

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**PREADÖLESAN SIÇANLARDA SÜLFİT ALIMINA  
BAĞLI EEG VE LOKOMOTOR AKTİVİTE  
DEĞİŞİKLİKLERİNİN MOLEKÜLER  
MEKANİZMALARLA ARAŞTIRILMASI**

Göksun TOPAK

DOKTORA TEZİ

2017-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**PREADÖLESAN SIÇANLARDA SÜLFİT ALIMINA**  
**BAĞLI EEG VE LOKOMOTOR AKTİVİTE**  
**DEĞİŞİKLİKLERİNİN MOLEKÜLER**  
**MEKANİZMALARLA ARAŞTIRILMASI**

Göksun TOPAK

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Narin DERİN**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK– 2015–285 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2017-ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;**

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyofizik Anabilim Dalı, Biyofizik Programında  
Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 06 Aralık 2017

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Narin DERİN  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU AKKIRAZ  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Aysel AĞAR  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Murat PEHLİVAN  
Ege Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Deniz AKPINAR  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Narin DERİN**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Göksun TOPAK

İmza

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Narin DERİN

İmza

## TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda geçirdiğim süre boyunca eğitimime büyük katkılar yapmış kıymetli hocam Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU AKKİRRAZ'a, eğitimim ile ilgili yönlendirmelerinden dolayı değerli hocam Prof. Dr. Aysel AĞAR'a, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, desteğini benden bir gün bile esirgememiş sevgili danışman hocam Prof. Dr. Narin DERİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Ve sevgili ailem...

Hayallerimin peşinden gitmem için beni daima yüreklendirmiş olan annem Nermin BAŞARANLAR'a, henüz çocukken içime merak tohumlarını atan ve sorgulayıcı olmam için her zaman yol göstermiş babam Op. Dr. Coşkun BAŞARANLAR'a, deneylerim süresince gece, gündüz, tatil, bayram demeden sabırla yanımda olmuş ve sevgisini, desteğini her daim hissettirmiş sevgili eşim Dr. Reha TOPAK'a ne kadar teşekkür etsem azdır. Son olarak tezimin yazımı sürecinde tüm yorgunluğu ve stresi benimle birlikte hissetmiş, gülücükleriyle dünyamı aydınlatarak bana güç vermiş güzeller güzeli kızım İmge Ege TOPAK'a teşekkür ediyorum.

## ÖZET

**Amaç:** Sodyum metabisülfidin günlük alınabilir miktarın üzerinde tüketilmesi halinde toksik etkilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Halk sağlığı taramaları çocuklarda sülfid alımının güvenli günlük dozun 110 katına kadar tırmandığını göstermektedir. Günümüzde DEHB tanılı çocuk sayısındaki artış ve sülfid alımı ile ilgili önceki gözlemlerimiz dikkate alındığında, sülfidin DEHB gelişimine katkı sağlayabileceği fikri akla gelmiş ve DEHB etiyojisinde sülfid nörotoksitesinin yer alıp almadığının deneysel olarak araştırılması hedeflenmiştir.

**Yöntem:** 20 günlük sıçan yavruları K, S25 ve S100 gruplarına ayrılmıştır. 35 Gün boyunca S25 (25mg/kg) ve S100 (100mg/kg) gruplarına her gün sodyum metabisülfid, K grubuna ise musluk suyu gavajla verilmiştir. Davranış değişiklikleri açıklanan ve yükseltilmiş artı labirent testleriyle değerlendirilmiştir. Frontal ve motor kortekslerden 5 frekans bandında bilateral EEG kaydı alınmıştır. Frontal lobda glutamat, glutamin, AKG düzeyleri, GDH, ALT aktiviteleri ve GDH, ALT mRNA'ları ölçülmüştür.

**Bulgular:** Açık alan testinde kat edilen mesafe, girilen kare sayısı ve hız S100 grubunda K grubuna göre artmıştır. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda geçirilen süre S100 grubunda azalmıştır. EEG Kayıtları S25 ve S100 gruplarında frontal korteks için  $\delta$ ,  $\theta$  ve  $\beta 1$  bantlarında, motor korteks için ise  $\delta$ ,  $\theta$  ve  $\beta 2$  bantlarında güçlenme olduğunu ortaya koymuştur. Frontal lobda AKG düzeyleri açısından bir fark elde edilmemişken, S100 grubunda K'ye göre GDH aktivitesinde artış, ALT aktivitesinde ise azalma bulunmuştur. Glutamin düzeyi, S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre yükselmişken, glutamat düzeyinde sadece S100 grubunda artış görülmüştür. ALT ekspresyonu, S25 ve S100 gruplarında K'ye azalırken, GDH ekspresyonları arasında fark bulunmamıştır.

**Sonuç:** Bulgularımız, çocukluk çağının modellendiği sıçan yavrularında sodyum metabisülfid tüketiminin DEHB gelişimine katkı sağlayabileceğini işaret etmektedir. Bu nedenle sülfidin nörogelişimsel süreçler üzerindeki etkilerinin daha detaylı araştırılması ve toplumumuzda sülfid tüketiminin takibe alınması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sodyum metabisülfid, DEHB, Glutamat regülasyonu, EEG

## ABSTRACT

**Objective:** Sodium metabisulfite, a food additive has been reported to possess toxic actions when consumed at amounts above safe level. Public health screenings have revealed that sulfite intake among children can reach up to 110 times of the acceptable daily level. Considering the increase in the number of children diagnosed with ADHD, and our previous observations related to sulfite intake, the idea of the possibility of sulfite to contribute to ADHD development in children emerged, and the investigation of whether the abnormalities associated with ADHD etiologytake place in sulfite neurotoxicity was targeted.

**Methods:** Rat pups, 20-day old, were divided into K, S25 and S100 groups. S25 and S100 groups were daily given sodium metabisulfite at doses of 25mg/kg and 100mg/kg, respectively, and K group was administered tap water by gavage. Behavioral alterations were evaluated by open field and elevated plus maze tests. EEG From frontal and motor cortices were recorded bilaterally. Glutamate, glutamine, AKG levels, GDH, ALT activities and GDH, ALT mRNA levels were measured in the frontal lobe.

**Results:** The total distanced moved, the number of squares entered and velocity were higher in S100 group compared to K group. The time spent in the open arm in the elevated plus maze was lower in S100 group in reference to K group. EEG Recordings revealed enhanced  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\beta_1$  and  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\beta_2$  frequency bands for frontal and motor cortices, respectively, both in S25 and S100 groups. No difference was found for AKG levels; however, ALT and GDH activities were lower and higher in S100 group, respectively. Glutamine levels increased in both S25 and S100 groups compared to K group. Glutamate level was only higher in S100 group. Whereas ALT expression presented a decrease in S25 and S100 groups, there was no alteration in terms of GDH expression.

**Conclusion:** Our findings pointed out that sulfite intake might contribute to ADHD development in childhood rat model. Thus, the effects of sulfite on neurodevelopmental processes and the screening of sulfite intake in our country are suggested.

**Key words:** Sodium metabisulfite, ADHD, Glutamate regulation, EEG

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Gıda Katkı Maddeleri	3
2.1.1. Bir gıda katkı maddesi olarak sülfid	4
2.1.2. Sülfid Metabolizması	5
2.1.3. Sülfid Toksisitesi	7
2.2. Glutamat – Glutamin Döngüsü	10
2.2.1. Glutamin – Alfa Ketoglutarat Metabolizması	13
2.3. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu	15
2.3.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Etiyolojisi	16
2.3.2. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğuna Yönelik Terapötik Yaklaşımlar	17
2.3.3. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Patofizyolojisi	18
2.4. Elektroensefalografi	20
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	24
3.1. Gruplandırma ve deney protokolü	24
3.2. Davranış parametrelerinin tayini	25
3.2.1. Açık Alan Testi	25
3.2.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	26
3.3. Elektroensefalografi Parametreleri	27
3.3.1. Kayıt kablosunun yapımı	27



3.3.2. Vida elektrot ağlantısı için konnektör sisteminin yapılması	28
3.3.3. Vida elektrotların implantasyonu	29
3.3.4. Elektroensefalografi Kaydının Alınması	30
3.3.5. Spektral Analiz	31
3.4. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini	31
3.4.1. Alfa Ketoglutarat Tayini	31
3.4.2. Glutamat Dehidrogenaz Aktivite Tayini	32
3.4.3. Alanin Aminotransferaz Aktivite Tayini	33
3.4.4. Kütle Spektrometresi İle Glutamat ve Glutamin Tayini	33
3.4.5. Real time PCR ile Alanin Aminotransferaz ve Glutamat Dehidrogenaz mRNA tayini	34
3.5. İstatistiksel Analiz	35
<b>4. BULGULAR</b>	36
4.1. Genel görünüm	36
4.2. Davranışsal bulgular	36
4.2.1. Açık alan testi bulguları	36
4.2.2. Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları	37
4.3. Elektroensefalografi Bulguları	37
4.4. Biyokimyasal bulgular	39
4.4.1. Alfa Ketoglutarat Düzeyleri	39
4.4.2. Glutamat Dehidrogenaz Aktiviteleri	40
4.4.3. Alanin Aminotransferaz Aktiviteleri	41
4.4.4. Glutamin Düzeyleri	42
4.4.5. Glutamat Düzeyleri	43
4.4.6. Alanin Aminotransferaz mRNA Seviyeleri	44
4.4.7. Glutamat Dehidrogenaz mRNA Seviyeleri	44
<b>5. TARTIŞMA</b>	46

<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	54
<b>KAYNAKLAR</b>	55
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	80



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>3.1.</b> Real time PCR için kullanılan primerlerin sekansları	35
<b>4.1.</b> Açık alan testinde katedilen mesafe, girilen kare sayısı ve hız değerleri	36
<b>4.2.</b> Yükseltilmiş artı labirent testinde açık ve kapalı kollarda geçirilen süre değerleri	37
<b>4.3.</b> Frontal korteksten alınan EEG dalgalarının frekans spektrumu	38
<b>4.4.</b> Motor korteksten alınan EEG dalgalarının frekans spektrumu	38
<b>4.5.</b> Frontal lobda incelenmiş biyokimyasal parametreler	45

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
2.1. Sülfid oksidazın sülfidi sülfata oksitlemesi	6
2.2. Endojen sülfid üretimi	8
2.3. Glutamat – glutamin döngüsü şematizasyonu	12
2.4. Glutamat – glutamin – AKG bağlantısı ve TCA ilişkisi	15
2.5. Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu etiyojisi	17
2.6. DEHB Nörofizyolojisi – alfa/teta bantlarının regülasyon modeli	20
2.7. Frekans bantlarına göre EEG dalgaları	22
3.1. Açık alan testi düzeneği	26
3.2. Yükseltilmiş artı labirent test düzeneği	27
3.3. Kayıt kablosunun yapımı	28
3.4. Konnektör sisteminin yapımı	29
3.5. Elektrot implantasyonu yapılmış deney hayvanı	30
3.6. EEG kaydı alınan deney hayvanı	30
3.7. Kaydedilmiş EEG trasesi örneği	31
4.1. Frontal lobda alfa ketoglutarat seviyeleri	39
4.2. Frontal lobda glutamat dehidrogenaz aktivitei	40
4.3. Alanin aminotransferaz aktivitei	41
4.4. Glutamin düzeyleri	42

<b>4.5. Glutamat düzeyleri</b>	43
<b>4.6. Alanin aminotransferaz mRNA ekspresyonları</b>	44
<b>4.7. Glutamat dehidrogenaz mRNA ekspresyonları</b>	44



## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerika birleşik devletleri
<b>ADHD</b>	: Attention deficit hyperactivity disorder
<b>ADI</b>	: Günlük kabul edilebilir düzey
<b>AKG</b>	: Alfa ketoglutarat
<b>AKGDH</b>	: Alfa-ketoglutarat dehidrogenaz
<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>AMPA</b>	: 2-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksalon propionik asit
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>DAT</b>	: Dopamin transporter
<b>DEHB</b>	: Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu
<b>EEG</b>	: Elektroensefalografi
<b>FAO</b>	: Gıda ve tarım örgütü
<b>FDA</b>	: Gıda ve ilaç dairesi
<b>GDH</b>	: Glutamat dehidrogenaz
<b>GDH – PAG</b>	: Fosfatla aktive olmuş glutaminaz
<b>GIT1</b>	: G protein-eşlenik reseptör kinaz-etkileşimcisi 1
<b>GS</b>	: Glutamin sentetaz
<b>GSFA</b>	: Gıda katkı maddeleri genel standartları
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	: Potasyum metabisülfid

<b>KHSO<sub>3</sub></b>	: Potasyum bisülfid
<b>mGluR</b>	: Metabotropik glutamat reseptörler
<b>mRNA</b>	: Mesajcı ribonükleik asit
<b>NADH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NaHSO<sub>3</sub></b>	: Sodyum bisülfid
<b>NaSO<sub>3</sub></b>	: Sodyum sülfid
<b>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	: Sodyum metabisülfid
<b>NH<sub>3</sub></b>	: Amonyak
<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartat
<b>NOAEL</b>	: Herhangi bir yan etkiye yol açmayacak tüketim düzeyi
<b>NOS1</b>	: Nitrik oksit sentaz 1
<b>QEEG</b>	: Kantitatif elektroensefalografi
<b>-O<sub>3</sub>SOO•</b>	: Peroksil radikali
<b>SO<sub>2</sub></b>	: Sülfür dioksit
<b>SO<sub>4</sub><sup>-2</sup></b>	: Sülfat
<b>SO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Sülfür trioksit
<b>SOX</b>	: Sülfid oksidaz
<b>TCA</b>	: Trikarboksilik asit
<b>WHO</b>	: Dünya sağlık örgütü
<b>VGA</b>	: Video grafik adaptörü

## 1. GİRİŞ

Antimikrobiyal ve antioksidan etkileri nedeniyle kısa sürede bozulmayı engellemek amacıyla oldukça sık kullanılan gıda katkı maddeleri arasında sülfid bileşikleri de yer almaktadır. Toplum sağlığını gözetmek için İngiltere, Japonya, Avustralya ve Amerika Birleşik Devletleri gibi pek çok ülkede belirli aralıklarla yapılan anketlerle toplumdaki ortalama günlük sülfid alımı takip edilmektedir. Bu anketlerden elde edilen sonuçlar oldukça çarpıcı niteliktedir. İngiltere’de 16 – 64 yaş aralığındaki erişkinlerin aldığı günlük sülfid miktarının güvenli dozdan 24 kat, 1,5 – 4,5 yaş arasındaki çocukların tüketiminin ise 110 kat fazla olduğu ortaya çıkmıştır (Vandevijvere ve ark. 2010). Literatürde sülfid maruziyetinin çocuk yaş gruplarında güvenli dozun çok üzerine çıkabildiği gösterilmiş olmasına rağmen, sülfid bileşiklerinin çocuk yaş grubundaki toksik etkileriyle ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamaktadır.

Gıda boyalarının ve katkı maddelerinin çocuklarda hiperaktivite davranış bozukluğu oluşumunda ve devamlılığında önemli etkileri olabileceğini 1975 yılında Ben Feingold öne sürmüştür (Feingold 1975). Hiperaktivite, erken çocukluk döneminde başlayan ve okul çağındaki çocuklar arasında en sık rastlanan davranış bozukluklarından biridir (Barkley 1998). Çocuklarda sadece sosyal ilişkileri etkilemekle kalmayan hiperaktivite, anksiyete ve öğrenme bozukluğuna da sebep olmaktadır (Hanwella ve ark. 2011). Hiperaktivite bozukluğunun altında yatan sebepler henüz bilinmemekle beraber üzerinde durulan olası mekanizmalardan biri nöronlardaki enerji deplesyonudur (Todd ve Botteron 2001; Russell ve ark. 2006). Nöronların enerji regülasyonunda bir dizi kimyasal reaksiyondan oluşan krebs döngüsü büyük önem taşımaktadır. Krebs döngüsüne giren substratlardan biri de  $\alpha$ -ketoglutarattır (AKG). Nöronlarda ve astrositlerde bulunan AKG, alanin aminotransferaz (ALT) ve glutamat dehidrogenaz (GDH) enzimleriyle glutamattan sentezlenmektedir. Merkezi sinir sisteminin majör eksitator nörotransmitteri olan glutamat ise çift yönlü kataliz yapan ALT ve GDH enzimlerinin yanı sıra substrat olarak glutamini kullanan glutaminaz enzimi tarafından da oluşturulmaktadır (Sudhof ve ark. 1993; Daikhin ve Yudkoff 2000). Glutamat metabolizmasının disregülasyonunun hiperaktivite davranış bozukluğu patogenezinde yer aldığı klinik ve prelinik çalışmalarda manyetik rezonans spektroskopisiyle



gösterilmiştir (MacMaster ve ark. 2003; Carrey ve ark. 2007; Lesch ve ark. 2013). Ayrıca, yakın zamanda yapılmış bir çalışmada frontal korteksteki glutamat düzeyindeki artışın hiperaktiviteyle pozitif korelasyonu gösterilmiştir (Liso Navarro ve ark. 2014).

Sülfitin nörotoksositeye yol açtığı bugün bilinen bir gerçektir. Zhang ve arkadaşları (Zhang ve ark. 2004) sülfitin mus musculus kültür nöronlarında GDH inhibisyonu yaptığını ve adenosin trifosfat (ATP) biyosentezini azalttığını göstermiştir. Benzer şekilde, Grings ve arkadaşları (Grings ve ark. 2014), sülfitin genç sıçan beyin kesitlerinde mitokondrial GDH aktivitesini inhibe ettiğini öne sürmüştür. Sülfit nörotoksitesinin primer hedeflerinden birinin, beyinde yaygın olarak bulunan GDH'yı inhibe etmesi ve glutamaterjik regülasyonu bozması olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgilerin ışığı altında çocuklarda git gide yaygınlaşan hiperaktivite bozukluğunda kontrolsüzce maruz kalınan sülfit bileşiklerinin nörotoksik etkilerinin ve glutamat metabolizmasının etkili olabileceği fikri akla gelmektedir.

Hiperaktivite bozukluğu çocuklarda ve erişkinlerde dikkatsizlik, anksiyete ve motor aktivite artışı ile kendini göstermektedir. Buna ek olarak, beynin spontan aktivitesindeki anomalilerin de hiperaktiviteye eşlik ettiği pek çok çalışmada elektroensefalografi (EEG) analizleri ile gösterilmiştir (Monastra 2008; Fallahpour ve ark. 2010; Clarke ve ark. 2011).

Yapmış olduğumuz literatür taramaları göz önünde bulundurularak, daha önce gözlemlediğimiz sülfit tüketimine bağlı gelişen lokomotor aktivite artışının, beyinde glutamat ve enerji metabolizmasının bozulmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, çeşitli gıda katkı maddelerinin çocuklarda hiperaktiviteye yol açtığı bilgileri dikkate alınarak, sülfit derivelerinin özellikle çocuklar tarafından yüksek dozlarda alındığı düşünüldüğünden, bu tez çalışmasında laktasyon sonrası dönemde farklı dozlarda sülfit maruz bırakılan sıçanlarda sülfitin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda frontal ve primer motor korteksteki beyin aktiviteleri incelenerek, sülfit maruziyetinin davranış ve EEG değişiklikleri üzerine etkileri değerlendirilmiş ve olası etkinin mekanizması frontal kortekste bulunan glutamat, glutamin, AKG seviyelerine, ALT ve GDH mRNA düzeyleri ve aktivitelerine bakılarak yorumlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Gıda Katkı Maddeleri

Gıda katkı maddeleri bilindiği kadarıyla antik Mısır'dan beri çeşitli amaçlarla gıdalara eklenmektedir (DM 1991). Günümüzde gıda katkı maddeleri Avrupa Birliği yasalarında “normalde gıda olarak tüketilmeyen, fakat koruma gibi teknolojik bir amaçla gıdalara eklenen” her tür madde olarak tanımlanmıştır (Comission 2008). Katkı maddelerinin birer kimyasal olduğu (Kroes ve ark. 2002), her kimyasalın da potansiyel toksik etkilere sahip olabileceği (VWA 2008) ve katkı maddeleri için yüksek dozda maruziyetle istenmeyen sağlık sorunlarının ortaya çıkabileceği düşünülerek minimum maruziyet seviyesi hesaplanmaktadır (Martyn ve ark. 2013). Bu seviye, “Ters Etkinin Gözlenmediği Seviye” (No Observed Advers Effect Level [NOAEL]) olarak bilinmekte ve primer olarak deney hayvanlarında yapılan çalışmalarla belirlenmektedir (Spanjersberg ve ark. 2007; VWA 2008). Deney hayvanları ve insanlar arasındaki türler arası farklılık için 10 kat ve hassas popülasyonlardaki bireyler arası farklılıklar için 10 kat olmak üzere NOAEL'ye 100 kat güvenlik faktörleri uygulanarak her bir katkı maddesi için kabul edilebilir günlük alım (Acceptable Daily Intake [ADI]) değeri elde edilmektedir (Lambe 2002; Spanjersberg ve ark. 2007). Bu değer, insanların herhangi bir sağlık riski taşımaksızın yaşamı boyunca günlük olarak tüketebileceği madde miktarı olarak tanımlanmıştır. Kabul edilebilir günlük alım genellikle kilogram vücut ağırlığı ve gün başına miligram (mg/kg-vücut ağırlığı/gün) olarak ifade edilmektedir (Organization 1987).

Gıdalara konulan katkı maddelerinin kontrollü kullanımını sağlamak ve toplumdaki tüketimin ADI değerlerini geçip geçmediğini belirlemek amacıyla kapsamlı bir mevzuat oluşturulmuştur. İçinde sülfidlerin de bulunduğu 26 farklı kategorideki 322 katkı maddesi için düzenli olarak popülasyon maruziyet taramaları yapılmaktadır (Martyn ve ark. 2013). Bu halk sağlığı taramaları ülkeden ülkeye farklılıklar göstermekle birlikte, popülasyondaki beslenme alışkanlıklarının ve sosyoekonomik dağılımlarının buna neden olduğu görülmektedir. Bu çalışmalar katkı maddelerinin değişik yaş gruplarındaki günlük alım miktarlarındaki farklılıkları da ortaya koymaktadır (Bemrah ve ark. 2012; Mischek ve Krapfenbauer-Cermak 2012; Urtiaga ve ark. 2013).

### 2.1.1. Bir Gıda Katkı Maddesi Olarak Sülfüt

Sülfür dioksit [SO<sub>2</sub>] ve 5 sülfüt tuzu olan sodyum metabisülfüt [Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>], potasyum metabisülfüt [K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>], sodyum bisülfüt [NaHSO<sub>3</sub>], potasyum bisülfüt [KHSO<sub>3</sub>] ve sodyum sülfüt [NaSO<sub>3</sub>] tıbbi preparatlarda ve gıdalarda koruyucu özellikleri sebebiyle yaygın bir şekilde kullanılan katkı maddeleridir (Cressey ve Jones 2009; Vandevijvere ve ark. 2010). Gıdalara eklenen sülfütler, sülfür dioksit, bisülfüt ve sülfüt formlarında serbest olarak veya karbonhidratlara ya da proteinlere bağlı kombine bir biçimde karışımıza çıkmaktadır (Karovicova J 1996). Sülfür dioksit gibi sülfüt tuzları da suda çözünebilme özelliğine sahiptir ve sulu çözeltilerde hızlı bir şekilde hidrate olarak sülfüröz asit (H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) oluşturmaktadır. Sülfür dioksit, sülfüröz asit, bisülfüt anyonu ve sülfüt anyonu aynı oksidasyon gücüne sahiptir ve sulu çözeltilerde birbirlerine dönüşebilmektedirler (Gunnison 1981). Oldukça güçlü nükleofilik anyonlar olan sülfütler, pek çok hücrel yapıyla etkileşebilmekte ve toksisiteye yol açabilmektedir (Vincent ve ark. 2004; Niknahad ve O'Brien 2008; Herken ve ark. 2009; Ozturk ve ark. 2011; Ercan ve ark. 2013). 1980'lerde pek çok rapor, gıdalardaki sülfütlerin advers (ters) reaksiyonları tetiklediğini ortaya koymuştur; 1984'de Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration: FDA) içlerinde 6 ölüm olgusunun da yer aldığı 250'den fazla sülfüt reaksiyonu raporu almıştır (Yang ve Purchase 1985). Yüksek seviyede serbest formda sülfüt içeren gıdaların reaksiyon oluşturma olasılığı daha yüksek olduğundan (Martin ve ark. 1986), hem Avrupa Birliği hem de ABD Gıda ve İlaç İdaresi, 10 ppm'den (10 mg/kg) fazla sülfüt ihtiva eden gıdaların etiketlenmesi yönünde bir düzenleme getirmiştir (Administration 1986; Verger ve ark. 1998; Zhang ve ark. 2014).

Diğer katkı maddelerine yönelik yapıldığı üzere, gelişmiş dünya ülkelerinin büyük bir kısmında toplumdaki sülfüt alımı halk sağlığı örgütlerince takip edilmekte ve kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır ((JECFA). 1999). Toplum sağlığı taramalarıyla Avusturya, Fransa, Çin, Güney Koreve ABD gibi pek çok ülkede belirli aralıklarla yapılan anketlerle toplumdaki ortalama günlük sülfüt alımı takip edilmektedir (Bemrah ve ark. 2012; Mischek ve Krapfenbauer-Cermak 2012; Urtiaga ve ark. 2013; Lim ve ark. 2014; Zhang ve ark. 2014). Bu anketlerden elde edilen sonuçlar oldukça çarpıcı niteliktedir. Avustralya'da 25 – 64 yaş arasındaki erişkinlerin günlük sülfüt tüketimi

güvenli sınırın ortalama 14 katı olarak belirlenmiştir. İngiltere’de ise 16 – 64 yaş aralığındaki erişkinlerin aldığı günlük sülfite miktarının güvenli dozdan 24 kat, 1,5 – 4,5 yaş arasındaki çocukların tüketiminin ise 110 kat fazla olduğu ortaya çıkmıştır (Vandevijvere ve ark. 2010). Literatürde sülfite maruziyetinin çocuk yaş gruplarında güvenli dozun çok üzerine çıkabildiği gösterilmiş olmasına rağmen, sülfite bileşiklerinin çocuklar üzerindeki toksik etkileriyle ilgili herhangi bir bilgiye henüz rastlanmamaktadır. Dolayısıyla fizyolojik savunma sistemlerinin henüz tamamen gelişmediği çocuk yaş gruplarında sülfite alımının doz bağımlı etkilerinin aydınlatılması hayati önem taşımaktadır (Martyn ve ark. 2013).

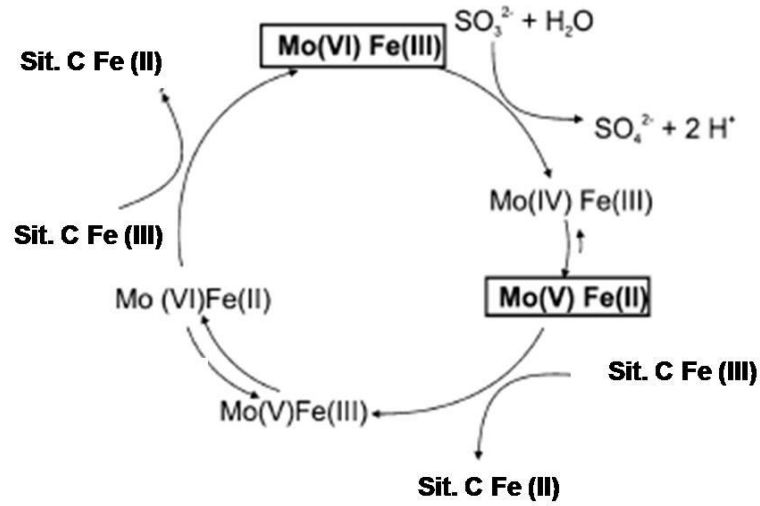
Sülfite olası toksik etkilerinin anlaşılabilmesi için sülfite metabolizmasının ayrıntılarıyla bilinmesi gerekmektedir. Pek çok araştırmacı sülfite metabolizmasında bozukluk olan insan popülasyonlarının, sülfite sindiriminin toksik etkileri açısından büyük risk altında olduğunu ortaya koymuştur (Calabrese ve ark. 1981; Jacobsen 1984). Nitekim sülfite metabolizmasındaki bozuklukların daha şiddetli sülfite toksisitesiyle korele olduğu deneysel çalışmalarda da gösterilmiştir (Cohen ve ark. 1973).

### **2.1.2. Sülfite Metabolizması**

Serbest sülfite, mitokondrinin intramembranöz boşluğunda yer alan SOX enzimi tarafından metabolize edilmektedir (Kessler ve Rajagopalan 1972; Gunnison ve ark. 1981). Canlı türleri arasında farklılık gösterebilmekle beraber SOX enzimi 115,000 – 120,000 Da moleküler ağırlığa sahiptir ve her biri yaklaşık olarak 55,000 Da olan subunitlerden oluşmaktadır. Apoenzimin yanı sıra bir hem molekülüne de sahip olan SOX, bir molibdoproteindir (Cohen ve ark. 1971). Sülfite metabolize edilmesi sürecindeki reaksiyon, elektronların sülfitten  $Mo^{+6}$  bölgesine transferini içermektedir. Daha sonra elektronlar hem molekülüne ve buradan da mitokondriyal respiratuvar zincirin bir elemanı olan sitokrom c’ye aktarılmaktadır (Taylor ve ark. 1986). Bu oksidatif reaksiyonun ürünü hızlı bir şekilde idrarla atılabilen sülfattır. Sülfite oksidaz, aktivite düzeylerinde farklılıklar olabilmekle beraber bugüne kadar incelenmiş tüm memeli türlerinde bulunmaktadır. Sıçanlar türleri arasında yüksek SOX aktivitesine sahiptir ve bu aktivite düzeyi tavşanlardaki veya rhesus maymunlarındaki aktivitenin 3-5 katıyken (Gunnison ve ark. 1977) insanlardaki sülfite oksidaz aktivitesinin 10 – 20 katına

tekabül etmektedir (Johnson ve Rajagopalan 1976). Bugüne kadar SOX pek çok kaynaktan pürifiye edilmiş ve kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır (Cohen ve Fridovich 1971; Kessler ve Rajagopalan 1972). Memelilerde SOXen çok karaciğer ve böbrek dokularında olmak üzere kan hariç çoğu dokuda bulunmaktadır (Macleod ve ark. 1961; Johnson ve ark. 1977).

Hem endojen hem de ekzojen sülfid için primer metabolik yolağın SOX yolağı olduğu bilinmektedir (Gunnison ve ark. 1981). Endojen sülfid, sülfür içeren sistein ve metiyonin aminoasitlerinin metabolizmasından açığa çıkmaktadır. Bu aminoasitlerin katabolizmasındaki son basamak sülfidin, SOX aracılığıyla sülfata dönüşümüdür (Şekil 2.1.) (Taylor ve ark. 1986). Endojen sülfid üretiminin majör yolağı, sisteinin sitoplazmada bulunan sistein dioksijenaz enzimi tarafından sistein sülfidik aside oksidasyonu ile başlamaktadır (Lombardini ve ark. 1969). Sistein sülfidik asit mitokondride 2-ketoglutarat veya oksaloasetat ile transaminasyona girerek spontan desülfinyasyona uğrayan 3-sülfidpirüvatı oluşturur. Son reaksiyonla ortaya çıkan  $SO_2$  hidrasyon ve proton ayrılmasıyla sülfid üretilmektedir.



Şekil 2.1. Sülfid oksidazın sülfidi sülfata oksitlemesi

Sülfidin endojen olarak üretildiği bir başka süreç de hipotaurin metabolizmasıdır. Hipotaurin, sistein sülfidik asidin dekarboksilasyonu veya sisteaminin oksidasyonu ile oluşmaktadır (Federici G. 1980; Spears ve Martin 1982). Hipotaurin,  $\alpha$ -

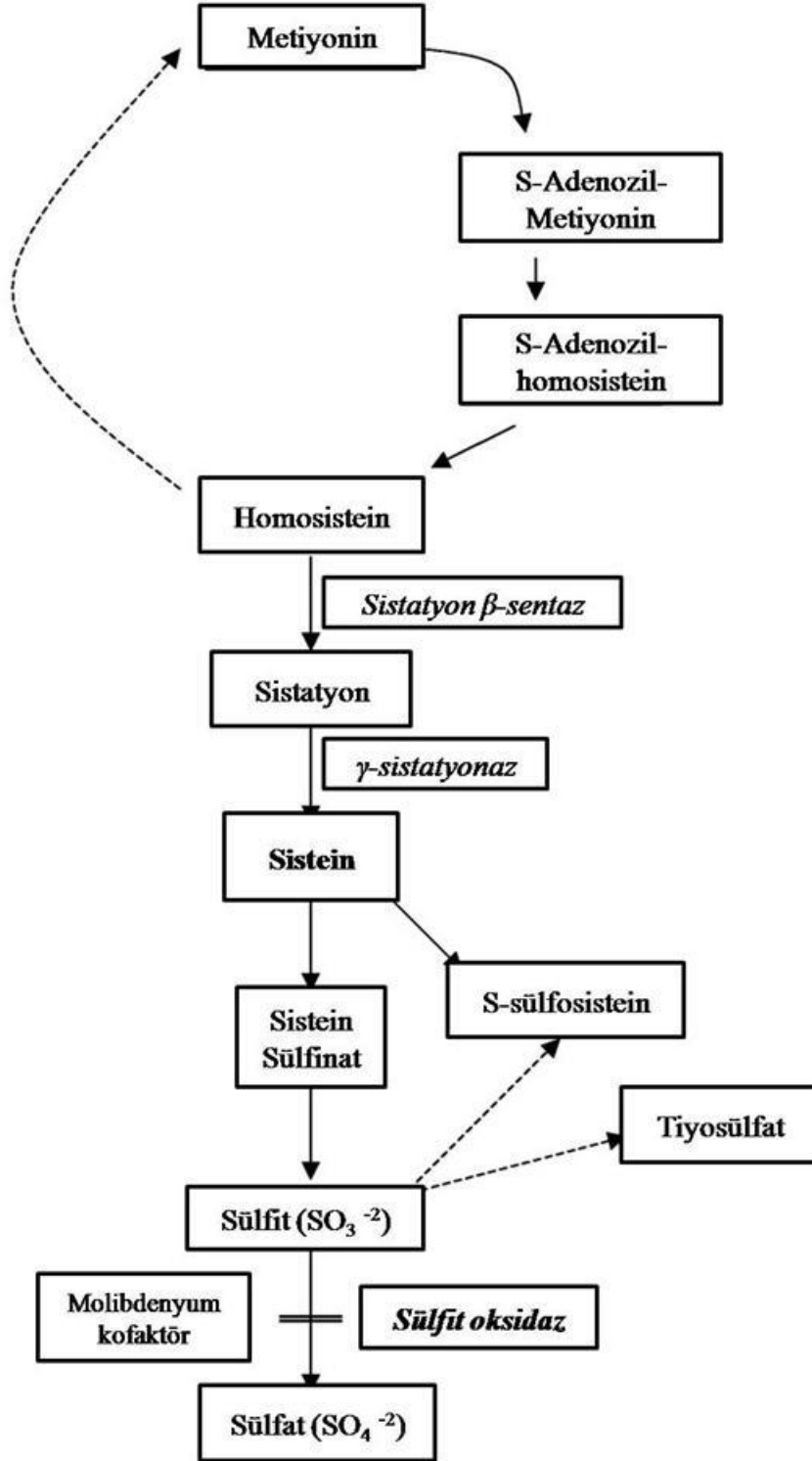
ketoasitlerle transaminasyona girerek sülfinitasetaldehit oluşturmakta ve bu ürün spontan desülfinitasyonla sülfid ve asetaldehide ayrılmaktadır (Fellman ve Avedovech 1982).

Hidrojen sülfidın oksidasyonu sürecinde de sülfid formasyonu görülebilmektedir. Hidrojen sülfid,  $\beta$ -sistatyonin sentetazın sisteine,  $\alpha$ -sistatyon liyazın sistine ve 3-merkaptopirüvat sülfür transferazın 3-merkaptopirüvata etkisiyle düşük miktarlarda üretilmektedir. Ayrıca, metiyoninin transaminatif katabolizma sürecinde de hidrojen sülfid açığa çıkmaktadır (Stipanuk ve Beck 1982).

Endojen olarak üretilen sülfid, hızlı bir biçimde sülfata okside olup idrarla atılması nedeniyle normalde kan veya diğer dokularda tespit edilememektedir (Gunnison ve ark. 1981). İnsanların bir günde idrarla yaklaşık olarak 25mmol (2400mg) sülfatattığı ve bu sülfatın büyük bir kısmının (24mmol'e kadar) endojen sülfid metabolizmasının bir ürünü olduğu öngörülmektedir (Steve L. Taylor 1986).

### **2.1.3. Sülfid Toksisitesi**

Kaynağından bağımsız olarak hem endojen olarak üretilen hem de ekzojen olarak alınan sülfidlerin memeli dokularında detoksifiye edilmesi gerekmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi SOX, sülfidi sülfata okside ederek hücrelerde toksisite oluşumunu önlemektedir (Cohen ve Fridovich 1971; Feng ve ark. 2007). Sülfid oksidaz yetmezliği, insanlarda doğum defektlerine, yenidoğanda ciddi nörolojik problemlere ve erken ölüme yol açabilen ve bilinen etkin bir tedavisi olmayan kalıtsal metabolik bir bozukluk olup sülfidın toksik etkilerinin ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır (Johnson 2003). Sülfid toksisitesinin oluşumuna SOX yetmezliğinin yanısıra aşırı sülfid tüketiminin de yol



Şekil 2.2. Endojen sülfite üretimi.

açabildiği pek çok çalışmada gösterilmiştir(Ozturk ve ark. 2011; Kencebay ve ark. 2013).

Sülfitlere karşı duyarlılık (sensitivite) reaksiyonları geliştirilebildiği ilk defa 1973 yılında Kochen tarafından ortaya konmuştur (Kochen 1973). Sülfitler, akciğerler için toksik olmaları ve allerjik reaksiyonlara yol açmaları sebebiyle bilim camiasının ilgisini çekmiştir (Vally ve ark. 2009). 2005 Yılında yayınlanan Hollanda Sağlık Konseyi derlemesinde sülfitlerin insanlarda kronik ürtiker, cilt allerjisi ve bronşiyal astım gelişiminden sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Netherlands 2005). Sülfit kaynaklı pek çok olgu raporunun sunulması sülfitin moleküler etkilerinin araştırılmasını sağlamıştır. Günümüze kadar sülfitin kalp (Zhang ve ark. 2015), karaciğer (Bai ve ark. 2013), böbrek (Xing ve ark. 2015), mide (Ercan ve ark. 2013) ve beyin (Zhang ve ark. 2004) gibi hayati organlar üzerindeki etkileri incelenmiş ve toksisiteye yol açtığı tespit edilmiştir.

Sülfit oksidaz eksikliği olan kişilerde ciddi nörolojik disfonksiyonların bulunması ve bu patolojik olguların altında yatan moleküler mekanizmaların tamamen aydınlatılamamış olması, sülfitin beyin üzerindeki etkilerine dair daha ayrıntılı incelemeler yapılmasını sağlamış, pek çok araştırmacı tarafından sülfitin farklı beyin bölgelerinde nörotoksik etki mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır (Kocamaz ve ark. 2012; Noorafshan ve ark. 2015; Parmeggiani ve ark. 2015; Grings ve ark. 2016).

DeneySEL çalışmalar sülfitin hem in vivo hem de in vitro ortamda toksisiteye yol açtığını göstermiştir (Kencebay ve ark. 2013; Grings ve ark. 2014). Sülfit nörotoksitesinin nöronları nasıl etkilediğine dair bir fikir birliği henüz sağlanamamış olsa da temel mekanizmada sülfür ve oksijen merkezli serbest radikallerin yer aldığı düşünülmektedir (Abedinzadeh 2001; Wang ve ark. 2016). Nitekim sülfit bileşiklerinin serebral kortekste (Wang ve ark. 2016), hipokampusta (Kucukatay ve ark. 2005) ve total beyinde (Kencebay ve ark. 2013) lipid peroksidasyonunu artırdığı, dolayısıyla da oksidatif strese yol açtığı pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Ayrıca, sülfit aracılı oksidatif stresin hücre içi ATP depleksiyonuna ve enerji yoksunluğuna yol açtığı da öne sürülmüştür (Salman ve ark. 2002; Grings ve ark. 2013). Sülfitin bu moleküler etkilerinin yanı sıra nöron ölümlerine de yol açtığı da tespit edilmiştir. Sıçan hipokampal



hücrelerinde ve beyin dokusunda sülfid maruziyetine bağlı apoptozis gelişimi in vitro ve in vivo çalışmalarında ortaya konmuştur (Akdogan ve ark. 2011; Kencebay ve ark. 2013). Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada ise sıçan serebral korteksinde sülfidin glutamaterjik nörotransmisyonu bozduğu ve glutatyon metabolizmasıyla ilişkili enzimleri inhibe ettiği in vitro olarak gösterilmiştir (Parmeggiani ve ark. 2015). Sülfidin nörotoksik etkilerine aracılık eden moleküler mekanizmaların yanı sıra, bu etkilerin yol açabileceği davranışsal değişimler de literatürde incelenmiştir. Özellikle sülfidin hipokampustaki toksik etkilerine istinaden hipokampus-bağımlı öğrenme ve hafıza çalışmaları yapılmış ve sülfidin öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu ifade edilmiştir (Noorafshan ve ark. 2015).

Sülfid nörotoksitesinde hücre içi enerji deplesyonu ve glutamaterjik transmisyon bozukluğu bulguları ele alındığında, önemli bir nöronal enerji kaynağı olan glutamin – glutamat – alfa ketoglutarat döngüsünün sülfidin toksik etkilerine aracılık edip etmediği sorusu akla gelmektedir.

## **2.2. Glutamat – Glutamin Döngüsü**

Glutamat merkezi sinir sistemindeki majör eksitatör nörotransmitterdir. Glutamaterjik nöronlar, bilginin kodlaması, hafızanın oluşumu ve geri çağırılması, uzaysal tanıma ve bilincin sürdürülmesi gibi hayati pek çok sürece aracılık etmektedir (McEntee ve Crook 1993). Fizyolojik fonksiyonlarının yanı sıra nörolojik bozuklukların patogeneğinde kilit roller oynayan glutamat, etkilerini reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (Erecinska ve Silver 1990; Vandenberg ve Ryan 2013).

Glutamat reseptörleri yapılarına göre iyonotropik ve metabotropik olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Prototipik ligandları bağlama afinitelerine dayanılarak tanımlanmış ve hızlı transmisyonuna aracılık eden 3 tip postsinaptik iyonotropik glutamat reseptörü bulunmaktadır: Kainat, 2-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksalon propionik asit (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri (Daikhin ve Yudkoff 2000). Bu reseptörler ligand kapılı iyon kanallarıdır ve glutamatın bağlanmasıyla doğrudan kanal formunu alarak iyon geçişine olanak sağlamaktadır. Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) ise G-proteinine bağlı reseptörlerdir ve kanallara ikincil haberciler vasıtasıyla dolaylı bir şekilde etki etmektedirler.

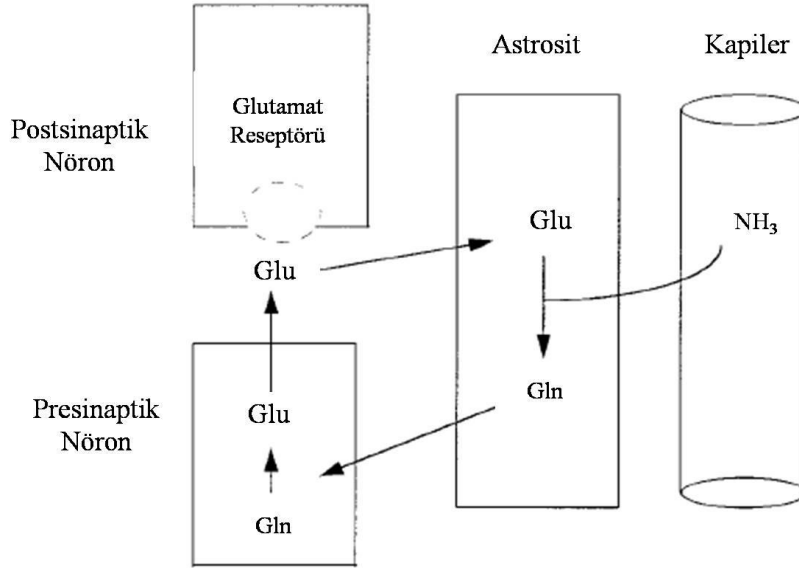
Hücre AMPA reseptörleri vasıtasıyla depolarize olmaya başladıktan sonra magnezyum iyonu elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaşmakta ve katyon geçişi mümkün olmaktadır. Nitekim nörotransmitter olarak glutamatın yer aldığı çoğu merkezi sinapsta postsinaptik membran hem AMPA hem de NMDA reseptörlerini barındırmaktadır. İyonotropik NMDA reseptörleri diğer iyonotropik glutamat reseptörlerinden farklı özellikler taşımaktadır. İlk olarak sodyum ve potasyum iyonlarının yanı sıra kalsiyum iyonlarına da geçirgenlik göstermektedirler. İkincisi, kanalın açılması için tek başına glutamat bağlanması yeterli olmamakta, bir kofaktör olarak glisin gereksinimi duyulmaktadır. Üçüncü olarak ise kanalın aktivasyonunun transmitter beraberinde membran voltajına da bağımlı olması sebebiyle NMDA reseptörü ligand kapılı kanallar içinde özel bir yere sahiptir. Nöronlar dinlenim durumundayken kanal poruna sıkı bir şekilde bağlı olan magnezyum iyonik akımı bloke etmektedir (Kandel 2013).

Metabotropik glutamat reseptörleri, ligand-reseptör eşlenimini takiben  $G\alpha$ - $\beta\gamma$  ayrışmasıyla  $G\alpha$ -aracılı intrasellüler ikincil haberci artışını, iyon kanallarının  $\beta\gamma$ -aracılı regülasyonunu ve G-protein bağımsız yolların aktivasyonunu sağlamaktadır (Conn ve Pin 1997; Gerber ve ark. 2007). Moleküler yapılarına ve aktive ettikleri hücre içi sinyal yollarına göre Grup I, Grup II ve Grup III olmak üzere 3 alt gruba ayrılmış 8 mGluR subtipi bulunmaktadır. Grup I, mGluR1 ve mGluR5 reseptörlerini; Grup II, mGluR2 ve mGluR3 reseptörlerini ve Grup III, mGluR4, mGluR6, mGluR7 ve mGluR8 reseptörlerini içermektedir. Grup I, intrasellüler kalsiyum depolarının dökülmesini sağlayan  $G\alpha_q$  üzerinden etki gösterirken, Grup II ve III adenilil siklaz inhibisyonuna yol açan  $G\alpha_i$  subunitini kullanmaktadır (Pin ve Duvoisin 1995).

Beyindeki glutamat metabolizmasına dair bugünkü anlayışın merkezinde glutamat-glutamin döngüsü yer almaktadır (Shank ve Aprison 1977; Hertz 1979; Norenberg ve Martinez-Hernandez 1979). Bu döngü, glutamat içeren presinaptik veziküllerin kalsiyum bağımlı bir şekilde, nöron membranıyla birleşmesi sonucu glutamat salınımıyla başlamaktadır (Fillenz 1995). Sinapslarda salınım öncesi glutamat konsantrasyonu 2 – 5  $\mu\text{mol/l}$  iken, depolarizasyon sonrası bu değer 50 -100  $\mu\text{mol/l}$  seviyesine yükselebilmektedir (Daikhin ve Yudkoff 2000). Sinaptik boşlukta kalan glutamatın, aşırı eksitasyonun önlenmesi amacıyla hızlı bir şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir.

Ekstrasellüler ortamda glutamati degrade edecek bir enzim bulunmadığından, glutamat şu yollarla sinaptik boşluktan uzaklaştırılmaktadır: 1) postsinaptik nörona alınma 2) presinaptik nörona geri alınma 3) astrositlere alınma. Glutamatın postsinaptik nörona alınması majör olarak glutamat reseptörleri ile sağlanırken, presinaptik nörona ve astrositlere alınma süreçleri glutamat taşıyıcıları aracılığıyla yürütülmektedir (Vandenberg ve Ryan 2013).

Astrositlere alınan glutamat, bu hücrelerde glutamin sentetaz enzimi ile glutamine dönüştürülmektedir. Bu mikrozomal süreç astrositlerde çok fazla kullanılmaktadır (Martinez-Hernandez ve ark. 1977; Norenberg ve Martinez-Hernandez 1979). Glutamin üretimi için gereken amonyak kandan veya beyin metabolitlerinden elde edilebilmektedir (Şekil2.3.) (Cooper ve ark. 1979). Amonyum düzeyinin arttığı durumlarda beyin glutamin düzeyi ani bir şekilde artış gösterebilmekte ve dolayısıyla astrositler şişebilmektedir; glutamin sentetaz inhibisyonuyla bu şişme azaltılarak nöronal hasar oluşumunun önüne geçilebilmektedir (Takahashi ve ark. 1991).



Şekil 2.3. Glutamat – glutamin döngüsü şematizasyonu.

Sinaptik boşluğa astrositlerden salınan glutamin, sodyum-bağımlı ve sodyum-bağımsız mekanizmalarla nöronlara alınmaktadır (Schousboe ve ark. 1979; Ramaharobandro ve ark. 1982; Yudkoff ve ark. 1989). Depolarizasyon sırasında, intrasellüler ATP'nin

azalma eğilimi gösterdiği süreçte glutamin sinir terminallerine alınmaktadır. Nöronlara alınan glutamin büyük oranda fosfat-bağımlı glutaminaz aracılığıyla glutamat ve amonyağa hidrolize olmaktadır (Erecinska ve Silver 1990). Glutaminaz mitokondriyal bir enzimdir ve primer olarak ATP'nin hidrolizinden elde edilen inorganik fosfat glutamin için Km (Michaelis sabiti) değerini düşürmektedir. Sinaptozomlarda depolarizasyona eşlik eden ani enerji tüketimi glutamin hidrolizineden olmaktadır (Yudkoff ve ark. 1989; Erecinska ve Silver 1990). Ayrıca, sinir terminallerinde glutamat, transaminasyonla 2-okso-glutarata okside olabildiğinden, glutaminin sadece bir glutamat prekürsörü olmadığı, nöronal enerji ihtiyacının karşılanmasında da rol aldığı ifade edilmektedir (Erecinska ve ark. 1988).

Glutaminden glutamatın tekrar elde edilmesiyle glutamat-glutamin döngüsü tamamlanmaktadır. Beyindeki glutamat dengesinin korunmasında büyük öneme sahip bu döngü şu şekilde özetlenebilmektedir: 1) sinapslardan glutamat hızlı bir şekilde uzaklaştırılmakta, böylece sinir terminallerinden glutamat salımı olduğunda sinyal-gürültü oranı düşürülmektedir 2) nöroaktif özelliği bulunmayan glutamin astrositlerde glutamatın nöronlara geri taşınmasına aracılık etmektedir 3) nöronlarda glutamat tekrar üretilmektedir 4) nöronlarda enerji ihtiyacını karşılamak için metabolik bir substrat olarak glutamin kullanılmaktadır ve 5) nörotoksisite potansiyeline sahip amonyak, glial glutamin sentetaz yolağıyla güvenli bir konsantrasyonda tutulmaktadır (Daikhin ve Yudkoff 2000).

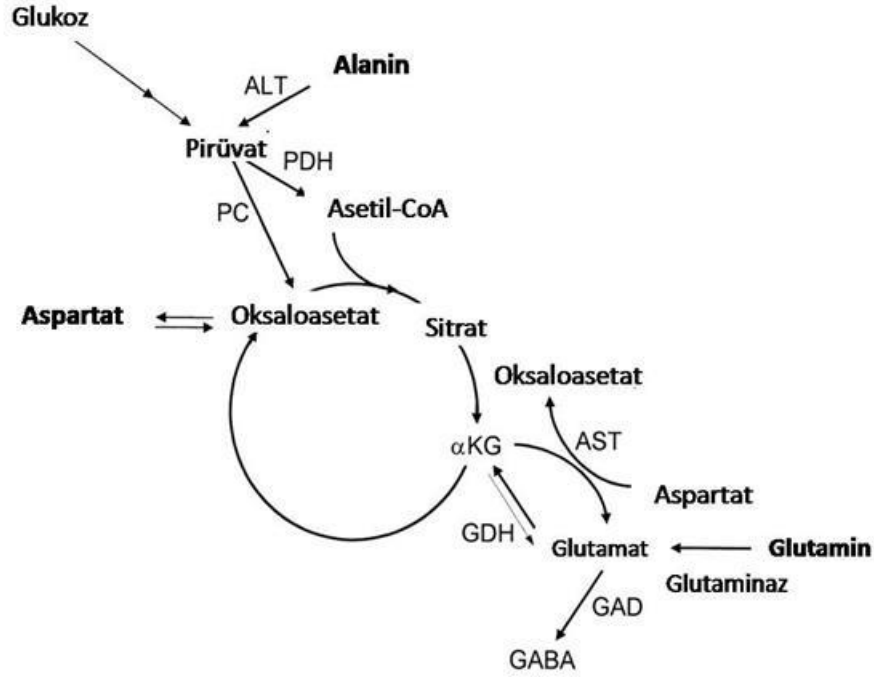
### **2.2.1. Glutamin – AKG Metabolizması**

Glutamin, vücutta en bol bulunan serbest alfa-amino asittir ve plazmada hızlı bir şekilde dönüşüme uğramaktadır (Wu 2009). Glutamin, vücudun tamamında, özellikle organlar arası karbon, nitrojen ve enerji transportunda olmak üzere metabolizmada önemli rol oynamaktadır (Curthoys ve Watford 1995). İskelet kası gibi pek çok hücrede glutamin protein sentezini arttıran anabolik sinyal molekülü etkisi göstermektedir (Blomqvist ve ark. 1995; Duran ve ark. 2012). Glutamin, barsakta hızlı bölünen hücreler için majör enerji kaynağıken (Labow ve Souba 2000), karaciğerde ürogenez için bir substrat, böbrekte amonyagenezde katabolize edilebilen (Curthoys ve Watford 1995) ve beyinde ise NH<sub>3</sub> temizleyicisi olmanın yanı sıra glutamat-glutamin döngüsüne katılmaktadır

(Broer ve Brookes 2001; Bak ve ark. 2006). Özet olarak, her ne kadar normal koşullarda bolca bulunsun da ve endojen olarak sentezlenebilse de, glutamin kilit zamanlarda oldukça kritik roller üstlenmektedir (Labow ve Souba 2000).

Glutamin, sulu çözeltilerde kararlı olmayan bir moleküldür ve dekompozisyonuyla beraber amonyak gibi toksik yan ürünler oluşmaktadır (Filip R 2007). Buna bağlı olarak, bilim camiasında alfa-ketoglutarat (AKG) gibi glutamin prekürsörlerine büyük önem vermeye başlanmıştır. AKG, sulu çözeltilerde göreceli olarak daha kararlı olmakla beraber iyi bir çözünürlüğe sahiptir. AKG toksik değildir ve glutamat dehidrogenaz (GDH) enziminin aracılık ettiği transaminasyon reaksiyonuyla daha sonra glutamin sentetaz (GS) enzimi tarafından glutamin sentezinde kullanılacak olan glutamata dönüştürülmektedir (Radzki ve ark. 2009). Glutaminle aynı karbon iskelete sahip olan AKG, çeşitli deneysel (Jeevanandam ve ark. 1997) ve klinik (Filip R 2007) araştırmalarda gösterildiği üzere glutamine benzer metabolik etkiler göstermekte ve böylelikle plazmada, karaciğerde ve kaslarda aşırı glutamin tüketimini engellemekte, anabolik yolları stimüle etmektedir (Cynober 1999).

AKG, trikarboksilik asit (TCA) döngüsündeki ara yapılardan biridir ve hücreler için enerji kaynağı olarak fonksiyon görmektedir (Şekil 2.4.). Hücrelerde enerjinin azaldığı durumlarda TCA döngüsüne glutamin sağlayan majör yolak GDH-PAG (fosfatla aktive olmuş glutaminaz) yolağıdır. TCA Döngüsünde AKG, alfa-ketoglutarat dehidrogenaz (AKGDH) tarafından nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen (NADH) üretimiyle beraber süksinil-CoA'ya dönüştürülmektedir. Alfa-ketoglutarat dehidrogenaz reaktif oksijen türlerine duyarlıdır ve oksidatif stresin metabolik yetmezliği stimüle ettiği durumlarda bu enzimin supresyonu hayati önem taşıyabilmektedir (McLain ve ark. 2011). Ayrıca, bugün enerji deprivasyonunun ortaya çıktığı patolojik durumlarda AKG düzeyini arttırmanın nöroprotektif bir strateji olabileceği önerilmektedir (Kim ve ark. 2017).



Şekil 2.4. Glutamat – glutamin – AKG bağlantısı ve TCA ilişkisi

Dolayısıyla, kesinliği kanıtlanmamış olmakla beraber, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) gibi patofizyolojisinde nöronal enerji yoksunluğunun yer aldığı öne sürülen hastalıklarda glutamat-glutamin-AKG döngüsünün incelenmesinin büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

### 2.3. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu

Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, çocukluk döneminde başlayan, yaygın görülen bilişsel ve davranışsal bir bozukluktur. Günümüzde dünya genelinde DEHB %8 – %12 prevalansa sahiptir (Biederman ve Faraone 2005). Bozukluğun temel semptomları hiperaktivite, impulsivite (dürtüsellik) ve dikkat eksikliğidir (Stevens ve ark. 2011). DEHB, hem çocukluk hem de erişkinlik döneminde yaşam kalitesini pek çok yönde etkilediğinden majör bir sağlık problemidir (Biederman ve Faraone 2005). Ayrıca, başlı başına bir problem olmanın yanısıra DEHB, depresyon ve anksiyete gibi psikiyatrik bozukluklarla da sıklıkla ilişkilendirilmektedir (Danckaerts ve ark. 2010).

Dünya genelinde oldukça yaygın olarak karşılaşılan bir bozukluk olması sebebiyle DEHB etiyojisinin aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Heterojen, kompleks ve

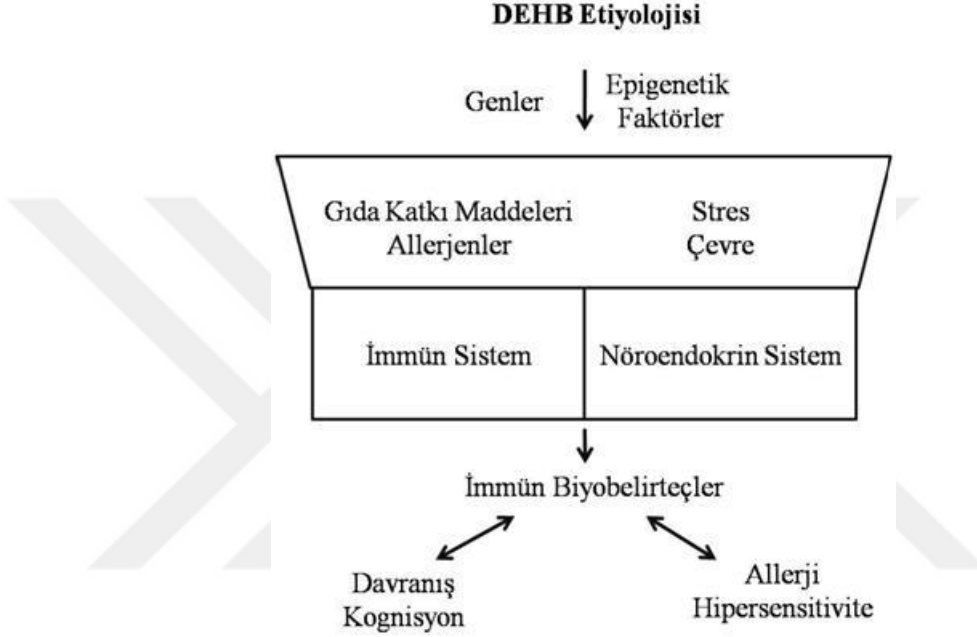
çok faktörlü bir bozukluk olarak değerlendirilen DEHB'nin hem genetik hem de çevresel faktörlerden kaynaklanabileceği öne sürülmekle beraber bu bozukluğun patofizyolojisi tamamen aydınlatılamamıştır (Verlaet ve ark. 2014). Dahası, farklı DEHB subtiplerinin ve eş hastalığın bulunduğu DEHB olgularının farklı etiyojilere sahip olup olmadığı dahi henüz bilinmemektedir (Wallis ve ark. 2008).

### **2.3.1. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Etiyolojisi**

Çalışmalar DEHB'nin %75 oranında genetik aktarımla, %20-30 oranında ise çevresel faktörlerle ortaya çıktığına işaret etmektedir (Biederman ve Faraone 2005; Faraone ve ark. 2005). Hastalığa yol açan faktörlerin değişkenlik gösterebilmesinin yanı sıra, bu faktörlerden herhangi birinin DEHB tetiklemek için tek başına yeterli olmadığı da bilinmektedir (Poelmans ve ark. 2011). Esasen, hastalığın klinik çeşitliliğinin temel kaynağı da bu nedensel heterojenitedir (Corradini ve ark. 2009). Genetik faktörlerin DEHB oluşumunda oldukça büyük bir önemi olduğu vurgulanıyor olsa da, ortadan kaldırılma veya değiştirilebilme ihtimali bulunan çevresel faktörlerin DEHB gelişimine sağladığı katkılar titizlikle incelenmektedir (Verlaet ve ark. 2014). DEHB ile ilişkilendirilmiş çevresel faktörlerden bazıları düşük sosyoekonomik sınıf, ailesel sorunlar, düşük doğum ağırlığı, doğum komplikasyonları, prematürite, dismatürite ve prenatal alkol/tütün maruziyeti gibi gebelikle ilişkili faktörlerdir (Biederman ve Faraone 2005). Ayrıca, son yıllarda endokrin ve immün sistem sorunlarına yol açabilen perinatal stres de DEHB oluşumuna katkı sağlayan faktörler arasında yerini almıştır (Şekil 2.5.) (Ma ve ark. 2011).

Gıdaların alımına bağlı ortaya çıkan egzema, astım, gastrointestinal sistem bozuklukları gibi reaksiyonların sıklıkla davranışsal eş hastalıklarla birlikte görülmesi, gıdaların sadece cildi, gastrointestinal ve respiratuvar sistemleri değil, beyni de olumsuz bir şekilde etkileyebileceği spekülasyonlarını güçlendirmiştir (Pelsser ve ark. 2009; Pelsser ve ark. 2011; Stevens ve ark. 2011). Günümüzde beslenmenin hiperaktivite ve dikkat bozukluklarında rol oynadığı hipotezini destekleyen yeterli sayıda kanıt olmasına rağmen bilim dünyası bu konuyu halen tartışmaktadır ve birçok yeni çalışma yapılmaktadır (Millichap ve Yee 2012). Nitekim 1970'lerden beri var olan beslenmenin DEHB etiyojisinde anlamlı bir yere sahip olabileceği görüşünü destekleyecek nitelikte,

DEHB tanısı almış çocuklarda belirli gıdalara ve gıda katkı maddelerine karşı reaksiyon gelişebildiği pek çok araştırma sonucunda rapor edilmiştir (BF 1973; Sinn 2008; Stevens ve ark. 2011; Millichap ve Yee 2012).



Şekil 2.5. DEHB etiyojisi

Çocuklarda ve ergenlerde oldukça yüksek prevalansa sahip olan bu hastalığın tedavisi, kişilerin doyumlu ve başarılı bir yaşam sürebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde DEHB için etiyojinin ve semptomların baz alındığı terapötik yaklaşımlar tercih edilmektedir (Banaschewski ve ark. 2017).

### 2.3.2. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğuna Yönelik Terapötik Yaklaşımlar

Dünya genelinde DEHB tedavisi, çocuklarda ve ergenlerde semptomları büyük ölçüde azaltan metilfenidat ve deksamfetamin gibi stimulan ve atomoksetin gibi stimulan olmayan farmakolojik ajanlarla yürütülmektedir (Biederman ve Faraone 2005). DEHB tanısı alan çocuklara verilen primer farmakolojik ajan metilfenidat için aralarında baş ağrısının, uyku bozukluklarının, iştah kaybının, psikotik semptomların ve duygudurum bozukluklarının bulunduğu ciddi yan etkiler bildirilmiştir (Schachter ve ark. 2001;



Shibib ve Chalhoub 2009). Dolayısıyla aileler ilaç tedavilerine şüpheyle bakmakta ve genellikle de tedaviyi uygulamama yoluna gitmektedirler (Antshel ve ark. 2011). Ayrıca, bugün bilinen terapötik yaklaşımlarla DEHB hastalarında semptomların tamamen yok edilemiyor olması bu nörobiyolojik bozukluğun alternatif tedavilerine ve patofizyolojisine yönelik daha detaylı deneysel araştırmaların yapılması gereğini doğurmuştur (Verlaet ve ark. 2014).

### **2.3.3. DEHB Patofizyolojisi**

Klinik heterojenitesi oldukça yüksek olan DEHB'nin patofizyolojik profilini açığa çıkarmak ve hastalık için biyolojik bir belirteç bulmak amaçlarıyla deneysel hayvan çalışmaları yürütülmektedir. Literatürde yaygın olarak kemirgen DEHB modelleri kullanılmaktadır. Her ne kadar DEHB kliniğini birebir taklit edemiyor olsa da spontan hipertansif sıçanlar (Okamoto ve Aoki 1963), yüksek impulsiviteye sahip sıçanlar (Dalley ve ark. 2007), DAT knockout fareler (Giros ve ark. 1996), neonatal 6-hidroksidopamin lezyonu oluşturulmuş kemirgenler (Shaywitz ve ark. 1976; Russell 2007), Coloboma mutant fareleri (Hess ve ark. 1992), GIT1 knockout fareler (Menon ve ark. 2010; Won ve ark. 2011) ve NOS1 knockout fareler (Huang ve ark. 1993) deneysel çalışmalarda DEHB denekleri olarak yer almaktadır.

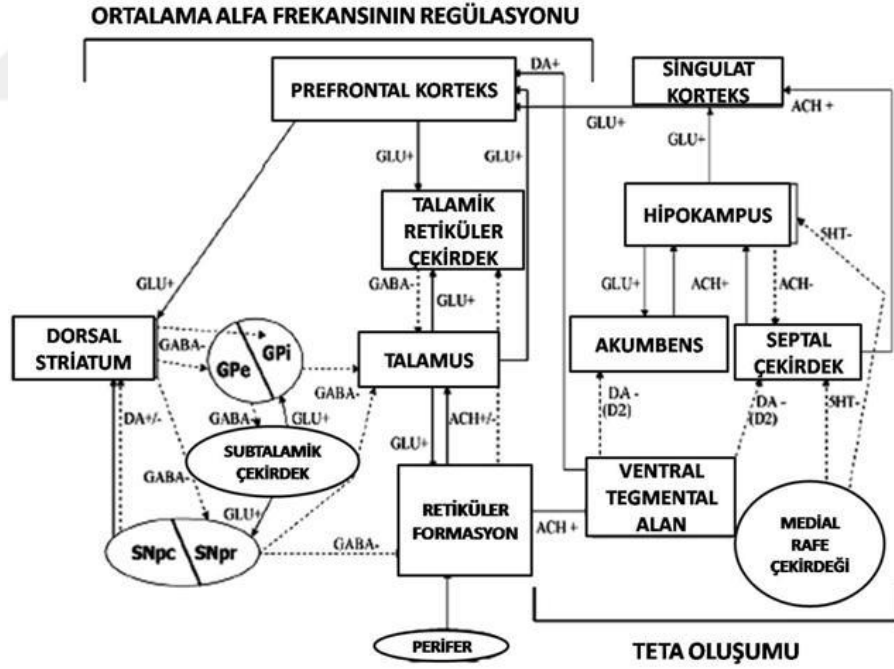
Yapılan araştırmalar sonucunda DEHB patofizyolojisine yönelik ortaya atılmış en güçlü hipotez, astrosit/nöron laktat taşınımındaki disfonksiyona bağlı nöronal enerji disregülasyonudur (Todd ve Botteron 2001; Russell ve ark. 2006). Ayrıca, eksitatör bir nörotransmitter olan glutamatın da dopamin ve norepinefrinle ilişkisi (Lesch ve ark. 2013) ve/veya glikolizle ve astrosit/nöron laktat taşınımıyla bağlantısı (Pellerin ve Magistretti 1994) sebebiyle DEHB patofizyolojisinde yer alabileceği öne sürülmüştür. Hayvan çalışmalarının dışında, DEHB insan araştırmalarında girişimsel olmayan bir teknik olan proton manyetik rezonans spektroskopisiyle beyin metabolitleri ölçülmüş ve DEHB tanısı almış çocuklarda, sağlıklı bireylere kıyasla prefrontal kortekste ve striatumda daha yüksek (glutamat+glutamin)/total kreatinin ve glutamat/total kreatinin oranları ve anterior singulat kortekste ise daha düşük (glutamat + glutamin)/inozitol oranı ölçülmüştür (MacMaster ve ark. 2003; Courvoisie ve ark. 2004; Carrey ve ark. 2007).

DEHB ile ilgili moleküler araştırmaların yanı sıra nörofizyolojik bir belirteç olarak kantitatif EEG'nin kullanıldığı çalışmalar literatürde yer almaktadır (Prichep ve John 1992; Chabot ve ark. 1999). Kantitatif EEG (qEEG) çalışmalarının ortak noktası teta bandı baskın olmak üzere, düşük frekans aktivitesinin DEHB tanısı almış çocuklarda artmış olmasıdır. Kontrol ve DEHB grubu çocuklarını değerlendiren çalışmalar özellikle frontal ve santral beyin bölgelerinde, düşük frekansların hem mutlak hem de göreceli güçleri arasında farklılıklar olduğu görölmüştür (Lubar 1991; Mann ve ark. 1992; Lazzaro ve ark. 1998). Temmuz 2013'te FDA çocuklarda ve ergenlerde DEHB değerlendirmesine yardıma yönelik "ilk beyin dalgası testi"nin piyasaya sürölmesini onaylamıştır. Bu beyin dalgası testi EEG'den elde edilen teta/beta oranını vererek klinik DEHB değerlendirmelerine yeni bir perspektif getirmiştir (FDA 2013; FDA 2013).

Elektrofizyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda teta ve alfa jeneratörlerini içeren bir DEHB modeli ortaya atılmıştır (di Michele ve ark. 2005). Daha önce yapılmış araştırmalarda teta aktivitesinin septal–hipokampal devrede, alfa aktivitesinin ise talamo – kortikal döngülerde olduğu öne sürölmüştür (Lopes da Silva 1990; Lopes da Silva 1996). Teta aktivitesinin kaynağı olduğu düşünölen septal – hipokampal devrede (şekil 2.6.) septal nükleus ve nükleus akumbens, ventral tegmental alandan D2 reseptörleri aracılığıyla inhibitör dopaminerjik innervasyonla modöle edilmektedir (DeBoer ve Abercrombie 1996; Ikarashi ve ark. 1997). Dahası, septal çekirdek ve hipokampus, serotonerjik sinyallerle medyan rafe çekirdeği tarafından negatif modölasyona uğratılmaktadır (Vertes ve Kocsis 1997). Medyan rafe çekirdeğinde lezyon oluşması halinde teta dalgalarının süreli bir şekilde ortaya çıktığı gösterilmiştir (Maru 1979). Septal nükleus ve nükleus akumbensten kalkan kolinerjik eferentler hipokampusu ve singulat korteksi pozitif bir biçimde modöle ederken hipokampus da septal nükleusu kolinerjik nöronlar aracılığıyla yavaşlatabilmektedir. Dolayısıyla, hipokampal–septal projeksiyon seviyesindeki lezyonlar devrenin aşırı aktivasyonunu sağlayarak teta aktivitesinde artışa yol açabilmektedir (şekil 2.6.) (Anchel ve Lindsley 1972). Bu sistemin aşırı aktivasyonu alternatif olarak negatif dopaminerjik regölasyon aracılı disinhibisyona sekonder olarak da gelişebilmektedir. Bu durum sinaptik aralıktaki dopamin miktarının azalması veya mezolimbik nöronlardaki D2 reseptör etkinliğinin artması ile ortaya çıkabilmektedir. Mezolimbik sistem

disfonksiyonunun DEHB’de görülen davranış bozuklarının altında yatabileceği önerilmiştir (Russell ve ark. 1995).

Alfa aktivitesinin üretiminde yer alan temel yapının talamus olduğu düşünülmektedir (Hindriks ve van Putten 2013). Talamik nöronlar sadece kendilerine özgü olan ateşleme paternlerini değiştirebilme özelliği sayesinde dış dünyadan gelen uyarıların kortekse iletimini düzenlemektedir. İntrensek talamo – kortikal aktivitenin yanısıra talamo – kortikal yapılara projekte olan veya bu yapılarda bulunan glutamaterjik, GABAerjik, kolinerjik, dopaminerjik ve serotonerjik sistemler de kilit roller oynamaktadır (Deleuze ve Huguenard 2016; Tassin ve ark. 2016; Moeini ve ark. 2017) (Şekil 2.6.). Yapılan çalışmalara dayanılarak alfa aktivitesine katkı sağlayan kortiko – striatal – talamik – kortikal ağın (di Michele ve ark. 2005) ve nigro – striatal devrenin (Castellanos 1997) de DEHB patofizyolojisinde yer alabileceği düşünülmektedir.



Şekil 2.6. DEHB nörofizyolojisi – alfa/teta bantlarının regülasyon modeli.

#### 2.4. Elektroensefalografi

Elektroensefalografi, 1929’da Hans Berger’in 16 yaşındaki oğlunun spontan beyin aktivitesine dair bulgularını yayınlamasından itibaren kognisyona, beyin fonksiyonlarına ve disfonksiyonlarına dair keşifler yapılmasına olanak sağlamış önemli ve kullanışlı bir

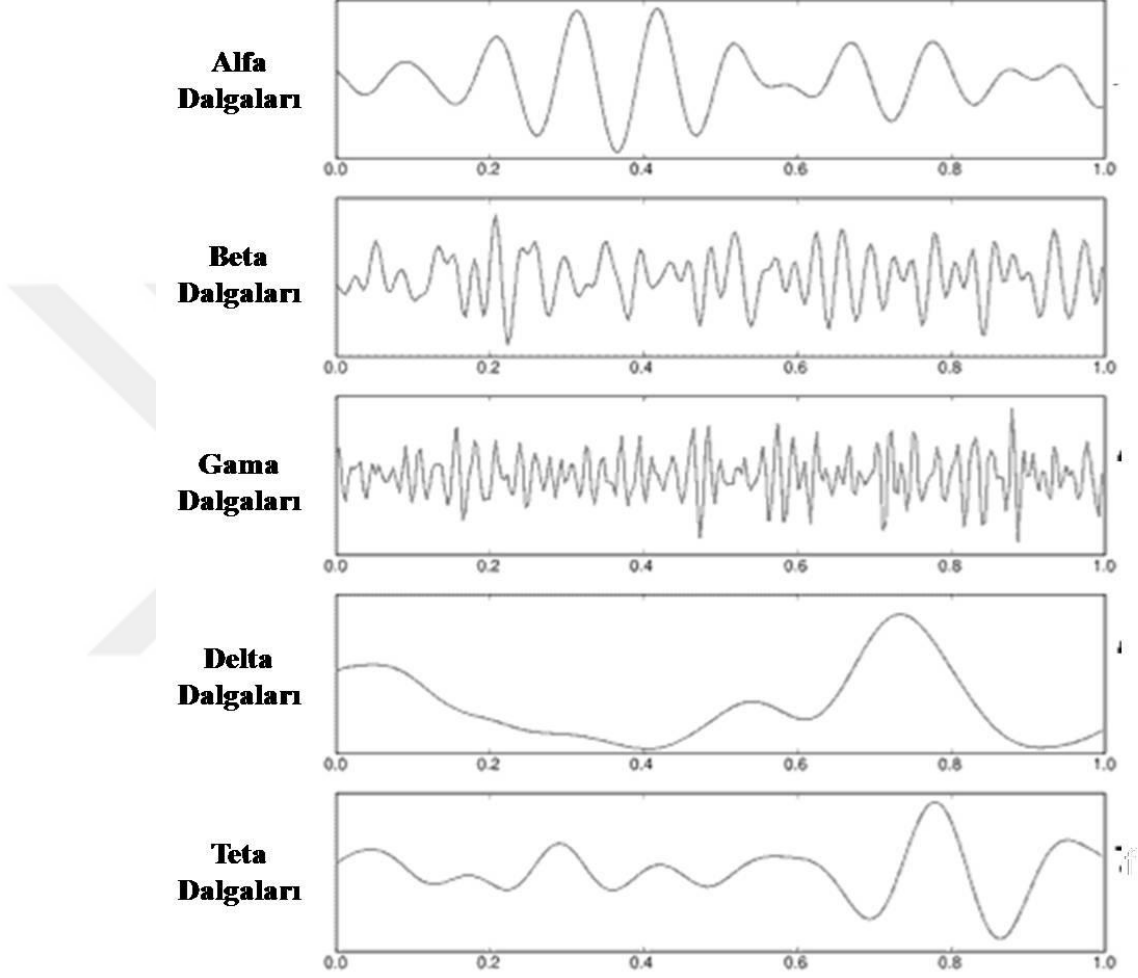
ölçüm yöntemidir (Cohen 2017). Nöronlar uyarılabilir hücreler olduklarından, uyarılabilirliklerindeki değişimler doğrudan veya dolaylı bir şekilde ölçülebilmektedir. Beynin elektriksel aktivite kayıtları intrasellüler veya ekstrasellüler elektrotlar aracılığıyla alınabilmektedir. Ekstrasellüler elektrotlar komşuluklarındaki nöronların aksiyon potansiyellerini algılayabilmekte ve belirli hücre gruplarının “alan potansiyelleri” olarak adlandırılan senkronize aktivitelerini tespit edebilmektedir. Ekstrasellüler biçimde kaydedilen alan potansiyelleri, düşük zaman çözünürlüğünde (milisaniyenin yüzde biri) incelendiğinde geçici değişimler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu değişimler sadece tek hücreye ait yerel potansiyeli değil, pek çok nöronda ortaya çıkmış olan yerel potansiyelleri yansıttığından EEG, kafa derisi üzerine yerleştirilen çoklu elektrotlarla kaydedilen alan potansiyelleri kümelerini temsil etmektedir (Kandel 2013).

Elektriksel aktivite, altta yatan beyin dokusundaki nöronlardan kaynaklandığından, yüzey elektrotlarınca kaydedilen dalga formu, elektriksel kaynağın elektroda göre oryantasyonuna ve uzaklığına bağlı olarak değişmektedir. Kaçınılmaz bir şekilde, EEG sinyali aradaki yumuşak ve kemik dokuların filtreleyici özellikleri sebebiyle bozulmakta ve zayıflamaktadır. Tek bir hücredeki, yüksek frekanslı aktiviteler EEG sinyaliyle filtrelendiğinden, EEG primer olarak hücre membranındaki sinaptik potansiyeller gibi yavaş voltaj değişimlerini yansıtmaktadır (Kandel 2013).

Her ne kadar EEG sinyali pek çok nöronun elektriksel aktivitesinin toplu bir ölçümü olsa da, tüm hücreler EEG sinyaline aynı katkıyı sağlamamaktadır. Yüzeysel EEG baskın olarak EEG elektrodunun komşuluğundaki kortikal nöronların aktivitesini yansıtmaktadır. Dolayısıyla hipokampus, talamus veya beyin sapı gibi derin yapılar yüzeysel EEG’ye doğrudan katkı yapmamaktadır.

Yüzeysel EEG, elektriksel aktivitenin frekans ve genliğiyle karakterize edilen, uyku ve uyanıklığın farklı evreleriyle ve bazı patofizyolojik süreçlerle korelasyon gösteren dalga paternleri sergilemektedir. İnsanlarda EEG, frekans aralığı 1–100 Hz, genlik aralığı ise 20 – 100  $\mu$ V olan dalga formları içermektedir. Gözlemlenen dalgalar taşıyıcı frekanslarına göre klasik biçimde delta (0,5 – 4 Hz), teta (4 – 8 Hz), alfa (8 – 13 Hz), beta (13 – 30 Hz) ve gama (30 – 100 Hz) dalgaları olarak sınıflandırılabilir. Bu

frekans bantları, beynin işlevsel, fizyolojik ve topografik farklılıklarını yansıtmaktadır (Gurau ve ark. 2017).



Şekil 2.7. Frekans bantlarına göre EEG dalgaları

Günümüzde yüzeyel EEG'nin yanı sıra, çeşitli frekans bantlarındaki sinyal gücünün ve farklı beyin bölgeleri arasındaki bağlantısallığın sinyal analizi teknikleriyle değerlendirildiği kantitatif EEG (qEEG) artan bir hızla önem kazanmaktadır (Billeci ve ark. 2013). Kantitatif EEG, nöropsikiyatrik bozuklukların mekanizmalarının açığa çıkarılabilmesine katkı sağlamanın ötesinde klinikte daha net ayırıcı tanı koydurtabilecek ve daha etkin tedavi takibi sağlayabilecek bir teknik olduğundan, literatüre bakıldığında şizofreni (Owens ve ark. 2016), bipolar bozukluk (Khaleghi ve

ark. 2015), depresyon (Lee ve ark. 2017), panik bozukluk (Di Giorgio Silva ve ark. 2017), otizm (O'Reilly ve ark. 2017) ve DEHB (Rommel ve ark. 2016) gibi çeşitli hastalıklardaki qEEG değişimlerinin rapor edildiği görülmektedir. Bu değişimleri şöyle örneklendirmek mümkündür: panik atakta ve DEHB'de epileptiform deşarjlara rastlanırken şizofrenide sol temporal teta artışı, duygu durum bozukluklarındaysa sağ temporal teta artışı görülmektedir (Chandra ve ark. 2017).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarları ve Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirilen bu tez çalışmasında 20 günlük, ortalama 80 - 100g ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanılmıştır.

#### 3.1. Gruplandırma ve Deney Protokolü

Deney Hayvanları Ünitesinden 40 gün ara ile rastgele alınan toplam 72 adet sıçan her grupta 24 hayvan olacak şekilde üç gruba bölünmüştür.

1. Grup: Kontrol grubu (K)
2. Grup: 25 mg/kg Sülfid grubu (S25)
3. Grup: 100 mg/kg Sülfid grubu ( S100 )

#### Deney protokolü:

Deney süresi boyunca, hayvanlar her kafeste 5 hayvan olacak şekilde, 12 saatlik karanlık/aydınlık siklusunda tutulmuşlardır. Bu süre içinde hayvanlar, ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiştir.

Deney süresince;

i) 35 Gün boyunca K grubuna musluk suyu, S25 grubuna 25 mg/kg dozunda sodyum metabisülfid ve S100 grubuna 100mg/kg dozunda sodyum metabisülfid gavaj yoluyla verilmiştir (Kencebay ve ark. 2013; Noorafshan ve ark. 2015).

ii) Postnatal 20. günde (P20) teslim alınan sıçanlara 3 gün boyunca, hayvan başına günde 5 dakika olmak üzere ele alıştırmaya işlemi uygulanmıştır (Liso Navarro ve ark. 2014).

iii) P24. ve P25. günlerde, P38. ve P42. günler arasında ve P55. ve P58. günler arasında her gruptan 18 sıçan deney ortamına alışmaları amacıyla günde 5 dakika boyunca açık alan düzeneğine bırakılmış, P59. gün açık alan testi gerçekleştirilmiştir (Liso Navarro ve ark. 2014).

iv) Açık alan testine alınan sıçanlara P54. günde yükseltilmiş artı labirent testi uygulanmıştır (Liso Navarro ve ark. 2014).

v) Her gruptan 6 sıçana postnatal 53. günde stereotaksik cerrahi ile EEG elektrotları takılmış ve 1 haftalık iyileşme sürecinin sonunda postnatal 59.gün EEG kayıtları alınmıştır (Vorobyov ve ark. 2011).

P60. günde ürethan anestezisi altında sıçanların sol ventrikülünden girilip aortaya kanül yerleştirilmiş, kanülün distalinden oklüzyon yapılarak heparinli serum fizyolojik ile beyin perfüzyonu sağlanmıştır. Perfüzyonu takiben beyin dokuları çıkarılmış ve biyokimyasal parametrelerde kullanılmak üzere frontal lobları ayrılarak ependorf tüplere konulmuş ve  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

### **3.2. Davranış Parametrelerinin Tayini**

Projemizde, davranış parametreleri için açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi kullanılmıştır.

#### **3.2.1. Açık Alan Testi**

Açık alan testi 20:00 – 23:00 saatleri arasında, duvar yüksekliği 40 cm ve taban alanı  $80 \times 80 \text{ cm}^2$  olan kare şeklinde siyah mat tabanlı bir düzenekte yapılmıştır (Şekil 3.1). Alan, birbirine eşit 16 küçük kareye bölünmüştür. Deneyin başlangıcında sıçanlar tek tek bu alanın merkezine bırakılmış ve 5 dakika boyunca hareketleri dijital olarak kaydedilmiştir. Navarro ve ark. (Liso Navarro ve ark. 2014) tarafından tanımlanmış protokole göre ölçüm testinin yapıldığı P59'dan önce P20-P23 günleri arasında hayvanlar ele alıştırmaya sürecinden geçirilmiştir. P24, P25 günlerinde, P38-P42 günleri ve P55-P59 günleri arasında ise DEHB tanısı almış çocukların hiperaktif davranış biçimini, aşına oldukları ortamlarda daha belirgin biçimde ortaya çıkarmalarına (Sleator ve Ullmann 1981) dayanarak, deneme testleri yapıp hayvanların deney düzeneğini tanımları sağlanmıştır. P59. gün toplanan veriler değerlendirilmiştir (Noldus Ethovision XT). Açık alan testi düzeneği, koku duyusuna göre hareketleri engellemek amacıyla her bir sıçan deneyi sonrasında %70'lik etanol ile temizlenmiştir. Girilen kare sayısı, katedilen toplam mesafe ve hız incelenmiştir.





Şekil 3.1. Açık alan test düzeneği.

### 3.2.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi P54. gün 20:00 – 23:00 saatleri arasında kol genişliği 10 cm, kol uzunluğu 50 cm, duvar yüksekliği 30 cm ve yerden yüksekliği 40 cm olan artı şeklinde, iki kolun duvarlarla çevrili, diğer iki kolun ise çevresinin tamamen açık olduğu siyah mat zeminli bir düzende yapılmıştır (Şekil 3.2). Navarro ve ark. (Liso Navarro ve ark. 2014) tarafından tanımlanmış protokole göre her sıçan kolların çakışma noktası olan merkeze bırakılmış ve davranışları 5 dakika boyunca kaydedilmiştir (Noldus Ethovision XT). Açık ve kapalı kollarında geçirilen zaman değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. Yükseltilmiş artı labirent test düzeneği.

### 3.3. Elektroensefalografi Parametreleri

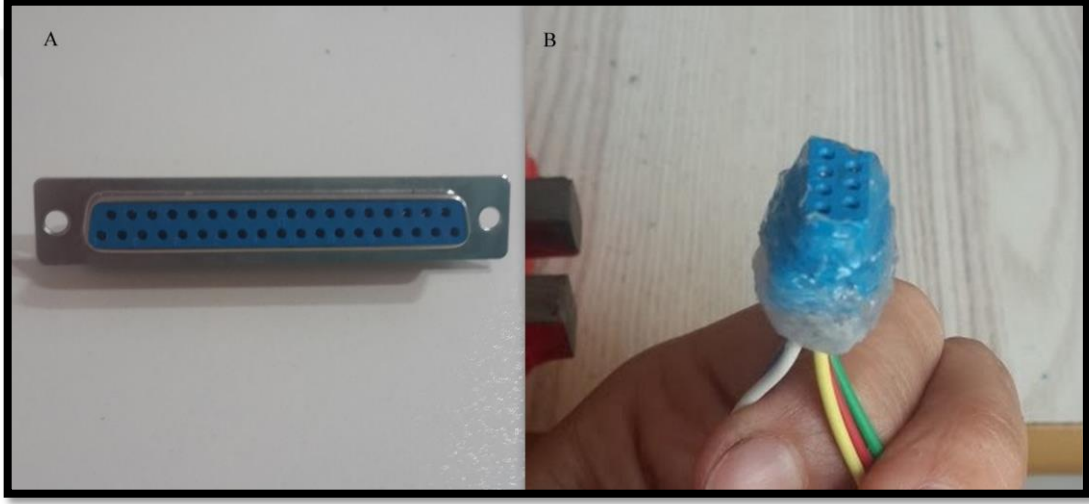
#### 3.3.1. Kayıt Kablosunun Yapılması

##### Kullanılan Malzemeler:

1. EEG Elektrodu
2. İki sıralı dişli VGA soketi

### **İşlemler:**

Altı adet jaklı EEG elektrodunun disk kısımları kesildikten sonra çıplak kablo uçları, her bir kablo bir pinle eşleşecek şekilde 2x3 konfigürasyonunda dişi VGA soketine lehimlenmiştir. Kablo – soket birleşim bölgesinin izolasyonunu sağlamak ve dayanıklılığını arttırmak amacıyla birleşim bölgesi sıcak silikonla kaplanmıştır. Bu şekilde 4 kanaldan eş zamanlı kayıt alınabilmesini sağlayacak bir bağlantı kablosu elde edilmiştir.



**Şekil 3. 3.** Kayıt kablosunun yapımı. **A)** İki sıralı VGA soketi. **B)** 2X3 konfigürasyonunda kesilip çıplak uçlu EEG elektrodu kablosuna lehimlenmiş soket parçası.

### **3.3.2. Vida Elektrot Bağlantısı İçin Konnektör Sisteminin Yapılması**

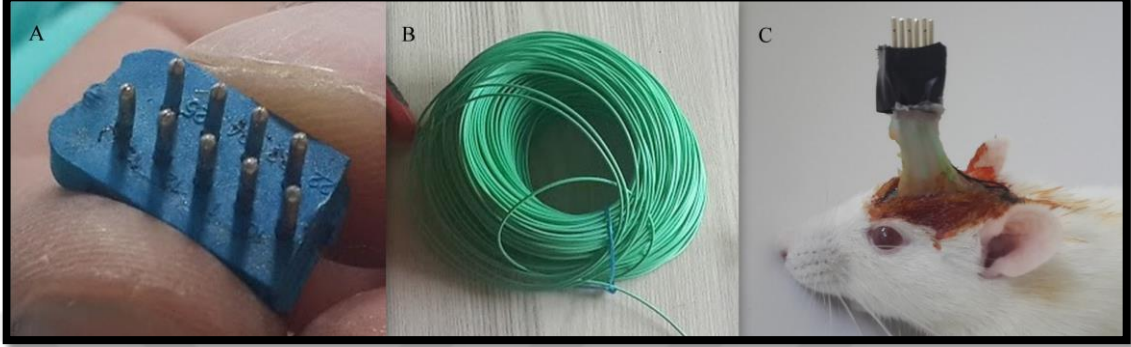
#### **Kullanılan Malzemeler:**

1. Paslanmaz çelik vida
2. Özdirenç kablosu
3. İki sıralı erkek VGA Soketi

### **İşlemler:**

İki sıralı soketler 2x3 konfigürasyonunda 6 pinlik parçalar elde etmek amacıyla kesilmiştir. İki santimetrelik özdirenç kablo parçaları kesilmiş ve bir ucu daha sonra vida elektrotlara lehimlenmek üzere serbest bırakılmış, diğer ucu ise pinlere lehimlenerek

vida elektrot konnektörleri elde edilmiştir. İzolasyonu ve dayanıklılığı sağlamak amacıyla bağlantı bölgeleri sıcak silikonla kaplanmıştır.



**Şekil 3.4.** Konnektör sisteminin yapımı. **A)** Kesilmiş VGA soketi. **B)** Özdirenç kablosu. **C)** Kafatasına implante edilmiş vida elektrotlara bağlanmış konnektör sistemi.

### 3.3.3. Vida Elektrotların İmplantasyonu

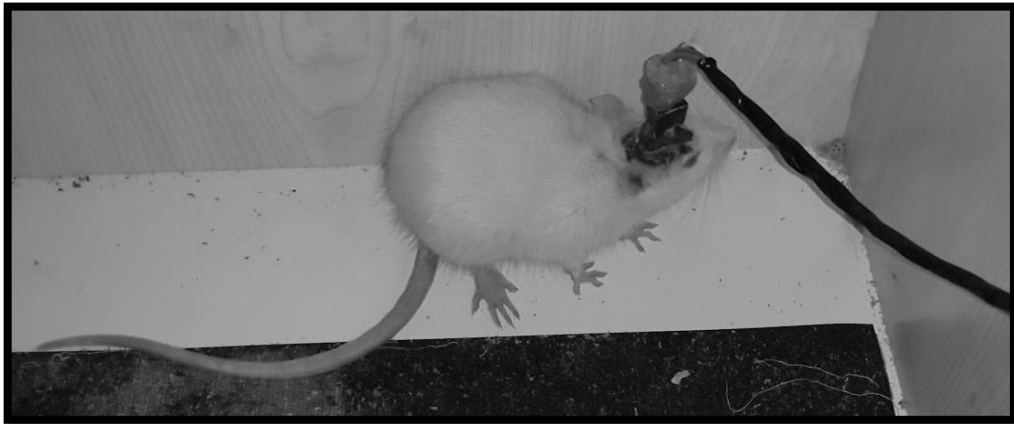
Postnatal 53. günde sıçanlar 100 mg/kg dozunda ketamin ve 10mg/kg dozunda ksilazin ile anestezi edildikten sonra stereotaksi cihazına yerleştirilmiştir. Cerrahi sırasında vücut sıcaklıklarının 37 °C'nin altına düşmemesi için sıçanların altına elektrikli ısıtıcı ped konulmuştur. Cerrahi saha povidin iyot ile boyandıktan sonra 2,5 cm'lik santral ortahat insizyonu yapılmış ve kafatası ekspoze edilmiştir. Cerrahi sahanın infeksiyonunu önlemek amacıyla 1 µl Rifampisin damlatılmış ve kuruması beklenmiştir. Aktif elektrotlar için frontal korteks (Bregmaya göre AP: + 5mm, LM: ± 2,0 mm) ve primer motor korteks (Bregmaya göre AP: + 3 mm, LM: ± 3,0 mm), referans ve toprak elektrotlar için ise serebellum üzerine gelecek şekilde el matkabıyla bilateral vida delikleri açılmıştır. Vida elektrotlar deliklere yerleştirildikten sonra doku ısınmasını ve kurumasını engellemek amacıyla cerrahi saha %0,9'luk izotonik NaCl çözeltisiyle yıkanmış ve bir ucu konnektöre bağlı olan bağlantı kabloları havya ile vidalara lehimlenmiştir. Konnektör – vida bağlantısı sağlandıktan sonra dental akrilik dökülerek elektrotlar kafaya sabitlenmiştir.



Şekil 3. 5. Elektrot implantasyonu yapılmış deney hayvanı.

#### 3.3.4. Elektroensefalografi Kaydının Alınması

P59. gün sıçanlar kayıttan 2 saat önce EEG'nin kaydedileceği laboratuvara götürülmüş ve ortama adapte olmalarına imkan verilmiştir. Her bir sıçan taban alanı 40x40 cm<sup>2</sup> ve duvar yüksekliği 40 cm olan bir kutunun içine bırakıldıktan sonra vida elektrotların bağlı bulunduğu konnektör ile kayıt kablosunun bağlantısı kurulmuştur. Bir saat boyunca kutu içerisinde serbestçe gezen sıçanlardan 0,3 – 100 Hz bant geçiren filtre kullanılarak 500 örnekleme frekansında Brain Vision sistemi ile EEG kaydı alınmıştır. Kayıt başlatılmadan önce yapılan kontrollerde empedansların 1 k $\Omega$  olduğu görülmüştür.



Şekil 3.6. EEG kaydı alınan deney hayvanı.

### 3.3.5. Spektral Analiz

Kayıtlar, çevrimdışı olarak BrainVision Analyzer 2 ile incelenmiştir. İlk etapta 50 Hz'lik notch filtre uygulandıktan sonra manuel artefakt rejeksiyonu yapılmıştır. Sinyaller temizlendikten sonra 10 saniyelik EEG segmentlerinin hızlı Fourier dönüşümü ile delta (0,5 – 4 Hz), teta (4 – 7 Hz), alfa (8 – 13 Hz), beta 1 (13 – 17,8 Hz) ve beta 2 (17,8 – 30 Hz) bantlarına ait frekans spektrumları elde edilmiştir. Her bir sıçana ait frekans spektrumu verisi segmentlerdeki frekans spektrumlarının aritmetik ortalamaları alınarak elde edilmiştir (Vorobyov ve ark. 2011).



Şekil 3.7. Kaydedilmiş EEG trasesi örneği.

## 3.4. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini

### 3.4.1. Alfa Ketoglutarat Tayini

Alfa ketoglutarat tayini dokuya uyumlu kolorimetrik alfa ketoglutarat tayini kiti kullanılarak yapılmıştır. Kit,  $\alpha$ -ketoglutarat miktarıyla orantılı olarak 570 nm dalgaboyunda kolorimetrik ölçümle tespit edilebilen bir ürün oluşturan eşlenmiş enzim tayini ile çalışmaktadır (Jin ve ark. 2013).

### Reaktifler ve Kimyasallar:

- 1) Alfa Ketoglutarat Tayin Kiti ( $\alpha$ -Ketoglutarate Assay Kit, Sigma)

2) 10 kDa Moleküler Ağırlık Kesme Değerli döndürme filtresi

#### **İşlemler:**

Frontal loblar (n=7/grup) eppendorf tüplerine alındıktan sonra 20 mg doku başına 100 µl α-ketoglutarat kit tamponu eklenip homojenize edilmiş ve 13000xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Toplanan süpernatantlar 10 kDa moleküler ağırlık kesme değerli döndürme filtrelerine aktarıldıktan sonra 14000xg'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Filtratların numune olarak kullanıldığı kolorimetrik kit ile frontal lobdaki alfa ketoglutarat miktarı ng/µl olarak tayin edilmiştir.

#### **3.4.2. Glutamat Dehidrogenaz Aktivite Tayini**

Glutamat dehidrogenaz enzim aktivitesinin ölçümü dokuya uyumlu kolorimetrik GDH aktivite tayin kiti kullanılarak yapılmıştır. Kit, glutamatın GDH tarafından tüketilip NADH ürettiği ve NADH'nin GDH aktivitesiyle orantılı olarak 450 nm dalgaboyunda ölçülebilen ürün oluşturmak üzere "probe" ile reaksiyona girdiği bir eşlenik enzim tayini ile yapılmaktadır (Abu Shmais ve ark. 2012).

#### **Reaktifler ve Kimyasallar:**

Glutamat Dehidrogenaz Aktivitesi Tayin Kiti (Glutamate Dehydrogenase (GDH) Activity Assay Kit, Sigma)

#### **İşlemler:**

Frontal loblar (n=7/grup) eppendorf tüplerine alındıktan sonra 50 mg doku başına 200 µl glutamat dehidrogenaz kit tamponu eklenip homojenize edilmiş ve 13000xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Toplanan süpernatantların numune olarak kullanıldığı aktivite kiti ile frontal lobdaki glutamat dehidrogenaz aktivitesi U/l olarak belirlenmiştir.

#### **3.4.3. Alanin Aminotransferaz Aktivite Tayin Kiti**

Alanin aminotransferaz enzim aktivitesinin ölçümü dokuya uyumlu kolorimetrik ALT aktivite tayin kiti (Alanine Aminotransferase Activity Assay Kit, Sigma) kullanılarak yapılmıştır. Kite ALT aktivitesi üretilen pirüvata orantılı biçimde kolorimetrik olarak tespit edilebilen bir ürünün oluştuğu eşlenmiş enzim tayini ile ölçülmektedir (Yang ve ark. 2009).

### **Reaktifler ve Kimyasallar:**

Alanin Aminotransferaz Aktivitesi Tayin Kiti (Alanine Aminotransferase Activity Assay Kit, Sigma)

### **İşlemler:**

Frontal loblar (n=7/grup) eppendorf tüplerine alındıktan sonra 50 mg doku başına 200 µl ALT kit tamponu eklenip homojenize edilmiş ve 15000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Toplanan süpernatantların numune olarak kullanıldığı aktivite kiti ile frontal lobdaki alanin aminotransferaz aktivitesi U/l olarak belirlenmiştir.

### **3.4.4. Kütle Spektrometresi İle Glutamat ve Glutamin Tayini**

Perfüze edilerek çıkarılan frontal lob dokularına (n=8/grup) hacminin 4 katı kadar metanol eklenerek homojenize edilmiş ve sonrasında 18000 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatantlar alınmıştır. Peletinden ayrılan 1 ml süpernatant 10 µl iç standart solüsyonu ve 10 µl su ile 5 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra 3000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek tekrar süpernatant alınmıştır. Alınan süpernatant 35°C'de kuruyana kadar nitrojen ile uçurulduktan sonra elde edilen kuru ekstrakt 100 µl su eklenerek tekrar çözülmüş ve hazırlanan örneğin 2 µl'si UFLC-MS/MS sisteminde MassLynx NT Software yazılımı ile analiz edilmiştir (Wei ve ark. 2014).

### **3.4.5. Real-time PCR İle Alanin Aminotransferaz ve Glutamat Dehidrogenaz mRNA Tayini**

#### **Total RNA izolasyonu:**

Kontrol ve deney grubuna ait doku örneklerinden (n=3/grup) total RNA izolasyonu, trizol (Invitrogen) reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MagNa Lyser Gren Beads tüplerine alınan dokuların üzerine 1 ml trizol reaktifi eklenmiş ve homojenizasyon işlemi MagNa Lyser cihazında 3000 rpm 30 saniyede gerçekleştirilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra Invitrogen'in protokolüne göre RNA izolasyonu tamamlanmıştır. Protokol sonunda elde edilen RNA pelletleri üzerine RNaz-içermeyen su konulmuş ve toplanan RNA'nın konsantrasyonu spektrofotometrik olarak 260 nm ve 280 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Daha sonra tüpler -80°C'ye kaldırılmıştır.



**Dnaz-muamelesi:**

RNA (3 µg) 1U Dnaz I (Invitrogen) ile muamele edilmiş ve komplementer DNA (cDNA) sentezi için kullanılmıştır.

**cDNA sentezi:**

cDNA sentezi, High-Capacity cDNA Reverse Transcription kiti (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dnaz ile muamele edilmiş olan RNA örneğine, 10xRT tamponu, 25xdNTPmix, 10xRT random primerler, Rnase inhibitör ve Multiscribe reverse transcriptase (50 U/µl)'den oluşan toplam 10 µl'lik cDNA sentez karışımı ilave edilip yavaşça karıştırılmıştır. Bu karışım, 25°C'de 10 dakika, 37°C'de 120 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon 85°C'de 5 dakika inkübe edilerek sonlandırılmıştır. Elde edilen cDNA'lar PCR için kullanılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

**Real-time PCR reaksiyonu:**

Sıçan ALT ve GDH için spesifik primerler (Tablo 3.1) kullanılarak StepOnePlus™ Real-Time PCR (Applied Biosystems) cihazında, Power SYBR® Green Master Mix protokolüne göre Real-time PCR çalışılmıştır. Reaksiyon karışımı; 10 µl PowerUp SYBR® Green PCR Master Mix (2X), 10 µM forward, 10 µM reverse primer, 2 µl cDNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde nükleaz-içermeyen sudan oluşacak şekilde hazırlanmıştır. Amplifikasyon koşulları; 50°C'de 2 dakika, 95°C'de 2 dakika, 95°C'de 3 saniye, 53°C'de 30 saniye ve 72 °C'de 30 saniye olacak şekilde oluşturulmuştur. StepOnePlus™ Real-Time PCR (Applied Biosystems) cihazına ait software programı yardımıyla CT (siklus eşik değerleri) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen CT değerleri  $2^{-\Delta\Delta CT}$  formülünde kullanılarak her genin kontrol grubuna kıyasla göreceli değişim düzeyleri hesaplanmıştır. Amplifikasyon, 35 siklusta gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, Melting Curve analizi ile ürünlerin beklenen ve gözlenen Tm değerleri karşılaştırılarak PCR ürünlerinin doğruluğu değerlendirilmiştir (Cavallaro ve ark. 1997; Yang ve ark. 2009).

**Tablo 3.1.** Real-time PCR için kullanılan primerlerin sekansları

<b>Hedef Gen</b>	<b>Sekans</b>	<b>Fragman Büyüklüğü (bp)</b>
<b>ALT</b>	İleri 5'-CCAGAGGATGCCAAGAGAAG-3' Geri 5'-GCCTCCGTCTCTTCTCTCAA-3'	138
<b>GDH</b>	İleri 5'-GAGGACAAGCTGGTGGGAAGA-3' Geri 5'-AGGAGAGGCTCAACACATGG-3'	115

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirmelere SPSS Versiyon 15.0 Paket Programı kullanılarak yapılmıştır. Davranış testleri olan açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testine ait veriler tek yönlü varyans analizi ve onu takiben Tukey Post Hoc Testi ile analiz edilmiştir. Biyokimyasal veriler ve frekans spektrumlarının çoklu karşılaştırmaları için parametrik olmayan Kruskal Wallis Testi ve ikili karşılaştırmaları için Mann Whitney-U Testi kullanılmıştır. Bulgular, ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur.  $P < 0,05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

## 4. BULGULAR

### 4.1. Genel Görünüm

Deneye P21. günde alınan sıçan yavrularının gelişim eğrileri haftalık ağırlık tartımı yapılarak tüm gruplar için 35 günlük deney süreci boyunca takip edilmiş ve gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir. Cerrahi girişim uygulanan sıçanların postoperatif takiplerinde herhangi bir komplikasyon veya sekelle karşılaşılmamıştır.

### 4.2. Davranışsal Bulgular

#### 4.2.1. Açık Alan Testi Bulguları

Tüm grupların katedilen mesafe, girilen kare sayısı ve hız değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Açık alan testinde sodyum metabisülfite almış S25 ve S100 grubu sıçanlarının lokomotor aktivite göstergesi olan parametrelerinde doz bağımlı bir artış gözlenmiştir.

Katedilen mesafeler ve girilen kare sayıları açısından K ve S25 grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, S100 grubunun kat ettiği mesafe ve girdiği kare sayısının K grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir.

Ortalama hızlar ele alındığında ise sadece S100 grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlenmiş, K ve S25 grupları arasında farklılık görülmemiştir.

**Tablo 4.1.** Açık alan testinde katedilen mesafe, girilen kare sayısı ve hız değerleri.

<b>Grup (n = 18)</b>	<b>Katedilen Mesafe (cm)</b>	<b>Girilen Kare Sayısı</b>	<b>Hız (cm/s)</b>
<b>K</b>	1303,7 ± 126,9	42,9 ± 6,5	4,7 ± 0,4
<b>S25</b>	1643,2 ± 148,0	58,9 ± 7,7	5,9 ± 0,5
<b>S100</b>	1883,9 ± 129,3**	75,8 ± 7,5**	6,7 ± 0,5**

\*\* p<0,01 K grubuna göre fark.

#### 4.2.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testi açık kolda geçirilen süre ve kapalı kolda geçirilen süre değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Yükseltilmiş artı labirent testinde sodyum metabisülfite almış S25 ve S100 grubu sıçanlarının anksiyetelerini gösteren kapalı kolda geçirilen sürede doz bağımlı bir artış gözlenmiş, ancak gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Açık kolda geçirilen süre S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre azalmış, fakat sadece S100 grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

**Tablo 4.2.** Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolda geçirilen süre ve kapalı kolda geçirilen süre değerleri.

<b>Grup (n=18)</b>	<b>Açık Kolda Geçirilen Süre (s)</b>	<b>Kapalı Kolda Geçirilen Süre (s)</b>
<b>K</b>	104,3 ± 8,7	174,3 ± 9,8
<b>S25</b>	82,7 ± 6,8	177,9 ± 7,5
<b>S100</b>	61,5 ± 8,6***	206,1 ± 11,3

\*\*\* p<0,001 K grubuna göre fark.

#### 4.3. EEG Bulguları

Kontrol ve deney gruplarının frontal kortekslerinden bilateral alınmış EEG kayıtları incelendiğinde S25 ve S100 gruplarının delta ve teta frekans bandı genliklerinin K grubuna göre anlamlı olarak arttığı, beta1 bant genliğinin ise her iki deney grubunda K grubuna göre azaldığı görülmüştür. Alfa ve beta2 frekans bandı genlikleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Tablo 4.3.** Frontal korteksten alınan EEG dalgalarının frekans spektrumu.

GRUP (n=6)	Frontal Korteks Frekans Spektrumu ( $\mu\text{V}$ )				
	$\delta$	$\theta$	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$
<b>K</b>	5,80 $\pm$ 0,11	3,76 $\pm$ 0,07	2,55 $\pm$ 0,05	1,44 $\pm$ 0,03	0,98 $\pm$ 0,02
<b>S25</b>	8,42 $\pm$ 0,11***	4,76 $\pm$ 0,06***	2,63 $\pm$ 0,03	1,33 $\pm$ 0,01***	1,01 $\pm$ 0,01
<b>S100</b>	8,37 $\pm$ 0,08***	4,59 $\pm$ 0,06***	2,53 $\pm$ 0,03	1,34 $\pm$ 0,01***	1,02 $\pm$ 0,01

\*\*\* p<0,001 K grubuna göre fark.

Primer motor korteksten alınan EEG sinyalleri incelendiğinde S25 ve S100 gruplarında delta, teta ve beta2 frekans bandı genliklerinde K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulunurken alfa ve beta1 frekans bantlarının genlikleri açısından gruplar arasında fark görülmemiştir.

**Tablo 4.4.** Motor korteksten alınan EEG dalgalarının frekans spektrumu.

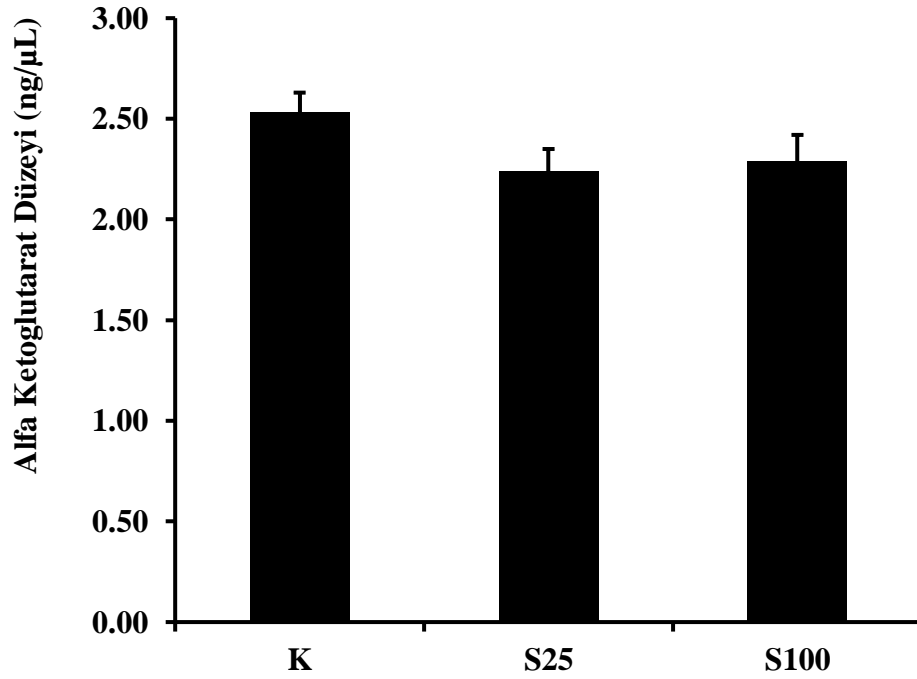
GRUP (n=6)	Motor Korteks Frekans Spektrumu ( $\mu\text{V}$ )				
	$\delta$	$\theta$	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$
<b>K</b>	5,36 $\pm$ 0,11	3,70 $\pm$ 0,07	2,62 $\pm$ 0,06	1,45 $\pm$ 0,03	0,96 $\pm$ 0,02
<b>S25</b>	7,75 $\pm$ 0,07***	5,18 $\pm$ 0,05***	2,69 $\pm$ 0,02	1,47 $\pm$ 0,01	1,09 $\pm$ 0,01***
<b>S100</b>	7,99 $\pm$ 0,06***	5,15 $\pm$ 0,05***	2,71 $\pm$ 0,04	1,47 $\pm$ 0,01	1,10 $\pm$ 0,01***

\*\*\* p<0,001 K grubuna göre fark.

#### 4.4.Biyokimyasal Bulgular

##### 4.4.1. Alfa Ketoglutarat Seviyesi Bulguları

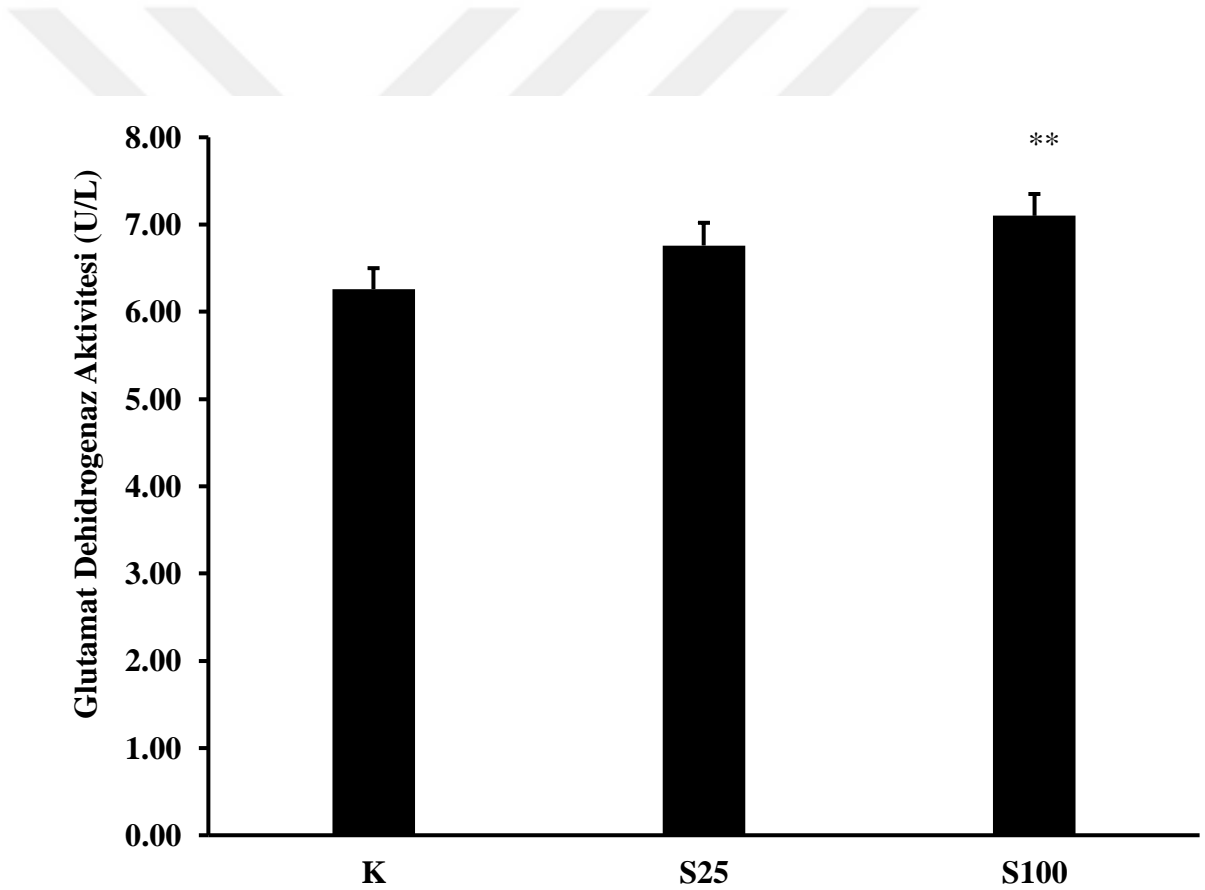
Frontal lobdaki AKG seviyesi değerlendirildiğinde S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre nicel bir azalma izlenmiş olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tüm gruplara ait AKG düzeyleri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Frontal lobda alfa ketoglutarat seviyeleri (n=7).

#### 4.4.2. Glutamat Dehidrogenaz Aktivitesi Bulguları

Frontal lobdaki GDH aktivitelere bakıldığında S25 ve S100 gruplarında doz bağımlı bir artış olduğu izlenmiş, fakat K grubuna göre sadece S100 grubundaki artışın istatistiksel anlam taşıdığı tespit edilmiştir. Tüm gruplara ait GDH aktiviteyi Tablo 4.5'te ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

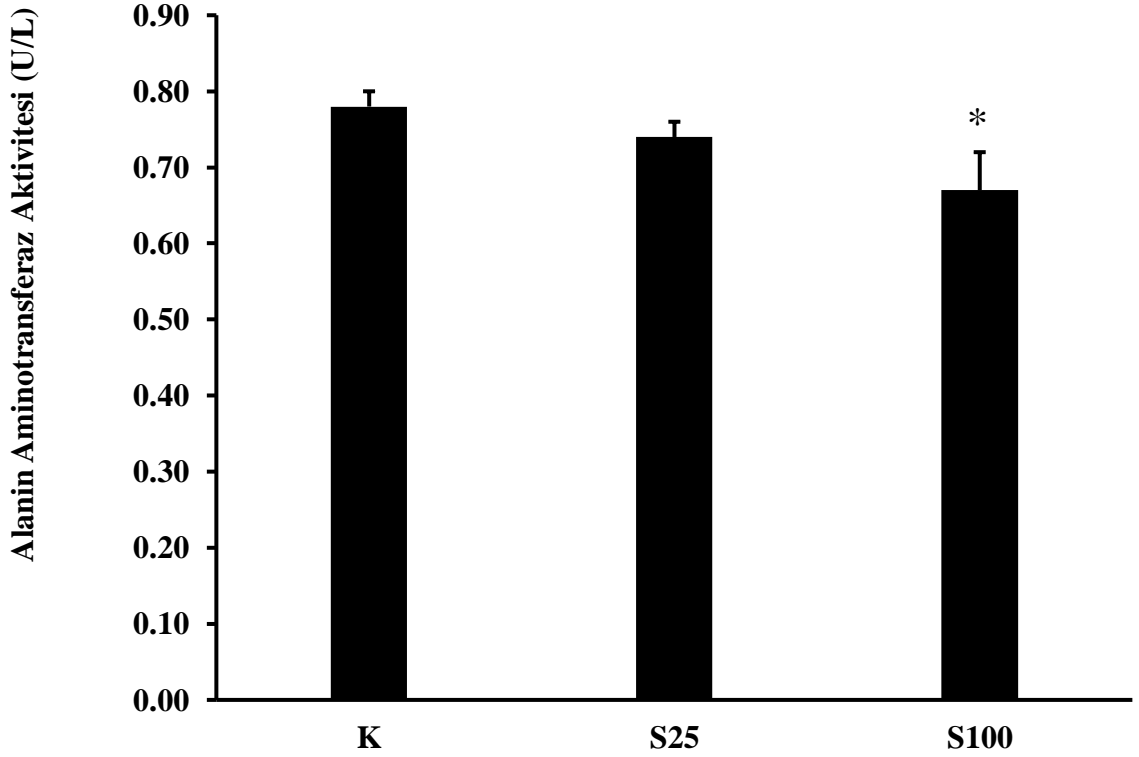


Şekil 4.2. Frontal lobda glutamat dehidrogenaz aktiviteyi (n=7).

\*\* p<0,01 K grubuna göre fark.

#### 4.4.3. Alanin Aminotransferaz Aktivitesi Bulguları

Frontal lobdaki ALT aktiviteyi değerlendirildiğinde sodyum metabisülfite almış S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre doz bağımlı bir azalma gözlenmiş olup, sadece S100 grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Tüm gruplara ait ALT aktiviteyi Tablo 4.5'te ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



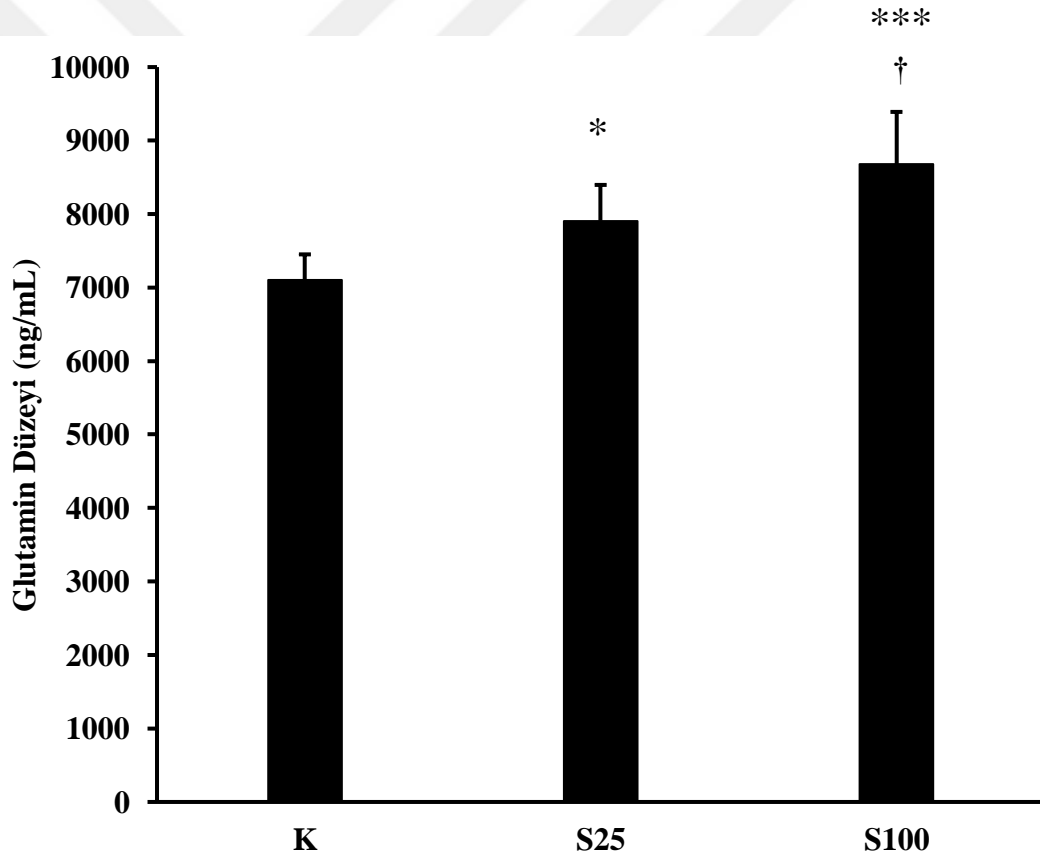
Şekil 4.3. Alanin aminotransferaz aktiviteyi (n=7).

\*  $p < 0,05$  K grubuna göre fark.



#### 4.4.4. Glutamin Düzeyleri

Frontal lobdaki glutamin düzeyleri incelendiğinde hem S25 grubunda hem de S100 grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. Ayrıca, S100 grubunun frontal lob glutamin seviyesinin S25 grubuna göre de yükselmiş olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplara ait glutamin düzeyleri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

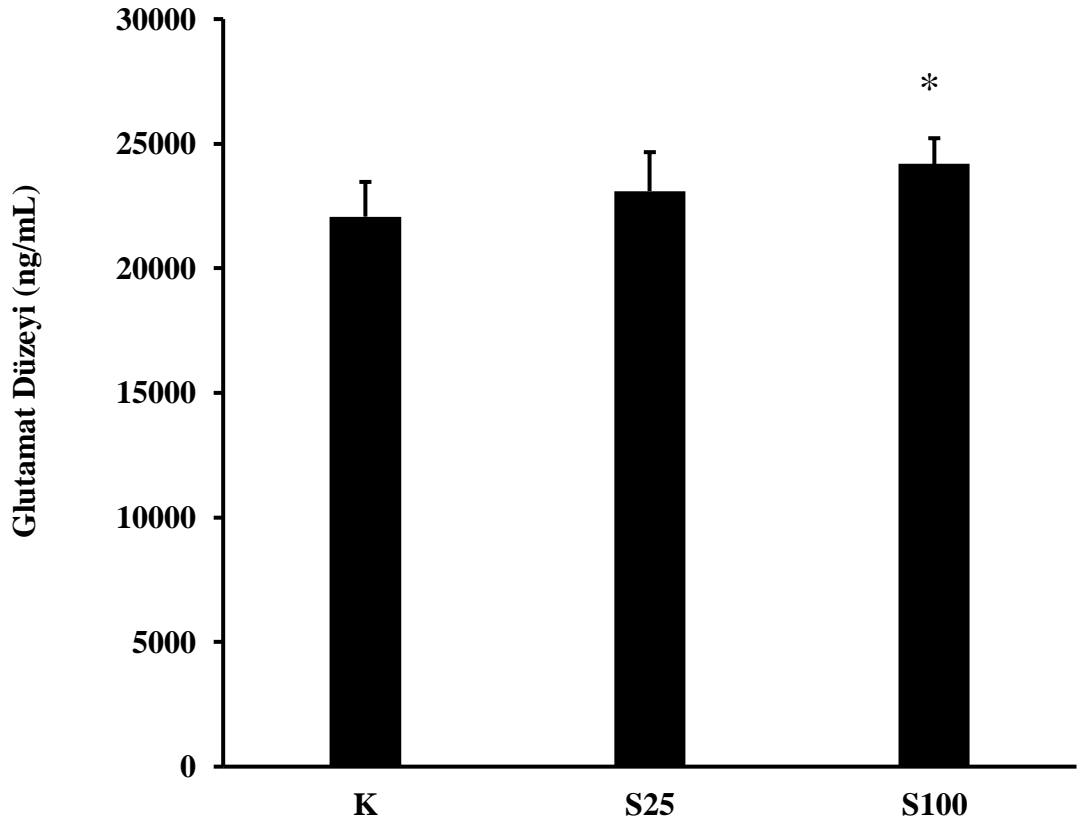


Şekil 4.4. Glutamin düzeyleri (n=8).

\*p<0,05, \*\*\*p<0,001 K grubuna göre; †p<0,05 S25 grubuna göre fark.

#### 4.4.5. Glutamat Düzeyi Bulguları

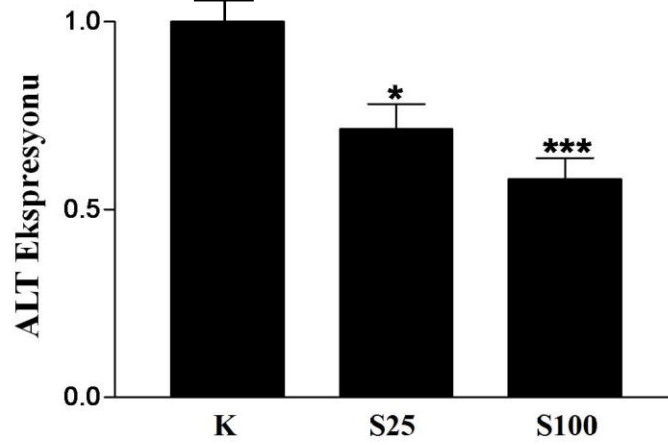
Deney gruplarının frontal lob glutamat seviyeleri değerlendirildiğinde S100 grubuna ait glutamat düzeyinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu görülmüştür. S25 grubundaki glutamat seviyesinin de K grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiş olmakla beraber istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır. Tüm grupların glutamat düzeyleri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Glutamat Düzeyleri (n=8). \*p<0,05 K grubuna göre fark.

#### 4.4.6. Alanin Aminotransferaz mRNA Bulguları

Frontal lob dokularındaki ALT mRNA miktarları ölçüldüğünde S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre anlamlı bir düşüş olduğu, fakat S25 ve S100 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Tüm grupların ALT mRNA düzeyleri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.

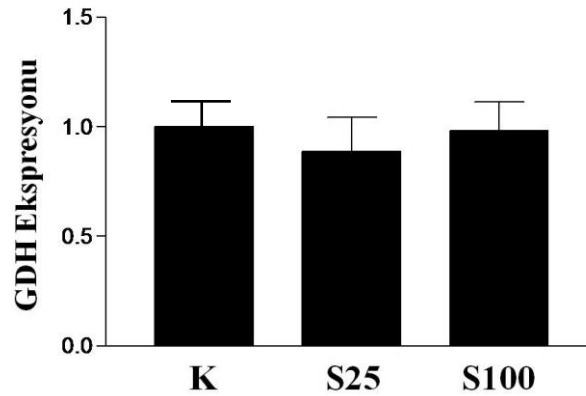


Şekil 4.6. Alanin aminotransferaz mRNA miktarları (n=3).

\*p<0,05; \*\*\* p<0,001 K grubuna göre fark.

#### 4.4.7. Glutamat Dehidrogenaz mRNA Bulguları

Deney gruplarının frontal korteksindeki GDH mRNA miktarları ölçüldüğünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tüm grupların GDH mRNA düzeyleri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Glutamat dehidrogenaz mRNA miktarları (n=3).

**Tablo 4.5.**Frontal lobda incelenmiş biyokimyasal parametreler.

	<b>K</b>	<b>S25</b>	<b>S100</b>
<b>AKG Düzei (n=7)</b>	2,5 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1
<b>Glutamat Düzei (ng/ml) (n=8)</b>	22073,6 ± 1391,9	23095,9 ± 1564,4	24181,8 ± 1037,9*
<b>Glutamin Düzei (ng/ml) (n=8)</b>	7106,5 ± 344,6	7907,9 ± 488,6	8677,9 ± 711,9†,***
<b>ALT Aktivitesi (U/L) (n=7)</b>	0,78 ± 0,02	0,74 ± 0,02	0,67 ± 0,05*
<b>GDH Aktivitesi (U/L) (n=7)</b>	6,26 ± 0,24	6,76 ± 0,26	7,10 ± 0,25**
<b>ALT Ekspresyonu (n=3)</b>	1,0	0,7*	0,6***
<b>GDH Ekspresyonu (n=3)</b>	1,0	0,8	0,9

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 K grubuna göre fark; †p<0,05 S25 grubuna göre fark.

## 5. TARTIŞMA

Sülfite bileşikler 1959 yılından beri FDA onayıyla gıda katkı maddeleri olarak sofralarımızda yer almaktadır (Schroeter 1966). Gerek ani anaflaktik reaksiyonlar, gerekse solunum yollarındaki ve ciltteki iritan etkileri sebebiyle sülfite bileşiklerinin diyet yoluyla alımı bilim camiası tarafından mercek altına alınmıştır (Yang ve Purchase 1985; Taylor ve ark. 1986). Bugüne kadar, deneysel araştırmalarla sülfite alımının çeşitli sistemler üzerindeki doz bağımlı etkileri araştırılmışken, halk sağlığı taramaları ile farklı popülasyonlarda sülfite maruziyetinin belirlenmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir (Cressey ve Jones 2009; Bemrah ve ark. 2012; Bai ve ark. 2013; Ercan ve ark. 2013; Zhang ve ark. 2015; Mahmoudi ve ark. 2017). Literatüre bakıldığında sülfite bileşiklerinin ciddi nörotoksik etkiler gösterdiği ve özellikle de küçük yaş gruplarında güvenli miktarın çok üzerinde tüketilebildiği görüldüğünden, tarafımızca güvenli ve toksik dozlarda sülfite alımının çocukluk çağındaki uzun-dönem etkilerinin nörofizyoloji ve davranış perspektiflerinden incelenmesi planlanmıştır (Vandevijvere ve ark. 2010; Urtiaga ve ark. 2013; Parmeggiani ve ark. 2015; Wang ve ark. 2016). Ayrıca, projede incelenmiş olan parametreler, önceki araştırmalarımızda sülfite alımının lokomotor aktiviteyi anlamlı ölçüde arttırdığına dair gözlemlerimize ve literatürde mevcut olan gıda katkı maddelerinin çocuklarda DEHB gelişimine katkı sağladığı hipotezine dayanılarak belirlenmiştir (Millichap ve Yee 2012; Martyn ve ark. 2013; Verlaet ve ark. 2014). Bu bağlamda bu tez projesinde, insanlardaki çocukluk dönemine tekabül eden sıçan yavrularında uzun-dönem sülfite alımının lokomotor aktivite, anksiyete, frontal lobdaki glutamat, glutamin, AKG düzeyleri, GDH, ALT aktiviteleri, ALT, GDH mRNA'ları ve frontal ve motor kortekslerde EEG frekans bantları üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Sülfite alımının davranış üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalara literatürde rastlanmaktadır (Kucukatay ve ark. 2005; Noorafshan ve ark. 2013; Ozsoy ve ark. 2017). Ozsoy ve ark. 2012 yılındaki çalışmalarında (Ozsoy ve ark. 2012) erişkin sıçanlarda, 2017 (Ozsoy ve ark. 2017) yılında ise yaşlı sıçanlarda güvenli dozdaki sülfite öğrenme bozukluğuna yol açmadığını aktif sakınma testi aracılığıyla göstermiştir. Ayrıca Küçükataay ve ark. (Kucukatay ve ark. 2005) da yine aktif sakınma testiyle günlük 25 mg/kg uzun dönemde öğrenme bozukluğu oluşturmadığını

göstermiştir. Ne var ki, Noorafshan ve ark. (Noorafshan ve ark. 2013) 2013 yılında yayımladıkları makalelerinde radyal kollu labirent testi verilerine dayanarak, günlük 25 mg/kg güvenli dozdaki sülfite tüketiminin dahi uzaysal öğrenme ve hafıza bozukluğuna yol açtığını öne sürmüştür. Literatürde sülfite tüketiminin lokomotor aktivite üzerinde nasıl etkilere sahip olduğunu göstermiş bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında çocukluk dönemindeki sıçanlarda uzun dönem sülfite tüketiminin lokomotor aktivite üzerindeki etkileri ilk defa araştırılmıştır. Verilere bakıldığında güvenli dozda sülfite alan S25 grubunda K grubuna göre anlamlı bir farklılık görülmezken, 100mg/kg/gün sülfite dozunda tüm parametrelerin, hiperaktiviteyi işaret edecek şekilde, belirgin olarak yükseldiği görülmektedir. Locomotor hiperaktivite serebral disfonksiyonla ve nörolojik bozukluklarla ilişkilendirildiğinden, nörotoksisite çalışmalarında sıklıkla incelenen kıymetli bir parametredir (Artigas 2013; Quines ve ark. 2014). Quines ve ark. yaygın olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi olan monosodyum glutamat maruziyetinin sıçanlarda lokomotor aktivite artışına yol açtığını ve bu artışa serebral kortekste serotonin alımında yükselme ile  $Na^+/K^+$ -ATP-az aktivitesindeki azalmanın eşlik ettiğini göstermiştir (Quines ve ark. 2016). Bir başka çalışmada ise prefrontal kortekse GABA-A antagonisti olan picrotoksin maddesinin enjekte edilmesiyle lokomotor aktivitede doz bağımlı artışın ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Pezze ve ark. 2014). Diğer yandan sodyum kanalı aktivatörü veratrinin infralimbik kortekse uygulanmasıyla lokomotor aktivite düşüşü ve ekstraselüler glutamat düzeyinde artış elde edilmiştir (Suzuki ve ark. 2016). Dahası, medial prefrontal korteksin sitotoksik ajanlarla haraplanmasının hiperaktiviteye yol açtığı gösterilmiştir (Yee 2000). Sodyum metabisülfite  $Na^+/K^+$ -ATP-az pompası, GABA-A reseptörleri veya sodyum kanalları üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduğu ve lokomotor aktivite artışına nasıl yol açtığı henüz bilinmemektedir. Dolayısıyla, gelecek projelerde sülfite bağlı hiperaktivite oluşumunda rol oynadığı gösterilmiş yapılarla etkileşiminin incelenmesiyle sülfite kaynaklı lokomotor aktivite artışının altında yatan moleküler mekanizmanın açığa çıkarılması hedeflenmektedir.

Projemizde davranışsal açıdan ele alınmış bir diğer parametre olan anksiyete, yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı ve açık kolda geçirilen zamanlar aracılığıyla değerlendirilmiştir. S25 grubunda K grubuna göre anksiyete artışı görülmemişken, S100

grubunda bir anksiyete belirteci olarak açık kolda geçirilen sürenin anlamlı biçimde azaldığı tespit edilmiştir. Literatürde diyetle sülfite alımının herhangi bir yaş grubunda anksiyete üzerindeki etkilerini incelemiş bir çalışma bulunmamaktadır. Anksiyete bozukluğunun patofizyolojisinde serotonin, dopamin (Stein ve ark. 2002), GABA (Lydiard 2003) ve glutamat (Carlsson 2001) gibi nörotransmitterlerin yer alabileceği pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Parmeggiani ve ark. (Parmeggiani ve ark. 2015) serebral korteks kesilerinde sülfite glutamaterjik iletimi bozduğunu göstermiştir. Dolayısıyla sülfite alımına bağlı anksiyöz davranış oluşumunun altında da glutamaterjik nöral iletim değişikliklerinin yatması muhtemeldir. Diğer yandan, yakın zamanda yapılmış bir başka çalışma ise anksiyete benzeri davranışların altında nöral ağlardaki bilgi işleme süreçlerindeki bozuklukların yer alabileceği öne sürülmüştür (Labiano-Fontcuberta ve ark. 2015). Postsinaptik yoğunluk 95 (PSD95), gefirin ve sinaptofizin proteinleri sinaptik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan temel yapılardır ve anksiyete benzeri davranışların moleküler mekanizmalarında yer aldıkları kemirgen modellerinde gösterilmiştir (Varty ve ark. 1999; Luscher ve ark. 2011; Zhang ve ark. 2012). PSD95, eksitator sinapsların diferansiasyonunu düzenlerken (Bassani ve ark. 2013), gefirin GABAerjik sinapsları organize etmekle yükümlüdür (Choi ve Ko 2015). Presinaptik vezikül proteini olan sinaptofizin ise sinaptik yapılanmanın kilit bileşenlerindedir. Kumar ve ark. (Kumar ve Thakur 2017) Bisfenol-A (BPA) toksisitesi ile ilgili araştırmalarında fare korteksinde PSD95, sinaptofizin azalmasının ve gefirin artışının anksiyete benzeri davranış artışıyla korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Son zamanlarda yapılmış bir diğer araştırmada ise kronik, öngörülemeyen orta şiddetli strese maruz bırakılan sıçanlarda hipokampal dopamin içeriğindeki azalmanın anksiyete benzeri davranış ve lokomotor aktivite artışına eşlik ettiği ortaya konmuştur (Spasojevic ve ark. 2016). Dolayısıyla sülfite neden olduğu anksiyete artışının moleküler temellerinin sadece kortekste değil hipokampusta da araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, çocukluk döneminin yanısıra sülfite diğer yaş grupları için de anksiyete üzerindeki doz bağımlı etkisinin gelecek projelerde çalışılması planlanmaktadır. Zira anksiyete artışının görüldüğü “anksiyete bozukluğu” gibi pek çok psikiyatrik hastalık her yaş grubunun yaşam kalitesini önemli derecede etkilemektedir ve belki de elde edilecek bulgular doğrultusunda semptomların diyet düzenlenmesiyle

hafifletilebilme ihtimali gündeme gelecektir. Bu tez çalışmasının hedefleri açısından ise DEHB tanısının oldukça yaygın konulduğu bir yaş grubunda, güvenli miktarın üzerinde sülfite alımının DEHB ile ilişkilendirilmiş olan hiperaktiviteye ve anksiyete artışına yol açmış olması büyük önem taşımaktadır. Çocukluk döneminde sülfite muhteviyatı yüksek olan gıdaların DEHB gelişimine katkı sağlayabileceği önermesinin güçlendirilebilmesi için, DEHB ile ilişkilendirilen primer bulgulardan biri olan impulsivitenin de sülfite alımından nasıl etkilendiğinin ileride yapılacak araştırmalarda incelenmesi düşünülmektedir.

DEHB patogenezinde yer aldığı öne sürülen anomalilerden biri nöronal enerji yoksunluğudur. Enerji disfonksiyonu, serebral metabolizmada alternatif enerji kaynaklarının kullanımı gibi adaptasyonları indüklemektedir. Bu adaptasyonların bir parçası olarak glutamat, glutamin gibi aminoasitler metabolik yakıt olarak kullanılabilir (Stelmashook ve ark. 2011). Gerek normal koşullar altında gerekse enerji ihtiyacının arttığı durumlarda glutamat, GDH, AST ve ALT ile bir TCA döngüsü elemanı olan AKG'ye dönüştürülmektedir (Sonnewald ve ark. 1997). Bu bilgilerin ışığı altında bu tez çalışmada sülfite, DEHB ile ilgili değişikliklerin en sık görüldüğü frontal lobdaki AKG, glutamin, glutamat düzeyleri ve ALT, GDH aktiviteleri ve ekspresyonları ölçülmüştür.

İncelemelerimiz sonucunda frontal lob glutamin düzeylerinin her iki sülfite grubunda, glutamat seviyesinin ise sadece toksik dozda sülfite alan grupta yükseldiği bulunmuştur. Literatürde sülfite doğrudan glutamin düzeyleri üzerine etkisini gösteren bir yayın bulunmazken Parmeggiani ve ark. (Parmeggiani ve ark. 2015) serebral korteks kesitlerinde sülfite doz bağımlı biçimde glutamat alımını azalttığını göstermiş ve bu etkinin sülfite glutamat taşıyıcılarını hedef almasıyla açıklamıştır. Bu durumda serebral kortekste glutamat miktarını artırırken sinaptik boşluktan alımını kısıtlayan sülfite nörotoksik etkilerine aracılık eden mekanizmalardan birinin glutamat eksitotoksitesisi olduğu da söylenebilmektedir. Ayrıca ekibimiz tarafından yapılmış bir araştırmada da güvenli dozda uzun süreli sülfite alımının hipokampusta glutamin sentaz ve glutaminaz seviyelerini belirgin olarak azalttığı görülmüştür (Derin 2015). Diğer yandan serebral glutamin artışı amonyum düzeyinin arttığı durumlarla ve astrositlerin şişmesiyle;



astroglial hasarla ilişkilendirilmektedir (Takahashi ve ark. 1991). Ayrıca, DEHB tanısı almış çocukların beyinlerinde glutamat ve glutamin düzeylerinin yükseldiği de rapor edilmiştir (Hammerness ve ark. 2012; Altabella ve ark. 2014).

AKG düzeylerine bakıldığında S25 ve S100 gruplarında K grubuna göre azalma gözlenmişse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hücrelerin enerji üretimini sağlayan TCA döngüsü bileşenlerinin düzeyindeki azalma beraberinde enerji deprivasyonunu getirmektedir. Nitekim, AKG üretimini sağlayan enzimlerden biri olan GDH'nin sadece beyinde knockout edildiği farelerde santral enerji deprivasyonu olduğu ortaya konmuştur (Karaca ve ark. 2015). Bu tez çalışmasında frontal lobdaki GDH ekspresyonu açısından bir farklılık görülmemiş olmasına rağmen, aktivitenin S100 grubunda K grubuna göre anlamlı biçimde arttığı bulunmuştur. Bulgularımızın aksine, Zhang ve ark. (Zhang ve ark. 2004) Neuro-2a ve PC12 sıçan beyin hücrelerinde sülfid maruziyetinin doz bağımlı GDH inhibisyonuna yol açtığını öne sürmüştür. Sülfid alımıyla beraber azalma eğilimi göstermiş olan AKG seviyeleri ile artmış GDH aktivitesi ilk bakışta çelişiyor gibi görünmektedir. Ancak, oksidatif glutamat metabolizmasının, GDH'nin yanı sıra ALT ve AST enzimleri tarafından da regüle edildiği unutulmamalıdır (Abbrescia ve ark. 2012). Ayrıca, aktivitesi ADP, GTP ve NAD<sup>+</sup>/NADH gibi ara ürünler tarafından allosterik biçimde kontrol edilen bu enzimlerin fizyolojik olarak çift yönlü çalıştığı ve reaksiyon yönünün anlık olarak çevre koşullarına bağlı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır (Spanaki ve ark. 2014). Daha da önemlisi, ölçümlerimiz sonucunda AKG – glutamat dönüşümünü sağlayan ALT mRNA ve aktivitesinin S100 grubunda K grubuna göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Artmış GDH aktivitesinin, ALT ekspresyon ve aktivitesinde azalmasının kompensatuvar bir mekanizma olup olmadığının ve AST enzim parametrelerinin nasıl değiştiğinin gelecek çalışmalarda araştırılması önerilmektedir.

Bu tez çalışmasında çocukluk döneminin modellendiği sıçan yavrularında güvenli ve toksik dozlarda uzun süreli sülfid tüketiminin DEHB benzeri değişimlere neden olup olmadığı EEG sinyalleri yönünden de incelenmiştir. Her ne kadar son araştırmalar EEG sinyallerinin sadece ritmik osilasyonlardan değil, aritmik fraktal bileşenlerden de oluştuğunu belirtiyor olsa da (Wen ve Liu 2016) esas olarak farklı frekanslardaki

osilatuvar EEG bileşenleri üzerinde durulmaktadır (Guntekin ve Basar 2016). Sinyal işleme tekniklerinin ham EEG sinyallerinin analizinde kullanılmasıyla elde edilen kantitatif EEG, günümüzde psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarla ilgili çalışmalarda yaygın biçimde kullanılmaktadır (Olbrich ve ark. 2015; Franko ve ark. 2016; Leuchter ve ark. 2017). Nitekim nörogelişimsel bir bozukluk olan DEHB'nin patogeneziine yönelik klinik ve prelinik araştırmalarda kantitatif EEG parametrelerine sıklıkla yer verilmektedir (Botanas ve ark. 2016; Rodriguez ve ark. 2016; Duffy ve ark. 2017).

DEHB tanısı almış çocuklarda kantitatif EEG anomalilerine frontal ve santral beyin bölgelerinde rastlandığı için frontal korteks ve primer motor korteksten toplanan EEG sinyallerinin frekans spektrumları elde edilmiştir (Vorobyov ve ark. 2011; Poil ve ark. 2014). Frontal korteksten elde edilen bulgular hem güvenli hem de toksik dozlardaki uzun süreli sülfite tüketiminin yavaş EEG dalgaları olan delta ve teta bantlarının genliğinde güçlenmeye, hızlı dalga bileşeni olan beta1 bandında ise zayıflamaya yol açtığını göstermiştir. Bulgularımıza benzer şekilde Vorobyov ve ark. (Vorobyov ve ark. 2011) DEHB modeli olarak kullanılan spontan hipertansif sıçanlardan alınan EEG sinyallerinde frontal alanlardaki yavaş dalga aktivitesinde artış ve alfa-beta1 aktivitesinde azalma olduğunu ifade etmiştir. Ozkaya ve ark. (Ozkaya ve ark. 2006) ise bizden farklı olarak güvenilir dozda uzun süreli sülfite alımının posterolateral bölgeden kaydedilen spontan EEG aktivitesinde herhangi bir fark oluşturmadığını rapor etmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılığın sinyallerin toplandığı bölgelerin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Zaman içinde pek çok kognitif sürecin bir EEG osilasyon paterniyle ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, klasik EEG frekans bantlarıyla mutlak bağlantısı kurulamamış kognitif durum sayısı çok daha fazladır. Dolayısıyla kognitif olayların EEG dalgalarıyla birebir eşleniminin kurulabilmesi olası gözükmemektedir. Ancak bugüne kadar elde edilmiş bilgilerin ışığında EEG osilasyonlarının, olduğu beyin bölgesine göre farklı kognitif fonksiyonlara katkı sağladığı görüşü benimsenmiştir (Siegel ve ark. 2012; Herrmann ve ark. 2016). Örneğin topografik olarak alfa aktivitesi duysal alanlardan kaydedildiğinde duysal fonksiyonları temsil ederken (Basar ve ark. 1999) gönüllü motor kontrol alanlarından kaydedildiğinde motor yanıtları yansıtmaktadır (Pineda 2005).

Ayrıca, nöronal ağlarda inhibitör etki yarattığı düşünülen delta osilasyonu kaynakları en sık frontal ve singulat kortekslerde tespit edilmiştir (Harmony 2013). Teta dalgalarının da yine esas olarak frontal kortekste görüldüğü ve inhibisyon aracılığıyla diğer beyin yapılarını regüle ettiği ifade edilmiştir (Colgin 2013). Beta dalgalarının ise motor görevler (Pfurtscheller ve ark. 2001) ve sensörimotor etkileşim gerektiren kognitif görevler sırasında modülasyona uğradığı bildirilmiştir (Kilavik ve ark. 2013). EEG frekans bileşenleriyle ilgili unutulmaması gereken önemli nokta bu sinyalleri tek başına korteksin üretmediğidir. Öyle ki, talamusun çıkarılması halinde geriye sadece yavaş delta dalgaları kalmakta, bu durum da beynin elektriksel aktivitesinin oluşumunda talamokortikal bağlantıların önemini ortaya koymaktadır (Villablanca ve Salinas-Zeballos 1972). Nitekim literatürde DEHB tanısı almış çocuklarda teta gücündeki artışın talamik değişikliklerden kaynaklandığı da öne sürülmüştür (Bailey ve Joyce 2015). Frekans bantlarıyla ilgili bu bilgiler ışığında kendi sonuçlarımız ele alındığında delta ve teta aktivitelerindeki artış sebebiyle sülfitin nöronal ağlarda inhibisyona yol açıyor olabileceği akla gelmektedir. Sülfitin derin beyin bölgelerinde inhibisyona yol açıp açmadığı gelecek çalışmalarda beyin osilasyonlarının derin elektrotlarla kaydedilmesiyle ortaya konabilecektir. Diğer yandan, bulgularımızdaki belirgin teta güçlenmesi, sülfitin teta osilasyonlarının kaynağı olan derin yapılarla etkileşiminin araştırılmasını da zorunlu kılmaktadır. Ayrıca teta güçlenmesinin DEHB’de de görülüyor olması sülfitin DEHB oluşumuna katkı sağlayabileceği düşüncesini güçlendirmektedir. Buna karşın, sülfid alımının frontal ve motor alanlardan toplanmış olan alfa dalgalarında herhangi bir güç değişikliğine yol açmamış olması, DEHB patogenezinde alfa jeneratörlerinin yer alabileceği fikrine (di Michele ve ark. 2005) ters düşmüştür. Son zamanlarda teta, alfa jeneratörlerinin DEHB patofizyolojisindeki yerinden çok teta/beta oranının klinikte DEHB için tanı koydurucu parametre olarak kullanımını tartışılmaktadır. İkibinonüç yılında FDA, frontal teta/beta oranını hesaplayan nöropsikiyatrik elektroensefalografiye dayalı DEHB değerlendirme desteği (NEBA – Neuropsychiatric Electroencephalograph-Based ADHD Assessment Aid) sisteminin DEHB tanısı için klinik kullanımını ve satışını onaylamıştır (FDA 2013). Sistemin başarısı Snyder ve ark (Snyder ve ark. 2015) tarafından yapılmış prospektif kohort çalışmasında sorgulanmış ve sistemin kullanımının klinisyenlerin DEHB tanılarının doğruluk oranını %61’den %88’e

ıkarttığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, sülfitin DEHB oluşumuna katkı sağlayıp sağlamadığını değerlendirirken tek başına frontal teta bandından ziyade teta/beta gücündeki değişimin dikkate alınması daha yerinde olacaktır.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez projesinde, güvenilir dozun üzerindeki miktarlarda sülfite alımının çocukluk çağının modellendiği sıçanlarda hareketlilik ve anksiyete artışına neden olduğu görülmüştür. Bununla beraber toksik miktarın yanı sıra alınabilir güvenli dozda dahi sülfite küçük yaş gruplarında beynin elektriksel aktivitesini etkileyebildiği izlenmiştir. Biyokimyasal açıdan durum ele alındığında da yine güvenli kabul edilen tüketim miktarının sıçan yavrularının frontal loblarında DEHB patofizyolojisine benzer nitelikte moleküler değişimlere yol açtığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, bulgularımız çocukluk çağının modellendiği sıçan yavrularında sodyum metabisülfite tüketiminin DEHB gelişimine katkı sağlayabileceğini işaret etmektedir. Bu nedenle sülfite nörogelişimsel süreçler üzerindeki etkilerinin daha detaylı araştırılması önerilmektedir. Ayrıca, bu verilerin ışığında toplumumuzda gıdalar aracılığıyla ne kadar sülfite alındığının bilinmemesinin bir halk sağlığı sorunu olabileceği ve sülfite alımı ile ilgili taramaların halk sağlığı birimlerince yapılması gerektiği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

JECFA, WHO Food Additive Series 1999

Abbrescia, D. I., G. La Piana ve N. E. Lofrumento. "Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome c electron transport pathway as two independent cytosolic reducing equivalent transfer systems." *Arch Biochem Biophys* 2012; 518: 157-163.

Abedinzadeh, Z. "Sulfur-centered reactive intermediates derived from the oxidation of sulfur compounds of biological interest." *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79: 166-170.

Abu Shmais, G. A., L. Y. Al-Ayadhi, A. M. Al-Dbass ve A. K. El-Ansary. "Mechanism of nitrogen metabolism-related parameters and enzyme activities in the pathophysiology of autism." *J Neurodev Disord* 2012; 4: 4.

Administration, F. a. D. 1986. New sulfite regulations. *FDA Drug Bull.* 16. FDA.

Akdogan, I., E. Kocamaz, V. Kucukatay, N. G. Yonguc, M. B. Ozdemir ve W. Murk. "Hippocampal neuron number loss in rats exposed to ingested sulfite." *Toxicol Ind Health* 2011; 27: 771-778.

Altabella, L., F. Zoratto, W. Adriani ve R. Canese. "MR imaging-detectable metabolic alterations in attention deficit/hyperactivity disorder: from preclinical to clinical studies." *AJNR Am J Neuroradiol* 2014; 35: S55-63.

Anchel, H. ve D. B. Lindsley. "Differentiation of two reticulo-hypothalamic systems regulating hippocampal activity." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32: 209-226.

Antshel, K. M., T. M. Hargrave, M. Simonescu, P. Kaul, K. Hendricks ve S. V. Faraone. "Advances in understanding and treating ADHD." *BMC Med* 2011; 9: 72.

Artigas, F. "Serotonin receptors involved in antidepressant effects." *Pharmacol Ther* 2013; 137: 119-131.

Bai, J., P. Lei, J. Zhang, C. Zhao ve R. Liang. "Sulfite exposure-induced hepatocyte death is not associated with alterations in p53 protein expression." *Toxicology* 2013; 312: 142-148.

Bailey, T. ve A. Joyce. "The role of the thalamus in ADHD symptomatology and treatment." *Appl Neuropsychol Child* 2015; 4: 89-96.

Bak, L. K., A. Schousboe ve H. S. Waagepetersen. "The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer." *J Neurochem* 2006; 98: 641-653.

Banaschewski, T., K. Becker, M. Dopfner, M. Holtmann, M. Rosler ve M. Romanos. "Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder." *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114: 149-159.

Barkley, R. A. "Attention-deficit hyperactivity disorder." *Sci Am* 1998; 279: 66-71.

Basar, E., C. Basar-Eroglu, S. Karakas ve M. Schurmann. "Oscillatory brain theory: a new trend in neuroscience." *IEEE Eng Med Biol Mag* 1999; 18: 56-66.

Bassani, S., A. Folci, J. Zapata ve M. Passafaro. "AMPA trafficking in synapse maturation and plasticity." *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 4411-4430.

Bemrah, N., K. Vin, V. Sirot, F. Aguilar, A. C. Ladrat, C. Ducasse, J. L. Gey, C. Retho, A. Nougadere ve J. C. Leblanc. "Assessment of dietary exposure to annatto (E160b), nitrites (E249-250), sulphites (E220-228) and tartaric acid (E334) in the French population: the second French total diet study." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2012; 29: 875-885.

BF, F. (1973). Food additives and child development. *Hospital practice*. **8**.

Biederman, J. ve S. V. Faraone. "Attention-deficit hyperactivity disorder." *Lancet* 2005; 366: 237-248.

Billeci, L., F. Sicca, K. Maharatna, F. Apicella, A. Narzisi, G. Campatelli, S. Calderoni, G. Pioggia ve F. Muratori. "On the application of quantitative EEG for characterizing autistic brain: a systematic review." *Front Hum Neurosci* 2013; 7: 442.

Blomqvist, B. I., F. Hammarqvist, A. von der Decken ve J. Wernerman. "Glutamine and alpha-ketoglutarate prevent the decrease in muscle free glutamine concentration and influence protein synthesis after total hip replacement." *Metabolism* 1995; 44: 1215-1222.

Botanas, C. J., H. Lee, J. B. de la Pena, I. J. Dela Pena, T. Woo, H. J. Kim, D. H. Han, B. N. Kim ve J. H. Cheong. "Rearing in an enriched environment attenuated hyperactivity and inattention in the Spontaneously Hypertensive Rats, an animal model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder." *Physiol Behav* 2016; 155: 30-37.

Broer, S. ve N. Brookes. "Transfer of glutamine between astrocytes and neurons." *J Neurochem* 2001; 77: 705-719.

Calabrese, E., C. Sacco, G. Moore ve S. Dinardi. "Sulfite Oxidase Deficiency - a High-Risk Factor in So<sub>2</sub>, Sulfite, and Bisulfite Toxicity." *Medical Hypotheses* 1981; 7: 133-145.

Carlsson, M. L. "On the role of prefrontal cortex glutamate for the antithetical phenomenology of obsessive compulsive disorder and attention deficit hyperactivity disorder." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25: 5-26.

Carrey, N. J., F. P. MacMaster, L. Gaudet ve M. H. Schmidt. "Striatal creatine and glutamate/glutamine in attention-deficit/hyperactivity disorder." *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2007; 17: 11-17.

Castellanos, F. X. "Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder." *Clin Pediatr (Phila)* 1997; 36: 381-393.

Cavallaro, S., N. Meiri, C. L. Yi, S. Musco, W. Ma, J. Goldberg ve D. L. Alkon. "Late memory-related genes in the hippocampus revealed by RNA fingerprinting." *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 9669-9673.



Chabot, R. J., A. A. Orgill, G. Crawford, M. J. Harris ve G. Serfontein. "Behavioral and electrophysiologic predictors of treatment response to stimulants in children with attention disorders." *J Child Neurol* 1999; 14: 343-351.

Chandra, S. R., A. Asheeb, S. Dash, N. Retna, K. V. Ravi Teja ve T. G. Issac. "Role of Electroencephalography in the Diagnosis and Treatment of Neuropsychiatric Border Zone Syndromes." *Indian J Psychol Med* 2017; 39: 243-249.

Choi, G. ve J. Ko. "Gephyrin: a central GABAergic synapse organizer." *Exp Mol Med* 2015; 47: e158.

Clarke, A. R., R. J. Barry, F. E. Dupuy, R. McCarthy, M. Selikowitz ve P. C. Heaven. "Childhood EEG as a predictor of adult attention-deficit/hyperactivity disorder." *Clin Neurophysiol* 2011; 122: 73-80.

Cohen, H. J., R. T. Drew, J. L. Johnson ve K. V. Rajagopalan. "Molecular basis of the biological function of molybdenum: the relationship between sulfite oxidase and the acute toxicity of bisulfite and SO<sub>2</sub>." *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70: 3655-3659.

Cohen, H. J. ve I. Fridovich. "Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties." *Journal of Biological Chemistry* 1971; 246: 359-366.

Cohen, H. J., I. Fridovich ve K. V. Rajagopalan. "Hepatic sulfite oxidase. A functional role for molybdenum." *Journal of Biological Chemistry* 1971; 246: 374-382.

Cohen, M. X. "Where Does EEG Come From and What Does It Mean?" *Trends Neurosci* 2017; 40: 208-218.

Colgin, L. L. "Mechanisms and functions of theta rhythms." *Annu Rev Neurosci* 2013; 36: 295-312.

Comission, E. (2008). 2008 of the European Parliament and of the Council of 16December 2008 on Food Additives. 1333. O. J. E. Union. **365**.

Conn, P. J. ve J. P. Pin. "Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 205-237.

Cooper, A. J., J. M. McDonald, A. S. Gelbard, R. F. Gledhill ve T. E. Duffy. "The metabolic fate of <sup>13</sup>N-labeled ammonia in rat brain." *Journal of Biological Chemistry* 1979; 254: 4982-4992.

Corradini, I., C. Verderio, M. Sala, M. C. Wilson ve M. Matteoli. "SNAP-25 in neuropsychiatric disorders." *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1152: 93-99.

Courvoisie, H., S. R. Hooper, C. Fine, L. Kwock ve M. Castillo. "Neurometabolic functioning and neuropsychological correlates in children with ADHD-H: preliminary findings." *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2004; 16: 63-69.

Cressey, P. ve S. Jones. "Levels of preservatives (sulfite, sorbate and benzoate) in New Zealand foods and estimated dietary exposure." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2009; 26: 604-613.

Curthoys, N. P. ve M. Watford. "Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism." *Annu Rev Nutr* 1995; 15: 133-159.

Cynober, L. A. "The use of alpha-ketoglutarate salts in clinical nutrition and metabolic care." *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999; 2: 33-37.

Daikhin, Y. ve M. Yudkoff. "Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia." *J Nutr* 2000; 130: 1026S-1031S.

Dalley, J. W., T. D. Fryer, L. Brichard, E. S. Robinson, D. E. Theobald, K. Laane, Y. Pena, E. R. Murphy, Y. Shah, K. Probst, I. Abakumova, F. I. Aigbirhio, H. K. Richards, Y. Hong, J. C. Baron, B. J. Everitt ve T. W. Robbins. "Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement." *Science* 2007; 315: 1267-1270.

Danckaerts, M., E. J. Sonuga-Barke, T. Banaschewski, J. Buitelaar, M. Dopfner, C. Hollis, P. Santosh, A. Rothenberger, J. Sergeant, H. C. Steinhausen, E. Taylor, A.

Zuddas ve D. Coghill. "The quality of life of children with attention deficit/hyperactivity disorder: a systematic review." *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2010; 19: 83-105.

DeBoer, P. ve E. D. Abercrombie. "Physiological release of striatal acetylcholine in vivo: modulation by D1 and D2 dopamine receptor subtypes." *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 775-783.

Deleuze, C. ve J. R. Huguenard. "Two classes of excitatory synaptic responses in rat thalamic reticular neurons." *J Neurophysiol* 2016; 116: 995-1011.

Derin, N. K., C; Bulbul, M; ve ark. "Effects of Ingested Sulfite on Glutamate Synthesis and Release in the Hippocampus." *ACTA PHYSIOLOGICA* 2015; 215: 67-67.

Di Giorgio Silva, L. W., D. Aprigio, J. Di Giacomo, M. Gongora, H. Budde, J. Bittencourt, M. Cagy, S. Teixeira, P. Ribeiro, M. R. de Carvalho, R. Freire, A. E. Nardi, L. F. Basile ve B. Velasques. "How high level of anxiety in Panic Disorder can interfere in working memory? A computer simulation and electrophysiological investigation." *J Psychiatr Res* 2017; 95: 238-246.

di Michele, F., L. Prichep, E. R. John ve R. J. Chabot. "The neurophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder." *Int J Psychophysiol* 2005; 58: 81-93.

DM, M. *Handbook of U.S. Colorants: Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices*, 1991, New York: Wiley.

Duffy, F. H., A. Shankardass, G. B. McAnulty ve H. Als. "A unique pattern of cortical connectivity characterizes patients with attention deficit disorders: a large electroencephalographic coherence study." *BMC Med* 2017; 15: 51.

Duran, R. V., W. Oppliger, A. M. Robitaille, L. Heiserich, R. Skendaj, E. Gottlieb ve M. N. Hall. "Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling." *Mol Cell* 2012; 47: 349-358.

Ercan, S., G. Basaranlar, N. E. Gungor, C. Kencebay, P. Sahin, C. Celik-Ozenci ve N. Derin. "Ghrelin inhibits sodium metabisulfite induced oxidative stress and apoptosis in rat gastric mucosa." *Food Chem Toxicol* 2013; 56: 154-161.

Erecinska, M. ve I. A. Silver. "Metabolism and role of glutamate in mammalian brain." *Prog Neurobiol* 1990; 35: 245-296.

Erecinska, M., M. M. Zaleska, I. Nissim, D. Nelson, F. Dagan ve M. Yudkoff. "Glucose and synaptosomal glutamate metabolism: studies with [15N]glutamate." *J Neurochem* 1988; 51: 892-902.

Fallahpour, K., S. D. Clarke, E. Goldberg, D. F. Hermens, E. M. Falconer ve E. Gordon. "Alterations in theta activity associated with novelty and routinization processing in ADHD." *Clin Neurophysiol* 2010; 121: 1336-1342.

Faraone, S. V., R. H. Perlis, A. E. Doyle, J. W. Smoller, J. J. Goralnick, M. A. Holmgren ve P. Sklar. "Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder." *Biol Psychiatry* 2005; 57: 1313-1323.

FDA. 2013. "De novo classification request for neuropsychiatric EEG-based assessment aid for ADHD (NEBA) system."

FDA 2013. FDA permits marketing of first brain wave test to help assess children and teens for ADHD.

Federici G., R. G., Santoto L., Antonucci A. and Cavallini D. *Natural Sulfur Compounds: Novel Biochemical and Cultural Aspects*. 1980 New York, Plenum Press.

Feingold, B. F. "Hyperkinesis and learning disabilities linked to artificial food flavors and colors." *Am J Nurs* 1975; 75: 797-803.

Fellman, J. H. ve N. A. Avedovech. "Cysteine thiosulfonate in cystine metabolism." *Arch Biochem Biophys* 1982; 218: 303-308.

Feng, C., G. Tollin ve J. H. Enemark. "Sulfite oxidizing enzymes." *Biochimica Et Biophysica Acta* 2007; 1774: 527-539.

Filip R, P. S. "The role of glutamine and  $\alpha$ -ketoglutarate in gut metabolism and the potential application in medicine and nutrition." *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research* 2007; 1: 009 - 015.

Fillenz, M. "Physiological release of excitatory amino acids." *Behav Brain Res* 1995; 71: 51-67.

Franko, E., T. Wehner, O. Joly, J. Lowe, M. C. Porter, J. Kenny, A. Thompson, P. Rudge, J. Collinge ve S. Mead. "Quantitative EEG parameters correlate with the progression of human prion diseases." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; 87: 1061-1067.

Gerber, U., C. E. Gee ve P. Benquet. "Metabotropic glutamate receptors: intracellular signaling pathways." *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 56-61.

Giros, B., M. Jaber, S. R. Jones, R. M. Wightman ve M. G. Caron. "Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter." *Nature* 1996; 379: 606-612.

Grings, M., A. P. Moura, A. U. Amaral, B. Parmeggiani, J. Gasparotto, J. C. Moreira, D. P. Gelain, A. T. Wyse, M. Wajner ve G. Leinritz. "Sulfite disrupts brain mitochondrial energy homeostasis and induces mitochondrial permeability transition pore opening via thiol group modification." *Biochimica Et Biophysica Acta* 2014; 1842: 1413-1422.

Grings, M., A. P. Moura, B. Parmeggiani, G. F. Marcowich, A. U. Amaral, A. T. de Souza Wyse, M. Wajner ve G. Leinritz. "Disturbance of brain energy and redox homeostasis provoked by sulfite and thiosulfate: potential pathomechanisms involved in the neuropathology of sulfite oxidase deficiency." *Gene* 2013; 531: 191-198.

Grings, M., A. P. Moura, B. Parmeggiani, M. M. Motta, R. M. Boldrini, P. M. August, C. Matte, A. T. Wyse, M. Wajner ve G. Leinritz. "Higher susceptibility of cerebral

cortex and striatum to sulfite neurotoxicity in sulfite oxidase-deficient rats." *Biochimica Et Biophysica Acta* 2016; 1862: 2063-2074.

Gunnison, A. F. "Sulphite toxicity: a critical review of in vitro and in vivo data." *Food Cosmet Toxicol* 1981; 19: 667-682.

Gunnison, A. F., C. A. Bresnahan ve E. D. Palmes. "Comparative sulfite metabolism in the rat, rabbit, and rhesus monkey." *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 42: 99-109.

Gunnison, A. F., T. J. Farruggella, G. Chiang, L. Dulak, J. Zaccardi ve J. Birkner. "A sulphite-oxidase-deficient rat model: metabolic characterization." *Food Cosmet Toxicol* 1981; 19: 209-220.

Guntekin, B. ve E. Basar. "Review of evoked and event-related delta responses in the human brain." *Int J Psychophysiol* 2016; 103: 43-52.

Gurau, O., W. J. Bosl ve C. R. Newton. "How Useful Is Electroencephalography in the Diagnosis of Autism Spectrum Disorders and the Delineation of Subtypes: A Systematic Review." *Front Psychiatry* 2017; 8: 121.

Hammerness, P., J. Biederman, C. Petty, A. Henin ve C. M. Moore. "Brain biochemical effects of methylphenidate treatment using proton magnetic spectroscopy in youth with attention-deficit hyperactivity disorder: a controlled pilot study." *CNS Neurosci Ther* 2012; 18: 34-40.

Hanwella, R., M. Senanayake ve V. de Silva. "Comparative efficacy and acceptability of methylphenidate and atomoxetine in treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: a meta-analysis." *BMC Psychiatry* 2011; 11: 176.

Harmony, T. "The functional significance of delta oscillations in cognitive processing." *Front Integr Neurosci* 2013; 7: 83.

Herken, E. N., E. Kocamaz, O. Erel, H. Celik ve V. Kucukatay. "Effect of sulfite treatment on total antioxidant capacity, total oxidant status, lipid hydroperoxide, and

total free sulfhydryl groups contents in normal and sulfite oxidase-deficient rat plasma." *Cell Biol Toxicol* 2009; 25: 355-362.

Herrmann, C. S., D. Struber, R. F. Helfrich ve A. K. Engel. "EEG oscillations: From correlation to causality." *Int J Psychophysiol* 2016; 103: 12-21.

Hertz, L. "Functional interactions between neurons and astrocytes I. Turnover and metabolism of putative amino acid transmitters." *Prog Neurobiol* 1979; 13: 277-323.

Hess, E. J., H. A. Jinnah, C. A. Kozak ve M. C. Wilson. "Spontaneous locomotor hyperactivity in a mouse mutant with a deletion including the Snap gene on chromosome 2." *J Neurosci* 1992; 12: 2865-2874.

Hindriks, R. ve M. J. van Putten. "Thalamo-cortical mechanisms underlying changes in amplitude and frequency of human alpha oscillations." *Neuroimage* 2013; 70: 150-163.

Huang, P. L., T. M. Dawson, D. S. Bredt, S. H. Snyder ve M. C. Fishman. "Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene." *Cell* 1993; 75: 1273-1286.

Ikarashi, Y., A. Takahashi, H. Ishimaru, T. Arai ve Y. Maruyama. "Suppression of cholinergic activity via the dopamine D2 receptor in the rat striatum." *Neurochem Int* 1997; 30: 191-197.

Jacobsen, D. W., Simon, R.A., & Singh, M. "Sulfite oxidase deficiency and cobalamin protection in sulfite-sensitive asthmatics (SSA)." *J. Allergy Clin. Immunol.* 1984; 73.

Jeevanandam, M., C. K. Begay, N. J. Holaday ve S. R. Petersen. "Nutritional and metabolic effects and significance of mild orotic aciduria during dietary supplementation with arginine or its organic salts after trauma injury in rats." *Metabolism* 1997; 46: 785-792.

Jin, G., Z. J. Reitman, C. G. Duncan, I. Spasojevic, D. M. Gooden, B. A. Rasheed, R. Yang, G. Y. Lopez, Y. He, R. E. McLendon, D. D. Bigner ve H. Yan. "Disruption of wild-type IDH1 suppresses D-2-hydroxyglutarate production in IDH1-mutated gliomas." *Cancer Res* 2013; 73: 496-501.

Johnson, J. L. "Prenatal diagnosis of molybdenum cofactor deficiency and isolated sulfite oxidase deficiency." *Prenat Diagn* 2003; 23: 6-8.

Johnson, J. L., H. P. Jones ve K. V. Rajagopalan. "In vitro reconstitution of demolybdo-sulfite oxidase by a molybdenum cofactor from rat liver and other sources." *Journal of Biological Chemistry* 1977; 252: 4994-5003.

Johnson, J. L. ve K. V. Rajagopalan. "Purification and properties of sulfite oxidase from human liver." *J Clin Invest* 1976; 58: 543-550.

Kandel, E. R. *Principles Of Neural Science*.2013.

Karaca, M., F. Frigerio, S. Migrenne, J. Martin-Levilain, D. M. Skytt, K. Pajicka, R. Martin-del-Rio, R. Gruetter, J. Tamarit-Rodriguez, H. S. Waagepetersen, C. Magnan ve P. Maechler. "GDH-Dependent Glutamate Oxidation in the Brain Dictates Peripheral Energy Substrate Distribution." *Cell Rep* 2015; 13: 365-375.

Karovicova J, S. P. *Preservatives in food*.1996 New York.

Kencebay, C., N. Derin, O. Ozsoy, D. Kipmen-Korgun, G. Tanriover, N. Ozturk, G. Basaranlar, P. Yargicoglu-Akkiraz, B. Sozen ve A. Agar. "Merit of quinacrine in the decrease of ingested sulfite-induced toxic action in rat brain." *Food Chem Toxicol* 2013; 52: 129-136.

Kessler, D. L. ve K. V. Rajagopalan. "Purification and properties of sulfite oxidase from chicken liver. Presence of molybdenum in sulfite oxidase from diverse sources." *Journal of Biological Chemistry* 1972; 247: 6566-6573.

Khaleghi, A., A. Sheikhan, M. R. Mohammadi ve A. Moti Nasrabadi. "Evaluation of Cerebral Cortex Function in Clients with Bipolar Mood Disorder I (BMD I) Compared With BMD II Using QEEG Analysis." *Iran J Psychiatry* 2015; 10: 93-99.

Kilavik, B. E., M. Zaepffel, A. Brovelli, W. A. MacKay ve A. Riehle. "The ups and downs of beta oscillations in sensorimotor cortex." *Exp Neurol* 2013; 245: 15-26.



Kim, A. Y., K. H. Jeong, J. H. Lee, Y. Kang, S. H. Lee ve E. J. Baik. "Glutamate dehydrogenase as a neuroprotective target against brain ischemia and reperfusion." *Neuroscience* 2017; 340: 487-500.

Kocamaz, E., E. Adiguzel, B. Er, G. Gundogdu ve V. Kucukatay. "Sulfite leads to neuron loss in the hippocampus of both normal and SOX-deficient rats." *Neurochem Int* 2012; 61: 341-346.

Kochen, J. "Sulfur dioxide, a respiratory tract irritant, even if ingested." *Pediatrics* 1973; 52: 145-146.

Kroes, R., D. Muller, J. Lambe, M. R. Lowik, J. van Klaveren, J. Kleiner, R. Massey, S. Mayer, I. Urieta, P. Verger ve A. Visconti. "Assessment of intake from the diet." *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 327-385.

Kucukatay, V., F. Savcioglu, G. Hacıoglu, P. Yargicoglu ve A. Agar. "Effect of sulfite on cognitive function in normal and sulfite oxidase deficient rats." *Neurotoxicol Teratol* 2005; 27: 47-54.

Kumar, D. ve M. K. Thakur. "Anxiety like behavior due to perinatal exposure to Bisphenol-A is associated with decrease in excitatory to inhibitory synaptic density of male mouse brain." *Toxicology* 2017; 378: 107-113.

Labiano-Fontcuberta, A., A. J. Mitchell, S. Moreno-Garcia ve J. Benito-Leon. "Anxiety and depressive symptoms in caregivers of multiple sclerosis patients: The role of information processing speed impairment." *J Neurol Sci* 2015; 349: 220-225.

Labow, B. I. ve W. W. Souba. "Glutamine." *World J Surg* 2000; 24: 1503-1513.

Lambe, J. "The use of food consumption data in assessments of exposure to food chemicals including the application of probabilistic modelling." *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 11-18.

Lazzaro, I., E. Gordon, S. Whitmont, M. Plahn, W. Li, S. Clarke, A. Dosen ve R. Meares. "Quantified EEG activity in adolescent attention deficit hyperactivity disorder." *Clin Electroencephalogr* 1998; 29: 37-42.

Lee, P. F., D. P. X. Kan, P. Croarkin, C. K. Phang ve D. Doruk. "Neurophysiological correlates of depressive symptoms in young adults: A quantitative EEG study." *J Clin Neurosci* 2017.

Lesch, K. P., S. Merker, A. Reif ve M. Novak. "Dances with black widow spiders: dysregulation of glutamate signalling enters centre stage in ADHD." *Eur Neuropsychopharmacol* 2013; 23: 479-491.

Leuchter, M. K., E. J. Donzis, C. Cepeda, A. M. Hunter, A. M. Estrada-Sanchez, I. A. Cook, M. S. Levine ve A. F. Leuchter. "Quantitative Electroencephalographic Biomarkers in Preclinical and Human Studies of Huntington's Disease: Are They Fit-for-Purpose for Treatment Development?" *Front Neurol* 2017; 8: 91.

Lim, H. S., S. K. Park, S. H. Kim, S. B. Song, S. J. Jang ve M. Kim. "Comparison of four different methods for the determination of sulfites in foods marketed in South Korea." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2014; 31: 187-196.

Liso Navarro, A. A., E. M. Sikoglu, C. R. Heinze, R. C. Rogan, V. A. Russell, J. A. King ve C. M. Moore. "Effect of diet on brain metabolites and behavior in spontaneously hypertensive rats." *Behav Brain Res* 2014; 270: 240-247.

Lombardini, J. B., T. P. Singer ve P. D. Boyer. "Cystein oxygenase. II. Studies on the mechanism of the reaction with 18oxygen." *Journal of Biological Chemistry* 1969; 244: 1172-1175.

Lopes da Silva, F. H. "Biophysical issues at the frontiers of the interpretation of EEG/MEG signals." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1996; 45: 1-7.

Lopes da Silva, F. H. "A critical review of clinical applications of topographic mapping of brain potentials." *J Clin Neurophysiol* 1990; 7: 535-551.

Lubar, J. F. "Discourse on the development of EEG diagnostics and biofeedback for attention-deficit/hyperactivity disorders." *Biofeedback Self Regul* 1991; 16: 201-225.

Luscher, B., Q. Shen ve N. Sahir. "The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder." *Mol Psychiatry* 2011; 16: 383-406.

Lydiard, R. B. "The role of GABA in anxiety disorders." *J Clin Psychiatry* 2003; 64 Suppl 3: 21-27.

Ma, L., Y. H. Chen, H. Chen, Y. Y. Liu ve Y. X. Wang. "The function of hypothalamus-pituitary-adrenal axis in children with ADHD." *Brain Res* 2011; 1368: 159-162.

Macleod, R. M., W. Farkas, I. Fridovich ve P. Handler. "Purification and properties of hepatic sulfite oxidase." *Journal of Biological Chemistry* 1961; 236: 1841-1846.

MacMaster, F. P., N. Carrey, S. Sparkes ve V. Kusumakar. "Proton spectroscopy in medication-free pediatric attention-deficit/hyperactivity disorder." *Biol Psychiatry* 2003; 53: 184-187.

Mahmoudi, R., Z. Honarmand, S. Karbalay-Doust, M. Jafari-Barmak, M. Nikseresht ve A. Noorafshan. "Using curcumin to prevent structural impairments of testicles in rats induced by sodium metabisulfite." *EXCLI J* 2017; 16: 583-592.

Mann, C. A., J. F. Lubar, A. W. Zimmerman, C. A. Miller ve R. A. Muenchen. "Quantitative analysis of EEG in boys with attention-deficit-hyperactivity disorder: controlled study with clinical implications." *Pediatr Neurol* 1992; 8: 30-36.

Martin, L. B., J. A. Nordlee ve S. L. Taylor. "Sulfite Residues in Restaurant Salads." *Journal of Food Protection* 1986; 49: 126-129.

Martinez-Hernandez, A., K. P. Bell ve M. D. Norenberg. "Glutamine synthetase: glial localization in brain." *Science* 1977; 195: 1356-1358.

Martyn, D. M., B. A. McNulty, A. P. Nugent ve M. J. Gibney. "Food additives and preschool children." *Proc Nutr Soc* 2013; 72: 109-116.

Maru, M. "Clinical and laboratory features and treatment of visceral leishmaniasis in hospitalized patients in Northwestern Ethiopia." *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28: 15-18.

McEntee, W. J. ve T. H. Crook. "Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain." *Psychopharmacology (Berl)* 1993; 111: 391-401.

McLain, A. L., P. A. Szweda ve L. I. Szweda. "alpha-Ketoglutarate dehydrogenase: a mitochondrial redox sensor." *Free Radic Res* 2011; 45: 29-36.

Menon, P., R. Deane, A. Sagare, S. M. Lane, T. J. Zarcone, M. R. O'Dell, C. Yan, B. V. Zlokovic ve B. C. Berk. "Impaired spine formation and learning in GPCR kinase 2 interacting protein-1 (GIT1) knockout mice." *Brain Res* 2010; 1317: 218-226.

Millichap, J. G. ve M. M. Yee. "The diet factor in attention-deficit/hyperactivity disorder." *Pediatrics* 2012; 129: 330-337.

Mischek, D. ve C. Krapfenbauer-Cermak. "Exposure assessment of food preservatives (sulphites, benzoic and sorbic acid) in Austria." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2012; 29: 371-382.

Moeini, M., A. Khaleghi, M. R. Mohammadi, H. Zarafshan, R. L. Fazio ve H. Majidi. "Cortical Alpha Activity in Schizoaffective Patients." *Iran J Psychiatry* 2017; 12: 1-7.

Monastra, V. J. "Quantitative electroencephalography and attention-deficit/hyperactivity disorder: implications for clinical practice." *Curr Psychiatry Rep* 2008; 10: 432-438.

Netherlands, Committee on Updating of Occupational Exposure Limits. Sodium hydrogen sulphite. Health-based reassessment of administrative occupational exposure limits 2005

Niknahad, H. ve P. J. O'Brien. "Mechanism of sulfite cytotoxicity in isolated rat hepatocytes." *Chem Biol Interact* 2008; 174: 147-154.

Noorafshan, A., R. Asadi-Golshan, M. A. Abdollahifar ve S. Karbalay-Doust. "Protective role of curcumin against sulfite-induced structural changes in rats' medial prefrontal cortex." *Nutr Neurosci* 2015; 18: 248-255.

Noorafshan, A., R. Asadi-Golshan, S. Karbalay-Doust, M. A. Abdollahifar ve A. Rashidiani-Rashidabadi. "Curcumin, the main part of turmeric, prevents learning and memory changes induced by sodium metabisulfite, a preservative agent, in rats." *Exp Neurobiol* 2013; 22: 23-30.

Norenberg, M. D. ve A. Martinez-Hernandez. "Fine structural localization of glutamine synthetase in astrocytes of rat brain." *Brain Res* 1979; 161: 303-310.

O'Reilly, C., J. D. Lewis ve M. Elsabbagh. "Is functional brain connectivity atypical in autism? A systematic review of EEG and MEG studies." *PLoS One* 2017; 12: e0175870.

Okamoto, K. ve K. Aoki. "Development of a strain of spontaneously hypertensive rats." *Jpn Circ J* 1963; 27: 282-293.

Olbrich, S., R. van Dinteren ve M. Arns. "Personalized Medicine: Review and Perspectives of Promising Baseline EEG Biomarkers in Major Depressive Disorder and Attention Deficit Hyperactivity Disorder." *Neuropsychobiology* 2015; 72: 229-240.

Organization, W. H. (1987). *Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. Environmental Health Criteria 70. International Programme on Chemical Safety. Geneva.*

Owens, E. M., P. Bachman, D. C. Glahn ve C. E. Bearden. "Electrophysiological Endophenotypes for Schizophrenia." *Harv Rev Psychiatry* 2016; 24: 129-147.

Ozkaya, Y. G., V. Kucukatay, F. Savcioglu, A. Agar, P. Yargicoglu ve M. Z. Onal. "Spectral analysis of EEG in normal and sulfite oxidase deficient rats under sulfite administration." *Int J Neurosci* 2006; 116: 1359-1373.

Ozsoy, O., S. Aras, A. Ozkan, H. Parlak, B. Gemici, N. Uysal, M. Aslan, P. Yargicoglu ve A. Agar. "The effect of ingested sulfite on active avoidance in normal and sulfite oxidase-deficient aged rats." *Toxicol Mech Methods* 2017; 27: 81-87.

Ozsoy, O., G. Hacıoglu, F. Savcioglu, V. Kucukatay, P. Yargicoglu ve A. Agar. "The effect of sodium metabisulphite on active avoidance performance in hypercholesterolemic rats." *Environ Toxicol* 2012; 27: 453-460.

Ozturk, N., P. Yargicoglu, N. Derin, D. Akpınar, A. Agar ve M. Aslan. "Dose-dependent effect of nutritional sulfite intake on visual evoked potentials and lipid peroxidation." *Neurotoxicol Teratol* 2011; 33: 244-254.

Parmeggiani, B., A. P. Moura, M. Grings, A. P. Bumbel, L. de Moura Alvorcem, J. Tauana Pletsch, C. G. Fernandes, A. T. Wyse, M. Wajner ve G. Leipnitz. "In vitro evidence that sulfite impairs glutamatergic neurotransmission and inhibits glutathione metabolism-related enzymes in rat cerebral cortex." *Int J Dev Neurosci* 2015; 42: 68-75.

Pellerin, L. ve P. J. Magistretti. "Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization." *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 10625-10629.

Pelsser, L. M., J. K. Buitelaar ve H. F. Savelkoul. "ADHD as a (non) allergic hypersensitivity disorder: a hypothesis." *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 107-112.

Pelsser, L. M., K. Frankena, J. Toorman, H. F. Savelkoul, A. E. Dubois, R. R. Pereira, T. A. Haagen, N. N. Rommelse ve J. K. Buitelaar. "Effects of a restricted elimination diet on the behaviour of children with attention-deficit hyperactivity disorder (INCA study): a randomised controlled trial." *Lancet* 2011; 377: 494-503.

Pezze, M., S. McGarrity, R. Mason, K. C. Fone ve T. Bast. "Too little and too much: hypoactivation and disinhibition of medial prefrontal cortex cause attentional deficits." *J Neurosci* 2014; 34: 7931-7946.

Pfurtscheller, G., G. Krausz ve C. Neuper. "Mechanical stimulation of the fingertip can induce bursts of beta oscillations in sensorimotor areas." *J Clin Neurophysiol* 2001; 18: 559-564.

Pin, J. P. ve R. Duvoisin. "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions." *Neuropharmacology* 1995; 34: 1-26.

Pineda, J. A. "The functional significance of mu rhythms: translating "seeing" and "hearing" into "doing"." *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 50: 57-68.

Poelmans, G., D. L. Pauls, J. K. Buitelaar ve B. Franke. "Integrated genome-wide association study findings: identification of a neurodevelopmental network for attention deficit hyperactivity disorder." *Am J Psychiatry* 2011; 168: 365-377.

Poil, S. S., S. Bollmann, C. Ghisleni, R. L. O'Gorman, P. Klaver, J. Ball, D. Eich-Hochli, D. Brandeis ve L. Michels. "Age dependent electroencephalographic changes in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD)." *Clin Neurophysiol* 2014; 125: 1626-1638.

Prichep, L. S. ve E. R. John. "QEEG profiles of psychiatric disorders." *Brain Topogr* 1992; 4: 249-257.

Quines, C. B., S. G. Rosa, J. T. Da Rocha, B. M. Gai, C. F. Bortolatto, M. M. Duarte ve C. W. Nogueira. "Monosodium glutamate, a food additive, induces depressive-like and anxiogenic-like behaviors in young rats." *Life Sci* 2014; 107: 27-31.

Quines, C. B., S. G. Rosa, D. Velasquez, J. T. Da Rocha, J. S. Neto ve C. W. Nogueira. "Diphenyl diselenide elicits antidepressant-like activity in rats exposed to monosodium glutamate: A contribution of serotonin uptake and Na(+), K(+)-ATPase activity." *Behav Brain Res* 2016; 301: 161-167.

Radzki, R. P., M. Bienko ve S. G. Pierzynowski. "Effect of dietary alpha-ketoglutarate on blood lipid profile during hypercholesterolaemia in rats." *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69: 175-180.

Ramaharobandro, N., J. Borg, P. Mandel ve J. Mark. "Glutamine and glutamate transport in cultured neuronal and glial cells." *Brain Res* 1982; 244: 113-121.

Rodriguez, C., P. Gonzalez-Castro, M. Cueli, D. Areces ve J. A. Gonzalez-Pienda. "Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) Diagnosis: An Activation-Executive Model." *Front Psychol* 2016; 7: 1406.

Rommel, A. S., G. L. Kitsune, G. Michelini, G. M. Hosang, P. Asherson, G. McLoughlin, D. Brandeis ve J. Kuntsi. "Commonalities in EEG Spectral Power Abnormalities Between Women With ADHD and Women With Bipolar Disorder During Rest and Cognitive Performance." *Brain Topogr* 2016; 29: 856-866.

Russell, V., A. de Villiers, T. Sagvolden, M. Lamm ve J. Taljaard. "Altered dopaminergic function in the prefrontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen of an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder--the spontaneously hypertensive rat." *Brain Res* 1995; 676: 343-351.

Russell, V. A. "Neurobiology of animal models of attention-deficit hyperactivity disorder." *J Neurosci Methods* 2007; 161: 185-198.

Russell, V. A., R. D. Oades, R. Tannock, P. R. Killeen, J. G. Auerbach, E. B. Johansen ve T. Sagvolden. "Response variability in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: a neuronal and glial energetics hypothesis." *Behav Brain Funct* 2006; 2: 30.

Salman, M. S., C. Ackerley, C. Senger ve L. Becker. "New insights into the neuropathogenesis of molybdenum cofactor deficiency." *Can J Neurol Sci* 2002; 29: 91-96.

Schachter, H. M., B. Pham, J. King, S. Langford ve D. Moher. "How efficacious and safe is short-acting methylphenidate for the treatment of attention-deficit disorder in children and adolescents? A meta-analysis." *CMAJ* 2001; 165: 1475-1488.

Schousboe, A., L. Hertz, G. Svenneby ve E. Kvamme. "Phosphate activated glutaminase activity and glutamine uptake in primary cultures of astrocytes." *J Neurochem* 1979; 32: 943-950.



Schroeter, L. 1966. Sulfur Dioxide: Applications in Food, Beverages and Pharmaceuticals. New York, Pergamon Press.

Shank, R. P. ve M. H. Aprison. "Glutamine uptake and metabolism by the isolated toad brain: evidence pertaining to its proposed role as a transmitter precursor." *J Neurochem* 1977; 28: 1189-1196.

Shaywitz, B. A., R. D. Yager ve J. H. Klopfer. "Selective brain dopamine depletion in developing rats: an experimental model of minimal brain dysfunction." *Science* 1976; 191: 305-308.

Shibib, S. ve N. Chalhoub. "Stimulant Induced Psychosis." *Child and Adolescent Mental Health* 2009; 14: 20-23.

Siegel, M., T. H. Donner ve A. K. Engel. "Spectral fingerprints of large-scale neuronal interactions." *Nat Rev Neurosci* 2012; 13: 121-134.

Sinn, N. "Nutritional and dietary influences on attention deficit hyperactivity disorder." *Nutr Rev* 2008; 66: 558-568.

Sleator, E. K. ve R. K. Ullmann. "Can the physician diagnose hyperactivity in the office?" *Pediatrics* 1981; 67: 13-17.

Snyder, S. M., T. A. Rugino, M. Hornig ve M. A. Stein. "Integration of an EEG biomarker with a clinician's ADHD evaluation." *Brain Behav* 2015; 5: e00330.

Sonnewald, U., N. Westergaard ve A. Schousboe. "Glutamate transport and metabolism in astrocytes." *Glia* 1997; 21: 56-63.

Spanaki, C., D. Kotzamani, Z. Petraki, E. Drakos ve A. Plaitakis. "Heterogeneous cellular distribution of glutamate dehydrogenase in brain and in non-neural tissues." *Neurochem Res* 2014; 39: 500-515.

Spanjersberg, M. Q., A. G. Kruizinga, M. A. Rennen ve G. F. Houben. "Risk assessment and food allergy: the probabilistic model applied to allergens." *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 49-54.

Spasojevic, N., B. Stefanovic, P. Jovanovic ve S. Dronjak. "Anxiety and Hyperlocomotion Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress Can Be Moderated with Melatonin Treatment." *Folia Biol (Praha)* 2016; 62: 250-257.

Spears, R. M. ve D. L. Martin. "Resolution and brain regional distribution of cysteine sulfinatase decarboxylase isoenzymes from hog brain." *J Neurochem* 1982; 38: 985-991.

Stein, D. J., H. G. Westenberg ve M. R. Liebowitz. "Social anxiety disorder and generalized anxiety disorder: serotonergic and dopaminergic neurocircuitry." *J Clin Psychiatry* 2002; 63 Suppl 6: 12-19.

Stelmashook, E. V., N. K. Isaev, E. R. Lozier, E. S. Goryacheva ve L. G. Khaspekov. "Role of glutamine in neuronal survival and death during brain ischemia and hypoglycemia." *Int J Neurosci* 2011; 121: 415-422.

Steve L. Taylor, N. A. H., and Robert K. Bush. *Sulfites in Foods: Uses, Analytical Methods, Residues, Fate, Exposure Assessment, Metabolism, Toxicity, and Hypersensitivity*. Advances In Food Research. C. O. CHICHESTER. Orlando, Florida, Academic Press Inc. **30**.

Stevens, L. J., T. Kuczek, J. R. Burgess, E. Hurt ve L. E. Arnold. "Dietary sensitivities and ADHD symptoms: thirty-five years of research." *Clin Pediatr (Phila)* 2011; 50: 279-293.

Stipanuk, M. H. ve P. W. Beck. "Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydratase in liver and kidney of the rat." *Biochemical Journal* 1982; 206: 267-277.

Sudhof, T. C., A. G. Petrenko, V. P. Whittaker ve R. Jahn. "Molecular approaches to synaptic vesicle exocytosis." *Prog Brain Res* 1993; 98: 235-240.

Suzuki, S., A. Saitoh, M. Ohashi, M. Yamada ve J. Oka. "The infralimbic and prelimbic medial prefrontal cortices have differential functions in the expression of anxiety-like behaviors in mice." *Behav Brain Res* 2016; 304: 120-124.

Takahashi, H., R. C. Koehler, S. W. Brusilow ve R. J. Traystman. "Inhibition of brain glutamine accumulation prevents cerebral edema in hyperammonemic rats." *Am J Physiol* 1991; 261: H825-829.

Tassin, V., B. Girard, A. Chotte, P. Fontanaud, D. Rigault, M. Kalinichev, J. Perroy, F. Acher, L. Fagni ve F. Bertaso. "Phasic and Tonic mGlu7 Receptor Activity Modulates the Thalamocortical Network." *Front Neural Circuits* 2016; 10: 31.

Taylor, S. L., N. A. Higley ve R. K. Bush. "Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity." *Adv Food Res* 1986; 30: 1-76.

Todd, R. D. ve K. N. Botteron. "Is attention-deficit/hyperactivity disorder an energy deficiency syndrome?" *Biol Psychiatry* 2001; 50: 151-158.

Urriaga, C., P. Amiano, M. Azpiri, A. Alonso ve M. Dorronsoro. "Estimate of dietary exposure to sulphites in child and adult populations in the Basque Country." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2013; 30: 2035-2042.

Vally, H., N. L. Misso ve V. Madan. "Clinical effects of sulphite additives." *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1643-1651.

Vandenberg, R. J. ve R. M. Ryan. "Mechanisms of glutamate transport." *Physiol Rev* 2013; 93: 1621-1657.

Vandevijvere, S., E. Temme, M. Andjelkovic, M. De Wil, C. Vinkx, L. Goeyens ve J. Van Looco. "Estimate of intake of sulfites in the Belgian adult population." *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2010; 27: 1072-1083.

Varty, G. B., C. A. Marsden ve G. A. Higgins. "Reduced synaptophysin immunoreactivity in the dentate gyrus of prepulse inhibition-impaired isolation-reared rats." *Brain Res* 1999; 824: 197-203.

Verger, P., M. Chambolle, P. Babayou, S. Le Breton ve J. L. Volatier. "Estimation of the distribution of the maximum theoretical intake for ten additives in France." *Food Addit Contam* 1998; 15: 759-766.

Verlaet, A. A., D. B. Noriega, N. Hermans ve H. F. Savelkoul. "Nutrition, immunological mechanisms and dietary immunomodulation in ADHD." *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2014; 23: 519-529.

Vertes, R. P. ve B. Kocsis. "Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus." *Neuroscience* 1997; 81: 893-926.

Villablanca, J. ve M. E. Salinas-Zeballos. "Sleep-wakefulness, EEG and behavioral studies of chronic cats without the thalamus: the 'athalamic' cat." *Arch Ital Biol* 1972; 110: 383-411.

Vincent, A. S., B. G. Lim, J. Tan, M. Whiteman, N. S. Cheung, B. Halliwell ve K. P. Wong. "Sulfite-mediated oxidative stress in kidney cells." *Kidney Int* 2004; 65: 393-402.

Vorobyov, V., N. Schibaev, V. Kaptsov, G. Kovalev ve F. Sengpiel. "Cortical and hippocampal EEG effects of neurotransmitter agonists in spontaneously hypertensive vs. kainate-treated rats." *Brain Res* 2011; 1383: 154-168.

VWA (2008). Children and chemical substances in the diet. Exceedance of the health-based guidelines of chemical substances in the diet of children and a decision tree to assess health risks of children aged between six months and twelve years. Report of a VWA panel. The Hague, The Netherlands: VWA.

Wallis, D., H. F. Russell ve M. Muenke. "Review: Genetics of attention deficit/hyperactivity disorder." *J Pediatr Psychol* 2008; 33: 1085-1099.

Wang, X., H. Cao, X. L. Guan, L. H. Long, Z. L. Hu, L. Ni, F. Wang, J. G. Chen ve P. F. Wu. "Sulfite triggers sustained calcium overload in cultured cortical neurons via a redox-dependent mechanism." *Toxicol Lett* 2016; 258: 237-248.

Wei, B., Q. Li, R. Fan, D. Su, X. Chen, Y. Jia ve K. Bi. "Determination of monoamine and amino acid neurotransmitters and their metabolites in rat brain samples by UFLC-MS/MS for the study of the sedative-hypnotic effects observed during treatment with *S. chinensis*." *J Pharm Biomed Anal* 2014; 88: 416-422.

Wen, H. ve Z. Liu. "Separating Fractal and Oscillatory Components in the Power Spectrum of Neurophysiological Signal." *Brain Topogr* 2016; 29: 13-26.

Won, H., W. Mah, E. Kim, J. W. Kim, E. K. Hahm, M. H. Kim, S. Cho, J. Kim, H. Jang, S. C. Cho, B. N. Kim, M. S. Shin, J. Seo, J. Jeong, S. Y. Choi, D. Kim ve C. Kang. "GIT1 is associated with ADHD in humans and ADHD-like behaviors in mice." *Nat Med* 2011; 17: 566-572.

Wu, G. "Amino acids: metabolism, functions, and nutrition." *Amino Acids* 2009; 37: 1-17.

Xing, W. M., T. J. Yuan, J. D. Xu, L. L. Gu, P. Liang ve H. Lu. "Proteomic identification of mitochondrial targets involved in andrographolide sodium bisulfite-induced nephrotoxicity in a rat model." *Environ Toxicol Pharmacol* 2015; 40: 592-599.

Yang, R. Z., S. Park, W. J. Reagan, R. Goldstein, S. Zhong, M. Lawton, F. Rajamohan, K. Qian, L. Liu ve D. W. Gong. "Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity." *Hepatology* 2009; 49: 598-607.

Yang, W. H. ve E. C. Purchase. "Adverse reactions to sulfites." *CMAJ* 1985; 133: 865-867, 880.

Yee, B. K. "Cytotoxic lesion of the medial prefrontal cortex abolishes the partial reinforcement extinction effect, attenuates prepulse inhibition of the acoustic startle

reflex and induces transient hyperlocomotion, while sparing spontaneous object recognition memory in the rat." *Neuroscience* 2000; 95: 675-689.

Yudkoff, M., M. M. Zaleska, I. Nissim, D. Nelson ve M. Erecinska. "Neuronal glutamine utilization: pathways of nitrogen transfer studied with [15N]glutamine." *J Neurochem* 1989; 53: 632-640.

Zhang, J. B., H. Zhang, H. L. Wang, J. Y. Zhang, P. J. Luo, L. Zhu ve Z. T. Wang. "Risk analysis of sulfites used as food additives in China." *Biomed Environ Sci* 2014; 27: 147-154.

Zhang, Q., Y. Bai, Z. Yang, J. Tian ve Z. Meng. "The molecular mechanisms of sodium metabisulfite on the expression of K ATP and L-Ca<sup>2+</sup> channels in rat hearts." *Regul Toxicol Pharmacol* 2015; 72: 440-446.

Zhang, X., A. S. Vincent, B. Halliwell ve K. P. Wong. "A mechanism of sulfite neurotoxicity: direct inhibition of glutamate dehydrogenase." *J Biol Chem* 2004; 279: 43035-43045.

Zhang, Y., X. Zu, W. Luo, H. Yang, G. Luo, M. Zhang ve S. Tang. "Social isolation produces anxiety-like behaviors and changes PSD-95 levels in the forebrain." *Neuroscience Letters* 2012; 514: 27-30.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı	GÖKSUN	Uyruğu	T.C.
Soyadı	TOPAK	Tel no	+90 5305139935
Doğum tarihi	25.01.1985	e-posta	goksuntopak@gmail.com

### Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	İzmir Atatürk Anadolu Lisesi	2003
Lisans	Orta Doğu Teknik Üniversitesi	2008
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi	2011
Doktora	Akdeniz Üniversitesi	2017

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst.	2009 -2017

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	2015 – Nisan – YDS	86,25
İngilizce	2017 – Temmuz – YÖKDİL	92,5

### Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Çocuklarda sülfite alımına bağlı EEG ve lokomotor aktivite değişikliklerinin moleküler mekanizmalarla araştırılması	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri	2015 - 2017
Diyetle alınan sülfite beyin sapı işitsel potansiyellerine etkisi ve moleküler mekanizmaları	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri	2013 - 2016
900-2200 Mhz frekans aralığında kullanılan cep telefonlarından yayılan elektromanyetik kirliliğin çevre sağlığı üzerine etki ve mekanizmalarının deneysel olarak araştırılması	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri	2015 - 2016

Diyabete bağlı işitsel beyin sapı potansiyelleri ABR ve otoakustik emisyon değişikliklerinde eritropoietinin etkileri	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2015 - 2016</b>
Yenidoğan ratlarda kronik topiramamat, levotirasetam ve lacosamide kullanımının status epileptikus tedavisindeki etkinliğinin, nöroprotektif ve öğrenme üzerine olan etkilerinin araştırılması	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2014 - 2015</b>
900-2200 Mhz frekans aralığındaki cep telefonları için radyofrekans simülatör tasarımı, cep telefonlarının işitsel potansiyeller üzerine etkisi ve mekanizmalarının deneysel olarak araştırılması	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2013 - 2015</b>
Günlük 25 mg/kg dozda alınan sülfitin hipokampusta glutamat sentez ve salınımına etkilerinin araştırılması	<b>TÜBİTAK 1002</b>	<b>2014 - 2015</b>
Sodyummetabisülfitin öğrenme üzerine etkilerinde fosfolipaz A2 enzimlerinin rolü	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2009 - 2012</b>
Sülfitin mide dokusunda oluşturduğu oksidatif ve apoptotik parametrelerdeki değişiklikler üzerine ghrelinin etkisi	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2009 - 2011</b>
Deneysel beyin iskemi reperfüzyon modelinde öğrenme ve hafıza değişikliklerine ghrelinin etkisi ve mekanizmaları	<b>Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri</b>	<b>2010 - 2011</b>

### **Burslar-Ödüller:**

ERASMUS Burslu Stajyeri, 23.06.2013 – 20.09.2013, Maastricht University, Department of Psychiatry and Neurosurgery, MAASTRICHT – HOLLANDA

**Göksun Başaranlar**, Ertan Küçüksayan, Narin Derin, Mustafa Ünal, Bülent Mutus, Mutay Aslan, Sıçanlarda Oluşturulan Oküler Hipertansiyonun Nitrozatif Stres ve Nötral Sfingomiyelinaz ile İlişkisi, Poster 3.lük ödülü, 25.Ulusal Biyofizik Kongresi, 24 – 27 Eylül 2013, TRABZON – TÜRKİYE



Pınar Gençpınar, **Göksun Başaranlar**, Leyla Satı, Şenay Haspolat, Narin Derin, Özgür Duman, Yenidoğan ratlarda, kronik günlük topiramet, levetirasetam ve lacosamide kullanımının pentilentetrazol (PTZ) ile indüklenmiş status epileptikustaki profilaktik ve nöroprotektif etkilerinin araştırılması, Poster 1.lik ödülü, 18. Ulusal Çocuk Nörolojisi Kongresi, 20 – 24 Nisan, 2016, ANTALYA – TÜRKİYE.

Narin Derin, **Güksun Topak**, Dijle Kipmen Korgun, Mutay Aslan. Diyetle alınan farklı dozlardaki sülfitin beyin dokusunda araşidonik asit yolağına etkileri. Sözlü Bildiri 3. Ödülü. 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi. 7-10 Eylül 2017, DENİZLİ.

### **Yayınlar ve Bildiriler:**

#### **SCI, SSCI ve AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler**

1. Kencebay Manas C., Derin N., Özsoy Ö., Kipmen Korgun D., Tanrıöver G., Öztürk Erboğa N., **Başaranlar G.**, Yargıçoğlu Akkiraz P., Sözen B., Açar A., "Merit Of Quinacrine In The Decrease Of Ingested Sulfite-Induced Toxic Action In Rat Brain", Food And Chemical Toxicology, pp.129-136, 2012.

2. Ercan S, **Basaranlar G**, Gungor NE, Kencebay C, Sahin P, Celik-Ozenci C, Derin N., "Ghrelin inhibits sodium metabisulfite induced oxidative stress and apoptosis in rat gastric mucosa.", Food Chem Toxicol. 2013 Jun;56:154-61.

3. **Basaranlar G**, Derin N, Tan R, Tanriover G, Demir N, "Protective Actions of Ghrelin on Global Cerebral Ischemia-Induced Memory Deficits", Neurophysiology, 2014 AUG; 46 (4), 343-351.

4. Aslan M, **Basaranlar G**, Unal M, Ciftcioglu A, Derin N, Mutus B., "Inhibition of neutral sphingomyelinase decreases elevated levels of inducible nitric oxide synthase and apoptotic cell death in ocular hypertensive rats.", Toxicol Appl Pharmacol. 2014 Nov 1;280(3):389-98.

5. Ercan S, Kencebay C, **Basaranlar G**, Derin N, Aslan M., Induction of xanthine oxidase activity, endoplasmic reticulum stress and caspase activation by sodium metabisulfite in rat liver and their attenuation by Ghrelin., Food Chem Toxicol. 2015 Feb;76:27-32.

6. Ercan S, Kencebay C, **Basaranlar G**, Ozcan F, Derin N, Aslan M., "Induction of omega 6 inflammatory pathway by sodium metabisulfite in rat liver and its attenuation by ghrelin.", *Lipids Health Dis.* 2015 Feb 17;14:7.
7. Bulut M, Dönmez BÖ, Öztürk N, **Başaranlar G**, Kencebay Manas C, Derin N, Özdemir S., "Effect of sodium tungstate on visual evoked potentials in diabetic rats.", *Int J Ophthalmol.* 2016 May 18;9(5):677-81.
8. Gencpinar P.,**Basaranlar G.**, Sati L., Duman O., Derin N., Prophylactic and Neuroprotective Effects of Chronic Daily Topiramate, Lacosamide and Levetiracetam Administration on Pentylene-tetrazol-Induced Status Epilepticus Model in Rat Pups, *Neurophysiology (Değerlendirme Sürecinde)*
9. **Basaranlar G.**, Derin N., Kencebay C., Tanrıöver G., Aslan M. The Role of cPLA2 and Oxidative Stress On The Effects Of Sulfite In Rat Hippocampus. (Yayın süreci devam ediyor)

#### **Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar**

1. Derin N.,**Başaranlar G.**, Kencebay Manas C., Yargıçoğlu Akkiraz P., Ağar A., "Sodyum Metabisülfid Ve Quinacrinin Sıçanlarda Hipokampus Bağımlı Spasiyel Hafıza Ve Öğrenme Üzerine Etkileri", 10. Ulusal Sinirbilim Kongresi, İSTANBUL, TÜRKİYE, 9-12 Nisan 2011, ss.10-10
2. **Başaranlar G.**, Tanrıöver G., Derin N., Dilmaç S., Demir N., "Global Serebral İskemi-Reperfüzyon Sonrası Hipokampusta Ghrelinin Etkisinin Inos Ve Caspase-3 Immunohistokimyası İle İncelenmesi", I. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2012, ss.5-5.
3. **Başaranlar G.**, Tanrıöver G., Derin N., Dilmaç S., Demir N., "Sıçanlarda Global Serebral İskemi Reperfüzyon İndüklü Hipokampal Doku Hasarına Ghrelinin Etkisi", 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, İSTANBUL, TÜRKİYE, 25-28 Eylül 2012, ss.10-10

4. Ercan S., Kencebay Manas C., Güngör N.E., **Başaranlar G.**, Çelik Özenci Ç., Derin N., "Sıçan Mide Dokusunda Sodyum Metabisülfidin Olusturduğu Apoptozis Üzerine Ghrelinin Etkisi", 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 25-29 Eylül 2012, ss.1-1

5. **Başaranlar G.**, Derin N., "Acylyated Ghrelin Ameliorates Learning And Memory Impairments Induced By Transient Global Cerebral Ischemia In Rats", 4th Conference of Mediterranean Neuroscience Society (MNS), İSTANBUL, TÜRKİYE, 30 Eylül - 3 Ekim 2012, pp.2121-212

6. Doğan S., Küçüksayan E., Ünal M., Çiftçioğlu A., Derin N., **Başaranlar G.**, Mutus B., Aydın Aslan M., "Neutral Sphingomyelinase Inhibition Decreases Elevated Levels Of Inducible Nitric Oxide Synthase And Nitrotyrosine In Ocular Hypertensive Rats", 19th Annual Meeting of the Society-for-Free-Radical-Biology-and-Medicine (SFRBM), San Diego, KANADA, 14-18 Kasım 2012, no.53, pp.181-181

7. **Başaranlar G.**, Küçüksayan E., Derin N., Ünal M., Mutus B., Aydın Aslan M., "Sıçanlarda Oluşturulan Oküler Hipertansiyonun Nitrozatif Stres Ve Nötral Sfingomiyelinaz İle İlişkisi", 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 24-27 Eylül 2013, ss.3-3

8. Kencebay Manas C., Öztürk Erboğa N., **Başaranlar G.**, Dönmez B.Ö., Derin N., Özdemir S., Oğuz N., "Diyabete Bağlı Görsel Uyarılma Potansiyeli Değişikliklerine Sodyum Tungstatın Etkisi", 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, TRABZON, TÜRKİYE, 24-27 Eylül 2013, ss.7-7

9. Aydın Aslan M., Küçüksayan E., Ünal M., Çiftçioğlu A., Derin N., **Başaranlar G.**, Mutus B., " Inhibition Of Neutral Sphingomyelinase Decreases Elevated Levels Of Nitrotyrosine And Inducible Nitric Oxide Synthase In Ocular Hypertensive Rats ", 38th Congress of the Federation-of-European-Biochemical-Societies (FEBS), Saint Petersburg, RUSYA, 6-11 Temmuz 2013, no.280, pp.421-421

10. Derin N.,**Başaranlar G.**, Kencebay Manas C., Aydın Aslan M., "The Role Of Quinacrine On The Effects Of Ingested Sulfite In Rat Hippocampus", 5éme Symposium Nutrition, Biologie de l'Oxygène et Médecine, Paris, FRANSA, 5-7 Haziran 2013, pp.27-27

11. **Başaranlar G.**, Ercan S., Kencebay Manas C., Derin N., "Effects Of Ghrelin On Spatial Learning, Memory And Lipid Peroxidation In Rats Exposed To Sulfite", 5éme Symposium Nutrition, Biologie de l'Oxygène et Médecine, Paris, FRANSA, 5-7 Haziran 2013, pp.30-30

12. **Başaranlar G.**, Kencebay Manas C., Aydın Aslan M., Derin N., "Diyetle Alınan Sülfitin Hipokampal Oksidan/Antioksidan Kapasiteler Ve Fosfolipaz A2 Enzim Aktivitelerine Etkisi", 11. Ulusal Sinirbilim Kongresi, İZMİR, TÜRKIYE, 28 Nisan - 1 Mayıs 2013, ss.5-5

13. Kencebay Manas C.,**Başaranlar G.**, Öztürk Erboğa N., Derin N., Dönmez B.Ö., Özdemir S., Oğuz N., "Visual Evoked Potential Changes And Lipid Peroxidation Level In Streptozocin-Induced Diabetic Rats", FENS Featured Regional Meeting, Prag, CEK CUM., 11-14 Eylül 2013, pp.50-50

14. Ercan S, Şahin P, **Başaranlar G**, Kencebay C, Derin N, Özenci Ç.Ç., Evaluation of mTOR Signaling Pathway Proteins In Rat Gastric Mucosa on Exposed to Sulfite and Ghrelin” 41. Ulusal Fiziyojji Kongresi, Acta Physiologica, 215, 59, Çanakkale 2015.

15. G Akcay, P Guzel, B Danisman, **G Basaranlar**, AT Derin, N Derin,” Effects of Diabetes on Brainstem Auditory Evoked Potentials”, 42. Ulusal Fiziyojji Kongresi, ACTA PHYSIOLOGICA 218, 87-87, Düzce 2016.

16. B Danisman, G Akçay, **G Başaranlar**, C Kencebay, N Derin, “Effects of Ingested Sulfite on Auditory Evoked Brainstem Response”, 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ACTA PHYSIOLOGICA 218, 87-87. Düzce 2016.

17. Gençpınar P.,**Başaranlar G.**, Sati G.L., Haspolat Ş., Derin N., Duman Ö., "Yenidoğan ratlarda, kronik günlük topiramet, levetirasetam ve lacosamide kullanımının pentilentetrazol (PTZ) ile indüklenmiş Status Epileptikus'taki profilaktik ve nöroprotektif etkilerinin araştırılması", 18. Ulusal Çocuk Nörolojisi Kongresi., ANTALYA, TÜRKIYE, 20-24 Nisan 2016, ss.146-146.

18. Narin Derin, **Güksun Topak**, Dijle Kipmen Korgun, Mutay Aslan. “Diyetle alınan farklı dozlardaki sülfitin beyin dokusunda araşidonik asit yolağına etkileri”, 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi. ACTA PHYSIOLOGICA 218, 7-10 Eylül 2017, Denizli.

19. Hakan Er, **Göksun Başaranlar**, Deniz Kantar Gök, Şükrü Özen, Narin Derin, Necdet Demir, Piraye Yargıçoğlu.“900mhz radyo frekans elektromanyetik alınan sıçanlarda işitsel beyinsapı yanıtlarına etkisi” 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi. 6-9 Eylül 2017. Acıbadem, İstanbul.

20. Güven Akçay, **Göksun Başaranlar**, Hakan Er, Betül Danışman, Narin Derin, Şükrü Özen, Piraye Yargıçoğlu Akkiraz. Cep telefonlarının işitsel beyinsapı potansiyellerine etkileri. 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi. 6-9 Eylül 2017. Acıbadem İstanbul.