğer ve dalakta patolojik değişmelere neden olur. Bunun insanlarda saptanması çok güçtür. Ancak tırnakların renk değiştirmesi bir ölçü olabilir.

2.3.11. Kadmiyum

Kadmiyum ve çinko yerkürede bir arada ve benzer yapılarda bulunurlar. Bu iki metal insan vücudunda da benzer yapısal ve işlevsel özellikler göstermektedirler. Kadmiyum önemli enzim ve organ fonksiyonlarında çinkonun yerini alabilmektedir ve bu fonksiyonların gerekli şekilde gerçekleşmesini engellemektedir. Zn ve Cd' un vücut içindeki oranları, Cd zehirlenmesi Zn yetersizliğiyle arttığından, çok önemlidir. Tahılların rafinasyon işlemi bu oranı düşürmekte ve dolayısıyla Zn eksikliği ve Cd zehirlenmesi fazla rafine edilmiş tahıl ve unların tüketimiyle artış göstermektedir.

Kadmiyum diğer ağır metaller içinde suda çözünme özelliği en yüksek olan elementtir. Bu nedenle doğada yayılım hızı yüksektir ve insan yaşamı için gerekli elementlerden değildir. Suda çözünebilir özelliğinden dolayı Cd²⁺ iyonu halinde bitki ve deniz canlıları tarafından biyolojik sistemlere alınır ve birikme özelliğine sahiptir. İnsan vücudundaki Cd seviyesi ilerleyen yaşla beraber artış gösterir ve genellikle 50'li yaşlarda maksimum seviyesine ulaştıktan sonra azalmaya başlar. Yeni doğmuş bebeklerde hiç kadmiyum bulunmaz ve kadmiyum, kurşun ve cıvanın aksine plasenta ya da kan yoluyla anne karnındaki bebeğe geçmemektedir.

Kadmiyum vücutta %20 gibi bir oranla çok iyi absorbe edilemiyor olsa bile, bu diğer birçok metale kıyasla oldukça yüksek bir orandır. Kadmiyum ve bileşikleri genellikle böbrekler ve karaciğerde birikirler ve ilerleyen yaşlarla böbreklerdeki birikim yüksek tansiyona da sebep olabilmektedir. Kısa süreli olarak 0,05 mg/kg kadmiyum alınımı mide rahatsızlıklarına neden olurken, uzun süreli (>14 gün) 0,005 mg/ kg/ gün dozu böbrek ve kemiklerde önemli problemlere neden olmaktadır. Kronik kadmiyum zehirlenmesinde ortaya çıkan en önemli etki özellikle akciğer ve prostat kanseridir. Kronik zehirlenme böbrek hasarı ile ortaya çıkar ve idrarda düşük moleküllü protein görülür. Aşırı dozda kadmiyum alımı (60–480 µg/ g böbrek) böbrekler üzerinde tahrip edici etkinin ortaya çıkmasına yol açar ve etki kuşlar da dâhil olmak üzere tüm canlılarda görülmektedir. Kadmiyum zehirlenmesine bağlı olarak kemik erimesi ve buna bağlı hastalıklarda görülür. Diğer taraftan kansızlık, dişlerin dökülmesi ve koku duyumunun yitirilmesi de önemli etkilerdir [51, 52].

Kadmiyum'un insanda karsinojen etki yaptığı 1976 yılında gösterilmiş ve 1993 yılında, IARC (International Agency for Cancer Research) tarafından Tip 1 karsinojen

olarak sınıflandırılmıştır [53]. Meslek gereği kadmiyum'la karşılaşma prostat, deri, akciğer, özofagus, burun kanserlerine neden olmaktadır.

2.3.12. Kalay

Mide suyu üretiminde, gastrin hormonunu aktiflediği ve protein sentezinde etkili olduğu bilinmektedir. Akciğer ve kemikte birikir, kısmen de karaciğer ve beyne geçer. Normal beslenmeyle eksikliği görülmez, hatta kalaylı konserve kaplardan fazla miktarda kalay alındığı bilinmektedir.

Organik kalay maddelerinin etkileri çeşitlilik gösterebilir. Bulunduğu maddenin çeşidine ve etki altında kalan organizmaya bağlıdır. Trietilkalay insanlar için en tehlikeli organik kalay maddesidir. İnsanlar kalay bağlarını gıdalarla, solunumla ve deri yoluyla alabilirler.

Uzun dönem etkileri: Depresyon, Karaciğer hasarları, Bağışıklık sistemlerinin yetersizliği, Kromozomsal zedelenme, Kırmızı kan hücrelerinin eksikliğidir.

2.3.13. Kalsiyum

Kalsiyumun büyük bir biyolojik önemi vardır ve insan organizmasında en yoğun şekilde bulunan katyondur. Vücutta bulunan kalsiyumun çok büyük kısmı, kemik dokusunda bulunur. Kalsiyumun plazmadaki düzeyi %10 mg civarındadır. Kalsiyum özellikle kanın pıhtılaşmasında önemli bir rol oynar. Kalsiyum kasların fonksiyonu yönünden de önemlidir. Normal bir diyetle beslenen, bir kişi günde 800 mg kadar kalsiyum alır. Bunun 700 mg kadarı gaita ile tekrar vücut dışına atılır. Vücutta net olarak 100 mg kalsiyum sağlanmış olur. Vücutta, kalan ve kemiklerde depo edilen 100 mg kalsiyumun bir bölümü de yine gaita ile dışarı atılır. Böbrek yolu ile çok az kalsiyum dışarı atılır.

Kalsiyum, hormonal etkinliklerin başlatılmasında ikinci haberci olarak rol oynar. Ayrıca lipaz, ATPaz, süksinat dehidrojenaz gibi bazı enzimlerin aktivatörüdür.

2.3.14. Kobalt

Vücudumuzda yer alan eser elementlerden biridir. Bu element kandaki eritrositlerin oluşumunda gerekli B12 vitaminin bir parçasını oluşturur. Kırmızı vitamin olarak da bilinen B12 vitamini çok önemli biyolojik katalizördür, kan sistemini kuvvetlendirir. Bu nedenle vücuttaki kobalt eksikliği, eritrosit oluşumunu engellediğinden, "pernisyöz

anemi" adı verilen ağır bir kansızlık durumu oluşur ve hastalarda bitkin düşme ile genel zafiyet kendini gösterir.

Günlük Co ihtiyacı yaklaşık 5 µg kadardır. Normal beslenmede eksikliği görülmez. Ancak özellikle hayvansal gıdalardan alınması önemlidir, bu yüzden vejetaryenlerde kobalt eksikliği problemdir.

2.3.15. Krom

Biyolojik olarak krom sindirim ve solunum sistemlerinden absorbe olur. Emilme krom şekline ve emildiği yola bağlıdır.

Krom glikoz ve yağ metabolizması için gerekli bir madde olduğu gibi çeşitli sistemlerde amino asitlerin kullanılması için de gereklidir. Keza insanlarda hafif şeker hastalığı ve arteri sclerosis den korunmak için de gerekli bir elementtir. İnsanlara zararlı etki yapabilecek krom sulardaki hexavalan (+6) krom dur. Trivalan krom ise nispeten daha az toksik ve lokal veya yaygın sistemim bir etkisi olmayan ve gerekli olan krom şeklidir, Dokularda krom seviyesi yüksek olan şahıslarda arteri sclerosis nispeten daha azdır [38].

Vücuttaki basit şekerlerin parçalanmasında rol oynar. İnsülin oluşumuna, kandaki şeker ve kolesterol düzeyinin kontrolüne yardım eder. Vücuttaki enzim ve hormonlar için çok önemlidir. Yağ, protein ve enerji metabolizmalarını da yönetir.

İnsanlarda krom eksikliğinde gözlenen en yaygın belirtiler arasında bozulmuş glukoz toleransı [54,55], glukozüri ve serum insülin düzeyinde [56,57], kolesterolde [58,59] ve total trigliserid miktarında [60] artmalar yer alır. Krom eksikliği aynı zamanda kalp ve şeker hastalıklarına katkıda bulunur.

Krom ilavesinin; glukoz'u düşürdüğü, kolesterol'ü düşürdüğü, insülin faaliyetini önemli ölçüde ilerlettiği, trigliserid düzeylerini düşürdüğü, HDL kolesterol düzeyini arttırdığı gösterilmiştir [61].

2.3.16. Kurşun

Kurşunun vücutta absorpsiyonu çocuklarda daha yüksek olmakla beraber normalde % 5 gibi düşük bir oranda gerçekleşmektedir Bu oran dahi kalsiyum ve demir gibi gerekli birçok mineralin vücut tarafından emilimini azaltmaktadır. Kana karışan kurşun buradan kemiklere ve diğer dokulara gitmekte ya da dışkı ve böbrekler yoluyla vücuttan

atılmaktadır. Kemiklerde biriken kurşun zamana bağlı olarak (yarılanma ömrü yaklaşık 20 yıl) çözünerek böbreklerde tahribata neden olur.

Kurşun bir tür nörotoksindir ve anormal beyin ve sinir sistemi fonksiyonlarına sebep olmaktadır. Çocuklar üzerinde yapılan araştırmalarda kanda kurşun miktarı arttıkça IQ seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Diğer taraftan kurşun nörotoksik özelliğinden dolayı sinir sisteminde iletimin azalmasına da yol açmaktadır. Çoğu kemiklerde depolanmakla birlikte kurşun beyne, anne karnındaki cenine ve anne sütüne de geçebilmektedir. Bebekler ve çocuklarda düşük olan kurşun oranı, ilerleyen yaşla beraber, kurşundan etkilenmeye başlamasıyla artış göstermektedir. Kanda 40 mg/ L düzeyini aşınca tansiyon artırıcı etkisi de ortaya çıkmaktadır [62].

2.3.17. Magnezyum

İnsan biyolojisinde gerekli bir mineraldir. Kemik, kas ve sinirsel dokularda bulunur. Magnezyum daha çok bir hücre içi elemandır.

Magnezyum, enerji transferi, depolanışı ve kullanımı ile ilgili enzimatik reaksiyonların katalizinden sorumludur. Bu bağlamda magnezyum, hücre içinde ATP ve pirofosfataza bağlı bütün reaksiyonlarda; enolaz, fosforilaz, fosfoglukomutaz enzimlerinin aktivasyonunda; DNA, RNA ve protein sentezinde rol alır. Magnezyum, yağ, protein, nükleik asit ve koenzimlerin sentezlenmesi, kas kontraksiyonu, glukozun sentezi ve kullanılması, sülfat, asetat ve formatın aktivasyonu, transmetilasyon ve oksidatif fosforilasyonda önemlidir.

Magnezyum enerji üretiminde çok önemli bir rol oynar. Magnezyum eksikliği kalp rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, böbrek taşı, kanser, regl öncesi rahatsızlıklar, regl dönemi kramplar gibi rahatsızlıklar yol açar. Magnezyum'un normal sinir ve kas fonksiyonlarında önemli olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Sakinleşmeye yardımcı olduğu için "Antistres Minerali" olarak bilinir. Magnezyum azalması hücrel kalsiyum taşınması ve sinyalleşmesine neden olan aşırı heyecana yol açar [63,64].

Magnezyum, üredeki kalsiyum çözünürlüğünü arttırarak, taş oluşumunu azaltır. Magnezyum takviyesi, osteoporoz'un tedavisinde ve korunmasında kalsiyum kadar önemlidir.

Magnezyum azlığı, migren veya tansiyondan ileri gelen ağrı için ortamı hazırlar. Bu mineralin eksikliği, yorgunluk, kas spazmları, zihin karışıklığı, iştahsızlık, uykusuzluk gibi belirtilerle ortaya çıkar [65,66].

Böbreklerden magnezyum boşaltımı plazma/hücre dışı magnezyum konsantrasyonuna bağlıdır, arttığında boşaltım artar, azaldığında ise azalır. Oral olarak düşük miktarda alındığında günlük olarak böbreklerden 0,5 mmol' den az miktarda boşaltımı yapılır [67,68].

2.3.18. Mangan

Hücrede enerjinin üretildiği mitokondria bölgesinde yüksek derişimlerde bulunur. Mangandan mahrum bir organizmada mitokondria yapısında anormallikler kendini gösterir. Aynı zamanda normal tiroid çalışmasının sağlanmasında ve kırık ile kemik gelişiminde de önem taşır. Bu elementin bir başka işlevi de, beyin ve sinir sisteminin normal çalışmasının sağlanmasında kendini gösterir.

Kalp damar hastalıklarında ölüme mani olmak için içme sularında mangan bulunması önerilmektedir.

Yüksek düzeydeki mangan da vücut için tehlike oluşturur. Mangan elementiyile fazlaca teması olan kitlelerde, örneğin madencilerde, baş ağrıları, psikozlu davranışlar ve uyuşukluk vakaları yaygındır [43].

2.3.19. Molibden

Doğada yaygın bir biçimde dağılmış olarak bulunan molibden canlı yaşamı için gerekli olan esansiyel elementlerden biridir.

Molibdenin toksik etkisi özellikle bakır düzeyi ile ilgidir. Bakır düzeyi normalin [69, 70] altına indiğinde ve sülfat düzeyi arttığında 1-2 ppm molibden bile zehirlenmeye sebep olur. Genel bir kural olarak Bakır/molibden 2/1'in altına indiğinde molibden zehirlenmesi görülür. Molibden başlıca böbrek, karaciğer, vücut yağı ve kanda birikir [71]. Ayrıca molibden hücre içi enerji aktarım reaksiyonlarına katılır ve çeşitli bağırsak enzimlerinin işlevlerini sürdürebilmelerine yardımcı olur.

2.3.20. Nikel

Nikel her yerde bulunur, başlıca alaşımları arsenid ve sülfittir. Belirli su işlem metotlarıyla nikelin bir kısmı giderilmektedir. Bu nedenle işlenmiş sularda, işlenmemiş sulardan daha az bulunur.

Hayvan beslenmesinde nikel esansiyel bir madde olduğuna göre muhtemelen insanlar içinde gerekli olan bir maddedir. Mide ve bağırsaklardan emilmesi çok zordur. Vücut dokularında birikim yapmadığı, ratlara sularında 5 mg/ L olarak verildiğinde bile saptanamamıştır. İnsan ve hayvanlarda metabolizması tam olarak bilinmemektedir. Daha çok gaita ve birazda idrarla dışarı atılır.

Nikel toksik olmayan bir elementtir. Gıda ve sularda bulunan nikelin ciddi bir sağlık problemi yaratacağı düşünülemez. Ancak gıdalarıyla 1600 mg/ kg olarak deney hayvanlarına verildiğinde örneğin yavru adedinde azalma gibi bazı toksik etkisi bildirilmiştir. Rat ve farelere hayatları boyunca litrede 5 mg nikel olan su içirilmiş yine de sağlığa zararlı bir etkisi görülmemiştir.

Nikelin oluşturabileceği başlıca sağlık riski solunum sistemi kanserleridir. Burun ve akciğer kanserleri en sık rastlanılanlardır.

Nikel'in kanserojen etkisi nedeniyle güvenilirlik limitinin belirtilmesi mümkün değildir. İnsanda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda suda eriyebilen nikel bileşiklerinin karaciğer ve burun kanserlerinin oluşumunda önemli olduğu ileri sürülmüştür [72].

2.3.21. Potasyum

Potasyumun insan sağlığı için etkisi kanda az veya çok olması ile ilgilidir. Serum potasyum düzeyinin normalden yüksek olması hiperpotasemi (hiperkalemi) olarak tanımlanır. Serum potasyum düzeyinin normalden düşük olması hipopotasemi (hipokalemi) olarak tanımlanır.

Potasyum, intrasellülerde ribozom biyosentezi, fosforilasyonlar gibi metabolik işlevler için gereklidir. Ayrıca glikolitik yolda görevli pirüvat kinazı aktifleyen bir katyondur.

Potasyum, ekstrasellülerde kas aktivitesi ve özellikle kardiyak aktivite açısından önem taşır. Plazmada potasyum konsantrasyonunun çok azaldığı durumlarda çizgili kaslarda felçler ve kalp kasında bozukluklar görülebilir.

2.3.22. Selenyum

Su, hava ve yiyeceklerle vücuda geçen selenyum sindirim kanalından çok az emilmesine karşın, çeşitli bileşikleri hızla emilerek bütün vücuda dağılır. Solunum yolu ile toz ve duman halindeki selenyumda akciğerlerden tama yakın oranda emilir.

Dolaşıma geçen selenat bileşikleri proteinlere aşırı ilgi gösteren selenit bileşiklerine ve inorganik bileşiklerin bir kısmı da organik bileşiklere çevrilerek proteinlere bağlanmış halde en fazla karaciğer, dalak ve böbreklerde, daha düşük yoğunluklarda da beyin, kaslar ve eritrositlerde birikir [37, 73].

Selenyum insanlar ve hayvanlarda vücutta birikerek zehir etkisi gösterir. Uzun süreli selenyum alımlarından sonra eritrositlerde biriken selenyum yoğunluğu artar. Kıllar ve tımaclarda da yüksek yoğunluklarda selenyum toplanır. Selenyum plasenta yolu ile fetusa da geçebilir.

Eser miktarlarda iken temel bir besin olan selenyum, glutatyon peroksidaz enziminin yapısına girmekte, bu enzim de hücrelerde hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin birikmesini engelleyerek kanser oluşumuna karşı vücudu korumaktadır.

Selenyum zehirleyici etkilerini yüksek kobalt derişimleri artırabilmekte ve kalp ile karaciğerde büyüme yol açmaktadır [43].

2.3.23. Sodyum

Sodyumun toplam katyonlara oranı tarımda önemlidir. Ayrıca sodyum oranının yüksek olması, toprağın geçirgenliğinde rol oynar. Gerektiğinde sudaki sodyum, hidrojenle değişme prosesi ve destilasyon ile giderilebilir. Su ve sodyum dengesinin kontrolü sinirsel ve hormonal sistem dâhil çok karışık olaylar sonucu meydana gelir. Denge emilmeden çok sodyum atılması sağlanır. İnsan sağlığı açısından ve tat eşiği yönünden en normal ve önerilen sodyum miktarı 200 mg/ L dir. [74].

Sodyumun vücuttan atılımı, böbreklerden olur. Sodyum, böbreklerde glomerüler filtrasyona uğrar. Gastrointestinal yoldan günde 1-2 mg kadar atılır; ter yoluyla da atılıma uğrar.

Sodyum, ozmotik basıncın düzenlenmesinde etkilidir; suyun dağılımında rol oynar, kas-sinir uyarılmasında rol oynar, hücre zarı geçirgenliğini düzenler.

2.3.24. Stronsiyum

Kimyasal özellikleri kalsiyuma benzer. Kemik yapısında birikme eğilimi vardır. Doğal halde stronsiyum radyoaktif değildir. Bu nedenle suda stronsiyum tayini, radyoaktif kirlenmelerden gelebilecek stronsiyumu kapsayacaktır.

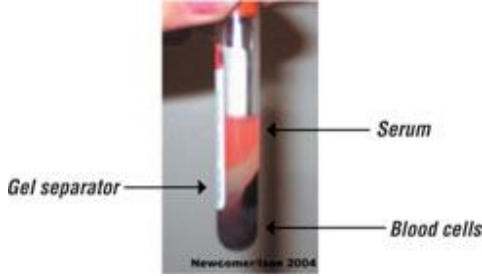
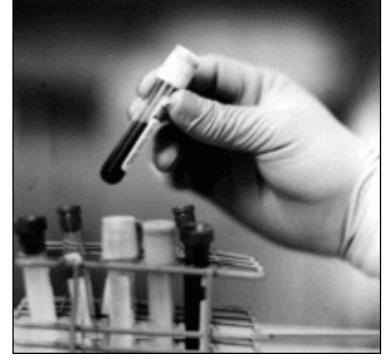
2.3.25. Sülfat- Sülfat

Değişik sanayilerden atılan atıklarda sülfat suya verilir. Minerallerin kavrulması işleminden sülfat sulara verilir. Fosil yakıtların yanmasıyla atmosferik kükürt dioksit meydana gelir. Kükürt trioksit(SO₃) in katalitik oksitlenmesiyle meydana gelir ve su buharıyla birleşerek H₂SO₄ oluşur. Bu da asit yağmuru veya karı şeklinde yere iner.

İnsanlarda sülfat bağırsaklarda az miktarda absorbe edilir. Hücre zarını çok yavaş geçer ve süratle böbreklerden atılır. 1-2 g sülfat, insanlarda müşil etkisi göstererek bağırsakları temizler. Bu miktar çocuklar için 21 mg/ kg/ gün olarak verilmiştir.

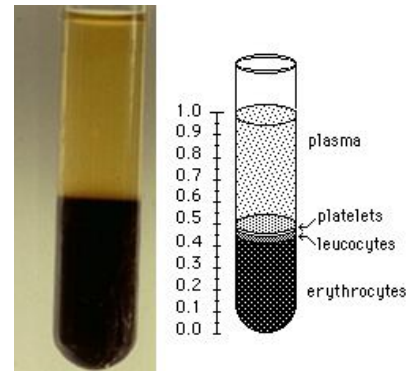
2.4. Kan Örneklerinin Alınışı

Tam kan (total kan): Serum veya plazması ayrılmamış kandır. Kan sayımı (hemogram) ve eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) tayini, kan hücrelerinin (eritrosit, lökosit, trombosit) eldesi için gereklidir. Antikoagulanlı tüpe alınır.



Serum: Pıhtılaşmış kandan şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır. Birçok analiz için tercih edilir. Antikoagulansız tüpe alınan kandan elde edilir.

Plazma: Pıhtılaşması antikoagulanlarla önlenmiş kandan şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır. Bazı özel analizler için gereklidir. Antikoagulanlı tüpe alınan kandan elde edilir.



2.5. Analizde Kullanılan Analitik Teknikler

2.5.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)

AAS, ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Bu ilkeye göre madde konsantrasyonu tayini yapmada kullanılan cihazlar atomik absorpsiyon spektrofotometreleridir. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

AAS' de ışın absorpsiyonunda Beer Yasası geçerlidir. Absorpslanan ışın miktarı veya absorbans, derişim ve atomlaştırıcıda aldığı yol ile orantılıdır. Bu nedenle, AAS' de uzun ışın yollu (10-11cm) alev başlıkları (yakıcılar= burner) kullanılır.

$$A = \epsilon \times b \times C \quad (2.1)$$

Beer Yasası'na göre bir çözeltinin absorbansı o çözeltinin derişimi ve çözelti içinde kat edilen ışın yolu ile doğru orantılıdır. Çözeltide aynı dalga boylu ışını absorplayan türler varsa;

$$A_{\text{Top}} = \epsilon_1 \times b \times C_1 + \epsilon_2 \times b \times C_2 + \dots (2.2)$$

Işın tam monokromatik olmalı, absorpsiyon çözeltisinin her tarafında homojen ve absorplayıcı türler birbirlerinin absorpsiyonunu etkilememelidir.

$C < 0,01M$ seyreltik çözeltilere uygulanabilir.

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrelerinin en önemli bileşenleri:

- 1)Işın Kaynağı
- 2)Atomlaştırıcı
- 3)Monokromatör
- 4)Dedektör

Işın Kaynağı; 1)Oyuk Katot Lambası, 2)Elektrotsuz Boşalım Lambası

Işın kaynağı, genellikle ölçülen elementin katodundan oluşan bir lambadır. Her element farklı lamba gerektirir.

Anot ile katot arasına 100- 400 voltluk bir gerilim uygulandığında lamba içindeki asal gaz atomları iyonlaşır. Oluşan iyonlar katoda çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar temel enerji düzeyine dönerken katot elementine özgü dalga boyundaki ışınmayı yayarlar.

Atomlaştırıcı; 1)Alevli Atomlaştırıcılar; 2)Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Monokromatör; Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde monokromatörün görevi, oyuk katot lambasının yaydığı, incelenen elementin rezonans hattını diğer hatlardan ayırmaktır.

Dedektör; Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için, fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Dedektör, alternatif akım sinyaline cevap verecek şekilde yapılmıştır.

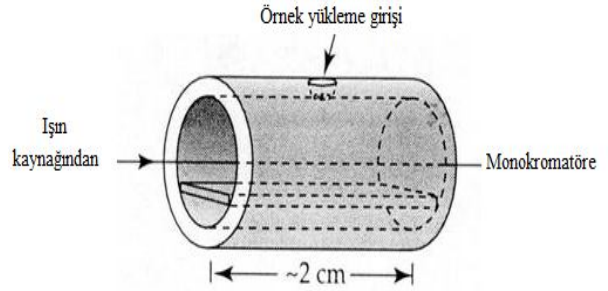
Kantitatif analiz, bilinen konsantrasyonlardaki çözelti serilerinin absorpsiyonlarının ölçümü ile gerçekleştirilebilir.

Bir kalibrasyon doğrusu ve denklemi oluşturularak, bilinmeyen (analit) absorpsiyonu ölçülerek konsantrasyonu tayin edilebilir.

Elektrotermal Atomlaştırıcı;

Elektrotermal atomlaştırıcı olarak yandaki (Şekil 2.7.) grafit fırın adı verilen 2-3 cm uzunluğunda 1 cm iç çapındaki tüp kullanılır. Bu tüpün her iki yanına bağlanmış elektrik akımı ile ısıtma yapılır. Burada numune çözeltisi (50 µL) 20-45 s 110 °C de

kurutma yapılarak suyu uzaklaştırılır. 350-1200 °C, 20-45 s de ısıtılarak organik maddeler uzaklaştırılır. 2000-3000 °C, 3-10 s de ısıtılarak atomlaştırılır. Elektrotermal atomlaştırıcılar düşük miktardaki numunelerde bile yüksek gözlenebilirlik sınırlarına sahiptir. Bu yüzden alevli atomlaştırıcılara göre tercih edilir.



Şekil 2.7. Grafit fırın

2.5.2. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrofotometresi (GC- MS)

Gaz kromatografisi, bir karışımda bulunan maddeleri ayırmaya yarar. İki faz mevcuttur:

- Sabit faz: Yarıçapı küçük uzun bir boru içine yerleştirilmiş geniş yüzeyli (gözenekli) bir maddeden meydana gelmiştir.
- Hareketli faz: Sabit faz içindeki geniş yüzeyli (gözenekli dolgu) madde arasından kolaylıkla geçer. Gaz kromatografisinde hareketli faz gazdır. Sabit fazın yapısına göre

gaz kromatografisi, sabit fazı katı olan “gaz-katı kromatografisi” ve sabit fazı sıvı olan “gaz-sıvı kromatografisi” olmak üzere ikiye ayrılır.

Gaz kromatografisine konan numune içindeki maddeler, azot, helyum gibi özel bir gazla sabit faz içinden sürüklenirler. Bu arada numune içindeki gazlar (numunenin mutlaka gaz olması gerekmez, sıvı olan numuneler sıcak bir hücrede gaz haline getirilirler) sabit fazla aralarındaki ilgiye göre az veya çok tutulurlar. En sonunda sürükleyici gaz tarafından detektöre, oradan da atmosfere atılırlar.

Kromatografide, fazlar, sıcaklık, kolon uzunluğu sabit tutularak çeşitli maddelerin piklerini içeren cetveller hazırlanır ve bilinmeyen numuneler içindeki maddeler kalitatif olarak analiz edilir.

Kütle spektrofotometresi özel bir düzenek kullanarak pozitif yüklü parçacıklar meydana getirilmesi, bu parçacıkların m/e (kütle/yük) oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan yararlanarak numunenin teşhis edilmesi üzerine kurulmuş olan metotlar topluluğuna denir.

Pozitif yüklü tanecikler bir molekül iyonu ve metal iyonu olabildiği gibi, molekülün parçalanması ile meydana gelen herhangi bir parçacık da olabilir. Böylece söz konusu numuneye göre ortamda çok sayıda pozitif yüklü tanecik bulunabilir. Bu taneciklerden her biri spektrumda m/e değerlerine göre birer pik verirler.

Kütle spektrometresi, yapısı belli maddeleri teşhis etmek ve tayin etmek amacıyla kullanılabilirdiği gibi, yapısı belli olmayan yeni maddelerin yapısını aydınlatmak amacıyla da kullanılabilir.

2.5.3. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM)

Taramalı Elektron Mikroskopunda (SEM) görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir.

Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir.

Gerek ayırım gücü (resolution), gerek odak derinliği (depth of focus) gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, taramalı elektron mikroskobunun kullanım alanını genişletmektedir.

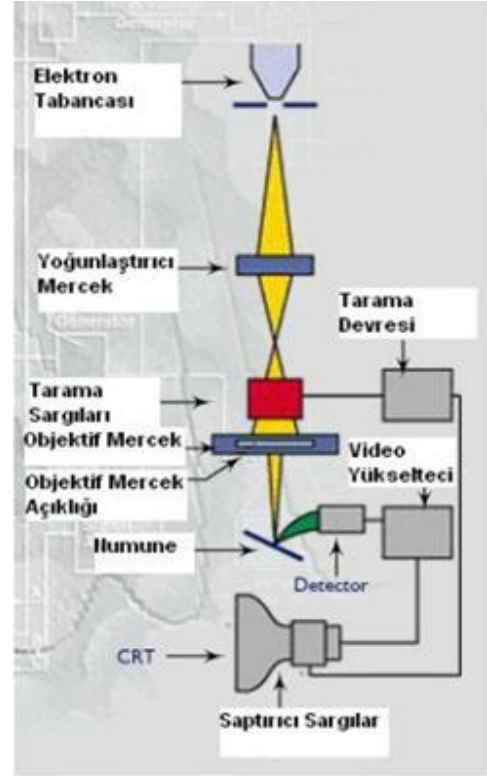
Taramalı Elektron Mikroskobu Optik Kolon, Numune Hücresi ve Görüntüleme Sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.8.).

Optik kolon kısmında; elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için yoğunlaştırıcı mercekler, demeti numune üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta apatürler ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır.

Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya numune üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve numune 10^{-4} Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır.

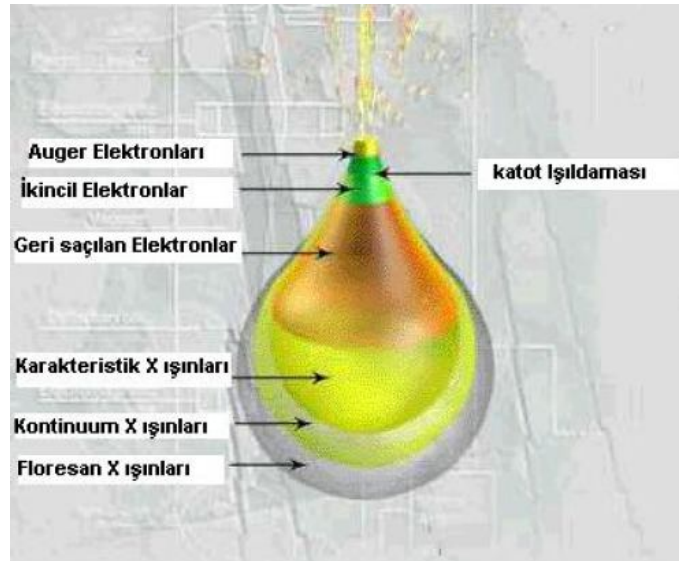
Görüntü sisteminde, elektron demeti ile numune girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışınları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve numune yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

Yüksek voltaj altında ivmelendirilen elektron demeti ile numune arasındaki etkileşim sonuçları Şekil 2.9'da şematik olarak gösterilmektedir. Bu girişim hacmi su damlası görünümü olarak tanımlanır. Yüksek enerjili demet elektronları numune atomlarının dış yörünge elektronları ile elastik olmayan girişimi sonucunda düşük enerjili Auger elektronları oluşur. Bu elektronlar numune yüzeyi hakkında bilgi taşır ve Auger Spektroskopisinin çalışma prensibini oluşturur. Yine yörünge elektronları ile



Şekil 2.8. Taramalı elektron mikroskobunun şematik görünümü

olan girişimler sonucunda yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan demet elektronları numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanırlar. Bu elektronlar ikincil elektron olarak tanımlanır. Bir başka şekilde açıklamak gerekirse; gelen yüksek enerjili elektronların atomun orbitallerinde bulunan elektronlarla inelastik çarpışması sonrası (çarpıp enerjisinin bir kısmını bu elektrona aktarıp yerinden koparıyor) bu elektronları yörüngesinden koparması sonucu oluşur. Kopan elektron numune içerisinde başka çarpışmalara da maruz kalabilir, eğer yüzeye yakınsa numuneden dışarı fırlayabilir. Enerjileri 50 ev'den düşük ve yüzeyin 0-10 nm'lik üst katmanından çıkarlar. Ayrıca yüksek enerjili geri saçılım elektronlarının etkileşimleri ile de oluşabilir. İkincil elektronlar numune odasında bulunan sintilatörde toplanarak ikincil elektron görüntüsü sinyaline çevrilir. İkincil elektronlar numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinlikten geldiği için numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılır.



Şekil 2.9. Elektron demeti ile numune arasındaki etkileşim

Mikroskopta ihtiyaca bağlı olarak SE Dedektör, QBSD Dedektör ve X Işınları Dedektörü bulunabilmektedir. Çalışmamızda ikincil elektronları kullandığımızdan SE dedektörü kullanılmıştır.

Numune Hazırlama;

- Numune boyutu en fazla 0,5 cm çapında ve 1,5 cm yüksekliğinde olmalıdır.
- Vakuma dayanıklı olmalıdır.

- İletken olmayan numuneler kaplanmalıdır
- Numune tutucu ile numune arasında iyi bir elektrik iletkenliği olmalıdır.

2.5.4. Ultraviyole- Görünür Işık Absorpsiyon Spektrofotometre (UV-VIS)

Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisi bir ışın demetinin bir örnekten geçtikten veya bir örnek yüzeyinden yansıtıldıktan sonraki azalmasının ölçülmesidir. Işığın şiddetinin azalması absorpsiyonun arttığını gösterir. Örneğin derişimi belirli bir dalga boyundaki absorpsiyonunu ölçerek bulunur. UV-Vis spektroskopisi genellikle çözüldeki moleküller veya inorganik iyon ve komplekslerin ölçümünde kullanılır. Birçok molekül UV veya Vis dalga boylarını absorplar ve farklı moleküller farklı dalga boylarını absorplarlar. Bir absorpsiyon spektrumu molekülün yapısını gösteren birçok absorpsiyon bantlarından oluşmaktadır. Çift ışık yollu spektrofotometrelerde, monokromatörden çıkan ışık, eşit şiddette iki demete bölünerek biri örneğe diğeri sadece çözücünün bulunduğu kaba gönderilir. İkiye ayrılan ışık, iki ayrı dedektörle algılanır ve dedektörlerde oluşan sinyallerin oranı ölçülür. Böylece örnekteki geçirgenlik değeri sürekli olarak çözücününki ile karşılaştırılmış olur. Burada iki dedektörün tam uyumlu olması, yani eşit şiddetteki ışık ile aynı sinyali oluşturması gerekir.

Tek ışık yollu ve çift ışık yollu olmak üzere iki çeşit spektrofotometre vardır. Tek ışık yollu spektrofotometrelerde, bileşenlerin tümü aynı ışık yoluna yerleştirilmiştir.

UV-görünür bölgede D₂, W, H₂, Xe, civa buhar lambası gibi sürekli ışık kaynakları kullanılır. Tungsten flaman lambası, görünür ve yakın IR bölgede (320-3000 nm) ışık yayar. Tungsten lambasının içinde bir miktar iyot veya brom buharı bulunursa lambanın ömrü artar ve bu lamba tungsten- halojen lambası olarak adlandırılır. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Bu lambalar 180-380 nm arasında ışık yayar. Daha pahalı ve daha uzun ömürlü olan D₂ lambasının yaydığı ışığın şiddeti H₂ lambasına göre çok daha fazladır. Xe ark lambası, UV-görünür bölgenin tümünde (150-700 nm) kullanılabilir şiddetli ve sürekli ışık kaynağıdır. Civa buhar lambası, her iki bölgede ışık yapabilen bir ışık kaynağıdır; sürekli spektruma ek olarak kesikli hatlar da içerir.

Yapısında monokromatör(dalga boyu seçici), ışık filtresi, ışık prizması ve dedektör bulundurmaktadır.

Spektrofotometre ile bir maddenin nicel analizinin yapılacağı dalga boyunu kararlaştırmak için, örneğin absorpsiyon spektrumunu bilmek gerekir. Bunun için, maddenin 1 molar çözeltisinin çeşitli dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülür. Çözücünün ve çözeltide bulunan başka türlerin ışığı absorplamadığı, Lambert- Beer eşitliğine uyulduğu ve nicel analiz en duyarlı bir biçimde yapılabileceği dalga boyu değeri saptandıktan sonra analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti ile bu dalga boyundaki absorbans (A) değerleri ölçülür. A değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir. Standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı A değerlerini grafiğe geçirmek suretiyle elde edilen doğruya kalibrasyon doğrusu denir. Nicel analiz, kalibrasyon doğrusunun doğrusal olduğu bölgede yapılır. Derişimi bilinmeyen örneğin A değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşılık gelen derişim saptanır. Molar absorpsiyon katsayısının değerinin bilindiği durumlarda, Lambert-Beer eşitliğinin analizde doğrudan kullanılması da mümkündür.

Spektrofotometrelerde örneğin konulduğu örnek kapları(küvet), yuvarlak bir tüp veya dört köşe olabilir. Küvetler, soft veya borosilikat camdan, kuartz veya plastikten yapılır. Soft camlar asidik çözeltiler, borosilikat camlar kuvvetli alkali çözeltiler için uygundur. Corex gibi bazı camlar 340 nm'de kullanılabilir de kısa UV dalgalar için uygun değildir. Kuartz küvetler hem UV hem görünür dalga boyları için uygundur. Plastik küvetler özel üretilmiş ise 200-700 nm arasında rahatlıkla kullanılabilir.

Cihazın optik ayarlarının (sıfır ve 100 ayarı) yapılması amacıyla kör çözelti kullanılır. Kör çözeltisi olarak distile su veya reaktifin kendisi, bazı ölçümlerde ise numune körü de kullanılabilir.

2.5.5. İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)

ICP-MS katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, hassas ve doğru biçimde ölçülmesine olanak sağlayan bir analiz tekniğidir. ICP-MS teknolojisi sayesinde katı veya sıvı örneklerde 76 element aynı anda ve çok düşük derişimler de (ng-pg/l) hassas ve hızlı bir şekilde analiz edilebilmektedir. ICP-MS ile tek bir örnek içindeki 35 kadar

elementin analizi üç dakika kadar az bir sürede ölçülebilir. ICP-MS ile örneklerin niteliksel, niceliksel ya da yarı-niceliksel analizleri, izotop dilüsyon analizi ve izotop oran analizleri yapılabilmektedir.

Oldukça farklı disiplinlerde kullanım alanı bulunan ICP-MS başlıca, jeoloji, hidrojeoloji, çevre, tıp, biyoloji, kimya, petrokimya, metalürji ve gıda mühendisliği alanlarında kullanılmaktadır.

ICP-MS analiz tekniğinin en önemli aşamalarından biri örnek hazırlama aşamasıdır. Katı örneklerin analiz aşaması öncesi çözelti haline getirilmesi gerekmektedir. Katı örneğin türüne (jeolojik, çevresel, biyolojik vb.) ve analiz edilmesi istenilen elementlere göre farklı örnek hazırlama metotları uygulanmaktadır.

Katı örneklerin çözelti haline getirilmesi mikrodalga fırında yüksek basınca dayanıklı (100 bar) kapalı kaplar içerisinde eritiş yapılmaktadır. Eritiş işlemine tabii tutulan örneklerin toz haline ($<100\mu\text{m}$) getirilmesinde havan kullanılmaktadır. Eritiş işleminde yüksek saflıktaki asitlerden (HNO_3 , HCl , HF , HClO_4 vb.) hazırlanmış asit kokteylleri kullanılmaktadır. Hazırlanan asit kokteylleri analite ve metoda göre değişmektedir. Özellikle jeolojik örneklerde bazı refrakter mineralleri (zirkon, krom vb) mikro dalga tekniği ile tam olarak çözmek zordur. Buna ek olarak, mikro dalga tekniğinde kullanılan örnek miktarındaki sınırlamadan dolayı örneklerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunan elementlerin (Au gibi) analiz zordur. Bu gibi örneklerin hazırlanmasında alkali füzyon ve fire assay teknikleri kullanılmaktadır. Eritiş işleminin başarısı kullanılan standart referans maddeler ile teyit edilmektedir.

Analize tabii tutulacak sıvı örnekteki bazı maddeler cihaza zarar vermemesi açısından belirli sınır değerlerin altında olması tercih edilir. Sıvı örneklerdeki toplam çözünmüş katı madde miktarı % 0,1 in, organik madde içeriği de %2' nin altında olmalıdır. Örnekler ayrıca askıda katı partiküller içermemelidir. Analiz edilecek bu tür örneklerin bir kısmı mutlaka 0,45 mikronluk filtreden geçirilmelidir.

Matris etkisi ortadan kaldırmak için örnekler ile standartların aynı asit çözeltisi (tipik olarak %1-2 HNO_3) içerisinde hazırlanması önemlidir. ICP-MS ölçüm aralığı ppb-ppt aralığında olduğundan, daha konsantre analitlerin bu ölçüm aralığına getirilmesi için seyreltme yapmak gerekmektedir.

2.5.6. İnfared Spektrometre (IR)

İnfared absorpsiyonun ölçümünde kullanılan üç tip ticari cihaz bulunmaktadır:

1. Özellikle kalitatif çalışmalarda kullanılan dispersif optik ağılı spektrofotometreler;
2. Hem kalitatif hem de kantitatif infrared ölçümlerinde kullanılan Fourier dönüşüm özellikli çok amaçlı cihazlar
3. Atmosferdeki birçok organik maddenin abasorpsiyon, emisyon ve yansıma spektroskopisi ile kantitatif tayininde kullanılmak üzere geliştirilmiş dispersif olmayan fotometreler.

1980'lere kadar infrared ölçümlerinde en yaygın kullanılan cihazlar dispersif spektrofotometrelerdi. Fakat günümüzde Fourier dönüşümlü spektrometreler hız, güvenilirlik ve kullanım kolaylıkları nedeniyle bu cihazların yerini almaktadır.

2.6. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

2.6.1. Oksidatif Hasar

Bazı intravenöz anestezi ajanları reaktif oksijen üretimini artırdığı ve bu ajanların toksik belirtilerini veren doku hasarını oluşturduğu pek çok raporda belirtilmiştir [75, 76, 77, 78]. Reaktif oksijen türleri, pek çok toksik madde ve patolojik şartlara yanıt olarak oluşan programlı hücre ölümünde genel bir aracı olarak görev yapabilirler [79]. İntravenöz anestezi ajanları, hücre içindeki sitokrom p450, peroksidazlar ve mitokondriyondaki enzimatik sistemleri değiştirerek veya indükleyerek serbest radikaller oluştururlar. Ayrıca, serbest radikalleri toplayarak hücreyi koruyan enzimatik veya enzimatik olmayan sistemleri tüketirler veya inhibe ederler. Hücrede oksidatif hasar oluşturarak lipit peroksidasyonu, deoksiribonükleik asit hasarı veya protein değişikliklerine yol açarlar. Bunlar da azalmış gap junction aracılıklı haberleşme, transkripsiyon faktörlerinin (AP-1, NF-kB) aktivasyonu, intrasellüler kalsiyum değişiklikleri ve intrasellüler pH değişiklikleri veya hücre ölümü gibi hücre fonksiyon değişikliklerine yol açabilir [80].

Malondialdehit, reaktif oksijen türlerinin hücre fonksiyonundan etkileşiminden kaynaklanan membran lipit peroksidasyonunun bir belirteçidir. Membran hasarına yol açarak, membran karakteristiklerinin değişimiyle hücre fonksiyonunun bozulmasına yol açabilir. Membran hasarı ve disfonksiyonu, intersellüler gap junction (neksus)

haberleşmesi kaybı gibi kalsiyum ve diğer iyon transport sistemlerinin de kaybına yol açar [80].

Redükte glutatyon (GSH) organik sistemlerde antioksidan fonksiyonları etkileyen en önemli biyolojik moleküllerden biridir. Glutatyonla birlikte glutatyon bağımlı sistem glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD); toksik serbest radikalleri etkin bir şekilde toplar [81].

2.6.2. Serbest Radikaller

Günümüzde pek çok öldürücü hastalığın, özellikle kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklarla bazı kanser türlerinin ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rolleri olduğu düşünülmektedir [82]. Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan dolayı oldukça reaktiftir [83].

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler, pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler [83].

Serbest radikallerdeki çiftleşmemiş elektronlar kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için, kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Bu olay, bir zincir reaksiyon olarak ya da bir başka molekül üzerinde bulunan çiftleşmemiş elektronla, serbest radikal üzerindeki çiftleşmemiş elektronla, serbest radikal üzerindeki çiftleşmemiş elektron birleşene kadar ya da zincir reaksiyonu, antioksidanlar tarafından kırılana kadar devam eder [82].

Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de iyonlaştırıcı radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile oluşabilmektedir. Bütün serbest radikaller oksijenden köken almaz fakat çoğunluğu öyledir. Oksijen içeren reaktif moleküller ki pek çoğu serbest radikal durumundadır, biyolojik sistemler için çok önemlidir. Bununla beraber, organizmadaki oksijenin küçük bir yüzdesi (%5 kadar) serbest radikallere çevrilir, bunların bir bölümü çok toksiktir. İlginç olarak, O₂'nin kendisi bir radikaldir fakat toksisitesi düşüktür. Çünkü O₂ iki çiftleşmemiş elektrona sahip olmasına rağmen, onlar aynı (zıt değil) dönme yönüne sahip olduklarından dolayı molekülün oksidasyon potansiyeli düşüktür fakat yok sayılmaz [82,84].

Reaktif oksijen ürünleri (ROS) oksijen merkezli serbest radikallerdir veya serbest

radikallerin indirgenme ürünleridir. Reaktif oksijen metabolitleri normal metabolizma süresince üretilmektedir.

2.6.2.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitlerine Etkileri

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür [83].

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) meydana gelir. Bu metot lipit peroksit seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Doğrudan membran yapısına ve dolaylı olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar [85].

2.6.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınıflandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar, “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler.

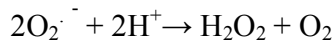
Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini engelleyenler ve mevcut

olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca, enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [86,87].

2.6.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

İlk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Bu enzim katalizlediği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



Bu reaksiyon kendiliğinden meydana gelebilir. Fakat SOD tarafından katalizlendiğinde hızı 4000 kat artar. Bunlar Cu ve Zn içeren izomerler bulundurulur [88,89].

Bu enzim grubunun ökaryot canlılarda, canlıda bulunduğu bölgeye göre değişiklik gösteren üç farklı izoformu tespit edilmiştir.

- 1) Cu-Zn SOD: Cu ve Zn içeren dimerik tip sitozolde bulunur, siyanitle inhibe olur. Hücrede en fazla miktarda bulunan izomerdir.
- 2) Mn SOD: Mn içeren tetramerik tip mitokondriyonda bulunur, siyanitle inhibe olmaz.
- 3) Ekstrasellüler SOD: Hücre zarı kollajene bağlanarak nötrofil ve diğer hücrelerden salınan süperoksitleri kontrol eder. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür.

Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni katabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder [90]. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen, intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi ise çok düşüktür [91].

SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. Bu nedenle, SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır [92].

2.6.3.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirger [93]. Tetramerik yapıdadır ve dört selenyum atomu içerir. Sitozol ve mitokondriyonda bulunabilir [94].

GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

Aynı zamanda bu enzim, lipit peroksitlerinin indirgenmesini de katalizlemektedir [95].

En önemli membrana bağlı antioksidan olan E vitamini sınırlı olduğu zaman membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar [93].

2.6.3.1.3. Katalaz

Dört tane hem grubu bulunan glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Bu enzimin molekül kütlesi 240.000 daltondur. Her biri ferriprotoporfirin grubu içeren dört alt üniteden oluşmuştur. Ferriprotoporfirin, prostetik grubunda +3 değerlikli Fe atomu bulunan protoporfirin IX halkasıdır.

Katalaz hemen hemen bütün memeli hücrelerinde bulunur ve özellikle hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu durumlarda etkilidir. Eritrositler yüksek oranda katalaz içermekte olup, katalaz aktivitesinin %98'inden fazlasını sağlar [96].

Çeşitli dokuların katalaz enzim aktiviteleri oldukça büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Katalaz enzim aktivitesinin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Bu enzimin aktivitesinin en düşük seviyede görüldüğü dokular ise destek dokularıdır. Bu enzim dokularda başlıca mitokondriyon ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunmaktadır. Buna ek olarak endoplazmik retikulumda ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir. Okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksiti doğrudan suya dönüştürür. Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H₂O₂ konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde ise hidrojen

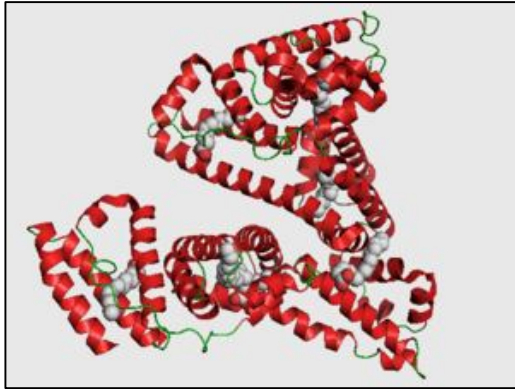
peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (glutasyon peroksidaz gibi) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar [97].

Aynı etkileri gösteren katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri, hücre içindeki yerleşim ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. Katalaz enzimi peroksizomlarda daha etkin iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondriyonda daha etkindir [98].

Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil, hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllu lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez [83].

2.6.4. Rutin Biyokimyasal Analizler

2.6.4.1. Albümin



Albümin diye de bilinen serum albümini, insan ve diğer memeli hayvanların kan plazmasında bulunan en yaygın proteindir. Kanda bulunan proteinlerin %60'ını oluşturur. Ayrıca, doku sıvılarında, özellikle kas ve deride, az miktarda gözyaşı, ter, mide suları ve safrada da bulunur. Vücuttaki toplam albüminin %30-40'ı kadardır. Yağ

asitleri ve çeşitli başka maddeleri kanda taşımalarının yanı sıra en önemli işlevi, kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesini sağlamaktır.

Albümin, yukarıda belirtilen bileşikler dışında çeşitli ağır metal iyonlarına da bağlanarak onların kandaki konsantrasyonunu kontrol eder. Albümin proteininde iki metal iyonu bağlanma yeri vardır ve bunlara çinko, bakır, kadmiyum, civa, altın, gümüş ve nikel dâhil olmak üzere çeşitli iyonlar bağlanabilir. Kalsiyum ve magnezyum da albümine bağlandığından albümin bu iki iyonun kandaki konsantrasyonlarına etki edebilir. Albüminin bir diğer özelliği de kan pH'sını kısmen tamponlayabilmesidir.

2.6.4.2. Glukoz

Glukoz insan kanında bulunan en önemli monosakkarittir. Glukoz insan ve hayvan dokularının enerjisini sağlar. Bu canlıların kalori ihtiyaçlarının yarısından fazlası glukoz tarafından sağlanmaktadır. Glukoz altı karbona sahip bir aldoheksozdur.

Glukoz meyve sularında, nişastada, şeker kamışında, maltoz ve laktozda bulunur. Hidroliz ile açığa çıkar. Organizmanın kullandığı ve kanda taşınan en önemli şekerdir. Diabetes mellituslu hastalarda idrarda da bulunur. İndirgeyici bir şekerdir. Maya tarafından fermente olur. Nitrik asitte çözünerek sakkarik asid oluşturur.

Glukoz barsaklardan emilerek kana geçtikten sonra vücudun enerji ihtiyacı doğrultusunda glikolitik yola girerek piruvata kadar yıkılır. Glukozun piruvata yıkımı aerobik glukoliz ile olmaktadır ki bu yolu mitokondriye sahip hücreler kullanmaktadırlar. Ertrositler, kornea, lens ve retina hücreleri çok az mitokondri içerirler bu nedenle glikolitik yol bu dokuların pirimer enerji gereksinimlerini karşıladıkları yoldur. Bu dokularda aneorobik glukoliz olur ki son ürün laktik asiddir.

Glukozun kandan hücelere kullanılmak üzere girişinden sorumlu yegâne hormon insülidir. İnsülin anabolizan bir hormondur. İnsüline zıt olarak çalışan bir diğer hormon ise glukagon hormonudur. Dolayısı ile kan glukoz konsantrasyonunu bu iki hormon öncelikli olarak etkilemektedirler. Kan glukozu azaldığında ve hücrelerin enerji ihtiyaçları arttığında glukagon hormonunun etkisi ile glikojen depoları boşalmaya ve kan şekeri artmaya başlar. Kan şekeri arttığında ise hücelere glikozun girişi insülin hormonu aracılığı ile olmaktadır. Kan glukoz seviyesi karaciğer tarafından düzenlenir.

2.6.4.3. Kreatinin

Kreatinin kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatin fosfat'ın yıkım ürünüdür. Ayrıca etin sindirimi sırasında da açığa çıkan bir moleküldür. Böbrekte glomerüllerinden süzülür, proksimal tübülden sekrete edilir ve bir miktarda geri emilime uğrar. Serum kreatinin seviyesi böbrek yetmezliklerinin tanısında kullanılan bir testtir. Kreatinin böbrek hastalıklarında üreye göre daha spesifik ve duyarlı bir testtir.

Kan kreatinin düzeyinin yükseldiği hastalıklar veya durumlar;

-Böbrek hastalıkları

-Kas hastalıkları

- Şok
- Dehidratasyon
- Hipertiroidizm
- Akromegali ve gigantizm
- Et türü gıdaların alımı

Kan kreatinin düzeyinin azaldığı hastalıklar veya durumlar;

- Kas kitlesinin azalması,
- Şiddetli karaciğer hastalığı,
- Yetersiz protein alımı,
- Gebelik.

Böbrek fonksiyonunun %50'si kaybolana kadar kan kreatinin ve üre düzeyinde anormallikler gözlenmeye bilir. Bu nedenle kan kreatinin seviyesi böbrek yetmezliklerinin erken tanısında duyarlı bir test değildir. Böbrek yetersizliğinin tanısında kan kreatinin seviyesinin yerine kreatinin klerens testinin kullanılması daha faydalıdır.

2.6.4.4. Ürik Asit

Ürik asit, vücudun genetik yapı taşları olan DNA ve RNA'nın yapısında bulunan purin adındaki maddelerin metabolizmasının son ürünüdür. Diyetle fazla protein alımı, vücutta üretim artışı (malin hastalıklar, doku harabiyeti, açlık) ya da böbrek fonksiyon bozukluğu gibi bir nedenle vücuttan uzaklaştırılamaması durumlarında kanda ürik asit düzeyi yükselir. Yüksek düzeydeki ürik asidin kristaller halinde çeşitli dokularda biriktiği düşünülmektedir. Bu dokular özellikle eklem sıvıları ve böbreklerdir. Eklem sıvılarında ürik asit kristallerinin birikimiyle oluşan ağrılı hastalığa GUT hastalığı denilir. Böbreklerde oluşan birikim ise böbrek yetmezliği ve idrar yollarında taş hastalığına yol açar.

2.6.4.5. Triglisericid

Triglisericid (triasilgliserol veya triasilgliserit olarak da bilinir) gliserol (gliserin) ve üç yağ asidinden oluşan bir esterdir. Triglisericidler vücudumuzda besin ve enerjinin depo şeklidir. Bu maddeler vücuda alınan ancak yakılamayan besinlerin fazlalarından, organların etrafında ve deri altında biriktirilerek oluşturulurlar. Bu maddelerin oluşma

yeri karaciğer gibi metabolizmal organlardır. Kısaca trigliseridler bağırsaktan emilen sindirilmiş besin maddelerinin esterleşmesiyle (yağlaşmasıyla) oluşur.

Trigliseridlerin görevi;

-Canlılarda deri altında birikerek vücut ısısının korunmasını sağlarlar.

-Canlılarda organların etrafında birikirler ve bu organların darbelerden daha az etkilenmelerini sağlarlar.

-Kanın yoğunluğunu ayarlar ve bu sayede tansiyon hastalıklarında önemli rol oynarlar.

-Trigliseritlerin en önemli görevlerinden birisi de hücre zarının yapısına katılmasıdır. Hücre zarının yapısına katılan yağlar bu yapının esnekliğini artırırken yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E, K vitaminleri) hücre içerisine alınmasını kolaylaştırmaktadır.

2.6.4.6. Kolesterol

Normalde her insanın kanında bulunan ve hücre zarları ile bazı hormonların yapımında kullanılan bir maddedir. Büyüme ve gelişmeyi sağlar. Kolesterol büyük oranda vücutta üretilir, az bir kısmı ise dışarıdan besinler yolu ile alınır. Kolesterol tüm hayvansal besin ve yağlarda (et, süt, tereyağı vb.) bulunurken, bitkisel besin ve bitkisel yağlarda (meyve, sebze, tahıl vb.) bulunmaz. İki çeşit kolesterol vardır; LDL (kötü kolesterol), HDL (iyi kolesterol).

LDL kolesterol, kanda kolesterolü taşıyan esas maddedir. LDL kolesterol oranının yüksek olması tehlikelidir, kalp-damar hastalıklarına yakalanmayı artırır ve bu hastalıkların ilerlemesini hızlandırır. LDL kolesterol damarların iç yüzüne yapışarak plak denilen yapılar oluşturur ve bunlar da ilerleyerek damarlarda darlık ve tıkanıklıklara neden olur. Bu olaylar ise, kalpte miyokart infarktüsüne (kalp krizi), beyinde ise felce yol açar. Son yapılan çalışmalar açıkça göstermiştir ki LDL kolesterol yüksekliği kalp damar hastalığının en büyük nedenlerinden biridir. Bundan dolayı günümüzde kolesterol yüksekliğinin tedavisinde esas hedef, LDL kolesterolün düşürülmesidir.

HDL kolesterol LDL kolesterolü taşıyarak damar duvarından uzaklaştırır. HDL kolesterolün yüksek olmasının kalp-damar hastalıklarından koruyucu rolü vardır. Sigara, HDL kolesterol oranını azaltırken, egzersiz ve spor artırmaktadır.

2.6.4.7. Total Protein

Proteinler, aminoasitlerin bir araya gelerek oluşturdukları organik maddelerdir. Sağlıklı erişkin bir kişide serum total protein düzeyi 6,3-8,3 g/dL arasındadır. Bu referans aralığı dışındaki düzeyler (hiperproteinemi ve hipoproteinemi), plazma hacmindeki değişiklikler ile bir veya daha fazla spesifik protein düzeyinde izlenen değişikliklerle ilgili olabilir.

2.6.4.8. BUN (Kan Üre Azotu)

Karaciğerde oluşturulan bir atık ürünüdür, böbrekle atılmaktadır. Yüksek değerler böbreklerin gerektiği gibi çalışmadığı anlamına gelebilir. Ayrıca yüksek proteinli diyetle ve/veya aşırı egzersizle de artmaktadır. Gebelikte ise kan üre azot düzeyi düşebilir. Fazla protein alımı, aminoasit infüzyonu, gastrointestinal sistem kanamaları (örneğin mide kanaması) ve kortikosteroid ve tetrasiklin türü ilaçların kullanımı da kan üre azot düzeyini artıran nedenlerdir. Yine protein eksikliği (malnütrisyon, çölyak hastalığı, nefrotik sendrom gibi), herhangi bir nedenle oluşmuş akut ve kronik ağır karaciğer hastalığı gibi durumlarda kan bun düzeyleri düşük çıkabilmektedir.

2.6.4.9. AST (Aspartat transaminaz), ALT (Alanin transaminaz)

Bu enzimler karaciğer ve kas enzimleridir. Bunlar hücredeki tüm kimyasal aktivitelere yardımcı olur. AST hücre sitoplazması ile mitokondriasında bulunur. ALT ise sitoplazmada bulunur. Hücrelerin zedelenmesi bu enzimlerin kana salınmasına neden olur. Dokularda enzim düzeylerinin artması sonucu karaciğer hastalıkları (hepatit), kas zedelenmesi ve yakın zamanda geçirilmiş kalp atakları söz konusu olabilir.

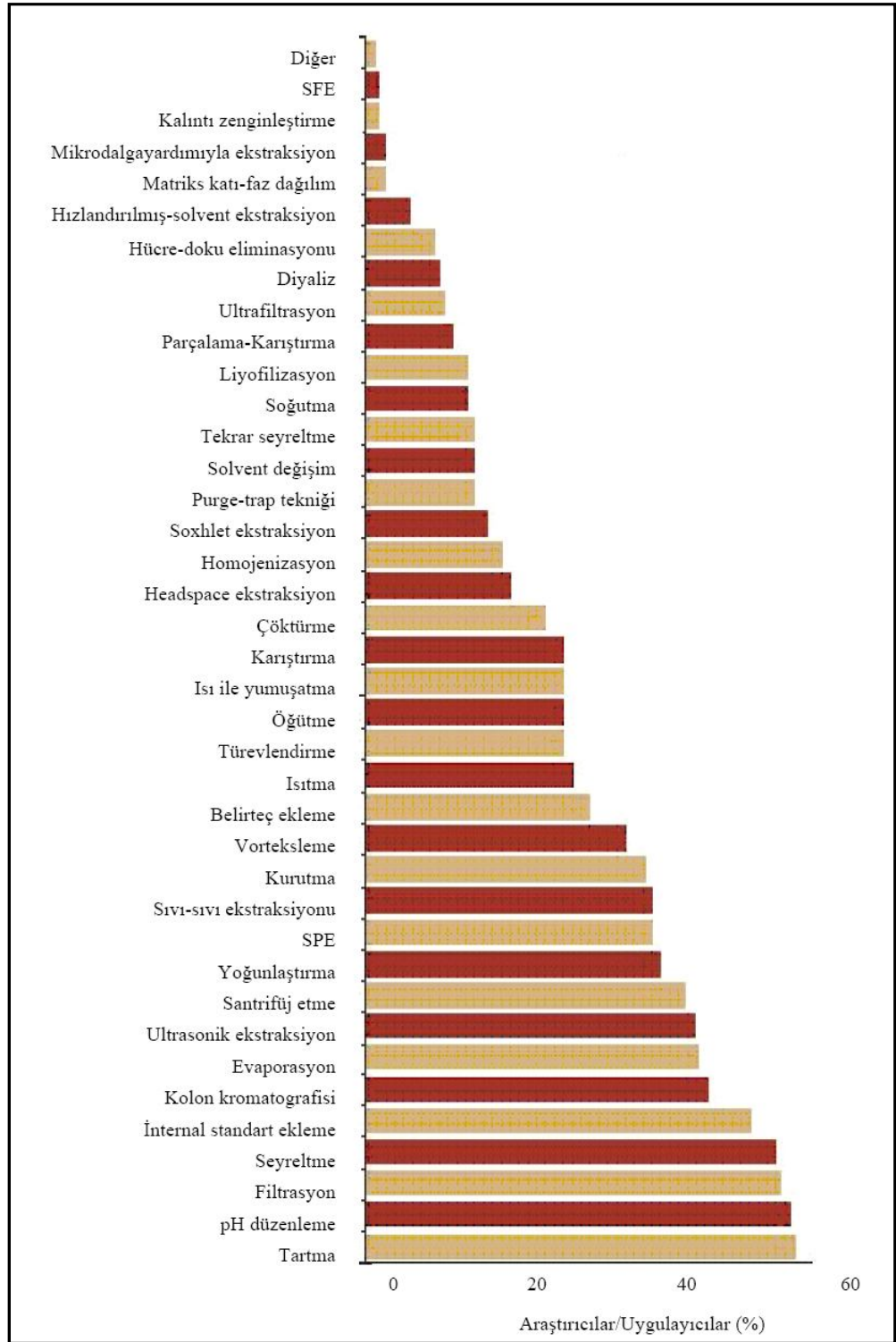
2.7. Analizde Kullanılan Ayırma Teknikleri

Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar gibi biyolojik; su, toprak, hava gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğer numuneler, genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karışık bir matris içerirler. Bu nedenle örnek hazırlama; özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC), gaz kromatografi (GC), gaz kromatografi-kütle spektrofotometresi (GC-MS), radioimmün assay (RIA), atomik absorpsiyon (AA) gibi cihazlar yardımıyla yapılan analizler öncesinde uygulanması gereken çok önemli bir basamaktır [99, 100].

Örnek hazırlama başlıca iki amaç için yapılmaktadır. Bunlar sırasıyla, örneklerin istenmeyen bileşenlerden temizlenmesi (clean-up) ve yoğunlaştırılmasıdır. Temizleme işlemi ile matriksten analizin yanlış sonuçlanmasına neden olabilecek, aranan maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin (impurity) uzaklaştırılması sağlanır [99, 101].

Analiz öncesi yapılması gereken örnek hazırlama, çoğu zaman zor, pahalı ve uzun süren bir işlemdir. Yıllardan beri en sık kullanılan örnek hazırlama yöntemi olan sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi, fazla miktarda çözücü harcanması, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlara da neden olabilmektedir. Bu nedenle kimyasal analiz yapan kişiler her zaman daha pratik ve basit yöntem arayışı içindedirler [99, 100, 102]. Bu konuda, özellikle kromatografik sistemlerle çalışan 152 araştırmacı ve uygulayıcı ile yapılan bir anket çalışmasında, örnek hazırlama yönteminin seçiminde numunenin özelliği başlıca etken olmakla birlikte, kolay uygulanabilir ve ucuz olmasının da önemli rol oynadığı belirlenmiştir [103]. Yapılan araştırmada ankete katılanlar tarafından kullanılan 39 farklı örnek hazırlama yöntemi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2.10.). Ancak kromatografik analizler öncesinde genellikle tek bir örnek hazırlama tekniği yeterli olmamakta, bu yöntemlerden birden fazlası kullanılması gerekmektedir. Klasik olarak analizden önce, sıvı-sıvı ekstraksiyonu, bunu takiben evaporasyon ve uygun çözücünün eklenerek tekrar seyreltilmesi işlemleri bir arada uygulanmaktadır [103].

Örnek hazırlama işleminin basitleştirilmesi, zaman kaybının önlenmesi ve analiz maliyetinin azaltılması amacıyla, 1970'li yılların ortalarında klasik metotlara alternatif olarak yeni bir teknik olan katı faz ekstraksiyon metodu (solid phase extraction, SPE) kullanılmaya başlanmıştır [100, 104, 105]. Günümüzde en etkili örnek hazırlama yöntemlerinden olan SPE, özellikle ilaç ve diğer farmasotik maddelerin analizinde en fazla kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir [101, 106, 107].

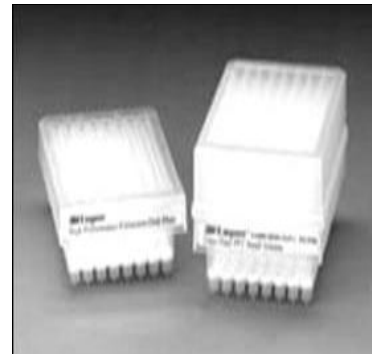
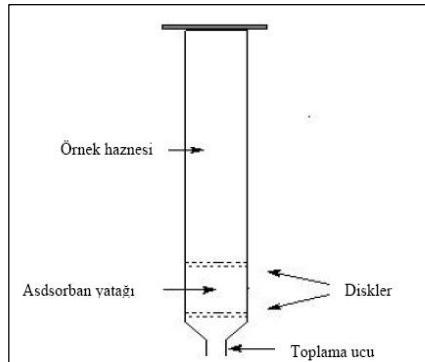


Şekil 2.10. Sıklıkla kullanılan örnek hazırlama yöntemleri [103]

(SPE: Katı faz ekstraksiyonu, SFE: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu)

2.7.1. Sıvı- Katı Ekstraksiyon (SPE)

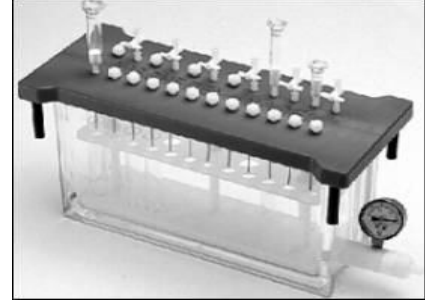
1978 yılına kadar çözücü değiştirme, örnek deriştirme ve örnekten arzu edilmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması için sıvı-sıvı ekstraksiyonuna ihtiyaç duyulmaktaydı. Örnek, karışmayan çözücülerle bir ayırma hunisinde elle sallanmakta ve ayrılmaktaydı. Bu işlem kişilerin becerilerine bağılıydı. Ayrıca tehlikeli çözücüler de sık sık kullanılmaktaydı. Bütün bunlara karşın çokta seçici değildi. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunun diğer dezavantajları, sallama ile oluşan ve ayrılması zor emülsiyonlar, tek dozluk atıklar ve çeşitli cam madde ihtiyacıdır. Kullanılan iki sıvının birbiri içinde çözünmemesi gerekir. Bu ise kullanılabilir çözücü sayısını sınırlar. Örneğin, metanol, ekstraksiyon için ideal bir çözücü olabilir. Fakat su ihtiva eden özel bir örnekte iki ayrı sıvı faz teşkil etmek yerine karışabilirler. Sıvı-katı ekstraksiyonu olarak bilinen SPE'nin dezavantajları daha azdır. Organik fonksiyonel grupların bağılandığı genellikle poröz silikadan ibaret katı yüzey, taşıyıcı faz olarak kullanılır. Bazı bileşenler bu katı yüzey üzerinde alıkonulabilirler [108]. Bu olay sıvı-sıvı ekstraksiyonundakine eşittir. Ama daha seçici ve inceliklidir. Bir çözücüde çözünürlük ve çözünmezlik sıvı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılan özelliklerdir. Katı faza kimyasal bağlanma sıvı-sıvı ekstraksiyonundaki olayla karıştırılmamalıdır. SPE çözünmezlik ihtiyacını elimine eder. İlâveten, destek katısı molekülün ölçülerini zorlayarak onu ekstrakte edebilir. Eğer destek katısı poröz ise ve molekül, gözeneklere girmek için büyükse zorlukla alıkonulabilir. Böyle durumlarda büyüklükler karşılaştırılmalıdır. Şekil 2.11'de klasik bir SPE kolonunun yapısı, çeşitli ticari SPE kolon, disk ve plakaları ile vakum pompa ve manifoldlu süzme düzeneği görülmektedir.



Şekil 2.11. SPE kolonunun yapısı[109] Şekil 2.12. SPE mikropalakalar[110]

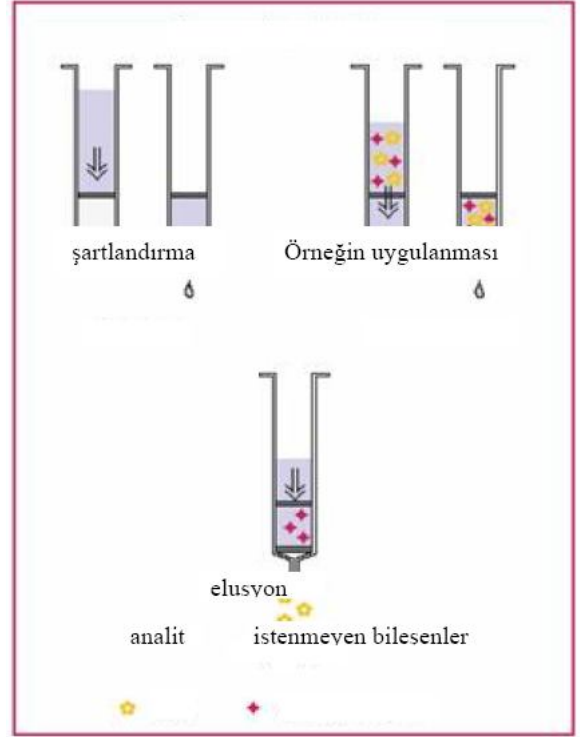
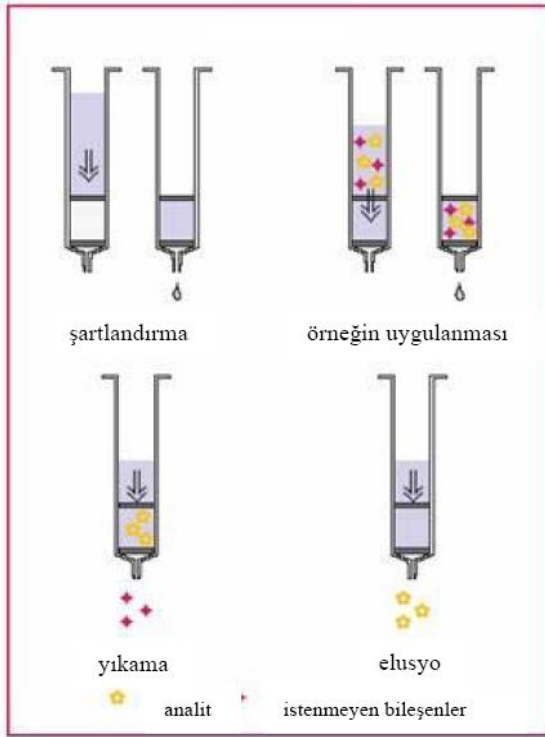


Şekil 2.13. Çeşitli ticari SPE kolon ve diskleri [111]



Şekil 2.14. Vakum manifoldu

SPE metodunda kolondan geçirilme sırasında örnek molekülleri ile tutucu madde arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimden faydalanarak maddelerin ayrılma işlemi başlıca iki yolla gerçekleştirilir. Birinci yöntemde ilk aşamada, analiz edilecek bileşik tutucu maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi ile uzaklaştırılır ve analiz edilecek bileşen tutucu maddeden uygun bir çözelti yardımıyla çözdürülerek alınır (Şekil 2.15-a). Daha az tercih edilen ikinci yöntemde ise, istenmeyen bileşenlerin tutucu madde ile etkileşimi söz konusudur. Özellikle atık yağlar gibi matriksden ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler tutucu madde tarafından sıkı şekilde bağlanırlar. Asıl aranan madde ise tutucu madde ile etkileşime girmez ve uygun çözelti yardımıyla çözdürülerek toplanır. Bu yöntemde, kolon içerisindeki tutucu maddenin oluşturduğu katı faz filtre işlevi görmektedir (Şekil 2.15-b) [99, 100, 112, 113].



Şekil 2.15.a) SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri [112]

Şekil 2.15.b) SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri [112]

2.8. Kaynak Özetleri

1999 yılında flunitrazepam ve metabolitlerinin düşük seviyelerini bulma amacıyla bir çalışma geliştirildi. Örnek olarak, katı faz ekstraksiyonunu kullanarak ilaçlardan izole edilmiş tam kan ve kuru kan lekesi kullanıldı. Analiz çarpışmalı elektron modunda, GC-MS sistemi ile yapıldı. Bu çalışma için kullanılan 1 mL kanın dedeksiyon limiti 0,1 µg/ dL olarak tayin edildi [114].

Bir başka çalışmada benzodiazepinlerin yasaklanması için, adli toksikolojide otopsi sonucu elde edilen kan ve idrar örneklerine uygulanarak GC ve bağımlılık analiz teknikleri karşılaştırıldı. Paralel olarak çalışılan kan ve idrar örneklerinde otomatikleştirilmiş ikili kolon GC metodunun kullanımıyla benzodiazepin ilaçları ve metabolitleri saptandı. GC kullanımından önce örnekler katı faz ekstraksiyonundan geçirildi [115].

Christian Staub ve Anissa El Mahjoub çalışmalarında, basit ve duyarlı (0,3 mL/dak. düşük akış hızında ve yarı mikro kolon kullanarak) bir metot olan HPLC de hastalara sık sık verilen benzodiazepinlerin (klonazepam, diazepam, flunitrazepam, midazolam ve oksazepam) geçerli hale gelmiş tayinlerini geliştirdiler. Miktar ölçümleri metilklonazepam iç standartı ile 220 nm de yerine getirildi. Metot; benzodiazepinlerin tedavi edici veya toksik konsantrasyonları için kusursuz, doğru, duyarlı, geri kazanımlı ve üretilebilirliği sağlandı [116].

Diyot düzenleyici dedektörle birleştirilmiş HPLC de monolitik kolon kullanarak tam kanda benzodiazepinlerin kantitatif tayini için bir metot geliştirildi. Metot adli toksikolojide çok sık karşılaşılan benzodiazepinlerin (klonazepam, desalkilflurazepam, diazepam, flunitrazepam, lorazepam, midazolam, nordiazepam ve oksazepam) analizinde kullanılmaktadır. Örnek ön işlemi, n-butil kloritle kan örneklerinin sıvı-sıvı ekstraksiyonunu ihtiva etmektedir. Ayrılma kromolit performans kolon kullanılarak ters faz koşulunda gerçekleştirildi. Akış hızı 2 mL/dak. olacak şekilde fosfat tamponu ve asetonitrilden oluşan çözelti mobil faz olarak kullanıldı. Analiz süresi 4 dakikadan da az olup sonuçların doğruluğu, kesinliği, geri kazanımı, ölçülebilir limiti memnun edicidir [117].

Yapılan bir başka çalışmada bütil katı faz ekstraksiyon kolonu kullanılarak kanda ve idrarda flunitrazepam ve metaboliti olan 7-aminoflunitrazepamı incelendi. Bu yöntemde analitler, iç standartlı tek tip katı faz kartuşları üstünde nitrazepam kullanılarak tam kan ve idrardan elde edildi. Kolonlar distile su ve hekzanla yıkandı. Üç bileşik, etil asetat-metanol çözücü karışımı kullanılarak sorbentten bertaraf edildi. Biriktirme ve çözücüden buharlaştırma sonrası kalıntı, HPLC-PDA analizi için 0,1 % (v/v) sulu trifloroasetikasitte, GC-MS analizi içinse pentafloropropionik anhidritte çözünürleştirildi [118].

Fibromyalgia tedavi altında bulunan hastalarda ICP-OES ve ICP-MS kullanılarak iz element analizi yapıldı. 2 mL kan örneği 3 mL, 10 mL idrar örneğinde 5 mL derişik ultra saf nitrik asitle karıştırılarak ve mikrodalgada fırında çözünürleştirildi. Standartlar gibi orijinal örneklere içersinde %1 nitrik asit içerecek şekilde asit eklendi. ICP-OES cihazı bütün bileşenlerin standart karışımı kullanılarak üç farklı konsantrasyonda kalibrasyonu yapıldı. Aynı şekilde ICP-MS cihazı da kalibre edildi [119].

Bir başka çalışmada; basit, duyarlı, seçici ve tekrarlanabilir olan DAD'li RP-HPLC metoduyla 240 nm de bulunan 1,4 benzodiazepinlerin (bromazepam, klonazepam, diazepam, flunitrazepam, lorazepam, alprazolam ve iki metaboliti olan α -hidroksialprazolam, α -hidroksitriazolam) tayini geliştirildi. Çalışma örneği olarak insan plazması, idrarı ve tükürüğü kullanıldı. Örnekler katı faz ekstraksiyonu kullanılarak analiz için hazırlandı. Ayırma metanol, ACN ve 0,05 M amonyum asetat içeren gradyan mobil fazla Kromasil C8 analitik kolonunda yapıldı [120].

Willy E.Lambert ve arkadaşları çalışmalarında, GC-MS metoduyla ön işlem olarak katı faz ekstraksiyonundan geçirilen kan, beyin sıvısı ve saçta yeni üretilmiş antidepresan ve metabolitleri için optimizasyon yapmışlardır. 12 antidepresan ve aktif metabolitleri olan mirtazapin, viloksazin, venlafaksin, sitalopram, mianserin, reboksetin, fluoksetin, fluvoksamin, sertralin, maprotilin, melitrasen, paroksetin, desmethylfluoksetin, desmethylmianserin, desmethylmirtazapin, desmethylsertralin, desmethylmaprotilin, desmethilsitalopram ve didesmethylsitalopram miktarları analizlendi [121].

HPLC-UV cihazı ve SPE kullanılarak yapılan bir çalışmada ratların plazmalarında ve beyin dokularında diazepam ve metabolitleri analizlendi. IS stok çözeltisi 2,0 mL metanolde 2,0 mg maddenin çözünmesiyle hazırlandı. Standart çözeltiler mobil fazla stok çözeltilerinin seyreltilimiyle günlük hazırlandı. EDTA içeren cam tüplerdeki kan örnekleri 15 dak. 5000 rpm santrifüjlenip plazmaları elde edildi. Plazmalar HPLC analizine kadar -80 °C 'de polipropilen test tüplerinde saklandı. Çıkarılan beyin tartıldıktan sonra 5 mL metanolla ekstrakte edildi. Daha sonrasında 15 dak. 9000 rpm santrifüj yapıldı. Üst kısımda oluşan katman analize kadar -80 °C 'de saklandı. SPE kolonu 2x1 mL metanol ve 2x1 mL su ile şartlandırıldı. Sonrasında IS standart çözeltisi eklendi ve plazmada kolona konulduktan sonra sürüklenmenin tamamlanması beklenildi. Kolon 2x1 mL su ve metanolla yıkanarak, basınç uygulanıp analiz için gerekli olan eluent elde edildi. Beyin dokusunda da plazmada olduğu gibi kolon şartlandırılıp, 2x1 mL su, 1mL su/metanol (80/20, v/v) karışımı ile yıkanıp basınç uygulandı ve analiz için gerekli olan eluent elde edildi [122].

3) MATERYAL ve METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Çizelge 3.1' de deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve özellikleri verildi.

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri

Kimyasal/İlaç Adı	Markası	Katolog No
Metanol	Merck	106018
Hidroklorik Asit	Sigma-Aldrich	258148
Sodyum Klorür	Merck	K31445404 249
Sodyum Hidroksit	Merck	B965882 203
Sodyum Benzoat	Carlo Erba	366757
Benzoik Asit	Sigma-Aldrich	242381
Benzil Alkol	Sigma-Aldrich	305197
Propilen Glikol	Sigma-Aldrich	P4347
BSA (Bovine Serum Albumin)	Merck	K31587018 333
Na ₂ HPO ₄	Merck	F548286851
KH ₂ PO ₄	Merck	A120471 832
H ₂ O ₂	Merck	K26230400 912
K ₂ HPO ₄	Merck	A333304 310
EDTA(Etilendiamin tetraasetik asit)	Sigma	E9884
NaN ₃	Merck	K26019888 912
GSH	Sigma	G4376
NADPH	Sigma	K37510540 744
Glutasyon Redüktaz	Sigma	G3664
Ksantin oksidaz	Sigma	X4875
TCA (Trichloroasetic asit)	Merck	K32072107 330
TBA (2-Thiobarbituric asit)	Sigma	T5500
Nitrik Asit	Sigma-Aldrich	380091
Etil Alkol	Merck	111727
Diklorometan	Merck	K31221749

3.2. Kullanılan İlaçlar

Diazem: 2 mL'lik ampulde 10 mg diazepam (Ruhsat; Deva Holding A.Ş., İmalatçı; F.Hoffmann-La Roche Ltd.Switzerland) bulunan toplam 16,8 mL solüsyon kullanıldı.

Dormicum: 5 mL'lik ampulde 5 mg midazolam (Ruhsat; Deva Holding A.Ş., İmalatçı; F. Hoffmann-La Roche Ltd.Switzerland) bulunan toplam 63 mL solüsyon kullanıldı.

3.3. Deneysel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Diazem İlacı İçin Taşıyıcı Hazırlanması

Ampul halinde bulunan bu ilacın çözgeni hazırlanıp kontrol grubuna verildi. Çözgen içeriği; 828 mg propilen glikol, 170,8 mg etil alkol, 96 mg sodyum benzoat, 3,7 mg benzoik asit, 31,4 mg benzil alkol, 2 mL enjeksiyonluk su.

Dormicum İlacı İçin Taşıyıcı Hazırlanması

Ampul halinde bulunan bu ilacın çözgeni hazırlanıp kontrol grubuna verildi. Çözgen içeriği; 2,8 mg(%37 'lik HCl), 45 mg NaCl, pH 3,3 olacak şekilde 1 N NaOH, 5 mL'ye tamamlayacak miktarda enjeksiyonluk su.

3.4. Deneysel çalışmalarda kullanılan Hayvanlar

Deneysel çalışmalarda İnönü Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim Merkezinden alınan ağırlıkları 180-240 gram arasında değişen Wistar Albino cinsi genç yetişkin dişi ratlardan 46 adet kullanıldı. Deneysel hayvanları işaretlendirilerek 5 gruba ayrıldı; kontrol grubu, diazem ve diazem taşıyıcı grup ayrıca dormicum ve dormicum taşıyıcı grup. Ratlar, 12 saat aydınlık/ karanlık, havalandırılmalı ve sabit sıcaklı odalarda, özel kafeslerde, rat yemi ile beslenerek ve içebildikleri kadar çeşme suyu verilerek barındırıldı.

Çizelge 3.2. Deneysel Hayvanı Olarak Kullanılan Ratların Genel Özellikleri

Laboratuvar Hayvanlarına Verilebilecek Maksimum Hacim (mL)	Gavaj (mL/kg)	İV	İP	İM	SC	İD
	10	0,5	0,5-10	0,3	0,5-10	0,01
Laboratuvar Hayvanlarında En Sık Kullanılan Enjeksiyon Yeri	SC		İM		İV	
	ense		arka uyluk		lateral kuyruk veni	
Deneysel Hayvanlarında Kan Dolaşımındaki Hacimleri ve Alınabilecek Kan Miktarları	ergin vücut ağırlığı (g)	ort.erişkin kan hacmi (mL)	güvenle alınabilecek kan hacmi (mL)	alınabilecek en yüksek kan hacmi (mL)		
	300-500	21-35	2,4-4	12		

3.5. Deneysel çalışmalarda kullanılan aletler

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve marka/ modelleri Çizelge 3.3' de belirtildiği gibidir.

Çizelge 3.3. Kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazın Adı	Marka/Model
SEM	SEM/ LEO EVO 40
AAS	Perkin Emler AAnalyst 800
GC-MS	Agilent 6890- 5973 N
Mikrosantrifüj	Nüve NF 800R
Mikrodalga Fırın	Cem Mars MD2829
ICP-MS	Agilent 7500ce
UV-VIS	Shimadzu 1601
Aeroset Otoanalizör	Abbott
Sonifikatör	Sonics VCX130
Homojenizatör	IKA-Werke T25
FT-IR	Perkin Emler Spektrum 100

- Kontrol grubu ve klinik olarak bağımlı hale getirilen gruptan alınan kan örnekleri tam kan, plazma ve serum olmak üzere üç farklı şekilde alındı. 5 farklı gruba ayrılmış olan 46 ratın kan örnekleri çift taraflı karbon bandına damlatılıp uygun şekilde kurutuldu. Sonrasında BAL-TEC SCD 050 cihazıyla karbon kaplama yapıldı ve metal içeriklerinin belirlenmesi amacıyla SEM sistemi kullanıldı. Cihazın gösterimi Şekil 3.1’de ve çalışma şartları Çizelge 3.4’de verildi.



Şekil 3.1. SEM sistemi

Çizelge 3.4. SEM cihazının özellikleri ve çalışma şartları

Dedektör	SE ve BSE
Kaplama çeşitleri	Au- Pd ve C
Kaplama cihazı	BAL-TEC SCD 050
Büyütme Aralığı	7X- 1.000.000X

Kan örnekleri tam kan, serum ve plazma olarak üç tip çalışılıp SEM-EDX’ları çekildi. Sonuçlar göz önünde bulundurularak kan örneklerinin alımında serum kullanılmasının uygun olduğu tespit edildikten sonra diğer cihazlarda da serum örnekleri kullanıldı.

- Deneysel hayvanlarından alınan kan örneklerine SPE yapıp sürüklenme tamamlandıktan sonra elde edilen sıvıda ilaç etken maddelerinin analizi için GC- MS kullanıldı. Cihazın gösterimi Şekil 3.2’de ve çalışma şartları Çizelge 3.5’de verildi.



Şekil 3.2. GC-MS sistemi

Çizelge 3.5. GC- MS cihazının özellikleri ve çalışma şartları

Kolon	HP-1 (12m x 0,20 mm x 0,33µm)kapiler kolon
Dedektör	5973 N
Taşıyıcı gaz	Helyum
Sıcaklık programı	130°C’de 0,5 dk, 15°C/dk artışla 300°C bu sıcaklıkta 2 dk bekleme
Enjektör sıcaklığı	250°C
Dedektör	280°C

- Kontrol grubu ve ilaçlara maruz kalarak bağımlı hale getirilmiş deney hayvanlarının kan örneklerinde bulunan civa düzeyindeki değişim analizi için Grafit fırınlı AAS kullanıldı. Cihazın gösterimi Şekil 3.3’de ve çalışma şartları Çizelge 3.6’da verildi.



Şekil 3.3. AAS sistemi

Çizelge 3.6. AAS cihazının özellikleri ve çalışma şartları

Dedektör	5973 N
Kullanılan Sistem	Grafit Fırın
Taşıyıcı Gaz	Argon
Kullanılan Lamba	c-EDL Hg lamba
Sıcaklık Programı	130°C- 150°C temizleme amaçlı 1150°C- 2450°C çıkış
Kullanılan Matrix	Pd, Mg(NO ₃) ₂
Temizleme Çözeltilisi	% 0,2’lik nitrik asit
Akım	185 mA
Dalga Boyu	253,7 λ

- Kontrol grubu ve ilaçlara maruz kalarak bağımlı hale getirilmiş deney hayvanlarının kan ve doku örneklerinde bulunan metallerin analizi için AGILENT 7500ce ICP- MS kullanıldı. Cihazın gösterimi Şekil 3.4’de ve çalışma şartları Çizelge 3.7’de verildi.



Şekil 3.4. ICP-MS sistemi

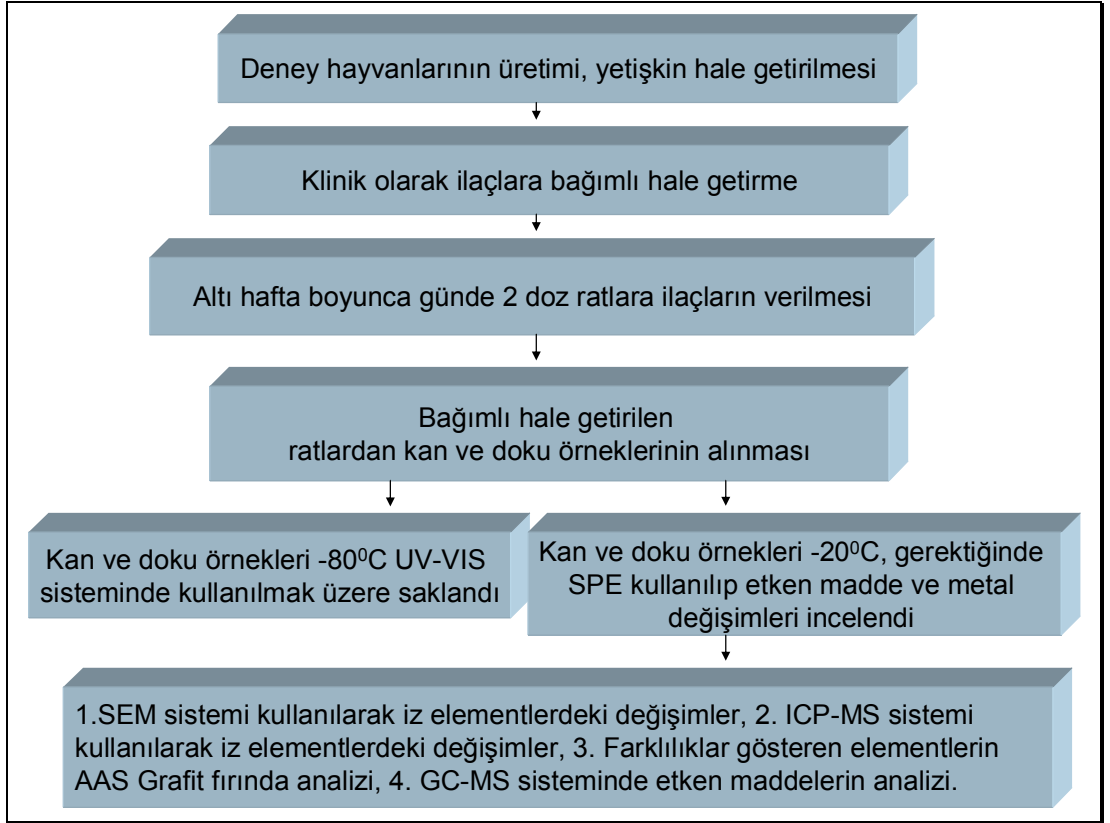
Çizelge 3.7. ICP-MS cihazının özellikleri ve çalışma şartları

Taşıyıcı gaz	Argon
Akış hızı	1,2 L/dak.
Güç	1350 W
Örnek alma derinliği	6,7 mm
Püskürtme odası	Çift bölmeli, kuartz
Püskürtme sıcaklığı	2°C
İç standartlar	6Li, 45Sc, 72Ge, 89Y, 115In, 159Tb, 209Bi

3.6. Materyal

Tez kapsamında kullanılan diazem ve dormicum ilaçları Turgut Özal Tıp Merkezi Psikiyatri polikliniğinden yeşil reçeteye yazdırılarak piyasadan alındı. Reçil reçeteye yazdırılan ilaçların kullanımı Çizelge 3.8’de belirtildiği gibidir.

3.7. Metot



Şekil 3.5. Genel işlem basamağı

Çizelge 3.8. Çalışılan ilaçların doz miktarları

Ajan	Doz	Veriliş yolu	Veriliş sıklığı	Etki Süresi	Deney Süresi
Diazem (Diazepam)	1 mg/kg	ip	2 doz/gün	10 gün	6 hafta
Dormicum (Midazolam)	0,75 mg/kg	ip	2 doz/gün	20 gün	6 hafta

Çizelge 3.9. Anestezik Ajanlar

Ajan	İndüksiyon dozu	Veriliş yolu	Yapılacak işlem
Ketamin	80 mg/kg	i.p	Kan ve doku alımı
Ksilazin	5 mg/kg	i.p	Kan ve doku alımı

3.8. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

Klinik olarak bağımlı hale getirilmiş deney hayvanlarından alınan kanlar üç farklı şekilde; tam kan, serum ve plazma için kırmızı kapaklı boş, heparinli ve EDTA'lı tüpler kullanıldı. Çalışmada kullanılacak yedeklemeleri yapılan kan ve doku örnekleri ependorf tüpleri ve ağzı kilitli saklama poşetleri içinde buzdolabında -80 °C de saklandı. Ayrıca SEM-EDX (deney devam ederken üçüncü haftada ratlardan alınan kan örnekleri) analizleri için de çift taraflı karbon bantları kullanıldı.

ICP-MS ve AAS analizleri için mikrodalga fırında teflon kaplarda parçalanmaları yapılan serum ve doku örnekleri sonrasında vida kapaklı cam tüplerde saklandı.

Etken madde analizi için serum örneklerine ön işlem yapıldı. Ön işlemde sıvı-katı ekstraksiyonu için Waters Sep-Pak C18 kolonu kullanıldı.

3.9. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Ratları bayıltmak için Çizelge 3.9 da verilen anesteziik madde olarak ketamin/ksilazin karışımı kullanıldı. Sıçanlara ketamin 80 mg/kg'lık ve ksilazin 5 mg/kg'lık doz karışımını içerecek şekilde i.p. yolla verildi ve bayıltma işlemi 3-4 dakika içerisinde tamamlandı. Tüm uygulama ve kontrol grubundaki sıçanların bayıltma işleminden sonra, abdomenlerden bir kesik yapılarak vücudun iç kısmı yukarı doğru göğüs kafesine kadar açıldı. Bu esnada iç organlara temas edilmemesine özen gösterildi. Kalbe girilerek alınabilececek maksimum kan hacmi alındı ve boş kırmızı kapaklı kan tüplerine konuldu.



Tam kan örneklerinden serum elde etmek amacıyla 2 saat soğuk ortamda bekletildi. Sonrasında soğutmalı santrifüj cihazında +4 °C'da 10 dak. 10000 devirde santrifüjlendi. Serum kısmı 4 parçaya ayrılıp 1.kısım rutin biyokimyasal analiz için, 2.kısım metal analizi ICP-MS ve AAS için, 3.kısım etken madde GC-MS için -20 °C derecede saklanmıştır. 4.kısım ise enzim çalışması için -80 °C'da saklandı.



Karaciğer, böbrek ve beyin dokuları uzman kişi tarafından alındı. Her bir dokudan kendi ebatlarına uygun miktarda kesitler alınıp ağzı kilitli şeffaf poşetlerde enzim çalışması için -80 °C'da diğer parçalar ise yine aynı şekilde ağzı kilitli şeffaf poşetlerde -20 °C'da analize kadar saklandı.

Şekil 3.6. Kan ve Doku örneklerinin alınış şeması

3.10. Serum ve Dokularda Enzim Aktivite Tayini

Kontrol grubu ve ilaçlara maruz kalarak bağımlı hale getirilmiş deney hayvanlarının kan ve doku örneklerinde bulunan enzim değişimlerini incelemek amacıyla enzim analizi için Shimadzu 1601 UV- VIS kullanıldı. Cihazın gösterimi Şekil 3.7'de verildi.



Şekil 3.7. UV-VIS sistemi

3.10.1. Dokuların Homojenizasyonu

Enzim aktivitesi yapacağımız karaciğer, beyin ve böbrek dokularının homojenizasyonunda, öncelikle doku tartıldı ve 1/5 w/v oranında PBS tamponu(pH 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında IKA-Werke T25 homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, Sonics VCX130 sonifikatörde 30 saniyelik aralıklarla 3 defa 15 saniye sonifiye edildi. Homojenizasyon ve sonifiye işlemlerinin ardından 10.000 g' de +4 °C' da 10 dakika Nüve NF 800R mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı. Böylece enzim aktiviteleri ve protein tayinin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapılmıncaya kadar -70 °C da derin dondurucuda saklandı.

3.10.2. Protein Tayini

Protein tayini Bradford M.M. [90] yöntemine göre yapıldı. Standart protein olarak bovine serum albumin(BSA) kullanıldı. Bradford çözeltisiyle doku türüne bağlı olarak süpernatandan çeşitli hacimlerde örnek alınarak protein değerleri hesaplandı.

3.10.3. Katalaz Aktivite Tayini

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck H. [91] yöntemine göre yapıldı.

Gerekli çözeltiler :

- 1/15 M konsantrasyonda Na, K-fosfat tamponu (Na_2HPO_4 - KH_2PO_4) pH: 7
- Derişik H_2O_2 çözeltisi

Yöntem :

Katalaz ölçümünde kullanılmak üzere spektrofotometrede 240 nm'de absorbans 0,7-0,9 oluncaya kadar Na-K-fosfat tampon çözeltisine derişik (% 35 'lik) H₂O₂ ilave edildi. Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000 µL alınıp küvete kondu ve üzerine çalışma aralığına bağılı olarak 30 µL başlayarak gittikçe artan konsantrasyonlarda süpernatan eklendi ve bir kez karıştırılıp Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 30 sn süreyle H₂O₂ nin ($\epsilon = 0,0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) absorbans değişimi okundu. Okunan bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı hesaplandı.

3.10.4. Se-Bağımlı Glutatyon Peroksidaz Aktivite Tayini

Se-bağımlı GSH-Px enziminin aktivite tayini için Lawrance R.A, Burk R.F yöntemi kullanıldı [92].

Gerekli çözeltiler:

- 50 mM KH₂PO₄ + K₂HPO₄ + 5 mM EDTA içeren pH:7 olan tampon çözeltisi
- 1 mM NaN₃ (Sodyum azid) çözeltisi
- 0,25 mM H₂O₂ çözeltisi
- 0,2 mM NADPH çözeltisi
- 2 mM GSH (Redükte glutatyon) çözeltisi
- 1,2U/mL GSSG Redüktaz çözeltisi

Yöntem:

Yukarıdaki derişimlerde hazırlanan çözeltilerle önce kör ardından da örnek deneyleri yapıldı. Kör için 1 mL tampon, 10 µL NADPH, 10 µL GSH, 10 µL NaN₃ ve 2 µL GSSG redüktaz çözeltileri spektrofotometre küvetine eklendi. 37 °C da 5 dk süre ile inkübasyona tabii tutulan çözelti karışımına 10 µL H₂O₂ ilave edildi ve Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 340 nm deki absorbans değişimi (1 dk.) gözlemlendi. Numune deneyleri için ise belirli miktarlarda süpernatan ilave ettikten sonra 37 °C da 5 dk. süre ile inkübasyona tabii tutulup kör denemede olduğu gibi 340 nm deki NADPH 'nin ($\epsilon = 6,22 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) absorbans değişimi okunarak enzim aktivitesi hesaplandı.

3.10.5. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev alan SOD enziminin aktivite tayini McCord J.M, Fridovich I [93] yöntemine göre yapılmış olup yöntemin esası ksantin- ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom-C'yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanır.

Süperoksit dismutaz çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalının hidrojen peroksit (H_2O_2) dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. SOD enzim aktivitesi ksantin – ksantin oksidaz (XO) sistemi ile üretilen $O_2^{\cdot-}$ radikallerinin sitokrom c okside etmesi sonucu oluşan renk değişimi 550 nm'de takip edilerek belirlendi. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi. Bu reaksiyonu % 50 inhibe eden örneklerdeki SOD miktarı 1 Unite (U) olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Abskörv} - \text{Absnum}) / \text{Abs körv} \times 100$$

Gerekli çözeltiler:

A çözeltisi:

- 5 µmol ksantinın 0,001 N NaOH' daki çözeltisi
- 2 µmol sitokrom-C'nin 50 mM pH 7,8 ve 0,1 mM EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi

A çözeltisi (ksantin: sitokrom-C) 1:10 hacim oranlarında karıştırılarak hazırlanır. Bu çözelti +4 °C ' da 3 gün kararlıdır.

B Çözeltisi:

- Ksantin oksidazın 0,1 mM EDTA'daki çözeltisi 0.2U/mL (deneyden önce taze olarak hazırlanır).

Yöntem :

- 1) 3 mL'lik spektrofotometre küvetine 2,9 mL A çözeltisi eklendi.
- 2) 50 µL örnek ilave edildi.
- 3) Tepkime 50 µL B çözeltisinin eklenmesiyle başlatıldı.
- 4) Daha sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 550 nm deki absorbans değişimi (1dk.) okundu.

5) K r okuması yapılırken örnek yerine 50  L bidestile su eklendi.

6)  rneklerin % inhibisyon değerleri hesaplandı.

3.10.6. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipitlerin peroksidasyonu, son ürün olan malondialdehit (MDA) miktarının Beuge J.A [94] yöntemine göre belirlenmesiyle bulundu.

Gerekli  zeltiler:

-- % 15' lik TCA  zeltisi

-- % 0,375' lik TBA  zeltisi

-- 0,25 N' lik HCl  zeltisi

Yukarıdaki  c  zeltinin hassas bir şekilde hazırlanıp 1:1:1 hacim oranlarında karıştırılmasıyla solüsyon hazırlandı.

Yöntem :

1) 10 mL' lik santifüj tüpleri alındı ve bütün tüplere hazırladığımız solüsyondan 4 mL konuldu.

2) K r tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 1 mL homojenat konuldu.

3) Bir kez şiddetli şekilde karıştırıldı.

4) Kaynar suda (95-100  C 'da) 15 dk. bekletildi.

5) Daha sonra tüpler soğutuldu ve 3500 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi.

6) Elde edilen süpernatanın Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresinde 535 nm'deki MDA-TBA kompleksi' nin ($\epsilon : 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) absorpsiyonu okunarak Malondialdehit miktarı hesaplandı.

3.10.7. Verilerin İstatiksel Analizi

Her bir deney en az 3 tekrarlı olarak yapılmış ve elde edilen sonuçlar 'SPSS 16.0' Paket programıyla yorumlandı. Kontrol grubu, her iki ilacın verildiği grup ve ilaçların taşıyıcı gruplarından elde edilen sonuçlar arasındaki farkların istatiksel önem düzeyleri 'One way ANOVA (Analysis of variances)' testi ve 'DUNCAN' post testiyle belirlendi. Farklı grupların istatiksel olarak önem düzeyleri a, b, c...  eklinde indislerle gösterildi.

Bu indislerin sayısı DUNCAN testinde oluşan grup sayısına göre belirlendi. Analiz sonrası hesaplanarak elde edilen SOD, CAT, GSH-Px, MDA ve protein düzeylerinin değişimi Çizelge 4.4- 4.7’de verildi. İstatiksel analiz sonuçlarına göre yapılan yorumlar bölüm 5.4’de ayrıca örnek bir istatistik tablosu da EK 1 de verildi.

3.11. ICP-MS ve Grafit Fırınlı AAS Cihazlarında Metal Analizi

Şekil 3.6’daki akış şemasında bahsedildiği gibi kan ve doku örnekleri analiz süresine kadar saklandı. Sonrasında 0,3-0,4 g’lık yaş dokulara (beyin, karaciğer ve böbrek) 4 mL %70’lik çift distile HNO₃ eklendi ve bir gece bekletildi. Serum örneklerinden de 1000 µL alındı ve üzerlerine 4 mL %70’lik çift distile HNO₃ eklendi.



Örneklerin tamamı mikrodalga fırında çözünürleştirme işlemine tabi tutuldu. Çizelge 3.10 ve 3.11’de basamak basamak çözünürleştirme sıcaklığı, basınç ve gerekli diğer değerler verildi.



Mikrodalgada parçalanmış numuneler son hacmi 10 mL olacak şekilde Milli Pore ELX20’den elde edilen saf su ile tamamlandı. Sonrasında 5 kat seyreltme daha yapıldı.



ICP-MS (elde edilen ham verilere ait örnek EK 2 de verildi) ve Grafit fırınlı AAS sistemlerinde analiz için, örnekler vida kapaklı cam tüplere konuldu ve oda sıcaklığında saklandı.

Şekil 3.8. ICP-MS ve Grafit fırınlı AAS’de analiz öncesi örnek hazırlama şeması

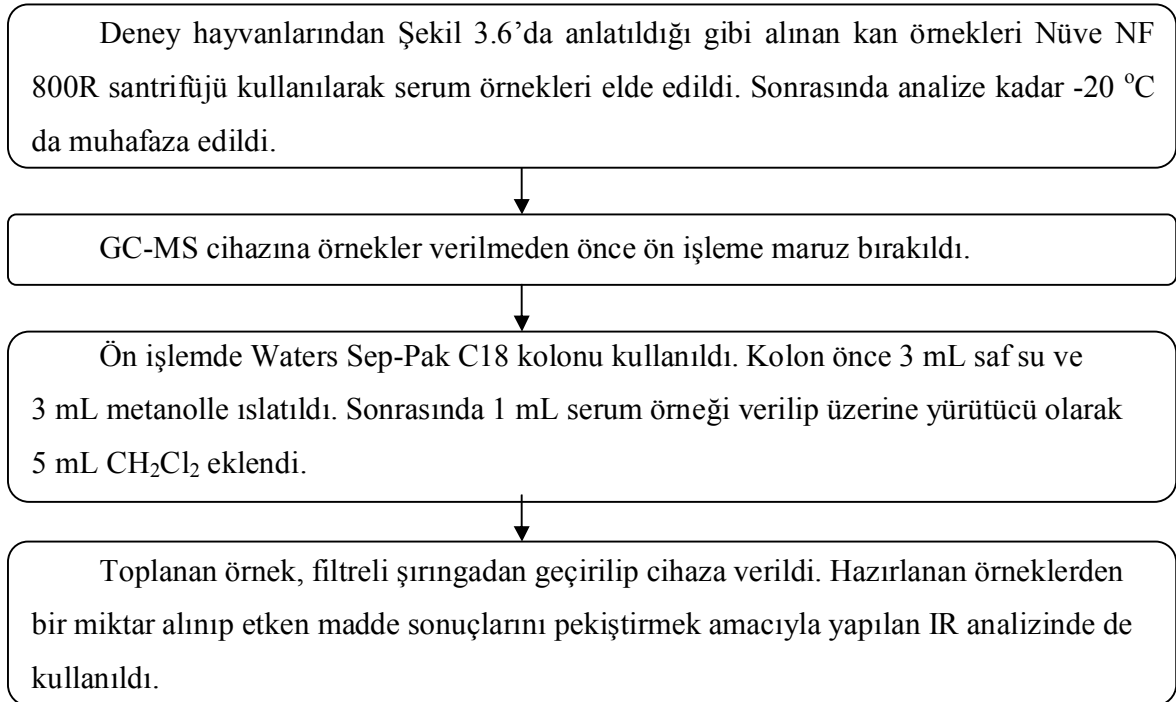
Çizelge 3.10. Mikrodalga fırında böbrek ve beyin dokularının çözünürleştirme işlemi

Güç	%100	%100	%100	%100
Basınç (psi)	1500	1500	1500	1500
Kaynama Süresi(dak)	10	5	5	10
Alıkonma Süresi (dak)	5	5	5	10
Sıcaklık (°C)	100	150	170	200
Akım (Watt)	400	800	800	800

Çizelge 3.11. Mikrodalga fırında serum ve karaciğer dokusunun çözünürleştirme işlemi

Güç	%100	%100	%100
Basınç (psi)	1500	1500	1500
Kaynama Süresi(dak.)	5	5	5
Alıkonma Süresi (dak.)	5	5	5
Sıcaklık (°C)	100	150	200
Akım (Watt)	400	800	800

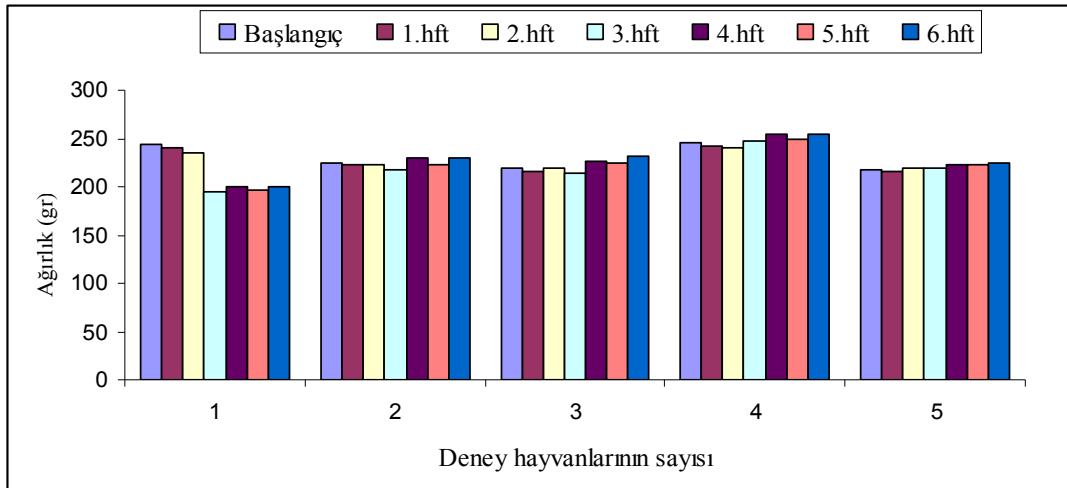
3.12. GC-MS Cihazında Etken Madde Analizi



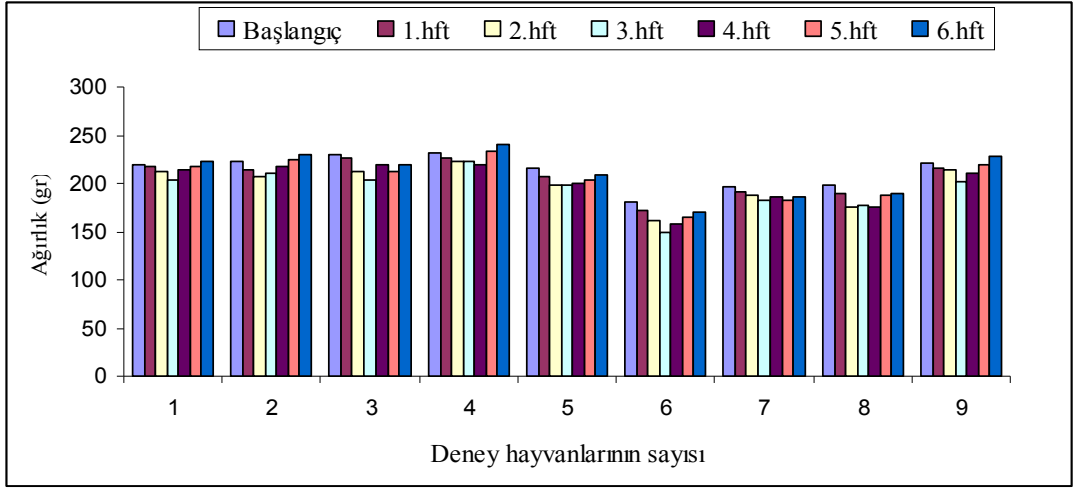
Şekil 3.9. GC-MS de analiz öncesi örnek hazırlama şeması

4) ARAŞTIRMA BULGULARI

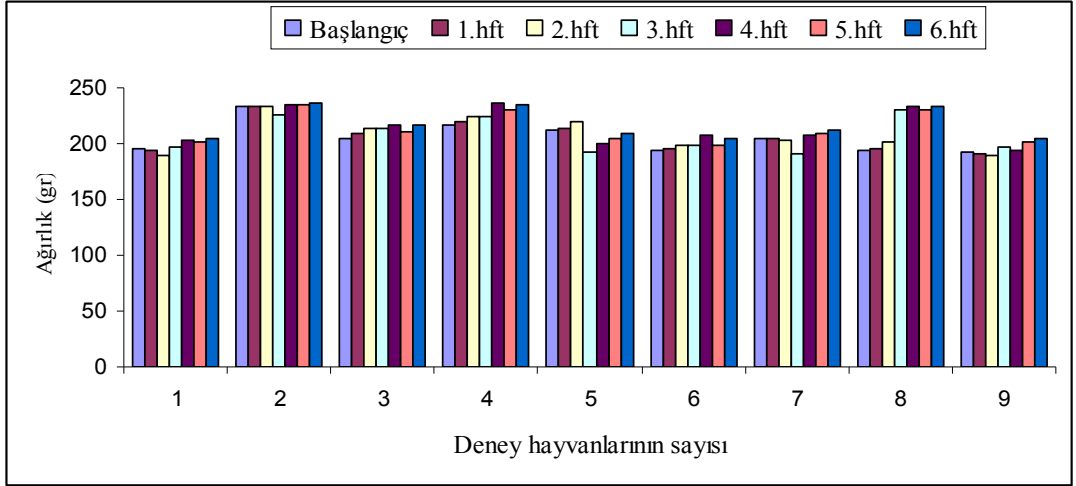
4.1. Ağırlık Değişimi; deney hayvanı olarak 5-6 aylık 46 adet genç yetişkin dişi ratlar kullanıldı. Gruplandırılma yapılırken 6 tanesi kontrol grubu, 10 tanesi diazem ilacı verilen, 10 tanesi diazem ilacının taşıyıcısı, 10 tanesi dormicum ilacı verilen ve 10 tanesi de dormicum ilacının taşıyıcısı grupları olmak üzere tam 5 farklı grup oluşturuldu. Deney devam ederken üçüncü haftada 3 adet rat SEM-EDX çalışması için kan alındıktan (direk kalbe girilip alındı) sonra öldü. Şekil 4.1’de verilen kontrol grubu olarak kullanılan deney hayvanlarının ağırlık değişimidir. Başlangıç olmak üzere 6 hafta boyunca 5 deney hayvanının ağırlık değişimi sütunlarla verildi. Şekil 4.2 diazem ilacı verilmiş olan deney hayvanlarının ağırlık değişimidir. Başlangıç olmak üzere 6 hafta boyunca 9 deney hayvanının ağırlık değişimi sütunlarla verildi. Şekil 4.3 diazem ilacının taşıyıcısı olan deney hayvanlarının ağırlık değişimidir. Başlangıç olmak üzere 6 hafta boyunca 9 deney hayvanının ağırlık değişimi sütunlarla verildi. Şekil 4.4 dormicum ilacı verilmiş olan deney hayvanlarının ağırlık değişimidir. Başlangıç olmak üzere 6 hafta boyunca 10 deney hayvanının ağırlık değişimi sütunlarla verildi. Şekil 4.5 dormicum ilacının taşıyıcısı olan deney hayvanlarının ağırlık değişimidir. Başlangıç olmak üzere 6 hafta boyunca 10 deney hayvanının ağırlık değişimi sütunlarla verildi.



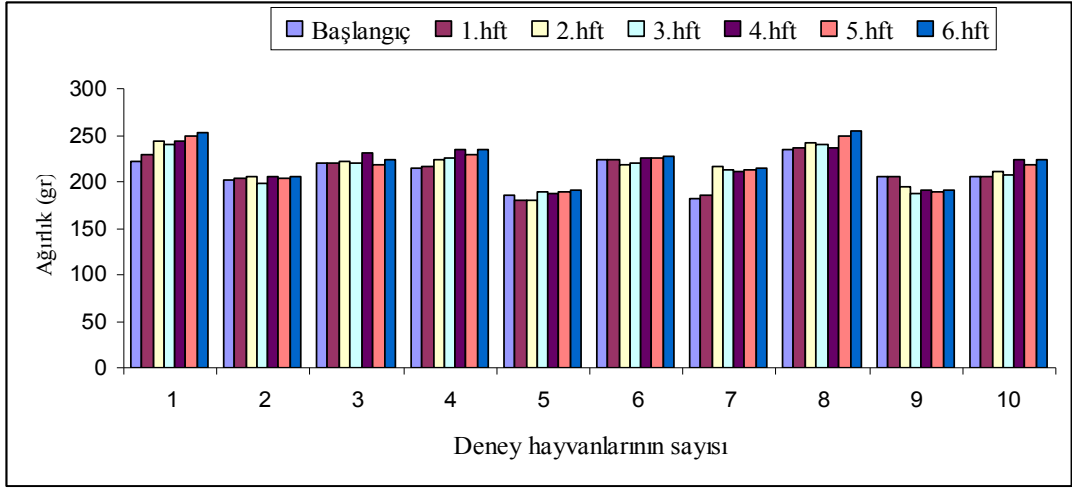
Şekil 4.1. Kontrol grubu olarak kullanılan deney hayvanlarının ağırlık değişimi



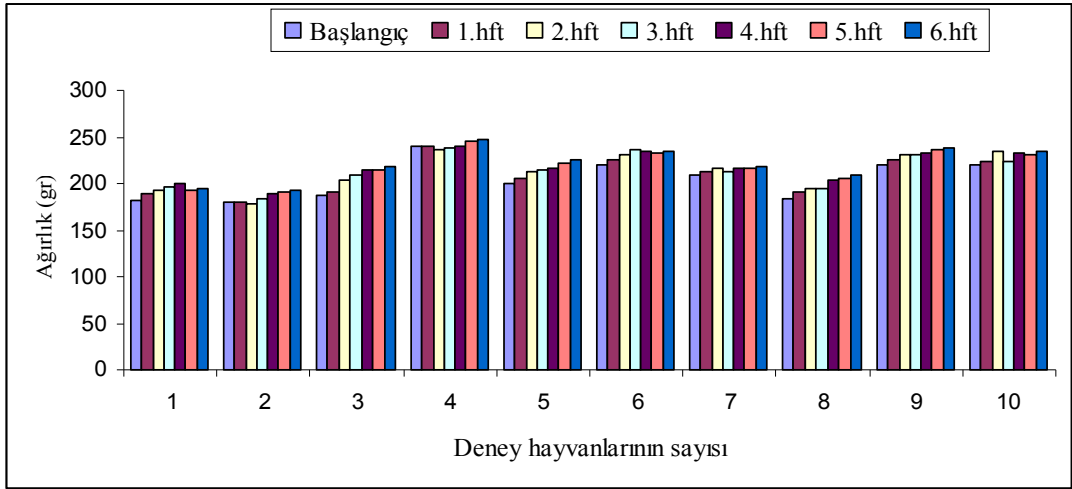
Şekil 4.2. Diazem ilacı verilmiş olan deney hayvanlarının ağırlık değişimi



Şekil 4.3. Diazem ilacının taşıyıcısı olan deney hayvanlarının ağırlık değişimi



Şekil 4.4. Dormicum ilacı verilmiş olan deney hayvanlarının ağırlık değişimi



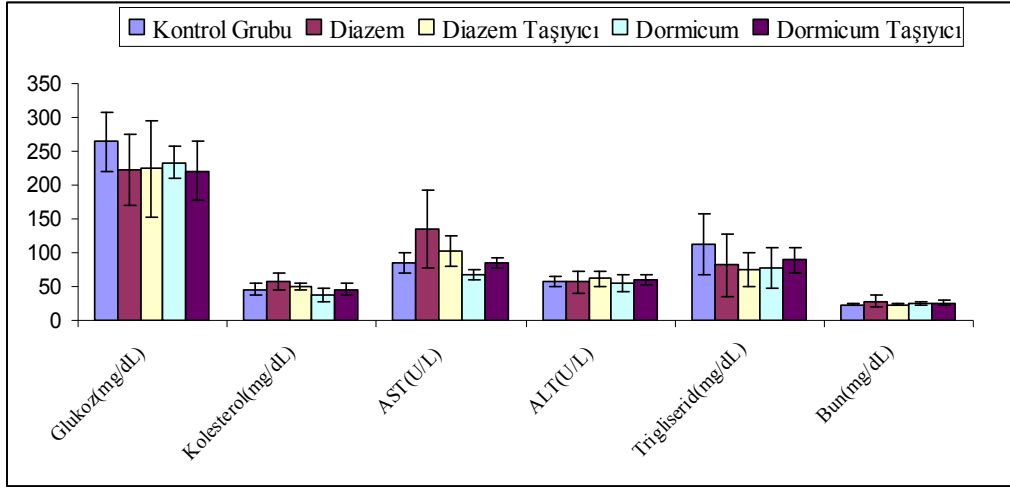
Şekil 4.5. Dormicum ilacının taşıyıcısı olan deney hayvanlarının ağırlık değişimi

4.2. Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları; her bir grup için kan serum örneklerinden elde edilen rutin biyokimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verildi. Gruplar arasındaki farklılığı görebilmek amacıyla Şekil 4.6 ve 4.7 oluşturuldu.

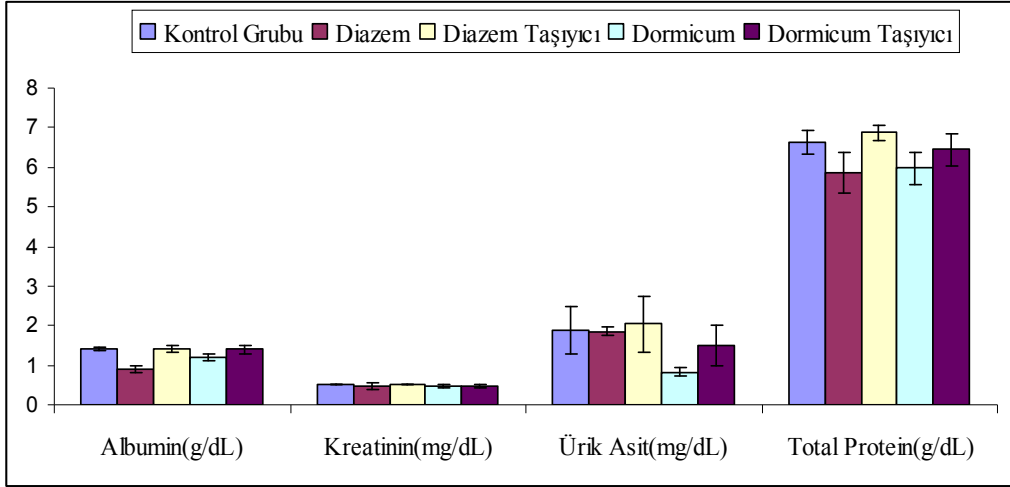
Çizelge 4.1. Serum örneklerinden elde edilen Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları (n=5)

Parametreler	Kontrol Grubu	Diazem İlaçlı Grup	Diazem Taşıyıcı Grup	Dormicum İlaçlı Grup	Dormicum Taşıyıcı Grup
Glukoz(mg/dL)	264,4±43,638	223,4±52,572	224,6±71,521	233,8±24,580	221,2±44,347
Bun(mg/dL)	23,4±2,190	28±9,460	23,4±1,341	25,4±2,510	26,2±3,768
Kreatinin(mg/dL)	0,5±0,000	0,48±0,083	0,5±0,000	0,46±0,054	0,48±0,044
Ürik Asit(mg/dL)	1,88±0,697	1,86±0,151	2,04±0,723	0,82±0,178	1,5±0,570
Trigliserid(mg/dL)	112,4±45,643	82,2±46,430	75,2±25,587	77,6±29,365	89,4±18,649
Kolesterol(mg/dL)	46±9,513	58,4±13,465	49,8±4,147	37,6±10,621	46,2±7,918
Total Protein(g/dL)	6,62±0,383	5,86±0,536	6,88±0,295	5,98±0,465	6,44±0,482
Albumin(g/dL)	1,42±0,044	0,9±0,141	1,42±0,083	1,24±0,114	1,42±0,130
AST(U/L)	84±15,716	135,4±57,261	103±21,92	67,4±7,334	84,8±8,438
ALT(U/L)	57,6±7,127	56,4±16,196	61,6±12,381	55±12,410	59,8±7,328

*Değerler ortalama ve (±) standart hata şeklinde gösterildi (n=5).



Şekil 4.6. Deney hayvanlarından alınan serum örneklerine göre Rutin Biyokimyasal analiz sonuçlarının değişimi



Şekil 4.7. Deney hayvanlarından alınan serum örneklerine göre Rutin Biyokimyasal analiz sonuçlarının değişimi

4.3. SEM-EDX analiz sonuçları; SEM-EDX'la yapılan analizde C atomlarının % miktarına göre iki grup şeklinde; birincisinde Si, P, S, Ca, V, Cr, Mn, Rb, Sr, Zr, Nb, Ag, In, Sn, Bi olmak üzere 15 elementin, ikincisinde ise Na, Mg, Al, K, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Ba, Hg, Pb olmak üzere 17 elementin toplamı 100 olacak şekilde kandaki % dağılımını verdi. Her ne kadar elde edilen veriler 100'e göre hesaplanılsa da kantitatif analiz değildir. Çünkü yüzde değerleri seçilen element sayısına göre hesaplanmaktadır. Bu çalışmadaki verilerin amacı; kontrol grubu ile ilaç grupları arasında aynı şartlarda elementlerin artma ve azalmalarını gözlemlemektir. Böylece SEM-EDX verileriyle kandaki elementlerin tespitiyle ilgili ön bir fikir elde edildi.

4.4. Enzim Aktivite analiz sonuçları; çalışmamızda her bir gruptan altı örnekte MDA, SOD, CAT, GSH-Px ve protein analizleri yapıldı. Yaş doku (böbrek, beyin, karaciğer) ve kan serum örneğinden elde edilen analiz sonuçları Çizelge 4.2 ve 4.3'de verildi.

Çizelge 4.2. Yaş doku (böbrek, beyin, karaciğer) ve kan serum örneğinden elde edilen analiz sonuçları (n=6)

		Serum Örneklerinde Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Beyin Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Böbrek Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Karaciğer Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları
CAT U/mg Protein	Kontrol Grubu	23,587 ± 20,306 ab	4,420 ± 1,195 ab	95,768 ± 19,025 b	977,772 ± 140,175 c
	Diazem	24,824 ± 12,017 ab	3,972 ± 0,595 a	82,369 ± 14,656 a	576,183 ± 129,676 a
	Diazem Taşıyıcı	15,452 ± 15,973 a	4,061 ± 1,091 a	91,155 ± 13,288 b	762,962 ± 76,641 b
	Dormicum	59,743 ± 36,666 c	5,386 ± 1,621 b	99,890 ± 13,362 b	722,523 ± 78,729 b
	Dormicum Taşıyıcı	53,022 ± 38,666 bc	4,724 ± 0,666 ab	99,051 ± 11,419 b	629,359 ± 120,094 ab
SOD U/mg Protein	Kontrol Grubu	50,251 ± 14,657 b	10,416 ± 2,442 b	47,582 ± 16,097 a	71,377 ± 7,364 a
	Diazem	43,122 ± 7,156 ab	9,506 ± 1,075 ab	63,318 ± 43,585 b	76,336 ± 9,497 ab
	Diazem Taşıyıcı	30,447 ± 12,877 a	8,302 ± 1,421 a	53,021 ± 9,692 ab	73,709 ± 12,369 ab
	Dormicum	34,339 ± 9,590 a	10,394 ± 1,461 b	52,452 ± 11,297 ab	78,665 ± 11,999 b
	Dormicum Taşıyıcı	35,990 ± 8,513 a	10,172 ± 1,423 b	52,402 ± 18,306 ab	71,557 ± 7,616 a
GSH-Px U/mg Protein	Kontrol Grubu	45,067 ± 11,463 b	2,424 ± 1,048 b	12,967 ± 2,410 c	20,914 ± 3,983 ab
	Diazem	20,517 ± 6,184 a	1,278 ± 0,509 a	10,012 ± 1,656 ab	17,875 ± 6,702 a
	Diazem Taşıyıcı	64,641 ± 13,731 c	1,212 ± 0,738 a	10,581 ± 1,803 b	24,838 ± 2,434 b
	Dormicum	47,666 ± 6,341 b	0,826 ± 0,636 a	9,178 ± 0,583 a	24,555 ± 2,085 b
	Dormicum Taşıyıcı	73,241 ± 10,247 c	1,406 ± 0,827 a	12,440 ± 1,655 c	25,630 ± 1,604 b

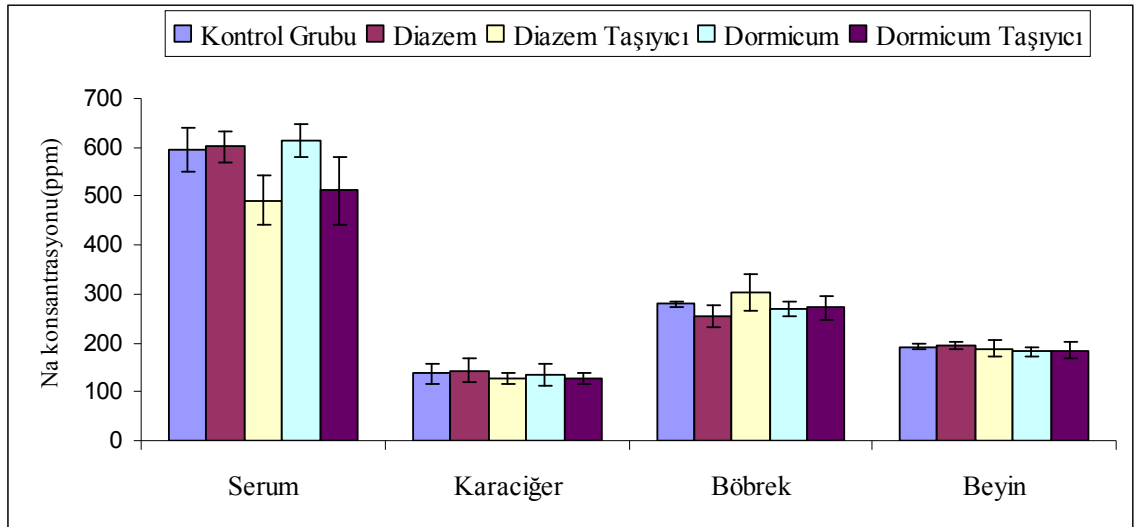
*Değerler ortalama ve (±) standart hata şeklinde gösterildi (n=6). Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.3. Yaş doku (böbrek, beyin, karaciğer) ve kan serum örneğinden elde edilen analiz sonuçları (n=6)

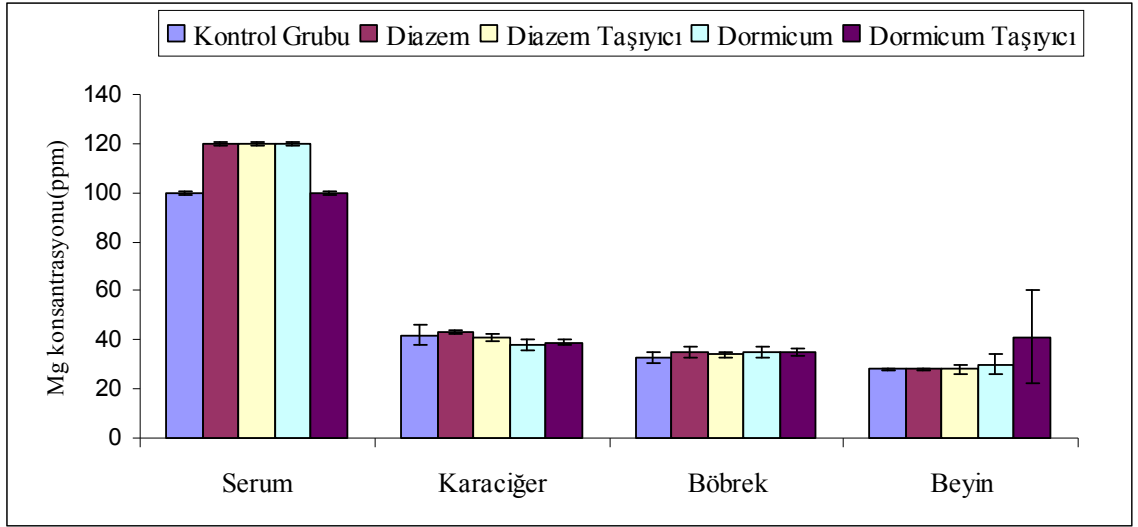
		Serum Örneklerinde Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Beyin Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Böbrek Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları	Karaciğer Dokusunda Enzim Aktivite Ortalama Sonuçları
MDA nmol/mg protein	Kontrol Grubu	3,319 ± 0,517 b	4,394 ± 1,576 b	2,234 ± 0,438 bc	1,053 ± 0,335 a
	Diazem	3,147 ± 1,116 b	3,647 ± 1,323 ab	1,535 ± 0,464 a	0,946 ± 0,384 a
	Diazem Taşıyıcı	1,782 ± 0,146 a	2,896 ± 0,492 a	1,688 ± 0,241 a	1,063 ± 0,291 a
	Dormicum	2,578 ± 0,241 b	3,319 ± 0,465 ab	1,962 ± 0,169 ab	1,057 ± 0,364 a
	Dormicum Taşıyıcı	2,533 ± 0,537 b	2,918 ± 0,497 a	2,540 ± 0,439 c	1,468 ± 0,181 b
Protein mg/mL	Kontrol Grubu	1,309 ± 0,050 a	4,054 ± 0,899 a	3,690 ± 0,560 a	5,370 ± 0,462 b
	Diazem	1,311 ± 0,078 a	4,398 ± 0,376 ab	4,426 ± 1,120 c	4,560 ± 0,628 a
	Diazem Taşıyıcı	1,402 ± 0,014 b	5,353 ± 0,154 c	4,385 ± 0,576 c	4,734 ± 0,433 a
	Dormicum	1,393 ± 0,048 b	4,814 ± 0,680 bc	3,928 ± 0,192 ab	4,587 ± 0,503 a
	Dormicum Taşıyıcı	1,367 ± 0,064 ab	5,020 ± 0,564 c	4,104 ± 0,698 bc	4,591 ± 0,551 a

*Değerler ortalama ve (±) standart hata şeklinde gösterildi (n=20). Aynı satır içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

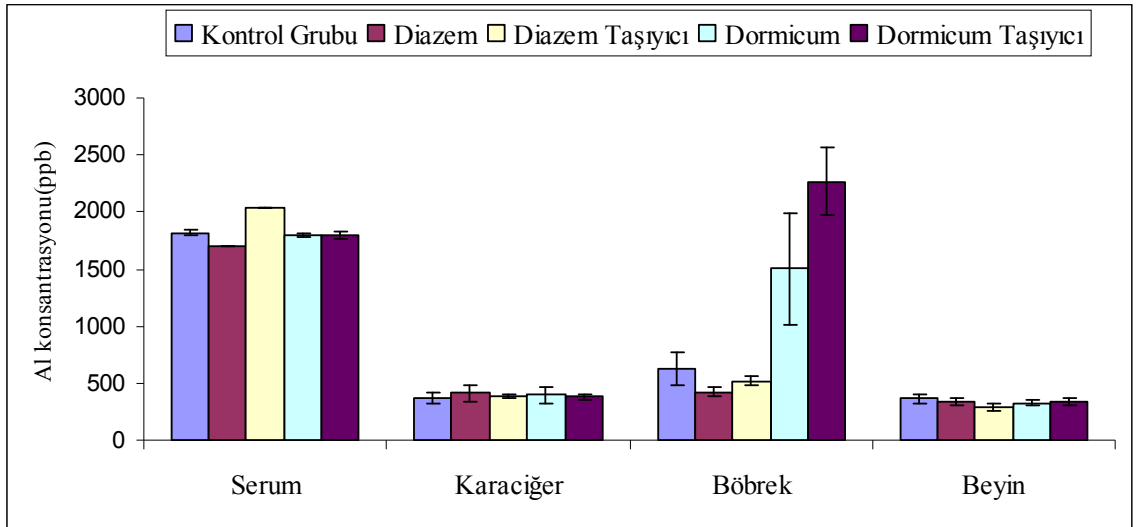
4.5. ICP-MS analiz sonuçları; yaş doku ve serum örneklerinde yapılan Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb elementleri için elde edilen analiz sonuçları minimum düzeyi maksimum düzeyi şeklinde Çizelge 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7’de. Yapılan çalışmada beyin, böbrek ve karaciğer dokularında Co, Nb düzeyleri, serum örneklerinde ise Co, Ni, Ag, Cd, Sn düzeyleri tayin sınırının altında kaldığından gözlemlenemedi. Her bir element düzeyinin doku ve serum örneklerindeki değişimlerine ait hazırlanan grafikleri sütunlar halinde rahat gözlemleyebilmek amacıyla Şekil 4.8 ve 4.31’de verildi. Ayrıca grafit fırınlı AAS de tayin edilen Hg konsantrasyonları Şekil 4.32’de verildi.



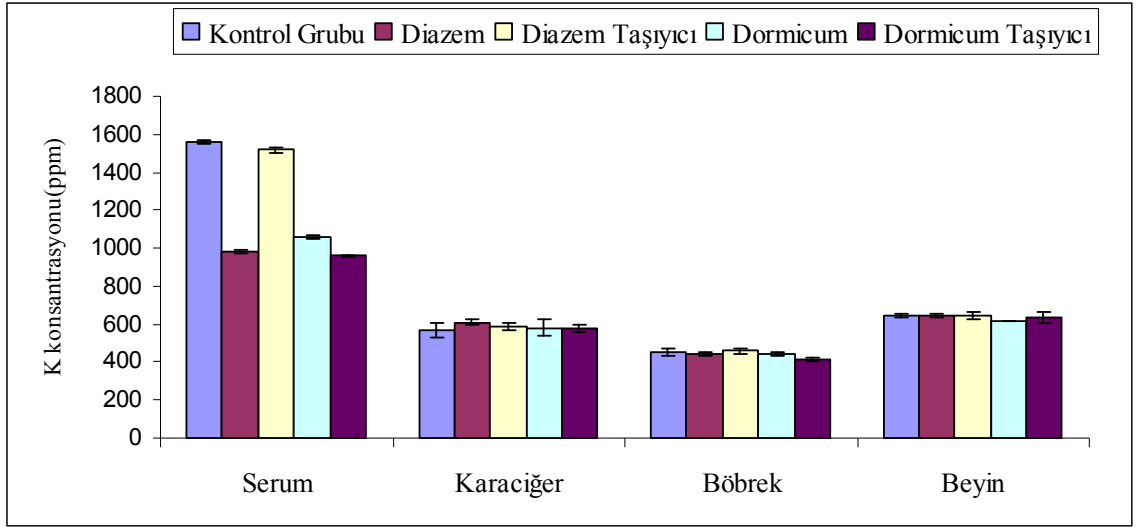
Şekil 4.8. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Na($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi



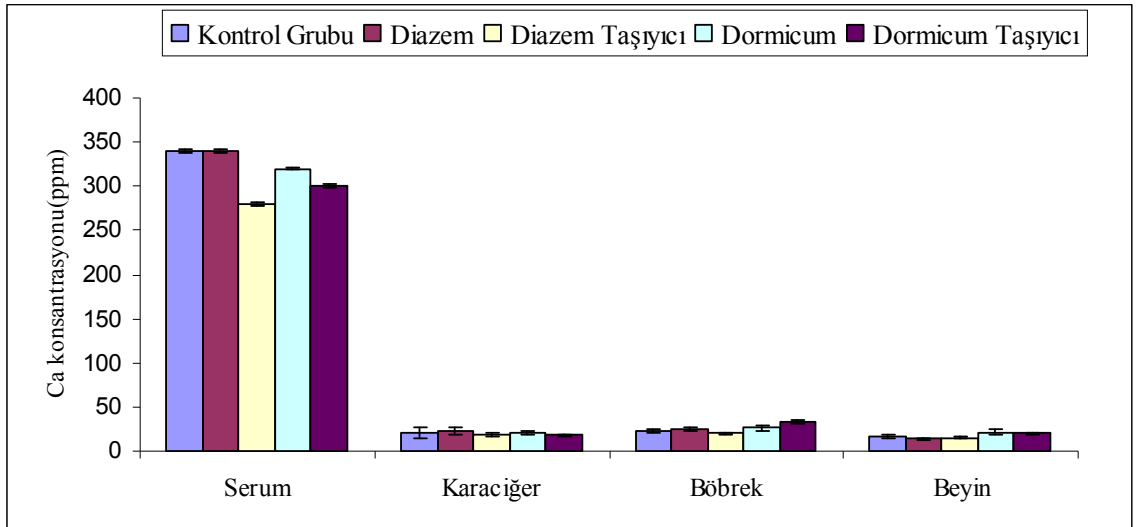
Şekil 4.9. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mg($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi



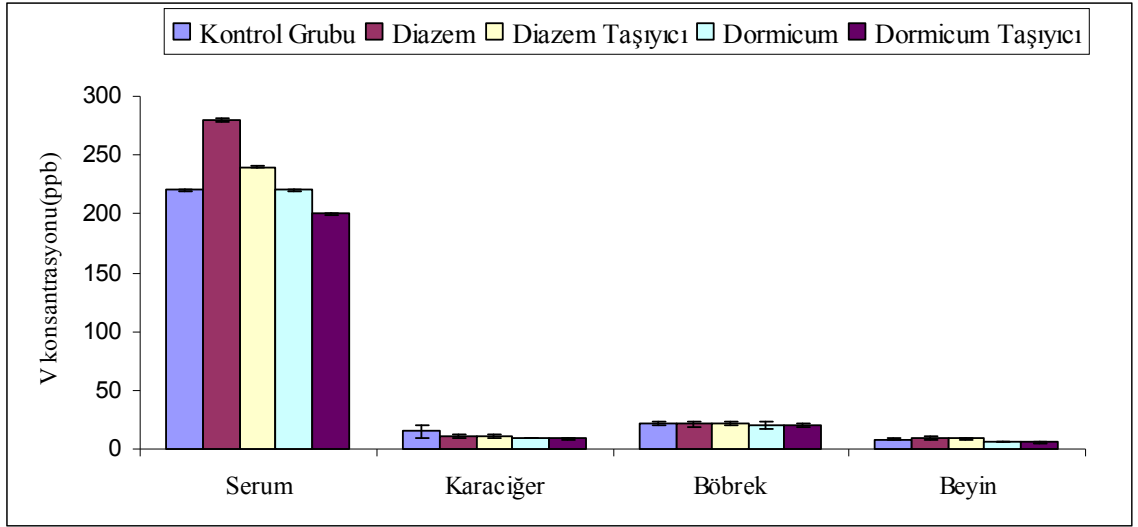
Şekil 4.10. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Al(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi



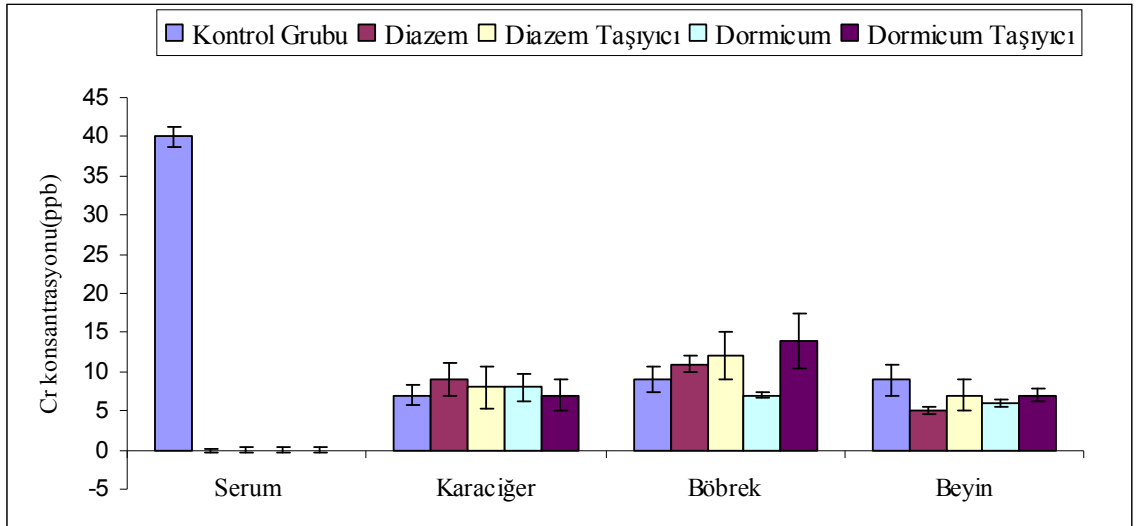
Şekil 4.11. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan K($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi



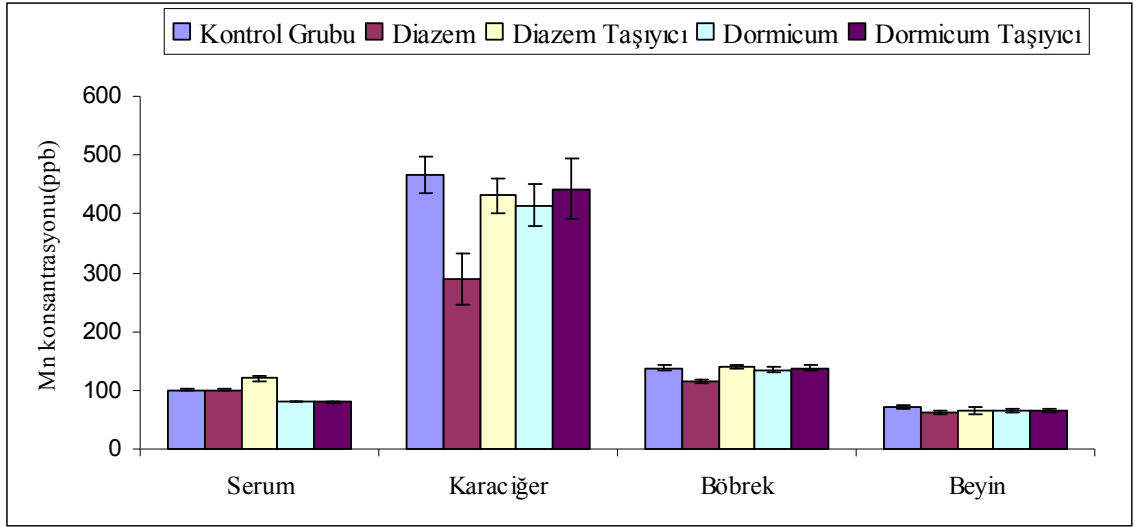
Şekil 4.12. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ca($\mu\text{g/g}$ yaş doku- $\mu\text{g/mL}$) elementinin miktar değişimi



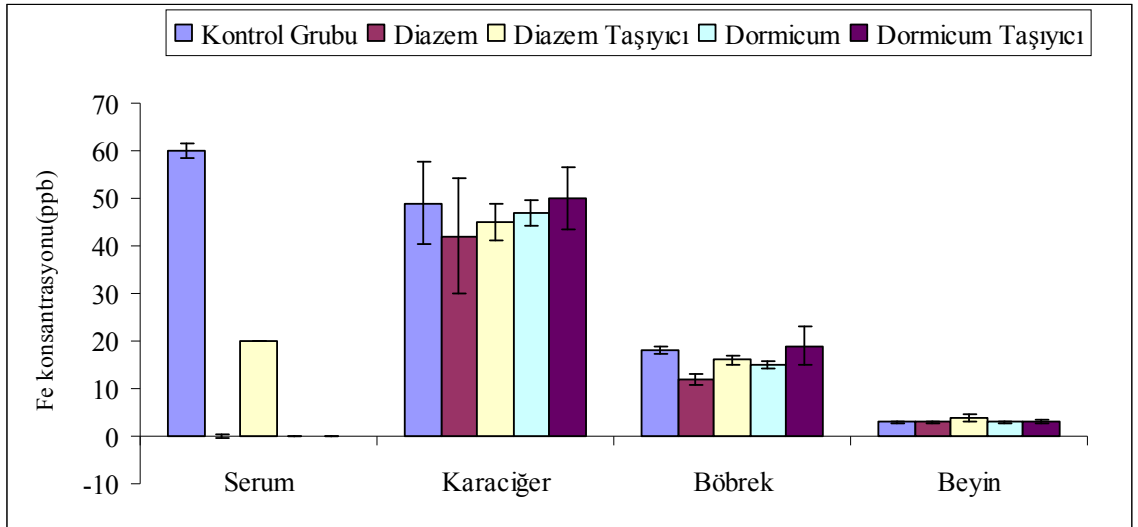
Şekil 4.13. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan V (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



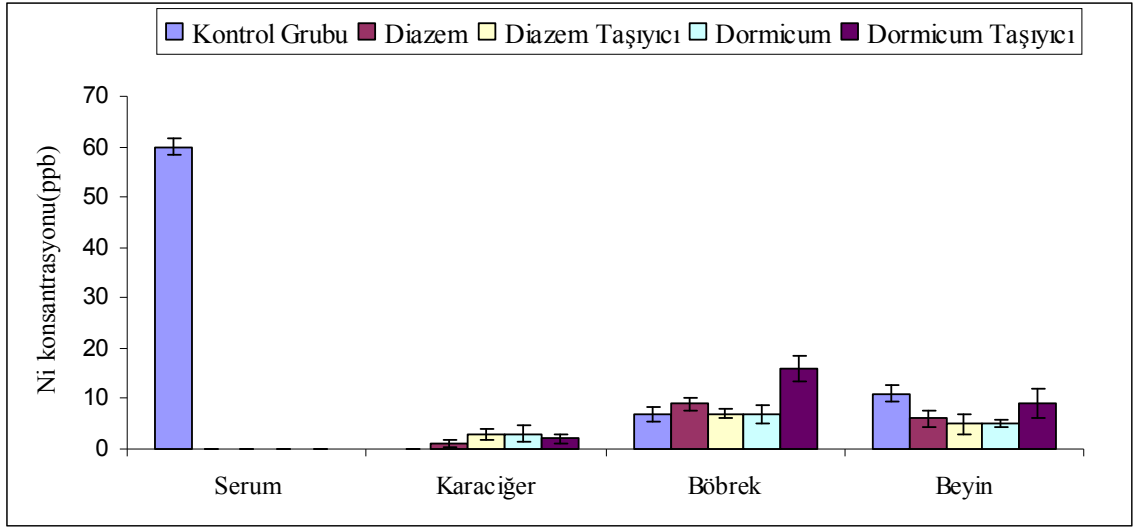
Şekil 4.14. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cr (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



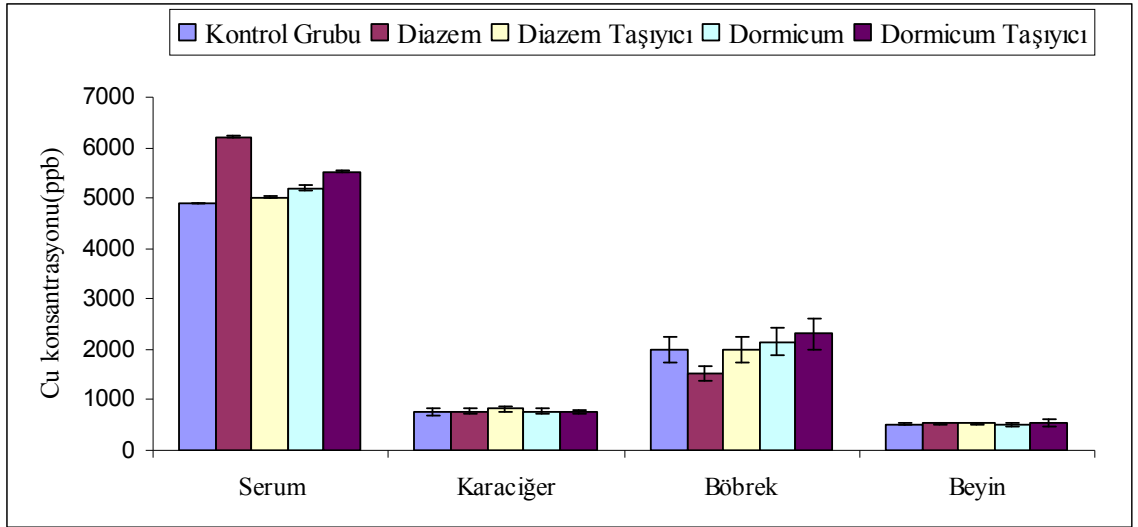
Şekil 4.15. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mn(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi



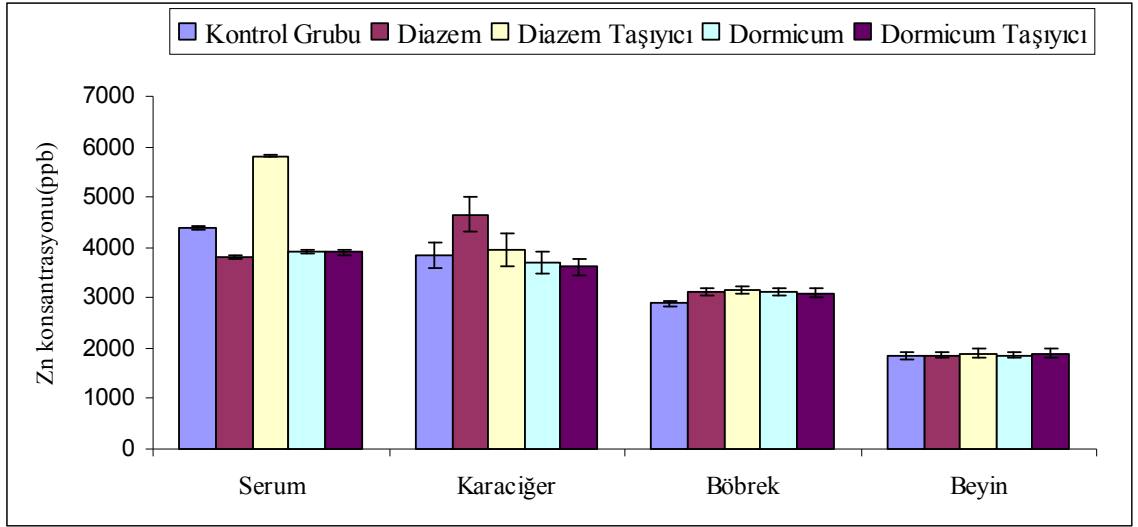
Şekil 4.16. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Fe(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi



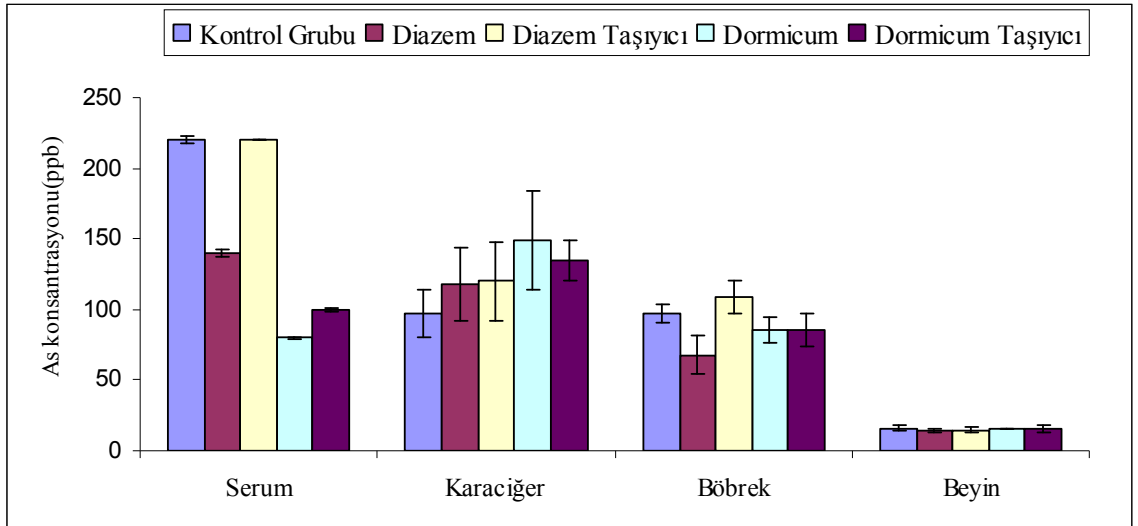
Şekil 4.17. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ni(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



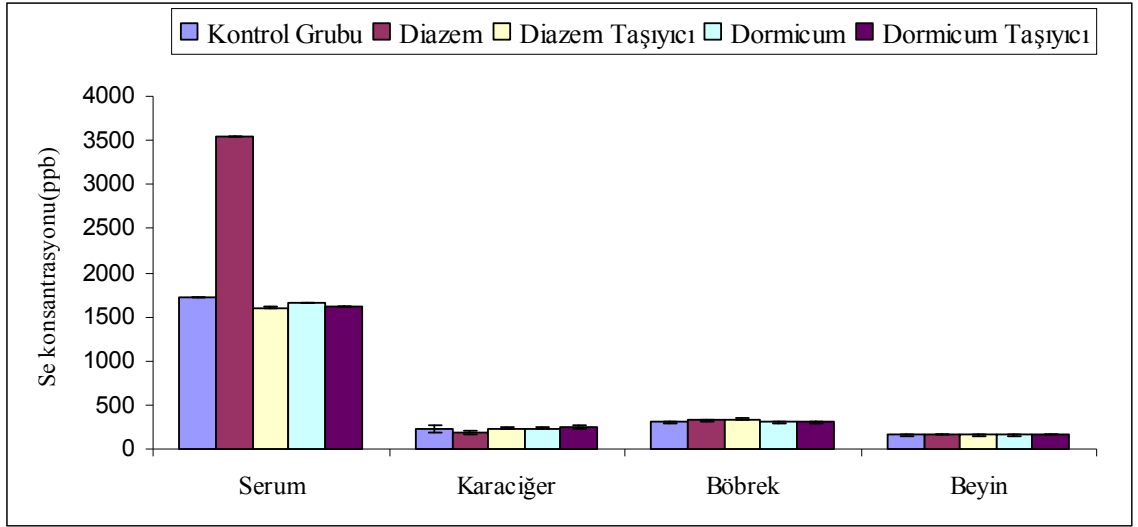
Şekil 4.18. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cu(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



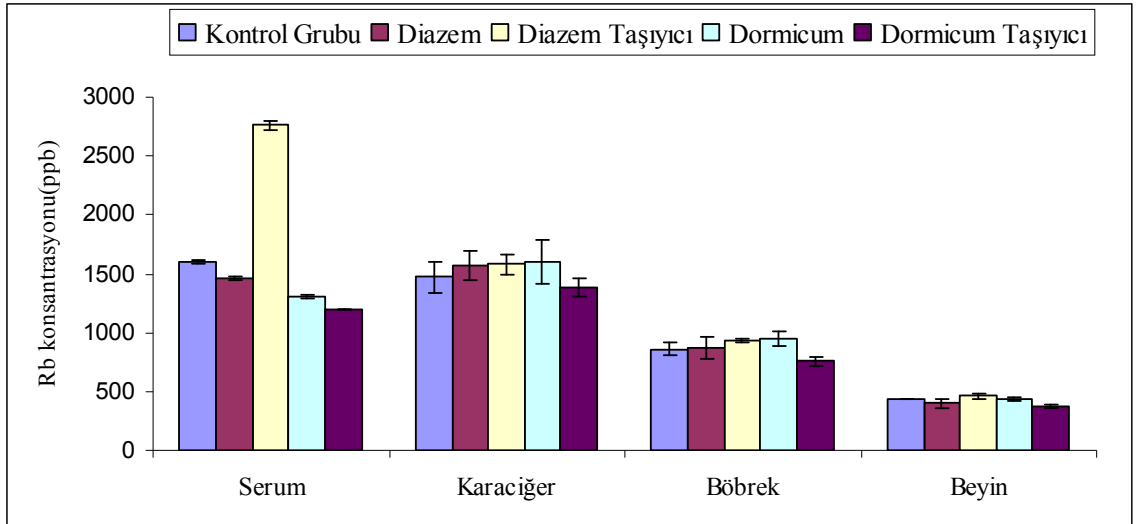
Şekil 4.19. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Zn(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



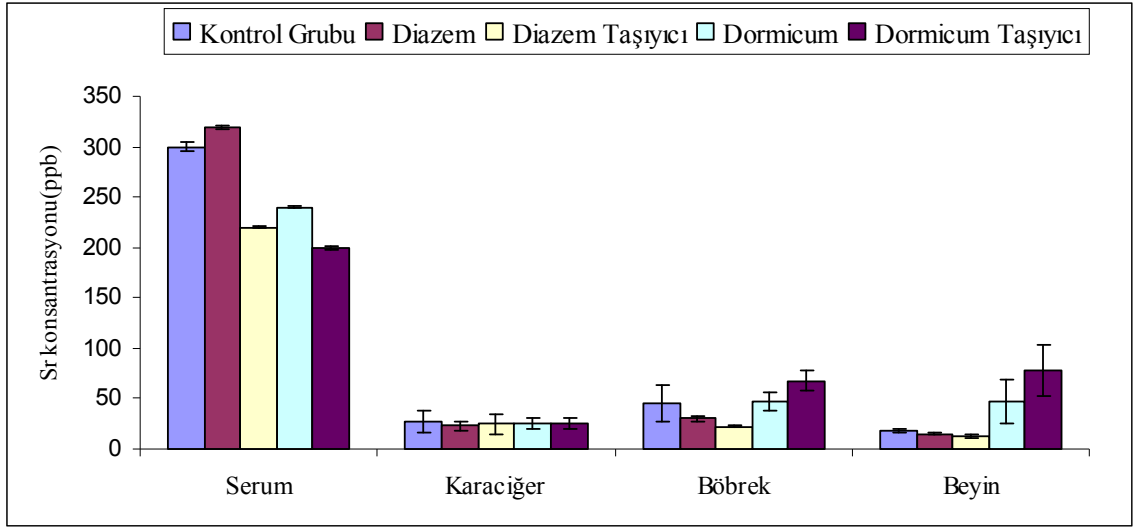
Şekil 4.20. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan As(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



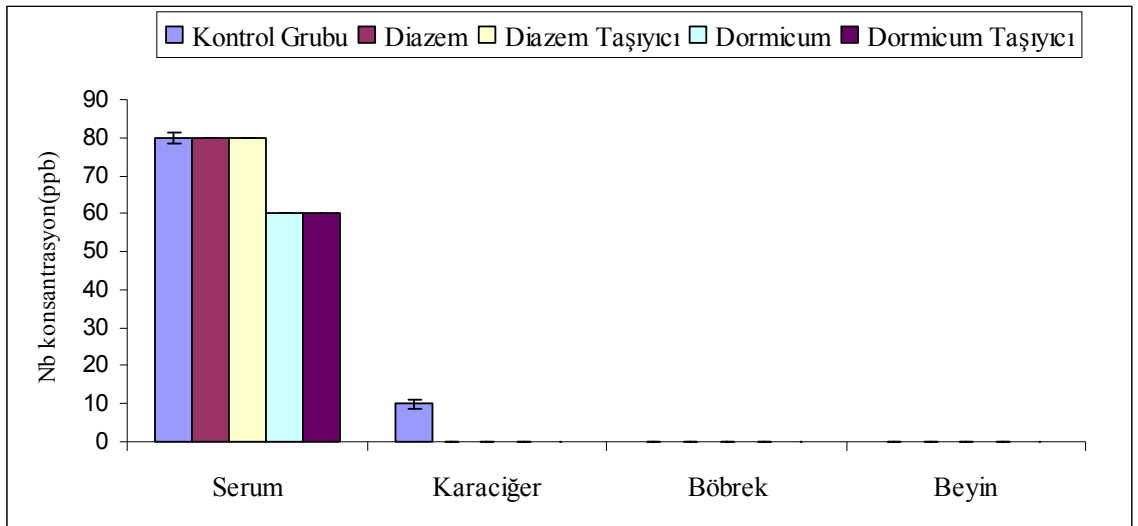
Şekil 4.21. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Se (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



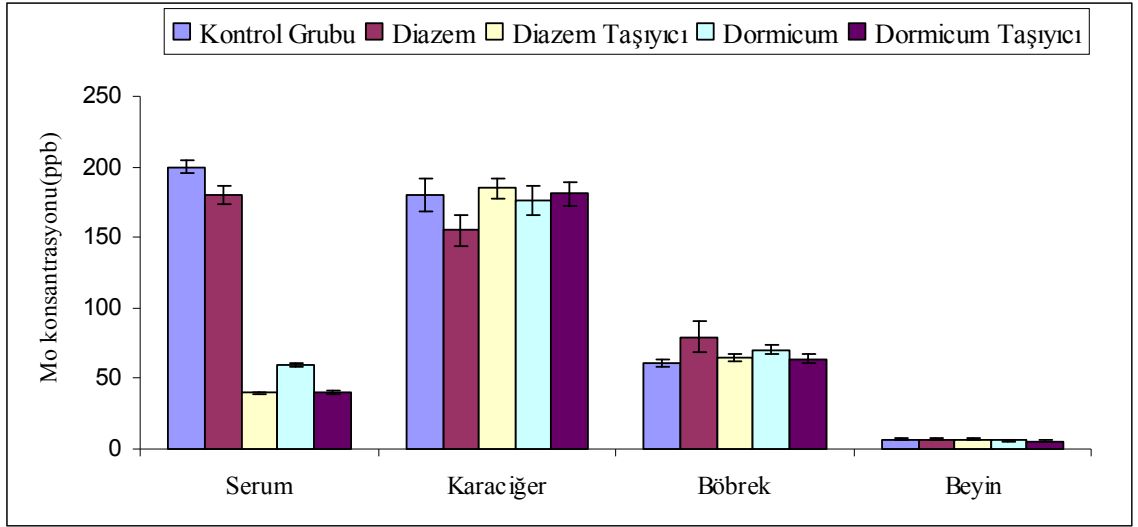
Şekil 4.22. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Rb (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



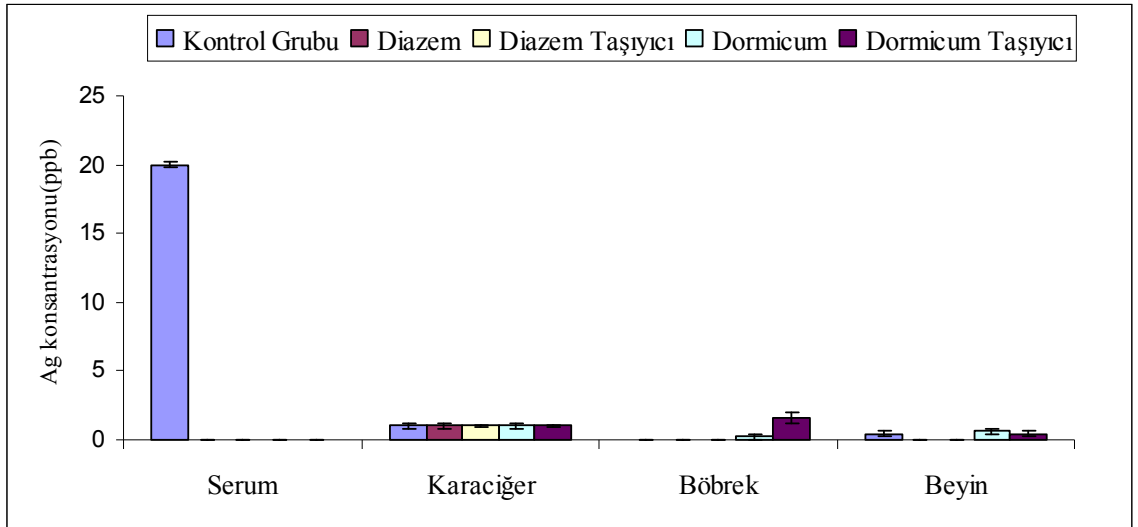
Şekil 4.23. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sr (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



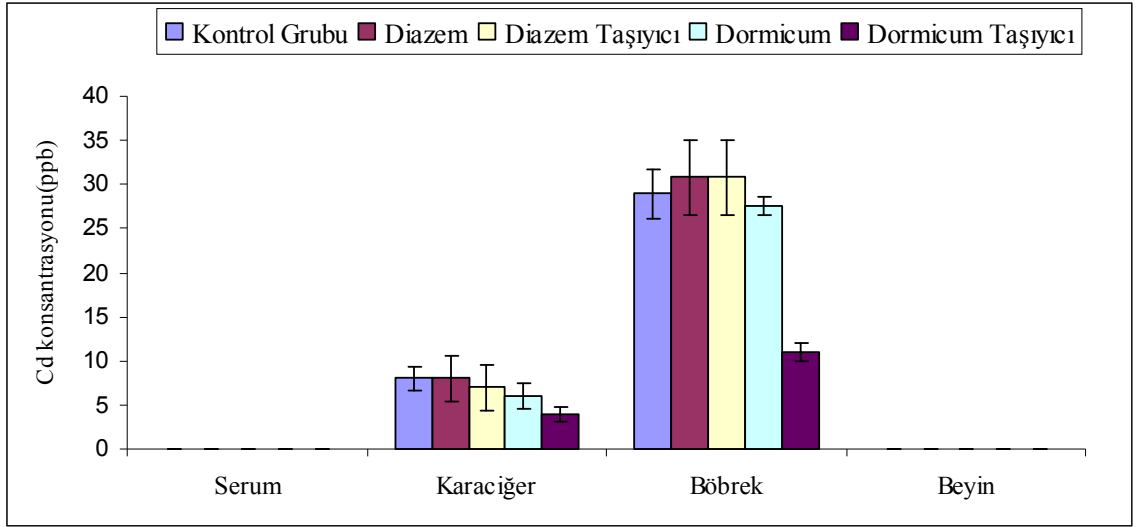
Şekil 4.24. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Nb (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



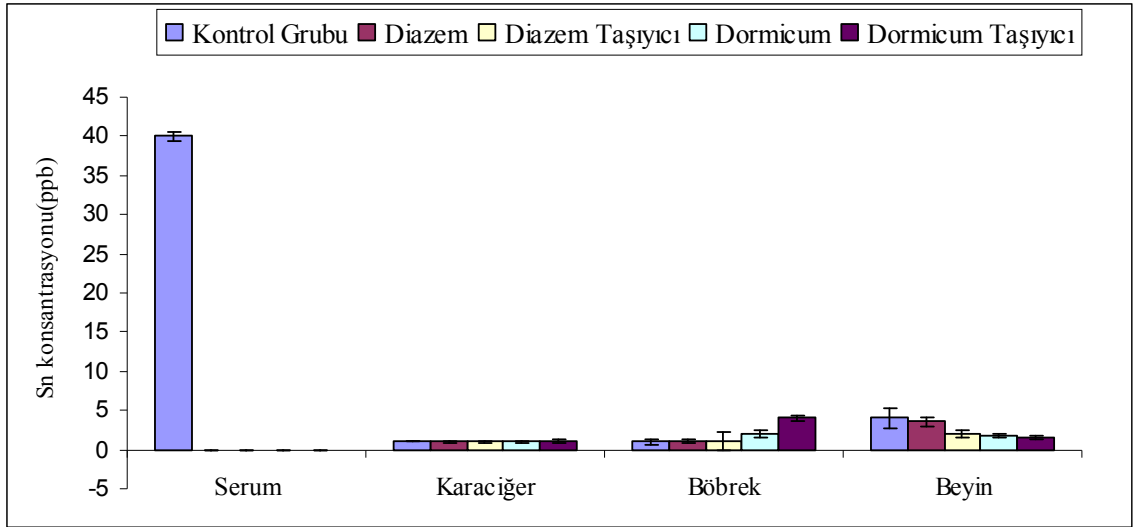
Şekil 4.25. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Mo (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



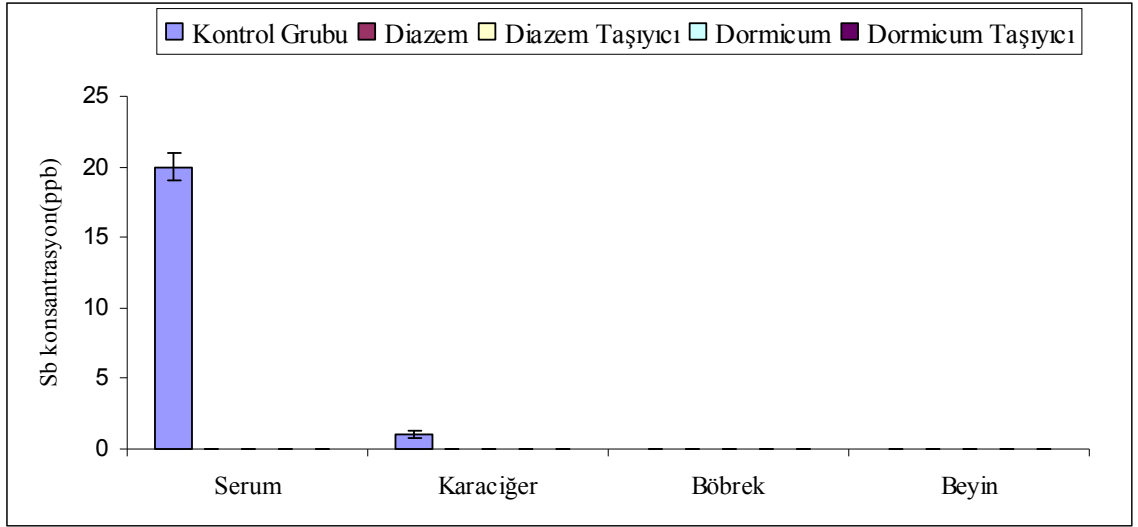
Şekil 4.26. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ag (ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



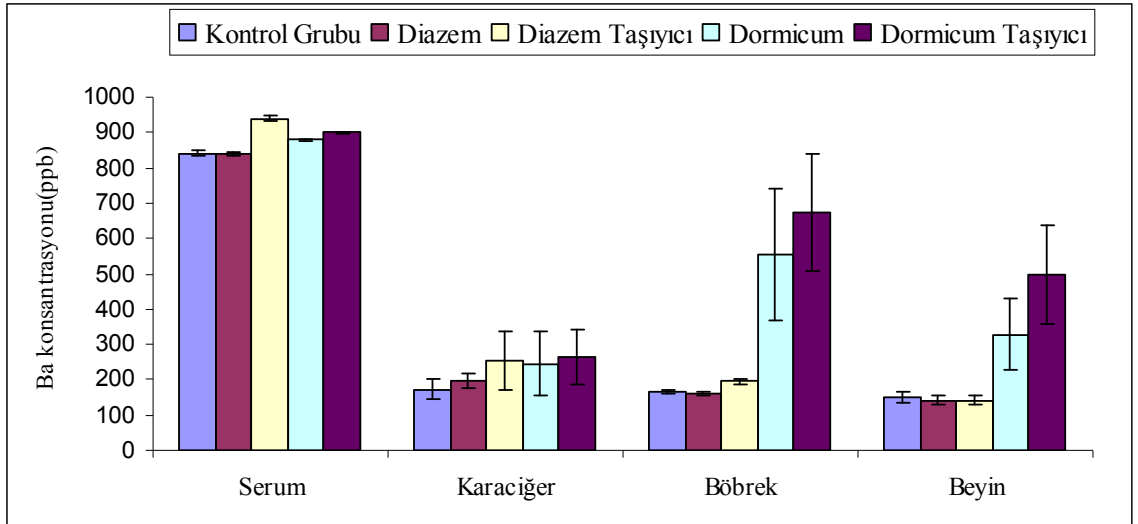
Şekil 4.27. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Cd(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi



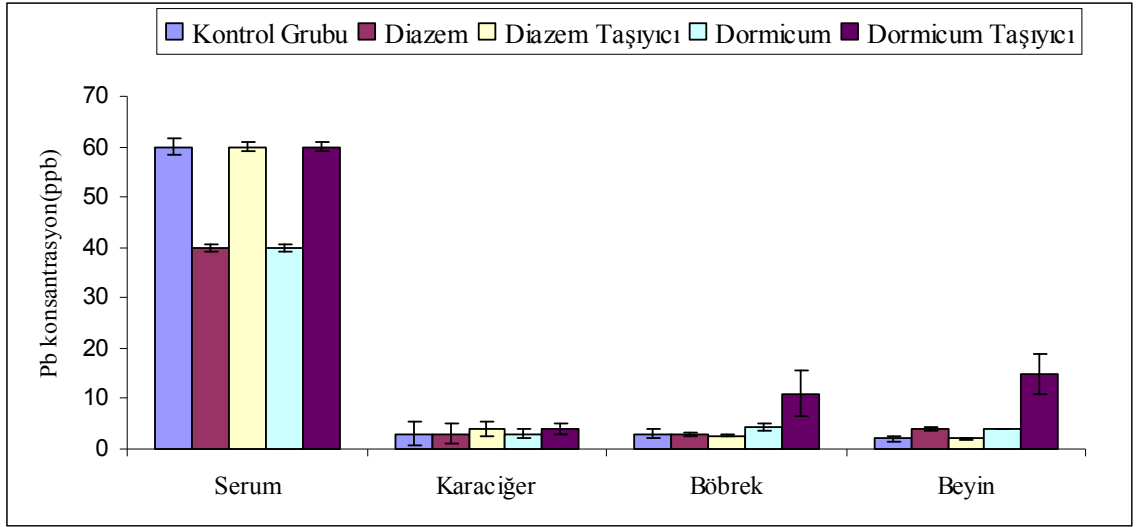
Şekil 4.28. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sn(ng/g yaş doku- ng/mL) elementinin miktar değişimi



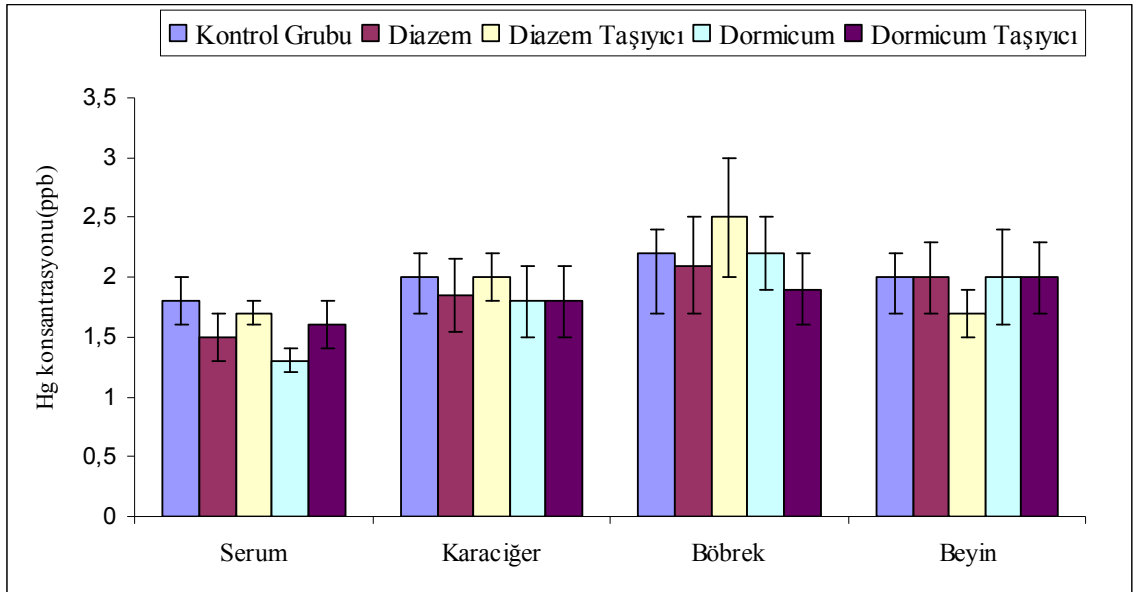
Şekil 4.29. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Sb(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



Şekil 4.30. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Ba(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



Şekil 4.31. ICP-MS ile serum ve yaş dokuda bulunan Pb(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi



Şekil 4.32. Grafit Fırınlı AAS ile serum ve yaş dokuda bulunan Hg(ng/g yaş doku-ng/mL) elementinin miktar değişimi

Çizelge 4.4. Serum örneklerinde ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları (n=5)

	Kontrol Grubu	Diazem	Diazem Taşıt	Dormicum	Dorm. Taşıt
Na(µg/mL)	10690-12910	10650-12220	8200-10740	9426-12810	8832-12120
Mg(µg/mL)	86-119	100-132	82-120	79-121	75-107
Al(ng/mL)	1438-2423	1645-2946	1487-2968	1371-2096	1364-2835
K(µg/mL)	843-1832	856-1163	1292-2726	633-1108	772-1020
Ca(µg/mL)	280-407	297-370	226-318	283-359	258-363
V(ng/mL)	202-254	242-321	211-281	211-236	183-211
Cr(ng/mL)	6-79	3-14	4-16	2-15	0,4-15
Mn(ng/mL)	59-158	76-143	86-253	76-84	70-107
Fe(ng/mL)	10-95	0,8-12	0,4-10	2-7	4-10
Co(ng/mL)	*	*	*	*	*
Ni(ng/mL)	32-97	*	*	*	*
Cu(ng/mL)	4802-7177	5729-10300	3292-5691	2960-5832	3255-5802
Zn(ng/mL)	3658-5411	3163-5593	3348-6389	2936-4498	3475-7033
As(ng/mL)	227-1998	73-335	216-1413	73-102	70-140
Se(ng/mL)	1504-1893	1313-1698	1303-1719	1369-1771	1479-1800
Rb(ng/mL)	1250-2632	1153-2225	1926-3684	1006-1619	989-1290
Sr(ng/mL)	226-405	264-351	193-236	227-259	174-247
Nb(ng/mL)	25-107	75-81	70-71	68-69	27-67
Mo(ng/mL)	72-324	58-339	28-67	30-200	20-70
Ag(ng/mL)	11-46	*	*	*	*
Cd(ng/mL)	4-21	*	*	*	*
Sn(ng/mL)	*	*	*	*	*
Sb(ng/mL)	4-44	3-5	3-4	2-3,8	3-3,6
Ba(ng/mL)	799-1077	780-1001	748-1150	694-920	699-935
Pb(ng/mL)	29-103	29-59	48-87	28-62	36-72

*: tayin sınırı altında

Çizelge 4.5. Beyin dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları (n=5)

	Kontrol Grubu	Diazem	Diazem Taşıt	Dormicum	Dorm. Taşıt
Na(µg/g)	187-199	184-205	164-205	177-198	167-200
Mg(µg/g)	28-29	27-29	25-30	27-37	25-70
Al(ng/g)	282-479	244-455	210-341	253-394	230-397
K(µg/g)	626-674	611-658	552-650	609-623	547-662
Ca(µg/g)	12--27	12--16	12--20	16-33	19-103
V(ng/g)	6--10	6--14	6--12	5--8	4--9
Cr(ng/g)	6--16	4--7	4--15	4--7	5--10
Mn(ng/g)	67-84	57-69	55-98	56-75	56-76
Fe(ng/g)	3--4	2,9-3,2	2--7	2,8-3,5	2--4
Co(ng/g)	*	*	*	*	*
Ni(ng/g)	7--17	3--12	4--10	3--8	3--19
Cu(ng/g)	454-599	460-608	489-565	421-567	415-658
Zn(ng/g)	1723-2084	1681-1941	1714-2036	1723-2043	1528-2077
As(ng/g)	11--20	11--17	11--18	14-17	11--28
Se(ng/g)	132-200	145-183	149-163	141-183	139-194
Rb(ng/g)	417-455	293-501	421-506	377-480	326-419
Sr(ng/g)	16-21	12--17	10--15	17-133	27-164
Nb(ng/g)	*	*	*	*	*
Mo(ng/g)	6--8	6--8	6--8	5--7	4--7
Ag(ng/g)	0,1-0,8	0,01-0,1	0,03-0,07	0,5-1	0,1-1
Cd(ng/g)	0,004-0,06	0-0,06	0-0,01	0,03-0,1	0,03-0,6
Sn(ng/g)	1--8	2--6	2--3	1--2	1--2
Sb(ng/g)	0	0	0	0	0-0,04
Ba(ng/g)	108-201	110-179	116-158	136-711	164-985
Pb(ng/g)	2--4	2--5	2--3	4--12	11--39

*-: tayin sınırı altında

Çizelge 4.6. Böbrek dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları (n=5)

	Kontrol Grubu	Diazem	Diazem Taşıt	Dormicum	Dorm. Taşıt
Na(µg/g)	274-288	229-291	256-349	244-281	243-301
Mg(µg/g)	29-35	32-39	32-36	32-38	32-36
Al(ng/g)	350-987	311-551	438-640	364-2893	1446-3075
K(µg/g)	375-462	425-466	391-477	412-471	376-423
Ca(µg/g)	18-24	21-30	18-21	21-37	30-85
V(ng/g)	20-26	17-36	20-33	17-38	16-35
Cr(ng/g)	6--15	8--14	6--23	7--9	11--42
Mn(ng/g)	119-147	109-126	133-152	126-152	124-151
Fe(ng/g)	15-20	10--16	13-19	12--17	11--39
Co(ng/g)	*	*	*	*	*
Ni(ng/g)	2--11	8--21	3--9	5--16	14-59
Cu(ng/g)	1306-2680	973-1805	1173-2548	1328-2905	1750-3486
Zn(ng/g)	2691-2998	2926-3285	2979-3416	2822-3229	2893-3399
As(ng/g)	78-121	45-124	68-132	66-112	56-115
Se(ng/g)	276-322	311-351	316-380	277-330	279-334
Rb(ng/g)	659-992	545-1082	882-972	853-1126	659-861
Sr(ng/g)	21-120	22-43	20-25	26-77	46-108
Nb(ng/g)	*	*	*	*	*
Mo(ng/g)	49-66	64-123	61-75	61-80	56-77
Ag(ng/g)	0,1-0,3	0,03-0,3	0,2-0,3	0,3-0,7	0,7-3
Cd(ng/g)	20-37	19-42	17-42	26-31	9--15
Sn(ng/g)	0,3-2	0,7-1	0,7-1	1--4	3--46
Sb(ng/g)	0,06-0,3	0,02-0,07	0,004-0,1	0,02-0,07	0,02-0,3
Ba(ng/g)	146-175	143-173	180-224	125-1090	280-1050
Pb(ng/g)	1--6	2--4	2--3	3--7	8--38

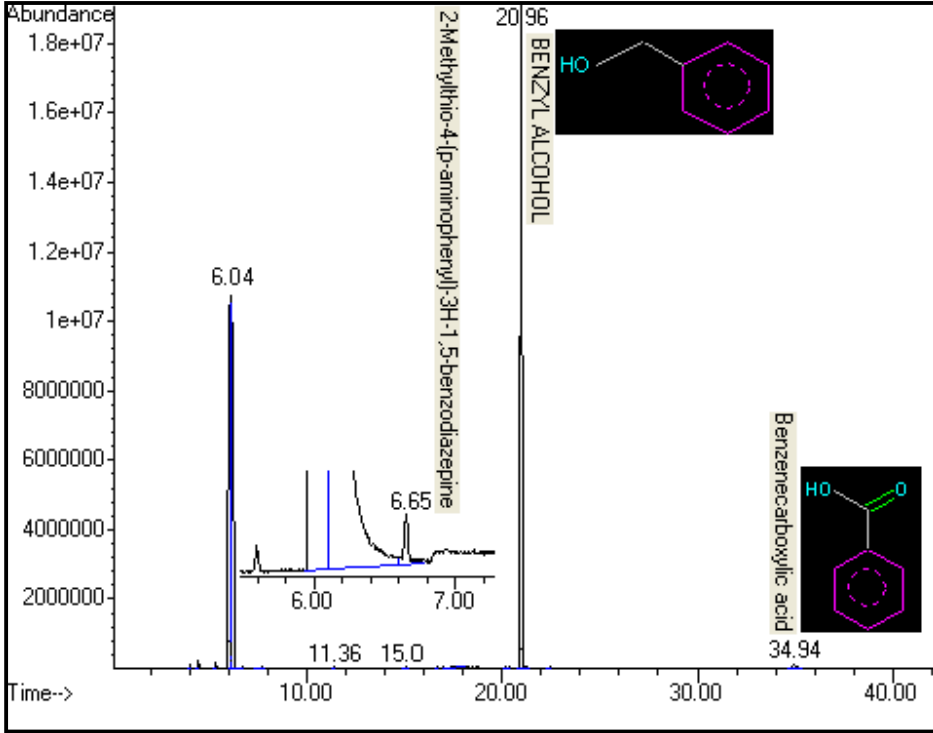
*-: tayin sınırı altında

Çizelge 4.7. Karaciğer dokusunda ICP-MS ile bulunan element konsantrasyonları (n=5)

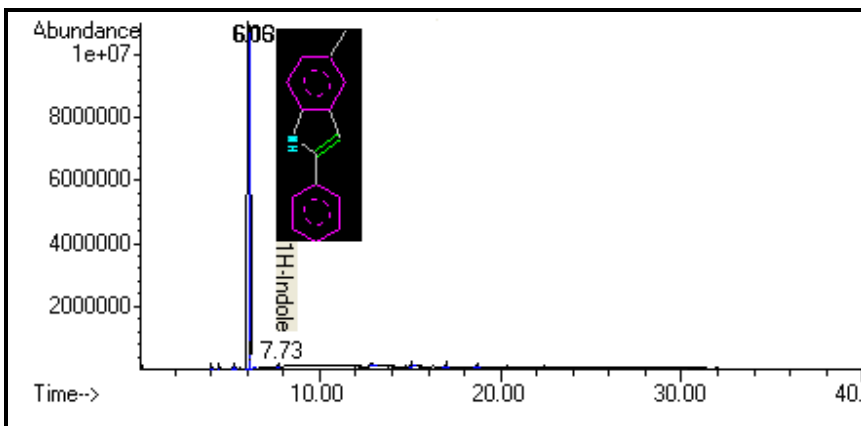
	Kontrol Grubu	Diazem	Diazem Taşıt	Dormicum	Dorm. Taşıt
Na(µg/g)	118-167	105-172	117-142	113-164	119-145
Mg(µg/g)	37-48	42-44	40-44	113-164	119-145
Al(ng/g)	318-686	324-493	364-1201/386	347-530	358-581
K(µg/g)	527-604	594-633	558-616	520-627	551-604
Ca(µg/g)	15-28	19-26	18-49	18-23	17-19
V(ng/g)	10--21	9--12	9--12/10	9--10	8--10
Cr(ng/g)	5--8	6--12	6--12	6--71	5--10
Mn(ng/g)	440-518	250-362	387-462	358-454	364-502
Fe(ng/g)	36-58	24-54	40-50	45-51	38-79
Co(ng/g)	*	*	*	*	*
Ni(ng/g)	*	0,7-3	0,5-13/6	1--54	0,7-3
Cu(ng/g)	682-853	720-858	734-869	694-849	685-797
Zn(ng/g)	3569-4204	4381-5268	3628-4500/3800	3503-3970	3442-3873
As(ng/g)	86-207	91-265	84-162	79-243	88-148
Se(ng/g)	191-288	154-207	220-247/227	223-253	219-275
Rb(ng/g)	1343-1673	1037-1736	1475-1706/1558	1192-1843	1307-1508
Sr(ng/g)	17-45	19-32	18-60	19-31	21-33
Nb(ng/g)	9--11	*	*	*	*
Mo(ng/g)	171-199	138-168	178-204	164-186	154-192
Ag(ng/g)	0,6-1,1	0,5-1,1	0,4-0,7	0,3-0,9	0,3-0,7
Cd(ng/g)	6--9	6--12	4--11/5	5--8	3--5
Sn(ng/g)	0,3-0,6	0,3-0,8	0,1-0,8	0,2-0,8	0,3-0,8
Sb(ng/g)	0,2-0,7	0,04-0,1	0,2-0,5	0,01-0,2	0,05-0,09
Ba(ng/g)	148-220	170-219	176-394/197	175-393	156-341
Pb(ng/g)	0,7-12	0,6-6	3--6	2--4	2--9

*-: tayin sınırı altında

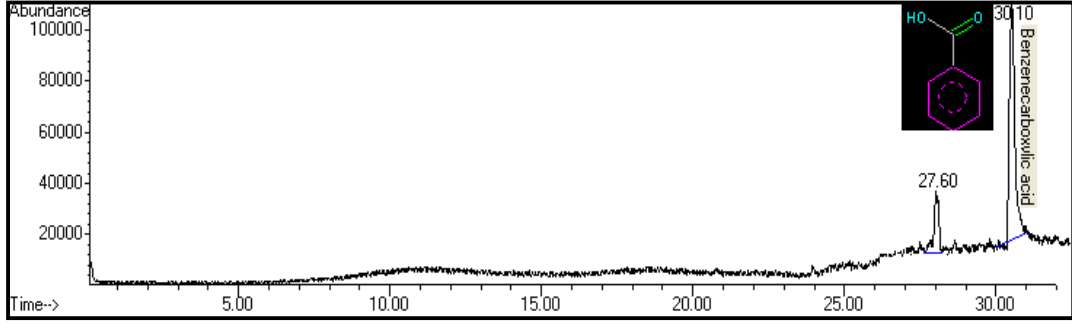
4.6. GC-MS analiz sonuçları; SPE kullanılarak ön işlemden geçirilmiş kan serum örnekleri GC-MS cihazına verilerek elde edilen analiz sonuçları Şekil 4.33, 4.34, 4.35, 4.36 ve 4.37’de verildi.



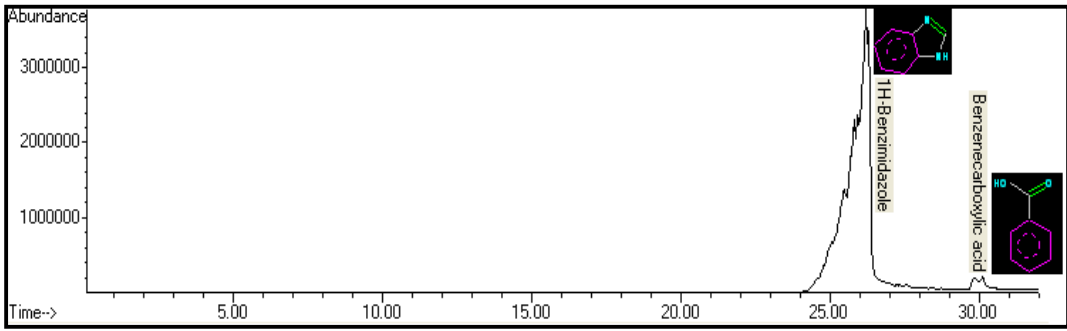
Şekil 4.33. Etken maddesi diazepam olan diazem ilacının GC-MS analiz sonucu.



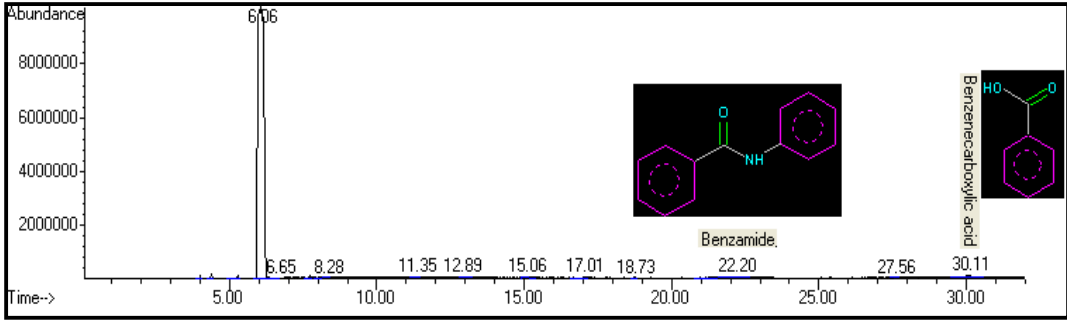
Şekil 4.34. Etken maddesi midazolam olan dormicum ilacının GC-MS analiz sonucu.



Şekil 4.35. Kontrol grubu deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.



Şekil 4.36. Diazem ilacının verildiği deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.



Şekil 4.37. Dormicum ilacının verildiği deney hayvanlarından alınan serum örneklerinden elde edilen GC-MS analiz sonucu.

4.7. IR analiz sonuçları; SPE kullanılarak ön işlemden geçirilmiş kan serum örneklerinden elde edilen spektrumlarda benzer fonksiyonel gruplardan dolayı belirgin bir farklılık gözlemlenemedi. Dolayısıyla GC-MS’de elde edilen etken maddelerin analizini desteklemek amacıyla yapılan bu çalışma aydınlatıcı olmadı.

5) TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. ICP-MS sonuçları; Beyin, karaciğer ve böbrek dokularından 0,3-0,4 gram yaş doku, kan serum örneklerinden de 1 mL alınarak Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb elementlerinin analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar dokularda ng/g, µg/g, serumda ise ng/mL ve µg/mL düzeylerinde bulundu. Yapılan çalışma sonunda elde edilen miktar Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizine ve Mann-WhitneyU testine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), anlamlı olmayan ($p>0,05$) artma- azalma yorumları yapıldı. Örnek bir istatistik tablosu EK 3 de.

Na; Yapılan çalışmada Şekil 4.8.'e göre sodyum düzeyinin bulunma oranı en fazla serumda görüldü. Dokularda ise sırasıyla böbrek, beyin ve karaciğerde sodyum miktarında azalma söz konusudur. Deneyde kullanılan diazem ve dormicum ilaçlarının ampul içeriklerinde sodyum bulunduğundan taşıyıcı gruplarada aynı oranda sodyum ilave edilen çözelti verildi. Serum örneğinde sodyum ilavesine rağmen her iki ilacın verildiği hayvanlarda, her iki ilacın taşıyıcısı ve kontrol grubuna göre kısmende olsa sodyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) artış gözlemlendi. Böbrek dokusunda diazem ve diazem taşıyıcı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,032$) artış gözlemlendi. Karaciğer ve beyin dokularında kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Mg; Yapılan çalışmada Şekil 4.9.'a göre magnezyum düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda magnezyum miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,014$) anlamlı artış, dormicum verilen grupta ise ($p<0,032$) anlamlı azalış söz konusudur. Ayrıca diazem ve dormicum ilaç gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,008$) azalma gözlemlendi. Beyin, böbrek dokuları ve serum örneklerinde kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Al; Yapılan çalışmada Şekil 4.10.'a göre alüminyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, beyin ve serumda alüminyum miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,024$) anlamlı azalış, dormicum verilen grupta ise ($p<0,024$)

anlamli artiş vardır. Ayrıca kontrol grubuna göre dormicum taşıyıcı grubunda çok belirgin ($p<0,008$) anlamli artiş söz konusudur. Beyin, karaciğer dokuları ve serum örneklerinde kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da anlamli bir değişim olmadı ($p>0,05$).

K; Yapılan çalışmada Şekil 4.11.'e göre potasyum düzeyinin bulunma oranı en fazla beyin dokusunda tespit edildi. Sırasıyla beyin, karaciğer, böbrek ve serumda potasyum miktarında azalma söz konusudur. Beyin dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,05$) anlamli azalma belirlendi. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,05$) anlamli artma belirlendi. Böbrek dokusunda dormicum ile taşıyıcı grubu arasında istatistiksel olarak ($p<0,032$) anlamli azalma söz konusudur. Serum örneğinde ise kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,05$) anlamli azalma gözlemlendi.

Ca; Yapılan çalışmada Şekil 4.12.'ye göre kalsiyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, serum ve beyinde kalsiyum miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaçta da ($p<0,004$) anlamli artma oldu. Ayrıca diazem ve taşıyıcı grubu arasında ($p<0,016$) anlamli azalma, dormicum ve taşıyıcı grubu arasında ($p>0,05$) anlamli olmayan artma söz konusudur. Karaciğer dokusunda kalsiyum düzeyi için anlamli bir değişim olmadı ($p>0,05$). Beyin dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,01$) anlamli azalma, dormicum verilen grupta ise ($p<0,01$) anlamli artma vardır. Ayrıca kontrol grubu ile dormicum taşıyıcı grubu arasında ($p<0,05$) anlamli artma vardır. Serum örneğinde ise diazem ve taşıyıcı grubu arasında ($p<0,032$) anlamli azalma gözlemlendi.

V; Yapılan çalışmada Şekil 4.13.'e göre vanadyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, serum ve beyinde vanadyum miktarında azalma söz konusudur. Serum örneğinde kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,004$) anlamli artiş oldu. Ayrıca her iki ilaç grubunda da ($p<0,016$) anlamli azalış oldu. Böbrek dokusunda vanadyum düzeyi için anlamli bir değişim olmadı ($p>0,05$). Beyin dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,05$) anlamli artiş, dormicum verilen grupta ise azalış gözlemlendi. Karaciğer dokusunda da kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda ($p<0,011$) anlamli azalış oldu.

Cr; Yapılan çalışmada Şekil 4.14.'e göre krom düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, beyin, karaciğer ve serumda krom miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda her iki ilaç grubu arasında ($p<0,011$) anlamlı azalış; kontrol grubuna göre ise diazemde artma, dormicumda azalma oldu. Ayrıca dormicum ile taşıyıcı grubu arasında çok belirgin ($p<0,008$) anlamlı artış söz konusudur. Beyin ve karaciğer dokularında krom düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Serum örneğinde ise kontrol grubuna göre hem her iki ilaç gruplarında hem de taşıyıcı gruplarında ($p>0,05$) anlamlı olmayan azalış söz konusudur.

Mn; Yapılan çalışmada Şekil 4.15.'e göre mangan düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda mangan miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma oldu (diazem için($p<0,008$), dormicum için($p<0,032$)). Beyin dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta ($p<0,05$) anlamlı azalış oldu. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda ($p<0,024$) anlamlı azalma gözlemlendi. Serum örneğinde ise mangan düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Fe; Yapılan çalışmada Şekil 4.16.'ya göre demir düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda demir miktarında azalma söz konusudur. Serum örneğinde ve böbrek dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda anlamlı azalma gözlemlendi (serum için ($p<0,003$), böbrek için ($p<0,039$)). Beyin ve karaciğer dokularında ise demir düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Ni; Yapılan çalışmada Şekil 4.17.'ye göre nikel düzeyinin bulunma oranı en fazla beyin dokusunda tespit edildi. Sırasıyla beyin, böbrek, serum ve karaciğerde nikel miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda ($p<0,008$) anlamlı artma gözlemlendi. Ayrıca ilaç gruplarıyla taşıyıcı grupları arasında da ($p<0,032$) anlamlı değişimler gözlemlendi (diazem ile taşıyıcısı arasında azalma, dormicum ile taşıyıcısı arasında artma). Beyin dokusunda kontrol grubuna göre dormicum verilmiş grupta ($p<0,016$) anlamlı azalış söz konusudur. Karaciğer dokusu ve serum örneğinde ise nikel düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Cu; Yapılan çalışmada Şekil 4.18.'e göre bakır düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, beyin ve serumda bakır miktarında azalma söz konusudur. Serum örneğinde kontrol grubuna göre diazemde ($p<0,042$) anlamlı artma, dormicumda ($p<0,042$) anlamlı azalma oldu. Böbrek, beyin ve karaciğer dokularında ise bakır düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Zn; Yapılan çalışmada Şekil 4.19.'a göre çinko düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda çinko miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre diazemde ($p<0,006$) anlamlı artma, dormicumda ($p<0,006$) anlamlı azalma oldu. Ayrıca her iki ilaç grubu arasında da ($p<0,008$) anlamlı azalma söz konusudur. Beyin dokusu ve serum örneğinde çinko düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Böbrek dokusunda ise kontrol grubuna göre her iki ilacında verildiği gruplarda ($p>0,05$) anlamlı olmayan artma gözlemlenmiştir.

As; Yapılan çalışmada Şekil 4.20.'ye göre arsenik düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda arsenik miktarında azalma söz konusudur. Serum örneğinde kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,001$) anlamlı azalma oldu. Karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ise arsenik düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Se; Yapılan çalışmada Şekil 4.21.'e göre selenyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, beyin ve serumda selenyum miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p>0,05$) anlamlı olmayan diazem için artma, dormicum için azalma oldu. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda ($p<0,024$) anlamlı azalma oldu. Beyin dokusu ve serum örneğinde ise selenyum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Rb; Yapılan çalışmada Şekil 4.22.'ye göre rubidyum düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda rubidyum miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer, beyin ve böbrek dokularında rubidyum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Serum örneğinde ise kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda ($p<0,006$) anlamlı azalma oldu.

Sr; Yapılan çalışmada Şekil 4.23.'e göre stronsiyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, beyin ve serumda stronsiyum miktarında azalma söz konusudur. Böbrek dokusunda kontrol grubuna göre diazemli gruptaki azalış, dormicumlu gruptaki artış istatistiksel olarak ($p<0,006$) anlamlıdır. Beyin dokusunda kontrol grubuna göre diazemli gruptaki azalış, dormicumlu gruptaki artış istatistiksel olarak ($p<0,001$) anlamlıdır. Beyin ve böbrek dokularının aksine serum örneğinde kontrol grubuna göre diazemli gruptaki artış, dormicumlu gruptaki azalış istatistiksel olarak ($p<0,008$) anlamlıdır. Karaciğer dokusunda ise stronsiyum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Nb; Yapılan çalışmada Şekil 4.24.'e göre niobyum düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer ve serumda niobyum miktarında azalma söz konusudur. Böbrek, karaciğer ve beyin dokularında niobyum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Serum örneğinde ise kontrol grubuna göre diazemli gruptaki artış, dormicumlu gruptaki azalış istatistiksel olarak ($p<0,009$) anlamlıdır.

Mo; Yapılan çalışmada Şekil 4.25.'e göre molibden düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, serum ve beyinde molibden miktarında azalma söz konusudur. Beyin ve böbrek dokularında molibden düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Karaciğer dokusunda ve serum örneğinde kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda (karaciğer için ($p<0,014$), serum için ($p<0,004$)) anlamlı azalma söz konusudur. Ayrıca diazem ve taşıyıcı grubu arasında da istatistiksel olarak ($p<0,016$) anlamlı azalma oldu.

Ag; Yapılan çalışmada Şekil 4.26.'ya göre gümüş düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusu ve serumda tespit edildi. Böbrek dokusunda gümüş düzeyi için anlamlı bir değişim olmazken ($p>0,05$) kontrol grubuna göre dormicum taşıyıcı grubunda çok belirgin ($p<0,008$) anlamlı artış söz konusudur. Karaciğer, beyin dokuları ve serum örneğinde gümüş düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Cd; Yapılan çalışmada Şekil 4.27.'ye göre kadmiyum düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek ve karaciğerde kadmiyum miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer, beyin dokuları ve serum örneğinde kadmiyum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Böbrek dokusunda ise kontrol grubuna göre

diazemli gruptaki artış, dormicumlu gruptaki azalış istatistiksel olarak ($p<0,015$) anlamlıdır.

Sn; Yapılan çalışmada Şekil 4.28.'e göre kalay düzeyinin bulunma oranı en fazla beyin dokusunda tespit edildi. Sırasıyla beyin, serum, karaciğer ve böbrekte kalay miktarında azalma söz konusudur. Karaciğer dokusu ve serum örneğinde kalay düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Beyin dokusunda kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,044$) azalma olmuştur. Böbrek dokusunda ise diazemli grupla dormicumlu grup arasında ($p<0,032$) anlamlı değişim gözlemlendi.

Sb; Yapılan çalışmada Şekil 4.29.'a göre antimom düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda ve serumda tespit edildi. Beyin, böbrek dokuları ve serum örneğinde antimom düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Karaciğer dokusunda ise kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,033$) anlamlı azalma söz konusudur.

Ba; Yapılan çalışmada Şekil 4.30.'a göre baryum düzeyinin bulunma oranı en fazla karaciğer dokusunda tespit edildi. Sırasıyla karaciğer, böbrek, beyin ve serumda baryum miktarında azalma söz konusudur. Beyin ve böbrek dokularında kontrol grubuna göre diazemli gruptaki azalış, dormicumlu gruptaki artış istatistiksel olarak (beyin için ($p<0,008$), böbrek ($p<0,017$)) anlamlıdır. Karaciğer dokusu ve serum örneğinde ise baryum düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

Pb; Yapılan çalışmada Şekil 4.31.'e göre kurşun düzeyinin bulunma oranı serum, karaciğer ve böbrekte yaklaşık olarak eşit miktarlarda tespit edilmiştir. Beyin dokusunda kurşun düzeyi az miktardadır. Karaciğer dokusu ve serum örneğinde kurşun düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Böbrek dokusundaki kontrol grubuna göre diazemli gruptaki azalış, dormicumlu gruptaki artış istatistiksel olarak ($p<0,006$) anlamlıdır. Ayrıca kontrol grubuna göre dormicum taşıyıcı grubundaki ve dormicum ile taşıyıcı grubu arasındaki artış istatistiksel olarak ($p<0,008$) anlamlıdır. Beyin dokusunda ise kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da ($p<0,001$) anlamlı artma söz konusudur. Ayrıca diazem ve taşıyıcı grubu arasındaki istatistiksel olarak ($p<0,032$) anlamlı azalış söz konusuyken dormicum ve taşıyıcı grubu arasında ($p<0,016$) anlamlı artış oldu.

5.2. Grafit Fırınli AAS'de civa elementinin sonucu;

Hg; Yapılan çalışmada Şekil 4.32.'ye göre civa düzeyinin bulunma oranı en fazla böbrek dokusunda tespit edildi. Sırasıyla böbrek, karaciğer, beyin ve serumda civa miktarında azalma söz konusudur. Beyin, karaciğer, böbrek dokularında ve serum örneğinde civa düzeyi için anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$).

5.3. Rutin Biyokimyasal analiz sonuçları; yapılan çalışmada elde edilen analiz sonuçları Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizine ve Mann-WhitneyU testine göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), anlamlı olmayan ($p>0,05$) artma- azalma yorumları yapıldı.

Glukoz; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı olmayan azalma oldu.

Kolesterol; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre diazem ilacı verilen gruptaki artış, dormicum ilacı verilen gruptaki azalış ($p>0,05$) anlamlı değildir.

AST; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre diazem ilacı verilen gruptaki artış, dormicum ilacı verilen gruptaki azalış istatistiksel olarak ($p<0,008$) anlamlıdır.

ALT; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre diazem ve dormicum verilen ilaç gruplarındaki azalma istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı değildir.

Trigliserid; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre diazem ve dormicum verilen ilaç gruplarındaki azalma istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı değildir.

Bun; Yapılan çalışmada (Şekil 4.6.) kontrol grubuna göre diazem ve dormicum verilen her iki ilaç gruplarındaki artış istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı değildir.

Albumin; Yapılan çalışmada (Şekil 4.7.) kontrol grubuna göre diazem ve dormicum verilen ilaç gruplarındaki azalma istatistiksel olarak ($p<0,002$) anlamlıdır.

Kreatinin; Yapılan çalışmada (Şekil 4.7.) kontrol grubuna göre diazem ve dormicum verilen ilaç gruplarındaki azalma istatistiksel olarak ($p>0,05$) anlamlı değildir.

Ürik Asit; Yapılan çalışmada (Şekil 4.7.) kontrol grubuna göre diazem ilacı verilen gruptaki artış, dormicum ilacı verilen gruptaki azalış istatistiksel olarak ($p<0,012$) anlamlıdır.

Total Protein; Yapılan çalışmada (Şekil 4.7.) kontrol grubuna göre her iki ilaç grubundaki azalma istatistiksel olarak ($p<0,013$) anlamlıdır.

5.4. MDA ve Enzim Aktivite sonuçları; yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar arasındaki farkların istatistiksel önem düzeyleri ‘One way ANOVA (Analysis of variances)’ testi ve ‘DUNCAN’ post testiyle belirlenmiştir.

Vücudumuzun metabolizmasının merkezi olarak bilinen karaciğere dışarıdan aldığımız ksenobiyotik ilaçların değişime uğradığı temel dokudur. Yapılan çalışmada MDA düzeyinde dormicum ilacının taşıyıcı grubunda kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Bu sonuç dormicum ilacının taşıyıcı grubunda belli oranda oksidatif stresi indüklediği ile açıklanabilir. CAT aktivitesinde kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı artış oldu ($p<0,05$). Dormicum ilacının taşıyıcı ve diazem ilacının verildiği gruplarda, diazem ilacının taşıyıcı ve dormicum ilacının verildiği gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlemlendi. Bu durum kontrol grubu dışındaki gruplarda serbest radikal hasarının olabileceği ile açıklanabilir. SOD aktivitesinde kontrol grubunun dışındaki gruplarda belirli oranda artma görülmekle beraber istatistiksel olarak anlamlı değildir. GSH-Px aktivitesinde ise kontrol grubuna göre diazem ilacının verildiği gruptaki düşüş hariç diğer gruplarda artış istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür.

Beyin dokusunda MDA düzeyinde diazem ve dormicum ilacı verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim olmadı ($p>0,05$). Buna karşın ilaçların taşıyıcı gruplarında anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p<0,05$). Bu dozdaki ilaç uygulamasının beyin dokusunda lipid peroksidasyonuna yol açmadığı görülmüştür. Enzim aktivitesi sonuçlarımızda CAT ve SOD değerlerinde değişimler olmamakla birlikte bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı. GSH-Px aktivitesinde ise kontrol grubundaki enzim aktivitesi diğer tüm gruplara göre anlamlı bir yükseliş gösterdi ($p<0,05$). GSH-Px deki bu değişim hücre düşük konsantrasyonunda hidrojen peroksit olduğu durumlarda bu enzimin görev aldığı bilgisiyle oluşmaktadır.

Böbrek dokusunda MDA düzeylerinde diazem ilacı ve diazem ilacının taşıyıcı gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gözlemlendi ($p<0,05$). Dormicum ilacı verilen grupta ise MDA düzeyi kontrolle istatistiksel olarak aynı grupta yer aldı. Dormicum ilacının taşıyıcı grubu MDA düzeyi bakımından kontrolle istatistiksel olarak aynı grupta yer alırken kendi ilacına yani dormicumuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlenmiştir. MDA düzeylerinden elde edilen sonuca göre lipid peroksidasyonunda

anlamli yükseliş olmadı. Enzim aktivitesi sonuçlarımızda CAT ve SOD değerlerinde değişimler olmamakla birlikte bu değişimler istatikselsel olarak anlamlı çıkmadı. GSH-Px aktivitesinde ise kontrol grubu en yüksek aktivite gösterirken diğer gruplardaki aktivite dormicum ilacının taşıyıcı grubu hariç istatikselsel olarak anlamlı azalış gösterdi.

Serum örneğinde MDA düzeyi, diazem ilacının taşıyıcı grubundaki düşüş hariç diğer gruplar istatikselsel olarak aynı grupta yer aldı. CAT aktivitesinde dormicum ilacı ve dormicum ilacının taşıyıcı gruplarında diğer gruplara göre yaklaşık 2-3 kat bir indüksiyon görünmektedir ve bu istatikselsel olarak anlamlıdır. SOD enzim aktivitesi kontrol grubu ve diazem ilacının verildiği grup istatikselsel olarak aynı gruptayken diğer gruplardaki düşüşler kontrole göre anlamlıdır ($p<0,05$). CAT ve SOD sonuçlarının ilaç ve taşıyıcı gruplarında kan parametrelerinde serbest radikal oluşumu düzeyinde bir değişiklik ortaya koyduğunu göstermektedir. GSH-Px sonuçlarımızda ise kontrol ve dormicum ilacının verildiği gruplar istatikselsel olarak birbirine benzerken diazem ilacının verildiği grupta anlamlı azalış ($p<0,05$), diazem ilacının taşıyıcı ve dormicum ilacının taşıyıcı gruplarında ise anlamlı artış görüldü ($p<0,05$).

İlaç uygulamaları ile hem dokularda hem de serumda enzim aktivitesi ve MDA düzeylerinde değişimler gözlemlenmiştir. Bu değişimlerin tamamı birbiriyle paralel olmamakla birlikte belli ölçüde serbest radikal oluşumuna neden olduğuyla açıklanabilir. Ayrıca ilaçların etkisini daha net görülebilmesi için hem farklı dozlarda hem de kronik uygulama sürecinin daha uzun olması gerektiği sonucuna varıldı.

5.5. CAT, SOD ve GSH-Px enzimleriyle kofaktör olarak görev alan metal düzeylerinin değişimi; yapılan çalışmada, serum örneğinde kontrol grubuna göre her iki ilacında verildiği gruplar arasında demir düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı azalma ($p<0,002$) söz konusuysen, CAT enzim aktivitesinde ise anlamlı değişme olmadı. Kontrol grubu ile diazem verilen grup arasında selenyum ve GSH-Px düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı azalma ($p<0,015$), ($p<0,004$) oldu. Ayrıca her iki ilaç grupları arasında GSH-Px düzeyinde istatikselsel olarak kontrol grubuna göre diazemli grupta anlamlı azalış ($p<0,002$), dormicumlu grupta ise anlamlı artış ($p<0,002$) oldu. SOD enzim aktivitesinde kontrol grubu ile dormicum verilen grup arasında istatikselsel olarak anlamlı azalış ($p<0,04$), çinko düzeyinde ise istatikselsel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$)

azalış söz konusudur. Diazemli grup ile taşıyıcı grubu arasında SOD düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalış ($p<0,04$) olurken çinko düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) artış oldu. Ayrıca her iki ilaç grupları arasında SOD düzeyinde istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı olmayan ($p>0,05$) azalış söz konusudur.

Beyin dokusunda kontrol grubu ile diazem verilen grup arasında demir düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) azalma oldu. Bu iki grup arasında GSH-Px düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalış ($p<0,04$) söz konusuyken, kontrol grubu ile diazem taşıyıcı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) azalış oldu. Çalışılan diğer ilaç grubu olan dormicum ile kontrol grubu arasında GSH-Px düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0,015$) söz konusuyken, kontrol grubu ile dormicum taşıyıcı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) artış oldu.

Beyin dokusunda mangan düzeyinde kontrol grubu ile diazem verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma ($p<0,015$) vardır.

Karaciğer dokusunda CAT enzim aktivitesinde kontrol grubu ile her iki ilaç grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı azalış (diazem için; $p<0,004$, dormicum için; $p<0,026$) oldu. Diğer yandan her iki ilaç grupları arasında CAT enzim aktivitesinde istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı olmayan azalış ($p>0,05$) söz konusudur. Ayrıca her iki ilacın taşıyıcı grupları arasında CAT enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış ($p<0,026$) söz konusuyken, demir düzeyinde ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) diazem taşıyıcı grubunda azalma dormicum taşıyıcı grubunda da artma oldu.

Karaciğer dokusunda mangan düzeyinde kontrol grubu ile her iki ilaç grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma (diazem için; $p<0,002$; dormicum için; $p<0,015$), çinko düzeylerinde ise diazemli grupta anlamlı artma ($p<0,026$) dormicumlu grupta da anlamlı azalma ($p<0,015$) oldu. Ayrıca her iki ilaç grupları arasında mangan düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma ($p<0,004$) söz konusu olup, çinko düzeyinde ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,002$) diazemli grupta artma, dormicumlu grupta ise azalma oldu.

Karaciğer dokusunda diazemli grup ile taşıyıcısı arasında mangan düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,002$) diazemli grupta azalma,

diazem taşıyıcı grubunda ise artma olmuştur. Aynı gruplar arasında çinko düzeyinde ise kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı ($p<0,026$) diazemli grupta artma, diazem taşıyıcı grubunda ise azalma oldu.

Karaciğer dokusunda kontrol grubu ile dormicum verilen grup arasında GSH-Px düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) artma varken her iki ilaç grupları arasında GSH-Px düzeyinde kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı ($p<0,026$) diazemli grupta azalma, dormicumlu grupta ise artma oldu. Ayrıca kontrol grubu ile dormicum verilen grup arasında selenyum düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı artma ($p<0,038$) vardır.

Karaciğer dokusunda diazemli grup ile taşıyıcısı arasında GSH-Px düzeyinde kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı ($p<0,015$) diazemli grupta azalış, diazem taşıyıcı grubunda ise artış söz konusudur.

Böbrek dokusunda kontrol grubu ile her iki ilaç grupları arasında demir düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı azalma (diazem için; $p<0,004$, dormicum için; $p<0,026$) oldu. Ayrıca diazemli grup ile taşıyıcısı arasında da istatikselsel olarak anlamlı artma ($p<0,015$) vardır. CAT enzim aktivite düzeyinde her iki ilaç grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) kontrol grubuna göre diazemli grupta azalma, dormicumlu grupta ise artma olurken bu iki ilaç grubu arasında demir düzeyinde de kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı azalma ($p<0,041$) oldu. GSH-Px düzeyinde kontrol grubu ile her iki ilaç grupları arasında istatikselsel olarak anlamlı azalma (diazem için; $p<0,026$, dormicum için; $p<0,002$) olurken bu iki ilaç grubu arasında selenyum düzeyinde de kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı ($p<0,041$) diazemde artma, dormicumluda azalma vardır. Ayrıca kontrol grubu ile diazem ve diazem taşıyıcı grupları arasında selenyum düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı artma (diazem için; $p<0,041$, diazem taşıyıcı için; $p<0,006$) söz konusudur.

Böbrek dokusunda kontrol grubu ile her iki ilaç grupları arasında çinko düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı artma (diazem için; $p<0,015$, dormicum için; $p<0,041$) olmuştur. Mangan düzeyinde ise her iki ilaç grubu arasında kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı azalma ($p<0,002$) söz konusudur. Kontrol grubu ile diazem verilen grup arasında mangan düzeyinde istatikselsel olarak anlamlı azalma ($p<0,004$) vardır. Ayrıca diazem ile taşıyıcı grubu arasında da mangan düzeyinde istatikselsel olarak

anlamli ($p<0,002$) kontrol grubuna göre diazemli grupta azalma, taşıyıcı grubunda artma söz konusudur.

Yapılan çalışmada doku ve serumdaki biyokimyasal olarak ölçtüğümüz enzimlerin kofaktör olarak görev alan (Fe, Mn, Zn, Se) metal düzeylerinde yukarıda bahsedildiği üzere istatistiksel olarak anlamlı değişimler görüldü. Enzim aktivitelerinde de değişimler görülmekle beraber bu değişimler metal düzeyindeki değişimlerle tam anlamıyla paralellik sergilememektedir. Bunun nedeni metal düzeylerindeki ilaç uygulamayla birlikte meydana gelen değişimlerin normal değerler skalası içinde olmasından kaynaklanabilir. Buna ilaveten dokulardaki serbest ve bağlı metal düzeyinin ayrı ayrı saptanması enzim aktivitesindeki değişimlerin daha doğru yorumlanmasına katkı sağlayacağı aşikardır.

5.6. GC-MS ile elde edilen etken madde sonuçları; yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre, ilaçlarda bulunan etken maddeler bire bir aynen kalmayıp vücuda enjekte edildiğinde yapıların değiştiği gözlemlendi. Yapıyı aydınlatmak amacıyla öncelikli olarak deneyde kullanılan ilaçlar örneklere uygulanan ön işlemlere maruz bırakılıp GC-MS'leri alındı. Sonrasında gerçek örneklerin spektrumları alınarak karşılaştırma yapıldı.

Diazepam; elde edilen Şekil 4.33'deki spektruma göre 6,65. dak. da kütlece %0,03 görülen 2- metilthio-4-(p-aminofenil)-3H-1,5-benzodiazepin piki diazem ilacında bulunan etken maddedir. Ampul şeklinde piyasadan satın alınan ilacın çözgeninde bulunan benzil alkol 20,96. dak. kütlece %25,67 gözlemlendi. Ayrıca 34,94. dak. da kütlece %34,94 benzenkarboksilik asit tespit edildi.

Midazolam; elde edilen Şekil 4.34'deki spektruma göre 7,72. dak. kütlece %0,17 görülen 1H-Indole piki etken maddeye aittir.

Kontrol Grubu; her hangi bir ilaç ve taşıyıcı verilmeyip normal bir şekilde beslenen deney hayvanlarından alınan kan örneklerinin serumları elde edilip ön işleme tabi tutulduktan sonra GC-MS leri alındı. Elde edilen Şekil 4.35'deki spektruma göre 30,10. dak. da kütlece %81,00 benzenkarboksilik asit piki gözlemlendi.

Diazepam verilen grup; altı hafta boyunca günde 2 doz diazem ilacı verilen deney hayvanlarından alınan kan örneklerinin serumları elde edilip ön işleme tabi tutulduktan

sonra elde edilen GC-MS spektrumu Şekil 4.36'da. 25,05.- 25,46.- 25,81.- 25,93.- 26,19. dakikalarında toplam kütlece %97,34 1H-Benzimidazol ve 30,11. dak. da kütlece %1,36 benzenkarboksilik asit pikleri gözlemlendi.

Midazolam verilen grup; altı hafta boyunca günde 2 doz dormicum ilacı verilen deney hayvanlarından alınan kan örneklerinin serumları elde edilip ön işleme tabi tutulduktan sonra elde edilen GC-MS spektrumu Şekil 4.37'de. 22,20. ve 22,46. dakikalarında toplam kütlece %0,52 Benzamit ve 30,11. dak. da kütlece %0,89 benzenkarboksilik asit pikleri gözlemlendi.

Benzodiazepinler ve metabolitleri tüm vücuda ve özellikle limbik sistem hipotalamus, talamus ve serebrospinal sıvıya dağılırlar. Birçoğu plazma proteinlerine bağlanır ve idrarla dışarı atılırlar [123].

Benzodiazepinler anesteziyolojide de yaygın kullanım alanı bulmuş ilaçlardır. Güvenli amnezi, aşırı sedasyona yol açmaksızın anksiyeteyi azaltmaları, operasyon sırasında kullanılacak narkotik dozunun azaltılmasına olanak sağlamaları nedeniyle hem preanestezik medikasyonda hem de cerrahi anestezi boyunca sıkça kullanılırlar [124].

Benzodiazepin doz aşımında solunum depresyonu, koma, nöbet ve hatta ölüm gözlenebilir [18].

İz elementler hücrelerin çoğalmaları için gerekli olan amino asitlerin ve proteinlerin sentezlerinde, besin ihtiyaçlarının giderilmesinde, hücre solunumunda, mevcut ve yeni oluşmuş hücrelerin zar yapılarının sağlamlığında önem taşımaktadırlar.

Çinko antioksidan etkili bir enzim olan süperoksit dismutazın ve dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan metalloproteinlerin yapısında yer alır [125]. Bağırsaklardan emilen çinko, transferrine bağlı olarak karaciğere taşınır [126]. Yapılan çalışmada her iki ilacın verildiği grupların serumlarındaki çinko miktarı aynıyken, Diazem ilacı verilen grupta karaciğer dokusunda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,008$) artış oldu. Bu durum bağırsaklarda dormicum ilacı kullanan kişiye göre diazem kullanan hastada çinko emiliminin daha fazla olduğu anlamına gelebilir. Çinkonun yara iyileşmesindeki etkileri Lavy [127] ile Pories ve ark [128]'nın çalışmalarıyla gösterilmiştir. Yara iyileşmesinde, çinkonun kollajen metabolizmasını ilgilendiren

çeşitli basamaklarda önemli rolleri vardır. Yapılan çalışmaya göre Diazem kullanan şeker hastaları için bu durum avantaj olacaktır. Büyüme ve gelişme geriliği, çinko eksikliğinin en önemli bulgularındır [127]. Yapılan çalışmaya göre gelişme çağında olan hastalarda dormicum ilacı kullanılmaması yararlı olabilir.

Kan üre azotu ve kreatinin düzeylerindeki yükselme veya kreatinin klirensindeki azalma ile böbrek yetmezliği tanısı kolaylıkla konur [129]. Yapılan çalışmada her iki ilacı kullanan deney hayvanlarından alınan serum örneklerinde BUN değerlerinde kontrol grubuna göre artma oldu. Ayrıca Kronik böbrek yetmezliği olan hastalar özellikle diyaliz hastaları alüminyum birikimi riski taşırlar [129]. Ayrıca çalışmada karaciğer dokusunda her iki ilaç grubunda alüminyum miktarında anlamlı olmayan ($p>0,05$) artma gözlemlendi. Demir eksikliği ve alüminyum fazlalığı kronik böbrek yetmezliğine neden olmaktadır [130]. Kontrol grubuna göre her iki ilaç grubunda da demir eksikliği hem serum örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,003$) hem de böbrek dokularında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,039$) gözlemlendi. Uzun süreli ve yüksek dozlarda diazem ve dormicum kullanımının kronik böbrek yetmezliğine neden olabilir.

ICP-MS analiz sonuçlarına göre her iki ilaç grubunda serum örneğindeki krom miktarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) olmayan azalma söz konusuysen rutin biyokimyasal analiz sonuçlarına göre de glukoz ve trigliserid sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) olmayan azalma söz konusudur. Kan glukoz konsantrasyonunun normal düzeni için krom gerekli bir eser elementtir. Sıçanlardaki deneysel krom eksikliği azalmış glukoz toleransına ve sonunda diyabet'e benzeyen bir duruma neden olur [131].

Serum örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) çinko değerlerinin değişmeyip magnezyum değerinin artması tipI diyabetle açıklanabilir.

Uzun süreli serum kalsiyum düzeyinin düşük olması katarakta, mental depresyona ve diğer psikiyatrik semptomlara neden olabilir [132]. Yapılan çalışmada dormicum verilen grupta kalsiyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) düşme gözlemlendi.

Karaciğer hastalığı kronik hepatitten siroza doğru ilerledikçe serum çinko konsantrasyonları azalırken, Cu konsantrasyonları ise artar [133]. Yapılan çalışmada

serum örneklerinde diazem ve dormicum verilen gruplarda istatikselsel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$) çinko düzeyinde azalma, bakır düzeyinde ise diazem grubu için istatikselsel olarak anlamlı ($p<0,042$) artma gözlemlendi.

Mangan vücutta başlıca karaciğer ve böbreklerde depo edilir. Lipid ve karbonhidrat metabolizmasına, hücre fonksiyonlarına ve hücre zarının yapımına katılır. Diyetle fazla miktarda mangan bulunması kandaki yağ asitleri kompozisyonunu değiştirir: kolesterol ve kandaki yağlar artar. Karaciğer ve kalbin normal fonksiyonları etkilenir [134, 135, 136]. Yapılan çalışmada literatürlerde olduğu gibi karaciğerdeki Mn değerleriyle kolesterol arasında istatikselsel olarak anlamlı ters doğru orantı vardır. Diazem verilende kolesterol değeri artmış Mn değeri azalmış. Dormicum verilende kolesterol değeri azalmış karaciğerde Mn değeri artmış olarak gözlemlendi.

Kronik karaciğer hastalığında düşük serum selenyum düzeyleri karaciğer hasarının patogeneğinde önemlidir. Bu element toksik oksijen radikallerinin düzeyini kontrol etmede önemli role sahiptir [137]. Karaciğer sirozunda serum düzeyi yapılan çalışmalarda düşük bulunmuştur [137, 138, 139]. Yapılan çalışmada da serum selenyum düzeyini kontrollere göre her iki ilaç grubunda da istatikselsel olarak anlamlı ($p>0,05$) olmayan düşüş olarak saptadık. Düşük serum selenyum düzeyi karaciğer hastalığının evresi ve albumin düzeyi ile ilişkilidir. Thuluvath ve arkadaşlarının [140] çalışmasında da serum selenyum ile albumin düzeyleri arasında doğru orantılı ilişkili bulunmuştur. Selenyum metabolizması karaciğerde olmaktadır. Karaciğer hastalığı selenyum düzeyini etkilemektedir [139]. Selenyum antioksidan etkiye sahiptir ve hücre membranları toksik oksijen metabolitlerinin zararlı etkilerinden korurlar [137, 141]. Bu nedenle selenyum ve albumin düzeyinin düşüklüğü karaciğer hastalığının ilerlemesinde önemli olabilir.

Karaciğer dokusu ağır metallerin taşınmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan metal bağlayıcı proteinler ve buna benzer proteinlerin başlıca sentez yerlerinden biri olduğu için, kadmiyum detoksifikasyonundaki işlevi oldukça fazladır. Buna rağmen, kadmiyum birikim düzeyi bakımından özellikle kronik çalışmalarda, karaciğer dokusuna oranla birikimin en fazla böbrek dokusunda olduğu belirtilmiştir [142, 143, 144, 145]. Yapılan çalışmada kadmiyum birikim düzeyi diğer çalışanların bilgileriyle örtüşmektedir.

MDA, hücre lipitlerin okside edilerek yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir ve lipit peroksidasyonu ürünlerinin %40'ını ifade etmekle beraber lipit peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edilmektedir [146]. Yapılan çalışmada karaciğer dokusunda MDA düzeyinde dormicum ilacının taşıyıcı grubunda kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Bu sonuç dormicum ilacının taşıyıcı grubunda belli oranda oksidatif stresi indüklediği ile açıklanabilir.

Kurşun bir tür nörotoksindir ve anormal beyin ve sinir sistemi fonksiyonlarına sebep olmaktadır. Çocuklar üzerinde yapılan araştırmalarda kanda kurşun miktarı arttıkça IQ seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Diğer taraftan kurşun nörotoksik özelliğinden dolayı sinir sisteminde iletimin azalmasına da yol açmaktadır. Yapılan çalışmada kontrol grubuna göre diazem verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p>0,05$), dormicum verilen grupta ise istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,03$) artış söz konusudur.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre;

- Diazem ve dormicum verilen şeker hastalarında Zn ve Cr düzeylerindeki değişimden dolayı yaralardaki hızlı iyileşme, hastadaki glukoz değerlerindeki azalmayla rahatlama sağladığına kanaat getirilebilir. Dolayısıyla bu ilaçların kullanımı avantaj olabilir.
- Magnezyum mineralin eksikliği; yorgunluk, kas spazmları, zihin karışıklığı, iştahsızlık, uykusuzluk gibi belirtilerle ortaya çıkar. Dormicum ilacının kullanımıyla Mg düzeyinde azalma oldu.
- Çalışmamızda Al düzeyi azalıp Ca ve K düzeylerinin arttığı görülmüştür. Aluminyun fazlalığı kronik böbrek yetmezliğine neden olmaktadır, uzun süreli dormicum kullanımı tehlikeli olabilir.
- Uzun süreli serum kalsiyum düzeyinin düşük olması katarakta, mental depresyona ve diğer psikiyatrik semptomlara neden olabilir. Çalışmamızda dormicum kullanımıyla Ca düzeyi azaldı.
- Çocuklar üzerinde yapılan araştırmalarda kanda kurşun miktarı arttıkça IQ seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada beyin dokusunda kontrol grubuna göre diazem verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan, dormicum verilen grupta ise istatistiksel olarak anlamlı artış oldu.

- Hastada her iki ilaç kullanımını zorunlu ise demir düzeyindeki azalma göz önünde bulunarak hastaya ayrıca kan yapıcı ilaç takviyesi yapılması da uygun olabilir.
- Yaptığımız çalışmada karaciğerdeki Mn değerleriyle kolesterol arasında istatistiksel olarak anlamlı ters doğru orantı vardır. Diazem verilende kolesterol değeri artmış Mn değeri azalmış. Dormicum verilende kolesterol değeri azalmış karaciğerde Mn değeri arttı.
- Her iki ilacın uzun süreli kullanımında selenyum ve albumin düzeyinin düşüklüğü nedeniyle karaciğer dokusunda hasara neden olabilir.
- Demir eksikliği ve alüminyum fazlalığı kronik böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Uzun süreli ve yüksek dozlarda diazem ve dormicum kullanımının kronik böbrek yetmezliğine neden olabilir.
- Karaciğer hastalığı kronik hepatitten siroza doğru ilerledikçe serum çinko konsantrasyonları azalırken, Cu konsantrasyonları ise artar. Yapılan çalışmada serum örneklerinde diazem ve dormicum verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olmayan çinko düzeyinde azalma, bakır düzeyinde ise diazem grubu için istatistiksel olarak anlamlı artma oldu.
- Kadmiyum birikim düzeyi bakımından özellikle kronik çalışmalarda, karaciğer dokusuna oranla birikimin en fazla böbrek dokusunda olduğu belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada kadmiyum birikim düzeyi diğer çalışanların bilgileriyle örtüşmektedir. İlerleyen yaşlarla böbrek ve kemiklerde önemli problemlere neden olmaktadır.
- İlaç uygulamaları ile hem dokularda hem de serumda enzim aktivitesi ve MDA düzeylerinde değişimler gözlemlenmiştir. Bu değişimlerin tamamı birbiriyle paralel olmamakla birlikte belli ölçüde serbest radikal oluşumuna neden olduğuyla açıklanabilir. Ayrıca ilaçların etkisini daha net görülebilmesi için hem farklı dozlarda hem de kronik uygulama sürecinin daha uzun olması gerektiği sonucuna varıldı.
- Yapılan çalışmada doku ve serumdaki biyokimyasal olarak ölçtüğümüz enzimlerin kofaktör olarak görev alan (Fe, Mn, Zn, Se) metal düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler görüldü. Enzim aktivitelerinde de değişimler görülmekle beraber bu değişimler metal düzeyindeki değişimlerle tam anlamıyla paralellik

sergilememektedir. Bunun nedeni metal düzeylerindeki ilaç uygulamayla birlikte meydana gelen değişimlerin normal değerler skalası içinde olmasından kaynaklanabilir. Buna ilaveten dokulardaki serbest ve bağlı metal düzeyinin ayrı ayrı saptanması enzim aktivitesindeki değişimlerin daha doğru yorumlanmasına katkı sağlayacaktır.

6) KAYNAKLAR

- [1] MW McKim, “Drugs and Behavior”, An Introduction to Behavioral Pharmacology, Forth Edition, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 2000.
- [2] PM Carvey, “Drug Action in the Central Nervous System”, New York, Oxford University Pres., 1998, p.123–150.
- [3] GJ Reves, PSA Glass, DA LubWarsky, “Nonbarbiturate Intravenous Anesthetics”, IN: Anesthesia, 5th. Ed. Miller RD (Ed), Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000, p.228–72.
- [4] SF Malamed, “Pharmacology”, In: Sedation A guide to patient management, Malamed SF(Ed), Missouri, Mosby Company, 1989, p.330–379.
- [5] M Lazzaroni, GB Porro, *Preparation, premedication and surveillance*, **Endoscopy**, 30, (1998); 53–60.
- [6] JG Whitwam, Ma D “Pharmacology”, In: Principles and Practice of Sedation, 1st ed, Whitwam JG, McCloy RF (eds), United Kingdom, Blackwell Science, 1998, p.8–54
- [7] Z Kayhan, “Klinik Anestezi”, 2. Baskı, Logos Yayıncılık Tic., 1997.
- [8] E Mutschler, G Geisslinger, HK Kroemer und M Schaferkorting, (2001), Mutschler, Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch Der Pharmakologie Und Toxikologie. 8. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- [9] İT Uzbay, *Madde Bağımlılığı*, **Silahlı Kuvvetler Dergisi**, 399, (2009); 99–115.
- [10] İT Uzbay, *Madde bağımlılığı ve Hiperikum perforatum'un madde bağımlılığı üzerine etkileri*, **Fitoterapi**, (2009).
- [11] İT Uzbay, “Nöropsikofarmakoloji”, Rasyonel İlaç Kullanımı, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2007.
- [12] İT Uzbay, ES Akarsu, SO Kayaalp, *Effects of flumazenil (Ro 15–1788) on ethanol withdrawal syndrome in rats*, **Arzneim Forsch-Drug**, 45, (1995); 120–124.
- [13] Türk Eczacıları Birliği Yayını/ Meslek İçi Sürekli Dergisi, **MİSED**, Aralık (2009) Sayı: 21- 22.
- [14] JCM Brust, “Neurological Aspects of Substance Abuse”, Second Edition, Elsevier Butterworth Heinemann, Philadelphia, PA, 2004.
- [15] R Noyes, MJ Garvey, BL Cook, PJ Perry, *Benzodiazepine withdrawal*, **J. Clin. Psychiatry**, 49: 10, (1988); 382-389.

- [16] E Schweiser, K Rickels, G Case, DJ Greenblatt, *Carbamazepine Treatment In Patients Discontinuing Long-Term Benzodiazepine Therapy - Effects On Withdrawal Severity And Outcome*, **Archives of General Psychiatry**, 48: 5, (1991); 448-452.
- [17] LG Miller, DJ Greenblatt, JG Barnhill, RI Shader, *Chronic Benzodiazepine Administration 1. Tolerance is Associated With Benzodiazepine Receptor Down-Regulation and Decreased Gamma-Aminobutyric Acida Receptor Function*, **J. Pharma. and Experimental Therapeutics**, 246:1, (1988); 170-176.
- [18] P Gaudreault, J Guay, RL Thivierge, I Verdy, *Benzodiazepine poisoning-Clinical and pharmacological considerations and treatment*, **Drug Safety**, 6:4, (1991); 247-265.
- [19] U Khanderia, SK Pandit, *Use of Midazolam Hydrochloride in Anesthesia*, **Clinical Pharmacy**, 7, (1987); 533-547.
- [20] JW Dundee, JF Nunn, JE Utting, BR Brown, *Pharmacology of Intravevous anesthetics and Hypnotics*, General Anesthesia, 5 th Ed. Butterworth and Co. Ltd. Cornwall 1989; 115-134.
- [21] J Shapira, A Kupietzky, A Kadari, AB Fuks, G Holan, *Comparison of oral midazolam with and without hydroxyzine in the sedation of pediatric dental*, **Pediatric Dentistry**, 26: 6, (2004); 492-496.
- [22] LJ Peterson, AT Indresano, RD Marciani, SM Roser, “Principles of Oral and Maxillofacial Surgery”, Vol III, J.B.Lippincott Comp., Philadelphia, 1992.
- [23] EŞ Karakaş, AT Demiryürek, Genel Anestezikler. Farmakoloji Ders Kitabı 1. Baskı, Ankara, Gazi Kitapevi, 2000; 238-256.
- [24] A Nilsson, *Pharmacokinetics of Benzodiazepines and Their Antagonist*, **Balliere’s Clinical Anesthesiology**, 53, (1991); 615-634.
- [25] HR Vinik, JG Reves, D Nixon, *Midazolam Induction and Emergence in Renal Failure Patients*, **Anesthesiology**, 55, (1981); 262.
- [26] JWC Peereboom, *General aspects of trace elements and health*, **The Science of the Total Environment**, 42: (1-2), (1985); 1–27.
- [27] F Kargin, K Seyrek, A Bildik, S Aypak, *Determination of levels of zinc, copper, calcium, phophorus and magnesium of chios ewes in the Aydın Region*, **Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences**, 28: 3, (2004); 609–612.
- [28] S Alexander, *Minerals, Trace Elements and Human Health*, 4th Edition, Life Sciences Pres, Tacoma, Washington, 1995. (Translated editions in Dutch (1995), Chinese (Mandarin) (1996), and Indonesian (Bahasa) (1996).

- [29] H Delhez, HW Prins, L Prinsen, CJA Vandenhamer, *Autoradiographic demonstration of the copper-accumulating tissues in mice with a defect homologous to Menkes' Kinky hair disease*, **Pathol. Res. Pract.**, 178:1, (1983); 48–50.
- [30] ME Reusser, DA Mccarron, *Micronutrient effects on blood pressure regulation*, **Nutrition Reviews**, 52:11, (1994); 367–375.
- [31] SC Buxaderas, R Farrerovira, *Whole blood and serum copper levels in relation to sex and age*, **Rev Esp De Fisiol.**, 42:2, (1986); 213–217.
- [32] LS Chawla, PN Verma, VK Puri, *Study of trace elements Zn, Fe, Cu, Mg in normal healthy population*, **J. Assoc. Phys. India.**, 3, (1982); 41–47.
- [33] R Braithwaite, “Clinical applications of trace element analysis”, Regional Laboratory for Toxicology and SAS Trace Element Service, City Hospital, Birmingham, 2004.
- [34] LE Feinendegen, K Kasperek, “Medival aspects of trace element research”, In: Bratter P, Schramel P (Eds), *Trace element analytical chemistry in Medicine and Biology*, Berlin, Walter de Gruyter & Co, 1980, p.1–36.
- [35] Who Food Additives Series: 24, *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants*, Cabridge.,
- [36] JL Greger, MJ Baier, *Excretion and Retention of Low or Moderate Levels of Aluminum By Human Subjects*, **Food and Chemical Toxicology**, 21:4 (1983); 473-77.
- [37] S Blumenthal, D Lewand, A Sochanik, DH Petering, *Inhibition of Na⁺-Glucose Cotransport in Kidney Cortical Cells By Cadmium and Copper: Protection By Zinc*, **Tox. and App. Pharm.**, 129:2, (1994); 177-187.
- [38] Kirli Su El Kitabı, Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara, 1975.
- [39] Y Şanlı, S Kaya, *Veteriner Klinik Toksikoloji*, 2. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara, 1995.
- [40] J Pisl, I Mikula, I Krupicer, J Snirc, *The Influence of Heavy Metal Emissions and Fasciola Hepatica Infestation on The Immunogenicity of a Listeria Vaccine*, **Vet. and Hum. Toxicol.**, 37:2, (1995), 110-112.
- [41] CN Niederman , D Blodgett , D Eversole , GG Schurig , CD Thatcher , *Effect of Copper and Iron on Neutrophil Function and Humoral Immunity of Gestating Beef Cattle.*, **J Am Vet Med Assoc.**, 204:11, (1994); 1796-1800.

- [42] ND Grace, J Lee, *Effect of Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Sc and Zn Supplementaion on The Elemental Content of Soft Tissues and Bone in Sheep Grazing Ryegrass White Clover Pasture*, **New Zeland J. Agr. Res.**, 33:4, (1990); 635-647.
- [43] www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1222/unite17.pdf
- [44] A Niemi, ER Venalainen, T Hirvi, J Hirn, E Karppanen, *The Lead, Cadmium and Mercury Concentrations in Muscle, Liver and Kidney from Finnish Pigs and Cattle During 1987-1988*, **Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung**, 192:5, (1991); 427- 429.
- [45] JU Skaare, NH Markussen, G Norheim, S Haugen, G Holt, *Levels of Polychlorinated Biphenyls, Organochlorine Pesticides, Mercury, Cadmium, Copper, Selenium, Arsenic, and Zinc in the Harbor Seal, Phoca Vitulina in Norwegian Waters*, **Environ Pollution**, 66: 4, (1990); 309–324.
- [46] World Health Organization, Principles and Methods for Assesing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals Criteria No. 180, 1995.
- [47] EW Taylor, *The Examination of Waters and Water Supplies* (Thresh, Beale and Suckiing), Seventh Edition, London, 1958.
- [48] İçme Sulan, TS 266/Haziran 1984 (Nisan 1986, Son değişiklik 1996).
- [49] R Parada, S Gonzalez, E Bergqvist, *Industrial Polution with Copper and Other Heavy Metals in a Beef Cattle Ranch*, **Vet. and Hum. Toxicol.**, 29:2, (1987); 122-126.
- [50] N Koizumi, Y Inoue, R Ninomiya, D Fujita, T Tsukamoto, *Relationship of Cadmium Accumulation to Zinc or Copper Concentration in Horse Liver and Kidney*, **Environ. Res.**, 49:1, (1989); 104-114.
- [51] <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/minimize/cadmium.pdf>
- [52] www.mhilmieren.com/digersayfalartez.doc
- [53] IARC, Ninth Report on Carcinogens, Cadmium and Cadmium Compounds, Known to be human carcinogen, First Annual Report on carcinogens as Reasonably Anticipated to be Human Carcinogens (1998); 1-8.
- [54] HA Schroeder, *Chromium deficiency in rats: a syndrome simulating diabetes mellitus with retarded growth*, **Journal Nutr.**, 88, (1966); 439-445.
- [55] J Barret, PO Brien, *Chromium (III) and the glucose tolerance factor*, **Polyhedron**, 4, (1985); 1-14.

- [56] RA Levine, DHP Streeten, RJ Doisy, *Effects of oral chromium supplementation on the glucose tolerance of elderly human subjects*, **Metabolism**, 17, (1968), 114.
- [57] VJK Liu, JS Morris, *Relative chromium response as an indicator of chromium status*, **Am Journal Clinical Nutr.**, 31, (1978); 972.
- [58] HA Schroeder, *The role of chromium in mammalian nutrition*, **Am J Clin Nutr.**, 21, (1968); 230.
- [59] RT Mossop, *Effects of chromium (III) on fasting glucose, cholesterol and cholesterol HDL levels in diabetics*, **Cent Afr J Med.**, 29, (1983); 80.
- [60] ET Tuormaa, *Chromium, Selenium, Copper and other Trace Minerals in Health and Reproduction*, **The Journal of Orthomolecular Medicine**, 15:3, (2000).
- [61] B Earley , RJ Fallon , M Murray , JA Farrell, *Immunological and haematological responses in calves supplemented with organic chromium and offered different calf milk replacers*, **Irish Journal of Agricultural And Food Research**, 41:1, (2002); 87-93.
- [62] <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs5.html>
- [63] RD Grubbs, ME Maguire, *Magnesium as a regulatory cation: Criteria and evaluation*, **Magnesium**, 6, (1987); 113-27.
- [64] GA Quamme, *Renal magnesium handling: New insights in understanding old problems*. **Kidney Int.**, 52, (1997); 1180-95.
- [65] BT Altura, BM Altura, A Gebrewold, *Magnesium-Deficiency, Noise Stress And Hypertension - Correlation Between Magnesium Levels And Microcirculatory Changes Invivo*, **Federation Proceedings**, 44: (1985); 1129-1129.
- [66] T Bohmer, A Rosetha, H Holm, *Bioavailability of oral magnesium supplementation in female students evaluated from elimination of magnesium in 24-hour urine*, **Magnesium And Trace Elements**, 9: (1990); 272-278.
- [67] JE Scoble, P Sweny, Z Varghese, J Moorhead, *Investigating hypomagnesaemia*, **The Lancet**, 1: (1987); 276.
- [68] ME Shils, *Experimental human magnesium deficiency*, **Medicine**, 48: (1969); 61-85.
- [69] J Alary, G Carrera, Y Lamboeuf, C Escricut, *Cadmium Induced Alterations of Chlorpropham Metabolism in Isolated Rat Hepatocytes*, **Toxicology.**, 59:2, (1989); 211-223.

- [70] World Health Organization, Cadmium, Environmental Health Criteria No. 134. Geneva., (1992).
- [71] Z Çobanoğlu, Genel Çevre Sağlığı Bilgisi, ISBN975-7572-72-6, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, (1995).
- [72] TOX Probe. Nickel and its compounds. Ten Carcinogens in Toronto 1993; B- 27-35.
- [73] *Suda Azot Kimyası ve Devri*, J. Am. Water Works Association, Vol. 62, (1970).
- [74] World Health Organization, Adler. P, Fluorides and Human Health,, Geneva, (1970).
- [75] PG Murphy, JR Bennett, DS Myers, MJ Davies, JG Jones, *The Effect of Propofol Anesthesia on Free Radical-Induced Lipid Peroxidation in the Rat Liver*, **Eur J Anaesthesiol.**, 10(4): (1993); 261-266.
- [76] A Fassoulaki, K Andreopoulou, G Williams, C Pateras, *The Effect of Single and Repeated Doses of Thiopentone and Fentanyl on Liver Function in the Rat*, **Anaesth Intensive Care.**, 14(2): (1986); 145-147.
- [77] T Okutomi, K Nomto, K Nakamura, F Goto, *Autogenous Production of Hydroxyl Radicals From Thiopental*, **Acta Anaesthesiol Scand.**, 39(3): (1995); 338-342.
- [78] D Bayram, *Sıçan Karaciğeri Üzerine Tiyopental Sodyum, Propofol, Etomidate ve Midazolam İsimli Anestezik Maddelerin Etkisinin Işık Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, yüksek lisans tezi, 2005.
- [79] D Bagchi, M Bagchi, EA Hassoun, SJ Stohs, *In vitro and In vivo Generation of Reactive Oxygen Species, DNA Damage and Lactate Dehydrogenase Leakage by Selected Pesticides*, **Toxicology**, 104: (1-3), (1995); 129-140.
- [80] S Bachowski, KL Kolaja, Y Xu, CA Ketcham, DE Stevenson, Walborg EF Jr, JE Klaunig, *Role of Oxidative Stress in the: Mechanism of Dieldrin's Hepatotoxicity*, **Annals of Clinical and Laboratory Science**, 27:3, (1997); 196-208.
- [81] C Data, J Gupta, A Sarkar, D Sengupta, *Effects of Organophosphorus Insecticide Phosphomidon on Antioxidant Defence Components of Human Erythrocyte and Plasma*, **Indian Journal of Experimental Biology.**, (1992); 352-354.
- [82] MB Kazanç, *Antioksidan Vitaminler*, **Sendrom**, 7: (1997); 14-23.
- [83] İ Akkuş, *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.

- [84] RJ Reiter, *Functional Aspects of the Pineal Hormone Melatonin in Combating Cell and Tissue Damage Induced by Free Radicals*, **European Journal of Endocrinology**, 134: (1996); 412-420.
- [85] HH Draper, M Hadley, *Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation*, **Methods Enzymol.**, 186: (1990); 421-431.
- [86] KH Cheeseman, TF Slater, *An Introduction to Free Radical Biochemistry*, **Br. Med. Bull.**, 49(3): (1993); 479-480.
- [87] T Isbir, *Antioksidan Sistemler*, İzmir Tabib Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, 1994; 92-98.
- [88] SL Marklund, *Analysis of Extracellular Superoxide Dismutase in Tissue Homogenates and Extracellular Fluids*, **Methods Enzymol.**, 186: (1990); 260-265.
- [89] B Halliwell, *Free Radical, Antioxidants and Human Disease: Curiosity, Cause, Consequence*, **The Lancet.**, 344: (1994); 721-724.
- [90] Y Niwa, K Ishimoto, T Kanoh, *Induction of Superoxide Dismutase in Leukocytes by Paraquat: Correlation with Age and Possible Predictor of Longevity*, **Blood**, 76: (1990); 835-841.
- [91] P Merry , M Grootveld , J Lunec, DR Blake, *Oxidative Damage To Lipids Within The Inflamed Human Joint Provides Evidence Of Radical-Mediated Hypoxic-Reperfusion Injury*, **American J. Clinical Nutrition**, 53:1, (1991); 362-369.
- [92] Y Kobayaski, Y Ishigame, T Usui, *Superoxide Dismutase Activity of Human Granulocytes and Lymphocytes*, **The Lancet.**, 16: (1977); 865-866.
- [93] JE Spallholz, *Selenium and Glutathion Peroxidase: Essential Nutrient and Antioxidant Component of the Immun System*, **Adv. Exp. Med. Biol.**, 262: (1990); 145-158.
- [94] M Repetto, RJ Ginestal, JR Vicente, F Yelamos, A Lardelli, *Acute Intoxication by Endosulfan*, **J. Toxicology.**, 30(4): (1992); 575-583.
- [95] JP Rambabu, MB Rao, *Effect of an Organochlorine and Three Organophosphate Pesticides on Glucose, Glycogen, Lipid and Protein Contents in Tissues of The Freshwater Snail Bellamya Dissimilis*, **Bull Environ Contam Toxicol.**, 53(1): (1994); 142-148.
- [96] J Debleecker, D Lison, KV Abeele, J Willems, J Reuck, *Acute and Subacute Organophosphate Poisoning in Rat*, **Neuro Toxicology**, 15(2): (1994); 341-348.

- [97] PJ Bushnell, KL Kelly, TR Ward, *Repeated Inhibition of Cholinesterase by Chlorpyrifos in Rats: Behavioral, Neurochemical and Pharmacological Indices of Tolerance*, **J. Pharmacol Exp Ther.**, 270(1): (1994); 15-25.
- [98] A Brezezinski, *Melatonin in Humans*, **The New England Journal of Medicine**, 336(3): (1997); 186-195.
- [99] http://www.forumsci.co.il/HPLC/spe_abic.pdf
- [100] M Zief, "Solid Phase Extraction for Sample Preparation", Phillipsburg: JT Baker, 2005.
- [101] D Stevenson, *Immuno-affinity solid-phase extraction*, **J. Chromatogr. B –Analy. Techno. Bio. Life Sciences**, 745:1, (2000); 39–48.
- [102] JM Rosenfeld, *Solid-phase analytical derivatization: Enhancement of sensitivity and selectivity of analysis*, **J. Chromatogr. A**, 843: (1-2), (1999); 19–27.
- [103] RE Majors, *Trends in sample preparation*, **LC GC Europe**, 16: 5, (2003); 1098-1113.
- [104] V Pichon, *Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water*, **J. Chromatogr. A**, 885: (1-2), (2000); 195–215.
- [105] CF Poole, AD Gunatilleka, R Sethuraman, *Contributions of theory to method development in solid-phase extraction*, **J. Chromatogr. A**, 885: (1-2), (2000) ; 17–39.
- [106] MC Hennion, *Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography*, **J. Chromatogr. A**, 856: (1-2), (1999); 3–54.
- [107] G Liljegren, *Development and Investigations of Novel Sample Preparation Techniques, Electrochemical Extraction and Evaluation of Miniaturized Analytical Devices Coupled to Mass Spectrometry*. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 54, Acta Universitatis Upsaliensis, (2005).
- [108] KC Van Horne, Ed., "Handbook of Sorbent Extraction Technology" Analytichem International, Harbour City, CA, 1985.
- [109] WW Christie, *Solid-Phase Extraction Columns In The Analysis Of Lipids*, http://www.lipidlibrary.co.uk/topics/spe_alm
- [110] Empore Products, *Extraction Disk Plates for SPE*, <http://www.3m.com/empore/products/plates>

- [111] Gen Pore Product Applications, Solid Phase Extraction (SPE) Filters, <http://www.genpore.com/app.htm>
- [112] Macherey-Nagel, "Sample Preparation, Solid Phase Extraction", In: Macherey-Nagel Catalogue, 2004, p.184-241.
- [113] J Haginaka, *Selectivity of affinity media in solidphase extraction of analytes*, **Trac- Trends in Analytical Chemistry**, 24: 5, (2005); 407-415.
- [114] AA Elian, *Detection of low levels of flunitrazepam and its metabolites in blood and bloodstains*, **Forensic Science International**, 101, (1999); 107-111.
- [115] I Rasanen, M Neuvonen, I Ojenperä, E Vuori, *Benzodiazepine findings in blood and urine by gas chromatography and immunoassay*, **Forensic Science International**, 112, (2000); 191-200.
- [116] C Staub, AE Mahjoub, *Simultaneous determination of benzodiazepines in whole blood or serum by HPLC/DAD with a semi-micro column*, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 23, (2000); 447-458.
- [117] C Staub, A Bugey, *Rapid analysis of benzodiazepines in whole blood by high-performance liquid chromatography: use of a monolithic column*, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 35, (2004); 555-562.
- [118] J Hackett, AA Elian, *Extraction and analysis of flunitrazepam/ 7-aminoflunitrazepam in blood and urine by LC-PDA and GC-MS using butyl SPE columns*, **Forensic Science International**, 157, (2006); 156-162.
- [119] I Rosborg, E Hyllen, J Lidbeck, B Nihlgard, L Gerhardsson, *Trace element pattern in patients with fibromyalgia*, **The Science of the Total Environment**, 385: 1-3, (2007); 20-27.
- [120] MN Uddin, VF Samanidou, IN Papadoyannis, *Validation of SPE-HPLC determination of 1,4-benzodiazepines and metabolites in blood plasma, urine and saliva*, **Liq. Chromatogr.**, 31, (2008); 3704-3717.
- [121] WE Lambert, S Wille, EA DeLetter, M Hapiette, KV Lien, C Overschelde, HV Peteghem, *Determination of antidepressants in human postmortem blood, brain tissue, and hair using gas chromatography-mass spectrometry*, **Int. J. Legal Med.**, 123, (2009); 451-458.
- [122] L Mercolini, R Mandrioli, C Iannello, F Matrisciano, F Nicoletti, *Simultaneous analysis of diazepam and its metabolites in rat plasma and brain tissue by HPLC-UV and SPE*, **Talanta**, 80: 1, (2009); 279-285.
- [123] DD Breimer, R Jochemsen: *Clinical pharmacokinetics of hypnotic benzodiazepines : a summary*, **Br J Clin Pharmacol.**, 16, (1983); S277-S278 .

- [124] K Hirota, K Matsunami, T Kudo, H Ishihara, A Matsuki, *Relation between bispectral index and plasma catecholamines after oral diazepam premedication*, **Eur J Anaesthesiol.**, 16: 8, (1999), 516– 518.
- [125] EF Rostan, HV DeBuys, DL Madey, SR Pinnell, *Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin*, **Int J of Dermatol.**, 41:9, (2002); 606-611.
- [126] H Ülger, A Coşkun, *Çinko: Temel Fonksiyonları ve Metabolizması*, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 5:2, (2003); 38-44.
- [127] UI Lavy, *The effect of oral supplementation of zinc sulphate on primary wound healing in rats*, **Br J Surg.**, 59, (1972); 194-196.
- [128] WJ Pories, JH Henzel, CG Rob, *Acceleration of healing with zinc sulphate*, **Ann Surg.**, 165, (1967); 432-436.
- [129] AU Yalçın, T Akpolat, Kronik Böbrek Yetmezliği, 13.Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi, 2011.
- [130] A Türkmen, Renal Anemi Tedavisi, 11.Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi, 2009.
- [131] K Schwartz, W Mertz, *Chromium (III) and the glucose tolerance factor*, **Arch Biochem Biophys.**, 85, (1959); 292-295.
- [132] Doç.Dr. Mustafa ALTINIŞIK, ADÜTF Biyokimya AD, 2006, ders notları.
- [133] Q Rahopoto, S Shaikh, AA Mastoi, S Aalmani, *Serum Copper And Zinc Concentration In Patients With Chronic Hepatitis C*, **Medical Channel**, 16:1, (2010); 27-29.
- [134] I Akın, İz Elementler ve Sığır Tırmak Hastalıkları, Veteriner Cerrah Dergisi, 10: (3-4), (2004); 54-61.
- [135] TT Tiemann, LH Franco, M Peters, E Frossard, M Kreuzer, CE Lascano, HD Hess, *Effect of season, soil type and fertilizer on the biomass production and chemical composition of five tropical shrub legumes with forage potential*, **Grass And Forage Science**, 64: 3, (2009); 255-265.
- [136] LR McDowell: Minerals in Animal and Human Nutrition; ISBN: 0-12-483369-1 Academic Press, Inc. New York, USA., 1992.
- [137] AL Kaplan, JA Resoe, Trace elements, Clinical Chemistry, Mosby Company, St. Louis Missouri; USA 1996:p. 535-541.
- [138] FF Nomura, K Takekoshi, *Zinc and selenium metabolism in liver cirrhosis*, **Nippon Rinsho**, 52: 1, (1994); 165-169.

- [139] CJ McClain, L Marsano, RF Burk, B Bacon, Trace metals in liver disease. *Seminars In Liver Disease* 11: 4, (1991); 321-339.
- [140] PJ Thuluvath, DR Triger, *Selenium chronic liver disease*, **Journal Hepatology**, 14: (2-3), (1992); 176-182.
- [141] HH Draper, WJ Bettger, Role of nutrients in the cause and prevention of oxygen radical pathology. In: Armstrong D, ed. *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. New York: Plenum Press, 1994: 366:269-289.
- [142] CD Cinier, M Petit-Ramel, R Faure, D Garin, Y Bouvet, *Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues*, **Comparative Biochemistry and Physiology**, 122: 3, (1999); 345-352.
- [143] H DeSmet, B Wachler, R Lobinski, R Blust, *Dynamics of (Cd-Zn) metallothionein in gills, liver and kidney of Common carp (*Cyprinus carpio*) during Cd exposure*, **Aquatic Toxicology**, 52:(3-4), (2001); 269-281.
- [144] SM Wu, CF Weng, MJ Yu, CC Lin, ST Chen, JC Hwang, PP Hwang, *Cadmium-inducible metallothionein in *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*)*, **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 62: 6, (1999); 758-768.
- [145] MA Serafim, RM Company, MJ Bebianno, WJ Langston, *Effects of temperature and size on metallothionein synthesis and gill of *Mytilus galloprovincialis* exposed to Cd*, **Marine Environmental Research**, 54: (3-5), (2002); 361-365.
- [146] ZA Shaikh, TT Vu, K Zaman, *Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants*, **Toxicology and Applied Pharmacology**, 154:3, (1999); 256-263.

EK1. SERUM**ANOVA**

		Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	Ortalama
MDA	Gruplar Arası	8,787	4	2,197	5,837	,002
	Gruplar İçi	9,409	2 5	,376		
	Toplam	18,196	2 9			
CAT	Gruplar Arası	9314,455	4	2328,614	3,189	,030
	Gruplar İçi	18256,585	2 5	730,263		
	Toplam	27571,040	2 9			
SOD	Gruplar Arası	1484,184	4	371,046	3,111	,033
	Gruplar İçi	2981,836	2 5	119,273		
	Toplam	4466,020	2 9			
GSH-Px	Gruplar Arası	9919,623	4	2479,906	24,632	,000
	Gruplar İçi	2516,914	2 5	100,677		
	Toplam	12436,536	2 9			
Protein	Gruplar Arası	,047	4	,012	3,829	,015
	Gruplar İçi	,077	2 5	,003		
	Toplam	,124	2 9			

MDA

Duncan		$p = .05$	
GRUPLAR		a	b
Diazem Taşıyıcı a		1,78 20	
Dormicum Taşıyıcı b			2,53 25
Dormicum b			2,57 85
Diazem b			3,14 65
Kontrol b			3,31 93
Ortalama		1,00 0	,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

CAT

Duncan		$p = .05$		
GRUPLAR		a	b	c
Diazem Taşıyıcı a		15,4 520		
Kontrol ab		23,5 870	23,5 870	
Diazem ab		24,8 243	24,8 243	
Dormicum Taşıyıcı bc			53,0 222	53,0 222
Dormicum c				59,7 430
Ortalama		,577	,085	,670

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

SOD

Duncan		$p = .05$	
GRUPLAR		a	b
Diazem Taşıyıcı a		30,4 474	
Dormicum a		34,3 399	
Dormicum Taşıyıcı a		35,9 905	
Diazem ab		43,1 226	43,1 226
Kontrol b			50,2 513
Ortalama		,076	,269

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

GSH-Px

Duncan		$p = .05$		
GRUPLAR		a	b	c
Diazem a		20,5 172		
Kontrol b			45,066 8	
Dormicum b			47,665 7	
Diazem Taşıyıcı c				64,6 405
Dormicum Taşıyıcı c				73,2 413
Ortalama		1,00 0	,658	,150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

EK 2. ICP-MS Analiz Sonuçları

File Name : 008SMPL.D#
 File Path : C:\ICPCHEM\1\DATA\10I06P00.B\008SMPL.D\
 Method : C:\ICPCHEM\1\METHODS\Malatya.M
 Calibration : C:\ICPCHEM\1\CALIB\Malatya.C
 Acq Time : Sep 6 2010 03:41 pm
 Sample Name : 8
 Sample Type : Sample
 Comments :
 Prep Dilution : 166.7
 Auto Dilution : Undiluted
 Total Dilution : 166.7
 Operator Name:
 Acq Mode : Spectrum
 Cal Title :
 Cal Type : External Calibration Method
 Last Calib : Oct 11 2010 09:49 am
 Bkg File : -----
 Bkg Rejected Masses: -----
 Interference Correction : ON
 Blank File : C:\ICPCHEM\1\DATA\10I06N00.B\001_STD.D
 VIS Fit : Point to Point
 Weighting Method: 1/(SD*SD)
 Multi Tune : #1 h2.u
 #2 he.u

Element	Mass	ISTD	Tune	CPS or Ratio	Conc.	RSD(%)	Time(sec)	Rep	
VIS									
Li	6	#1	8,100,194	A	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]	
Li	6	#2	51,512.63	P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]	
Li	7	#1	265,697.7	P	---	---	---	-	
Li	7	#2	4,619.776	P	---	---	---	-	
Na	23	6	#1	83.78191	A	1.224E+04 ppm	0.92	0.30	3
Mg	24	6	#1	0.4803385	A	118.2 ppm	1.84	0.30	3
Al	27	6	#1	0.01234325	P	2.471E+03 ppb	2.52	0.60	3
K	39	45	#2	3.950770	A	1.066E+03 ppm	0.65	0.30	3
Ca	43	45	#2	0.004444384	P	359.4 ppm	6.85	0.30	3
Sc	45	#1	4,524,680	A	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]	
Sc	45	#2	359,050.0	P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]	
V51	45	#1	0.003265249	P	259.9 ppb	0.95	0.60	3	
Cr	52	45	#2	0.001573692	P	32.92 ppb	5.83	0.60	3
Mn55	45	#1	9.214544E-4	P	44.38 ppb	5.25	0.30	3	

Fe 56 45	#2	0.2977722 P	8.439 ppm	0.35	0.30	3
Co 59 45	#1	0.001671630 P	<0.000 ppb	2.06	0.60	3
Ni 60 45	#1	4.120804E-4 P	47.18 ppb	4.23	0.60	3
Cu 63 72	#1	0.3421742 P	1.057E+04 ppb	0.87	0.60	3
Zn 66 72	#1	0.03206134 P	4.093E+03 ppb	1.03	0.60	3
Ge 72	#1	728,992.1 P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
Ge 72	#2	143,541.8 P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
As 75 72	#2	0.001254117 P	144.1 ppb	11.98	0.90	3
Se 78 72	#1	0.004722758 P	1.939E+03 ppb	1.27	1.50	3
Rb85 72	#1	0.06286847 P	981.1 ppb	1.43	1.20	3
Sr 88 72	#1	0.03476910 P	317.4 ppb	0.74	0.60	3
Y 89	#1	1,712.417 P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
Y 89	#2	151.1188 P	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
Nb93 72	#1	0.001989073 P	6.018 ppb	7.44	0.30	3
Mo95 115	#1	8.378155E-4 P	379.8 ppb	0.90	0.30	3
Ag107 115	#1	9.932597E-5 P	7.824 ppb	21.19	0.60	3
Cd111 115	#1	3.990790E-6 P	1.709 ppb	91.98	0.60	3
In 115	#1	6,143,507 A	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
Sn118 115	#1	6.083664E-5 P	11.89 ppb	24.42	0.30	3
Sb121 115	#1	1.736836E-5 P	3.357E-01 ppb	123.47	0.30	3
Ba137 159	#1	0.002934174 P	988.2 ppb	0.77	0.60	3
Tb 159	#1	8,052,304 A	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]
Pb206 209	#1	2.413618E-4 P	43.09 ppb	16.57	0.30	3
Pb207 209	#1	2.229482E-4 P	50.51 ppb	5.59	0.60	3
Pb208 209	#1	0.001233063 P	54.88 ppb	5.12	0.30	3
Bi209	#1	2,223,055 A	[1.000 ppb]	---	0.30	[3]

EK 3. Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi ve Mann-WhitneyU testi

Test Statistics ^{a,b}		Na	Mg	Al	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Se
Chi-Square		8,193	6,635	1,405	12,300	6,545	15,145	7,268	5,374	15,871	9,918	4,793	17,931	4,876
sd		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Asymp. Sig.		,085	,156	,843	,015	,162	,004	,122	,251	,003	,042	,309	,001	,300
a. Kruskal Wallis Test														
b. Grouping Variable: Gruplar														

	Rb	Sr	Nb	Mo	Sb	Ba	Pb	Glukoz	Bun	Trigl	Koles	AST	ALT
Chi-Square	14,463	13,868	13,520	15,204	5,948	2,457	4,123	2,491	3,021	5,061	8,213	13,754	1,466
sd	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Asymp. Sig.	,006	,008	,009	,004	,203	,652	,390	,646	,554	,281	,084	,008	,833
a. Kruskal Wallis Test													
b. Grouping Variable: Gruplar													

Test Statistics^{a,b}			
	SOD	Zn	Mn
Chi-Square	9,746	7,062	7,861
sd	4	4	4
Asymp. Sig.	,045	,133	,097
a. Kruskal Wallis Test			
b. Grouping Variable: Gruplar			

Test Statistics^b			
1.-2.	SOD	Zn	Mn
Mann-Whitney U	13,000	14,000	15,000
Wilcoxon W	34,000	35,000	36,000
Z	-,801	-,641	-,491
Asymp. Sig. (2-tailed)	,423	,522	,624
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,485 ^a	,589 ^a	,699 ^a
a. Not corrected for ties.			
b. Grouping Variable: Gruplar			

Test Statistics^b			
1.-4.	SOD	Zn	Mn
Mann-Whitney U	5,000	7,000	15,000
Wilcoxon W	26,000	28,000	36,000
Z	-2,082	-1,761	-,537
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,078	,591
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,041 ^a	,093 ^a	,699 ^a
a. Not corrected for ties.			
b. Grouping Variable: Gruplar			

EK 4. İnsan, fare ve ratlar için referans kabul edilen bazı Rutin Biyokimyasal Test değerleri

RUTİN BİYOKİMYA TESTİ	İNSAN	FARE*	RAT**
Glukoz (mg/dL)	80-110	112±38	115±17
Kan Üre Azotu (BUN, mg/dL)	6-20	38±20	19±2.2
Kreatinin (mg/dL)	0.8-1.5	1.1±0.45	0.7±0.11
Alanin Aminotransferaz (ALT, U/L)	10-40	99±86	49±24
Aspartat Aminotransferaz (AST, U/L)	8-20	196 ±132	95±32
T. Protein (g/dL)	6-8	4.4 ± 1.1	7 ±0.5
T. Bilirubin (mg/dL)	0.3-1.2	0.7-0.9	0.3±0.16
Trigliserid (mg/dL)	<150	91±58	266±121
T. Kolesterol (mg/dL)	< 200	114±56	119±51
Na (mEq/L)	135-145	166±8.6	150±3.4
K (mEq/L)	3.5-5.1	8.0±0.85	7±0.65
Ca (mg/dL)	8.6-10.0	8.9±2	12±0.94
Mg (mg/dL)	1.6-2.6	3.11±0.37	3.12±0.41

*Erkek Cd-1 türü fare

**Erkek Spraque-Dawley rat

Referans Kitaplar;

1. Fox JG, Anderson LC, Loew FM, Quimby FW (Editors). Laboratory Animal Medicine, Second Edition (American College of Laboratory Animal Medicine). Second Edition. Academic Pres, San Diego, 2002.

2. Evans GO. Animal Clinical Chemistry: A Practical Guide For Toxicologists And Biomedical Researchers. Second Edition. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2009.

ÖZGEÇMİŞ

1976 da Ankara'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ankara'da tamamladı. Ankara Atatürk Anadolu Lisesinden mezun olduktan sonra 1995 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 1999 yılında mezun oldu. 1998-1999 yılları arasında Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesinden pedagojik formasyon derslerini başarıyla tamamladı. 1999-2000 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı özel bir dershanede görev yaptı. 2000-2002 yılları arasında Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında “**Alüminyum-Silisyum-Bakır Alaşımalarının Sulu Ortamlardaki Korozyonu**” adlı teziyle Yüksek Lisans programını tamamladı. Ocak 2002'de İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde araştırma görevliliğini kazandı ve halen aynı birimde çalışmaktadır. 2002 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında doktora programına başladı ve halen Analitik Kimya Anabilim Dalında bilimsel çalışmalarına devam etmektedir. Evli ve iki çocuk annesidir.