

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA FORMALDEHİT İNHALASYONUNUN
SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Rabia TAŞDEMİR

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Anatomi Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2019

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA FORMALDEHİT İNHALASYONUNUN
SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Rabia TAŞDEMİR

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Anatomi Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK

Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından 2016/078 proje numarasıyla desteklenmiştir.
Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KOÜ HADYЕК) proje no 2016/4 onay numarası KOÜ HADYЕК 2/5-2016

KOCAELİ
2019

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

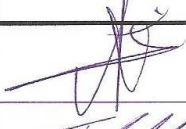
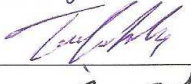

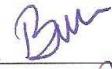
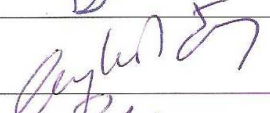

Tez Adı: Ratlarda Formaldehit İnhalasyonunun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkisinin Morfolojik ve Biyokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi

Tez yazarı: Rabia TAŞDEMİR

Tez savunma tarihi: 22.03.2019

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Anatomi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN	Prof. Dr. Aydın ÖZBEK	
ÜYE(DANIŞMAN)	Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK	
ÜYE	Prof. Dr. Çağatay BARUT	
ÜYE	Prof. Dr. Belgin BAMAÇ	
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Fatma Ceyla ERALDEMİR	
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Ayla Tekin ORHA	

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

22 /03 /2019

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Özet

Ratlarda Formaldehit İnhalasyonunun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkisinin Morfolojik ve Biyokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi

Amaç: Formaldehit (FA) gerek kimyasal yapısı gerek dokulardaki etkileşimi sonucu çeşitli sistem organlarını olumsuz etkilemektedir. Çalışmamızda TUNEL işlemi ile dokulardaki apoptotik hücre sayı indeksini inceleyerek ve düşük doz ile yüksek doz formaldehite subkronik olarak maruz bırakılan sıçanlarda, BDNF ve S100B proteinlerinin hem morfolojik yöntemlerle hem de doku ve serum elisasında düzeylerine bakılarak FA'nın etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda kontrol grubu (266,88 gr±12,66) (N: 8), düşük doz FA (257,29 gr±5,42) (N: 8) ve yüksek doz FA (239,40 gr±35,28) (N: 8) inhale ettirilen grup olmak üzere toplamda 24 adet Wistar albino türü sıçan kullanılmıştır. Kontrol grubuna (K.G.) sadece normal hava verilirken düşük doz deney grubu (D.D.G.) için ortalama 1ppm, yüksek doz deney grubu (Y.D.G.) için ise ortalama 10 ppm FA inhale ettirilmiştir. Deneyde hayvanlar, FA'ya haftanın 5 günü, günlük 4'er saat olacak şekilde toplamda 12 hafta boyunca maruz bırakılmışlardır. Deney sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek kanları ve beyin dokuları alınmıştır. Her hayvanın bir hemisferi morfolojik çalışma için diğer hemisferi biyokimya için ayrılmıştır. Morfolojik çalışmada dokuda hemotoksilen- eozin boyaması ile immünohistokimyasal analizi yapılmıştır. İmmünohistokimya için beyin dokusunun ilgili bölümlerinde (cortex, thalamus ve hippocampus) BDNF ve S100B proteinlerinin ekspirasyonuna ve apoptotik hücre sayı indeksine bakılmıştır. Biyokimya analizinde de serumda ve beyin dokusunda belirlenen bölgelerde (cortex, thalamus ve hippocampus) BDNF ile S100B proteinlerinin seviyelerine bakılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda yüksek doz FA inhale ettirilen hayvanların ağırlıklarında K.G. ve D.D.G. hayvanların ağırlıklarına göre anlamlı azalma görülmüştür (p<0,05). İmmünohistokimyasal analizde BDNF işaretlemesine bakıldığında cortex'te K.G. ile D.D.G. arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p<0,05). Thalamus'ta ve hippocampus'te ise K.G. ile hem D.D.G. hem de Y.D.G. arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir (p<0,05). Aynı şekilde

immünohistokimya analizinde cortex'te S100B işaretlemesinde, Y.D.G. ile K.G. ve D.D.G. arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Thalamus ve hippocampus'te ise D.D.G. ile Y.D.G. arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Serum ve dokuda BDNF ile S100B elisa testlerinde hiçbir grupta anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda, hem morfolojik hem biyokimyasal analizlerden elde ettiğimiz sonuçlar çerçevesinde sağlıklı beyin dokusunda BDNF değerleri, hasarın fazla olduğunu düşündüğümüz Y.D.G.'de ise S100B değerleri daha yüksek bulunarak, FA'nın beyin dokusu üzerindeki hasarını nöronal ölümün yanısıra protein düzeyinde de olabileceği gösterilmiştir. Böylece FA'nın beyin dokusu üzerinde ciddi hasara yol açabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, BDNF, S100B, rat

Summary

Morphological and Biochemical Analysis of the Effect of Formaldehyde Inhalation on Nervous System in Rats

Purpose: Formaldehyde (FA) has a negative effect on various system organs as a result of its chemical structure and its interaction in tissues. The aim of this study was to investigate the effect of FA on both BDNF and S100B proteins in rats with subchronic exposure to low and high dose formaldehyde by morphological methods, their levels in tissue and serum ELISA levels by examining the apoptotic cell number index in tissues using TUNEL procedure.

Method: In our study, the control group ($266,88 \text{ g} \pm 12,66$) (N: 8), low dose FA ($257,29 \text{ g} \pm 5,42$) (N: 8) and high dose FA ($239,40 \text{ g} \pm 35,28$) (N: 8) a total of 24 Wistar albino rats were used. Control group (C.G) inhaled only air, low dose experimental group (L.D.G) inhaled an average of 1ppm and high dose group (H.D.G) inhaled an average of 10ppm FA. In the experiment, animals were exposed to FA for 4 hours per day, 5 days per week a total of 12 weeks. At the end of the experiment, animals were sacrificed and blood and brain tissues were taken. One hemisphere of each animal is reserved for biochemical studies and other for morphological studies. Immunohistochemical analysis with hemotoxylin-eosin staining was performed as morphological study. The expiration rates of BDNF and S100B proteins and the apoptotic cell number index was examined in the relevant sections of brain tissue (cortex, thalamus and hippocampus). In biochemical analysis, the levels of BDNF and S100B proteins were determined in serum and in identified brain tissues (cortex, thalamus and hippocampus).

Results: In our study there was a significant decrease of weight in animals that inhaled high dose FA in relative to the weights of C.G and L.D.G ($p < 0,05$). In immunohistochemical analysis, when the BDNF labeling was examined, a significant difference was found between C.G and L.D.G ($p < 0,05$). For thalamus and hippocampus, significant differences was observed between C.G and L.D.G as well as H.D.G. ($p < 0,05$). Similarly in

immunohistochemical analysis, the S100B labeling of cortex was found to be significantly different between H.D.G and C.G as well as L.D.G ($p<0,05$). For thalamus and hippocampus a significant difference was found among L.D.G and H.D.G. ($p<0,05$). No significant difference was found in BDNF and S100B ELISA tests in serum and tissue ($p>0.05$).

Conclusion: In our study, BDNF protein levels was found to be high in healthy brain tissues in both morphological and biochemical studies. In contrast, on brain tissues that belongs to H.D.G which we considered as damaged at high rate, the S100B levels were found higher. It has been shown that FA's damage to the nervous system may be due to damage on protein level as well as neuronal death. Therefore, FA has been found to cause serious damage to nervous system.

Key words: Formaldehyde, BDNF, S100B, rat

Teşekkür

Kocaeli Üniversitesi'ne atandığım ilk günden itibaren tez çalışmamın yanında gerek akademik gerekse idari çalışmalarım için bana yol gösteren, sabırla hatalarımı düzelten ve her daim bana olan desteğini ve güvenini esirgemeyen hocam, danışmanım sayın Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK'a,

Çalışmalarımda bana yol gösteren, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen hocam Prof. Dr. Belgin BAMAÇ'a,

Engin bilgisinden faydalandığım ve ilham aldığım hocam Prof. Dr. Aydın ÖZBEK'e,

İstatistik analizinde her türlü yardımı ve desteği sağlayan Doç. Dr. Serap ÇOLAK hocama,

Tez çalışmalarım için gerekli desteği sağlayan Prof. Dr. Fatma Süreyya CEYLAN ve Dr. Öğr. Üyesi Fatma Ceyla ERALDEMİR hocalarıma,

Deneyselerimde yardım etmekten çekinmeyen histoloji, fizyoloji ve biyokimya asistanlarına, histoloji çalışmalarım için Arş. Gör. Hümeysra Selenay Furat RENÇBER'e, biyokimya çalışmalarım için Arş. Gör. Esra ACAR ve Arş. Gör. Özgür Doğa ÖZSOY'a,

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen zor zamanlarımda desteklerini sonuna kadar hissettiğim mesai arkadaşlarım Anatomi A.D. asistanları Arş. Gör. Elif AKSU, Arş. Gör. Mehmet Deniz YENER, Arş. Gör. İsmail SİVRİ, Arş. Gör. Ozan TAVAS, Arş. Gör. Esra KAYABAŞI'na,

En başından bu zamana kadar bana olan güvenlerini yitirmeyen, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme ve kıymetli zamanlarımdan çaldığım oğlum Eymen Talha ve kızım Hilal Nehir'e sabırlarımdan dolayı çok teşekkür ederim.

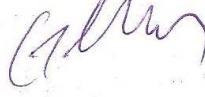
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

..19... / 02 / 2019

Rabia Taşdemir

İmza



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	vi
TEŞEKKÜR	viii
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ÇİZİMLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Formaldehit	1
1.1.1. Formaldehitin Kimyasal Özellikleri	1
1.1.2. Doğada Bulunuş ve Maruz Kalma	3
1.1.3. Formaldehitin Sağlık Üzerine Etkileri	4
1.2.1. Diencephalon Embriyolojisi	7
1.2.2. Cerebral Hemisferlerin Embriyolojisi	8
1.2.3. Hippocampus Embriyolojisi	9
1.3. Merkezi Sinir Sistemi Histolojisi	10
1.3.1. Cortex Cerebri Histolojisi	10
1.3.2. Hippocampus Histolojisi	11
1.4. Merkezi Sinir Sistemi Anatomisi	12
1.4.1. Thalamus Morfolojisi	12
1.4.2. Cortex Cerebri Anatomisi	15
1.4.3. Hippocampus Anatomisi	17
1.5. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Proteini	19
1.5.1. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Fonksiyonu	19
1.5.2. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Çalışma Mekanizması	20
1.6. Kalsiyum Bağlayıcı Protein B (S100B)	21
1.7. İmmünohistokimya	22

2. AMAÇ	24
3. YÖNTEM	25
3.1. Deney Hayvanları	25
3.3. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu	29
3.4. Deney Hayvanlarının Ağırlıklarının Ölçülmesi	31
3.5. Işık Mikroskopi Uygulamaları	31
3.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Morfolojik Değerlendirme	33
3.5.2. İmmünohistokimya Uygulamaları	33
3.6. Biyokimyasal Analiz	35
3.6.1. Kanda BDNF ve S100B Ölçümü	36
3.6.2. Doku Homejenizasyonu	36
3.6.3. BDNF ve S100B Tayini	36
3.7. İstatiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. Işık Mikroskopi Bulguları	39
4.1.1. BDNF İşaretlemesi	43
4.1.2. S100B İşaretlemesi	48
4.1.3. TUNEL İşaretlemesi	53
4.2. Biyokimya Bulguları	58
5. TARTIŞMA	60
5.1. Sınırlılıklar	66
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR DİZİNİ	69
ÖZGEÇMİŞ	76
EKLER	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ACTH: Adrenokortikotropik Hormon
BDNF: Beyin Türevli Nörotrofik Faktör Protein
CA: Cornu Ammonis
CPE: Karboksipeptidaz E
CREB: Siklik Amp-tepki Elemanı Bağlayıcı Protein
CRH: Corticotropin Releasing Hormon
DDG: Düşük doz formaldehite maruz kalan grup
DG: Dentat Gyrus
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
FA: Formaldehit
GFAP: Glial Fibrillar Asidik Protein
H&E: Hematoksilen - Eozin
H₂S: Hidrojen Sülfid
İHK: İmmünohistokimya
İL: İnterlökin
ip: İntraperitoneal
KG: Kontrol Grubu
LNGFR: Düşük Afiniteli Sinir Büyüme Faktörü Reseptörü
mAb: Monoclonal Antibody
mRNA: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
MSS: Merkezi Sinir Sistemi
NGF: Nöron Büyüme Faktörü
NMDA: N-metil-D-aspartat
OECD: The Organisation for Economic Co-operation and Development
PBS: Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik
Ppb: Parts per billion
Ppm: Parts per million
PSS: Periferik Sinir Sistemi
ROS: Reaktif Oksijen Radikalleri

S100B: Kalsiyum Bağlayıcı Protein

TLV- STEL: Eşik Sınır Değer - Kısa Süreli Maruziyet Sınırı

TrkB: Tirozin kinaz reseptörleri B

TWA: Eşik Sınır Değer Zaman Ağırlıklı Ortalama

VPL: Ventral Posterolateral Nucleus

VPM: Ventral Posteromedial Nucleus

WBC: Lökosit

YDG: Yüksek Doz formaldehite maruz kalan grup



ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1.1. Formaldehit'in kimyasal formülü	17
Çizim 1.2. Merkezi sinir sisteminin embriyolojik gelişimi	22
Çizim 1.3. Thalamus'un şematik anatomisi ve nucleusları	30
Çizim 1.4. Cortex'in fonksiyonel bölümleri	32
Çizim 1.5. Hippocampus'ün bölümleri	34
Çizim 3.1. Referans aldığımız kabin modeli	41
Çizim 3.2. Sıçanların formaldehit soluduğu deney kabini	42
Çizim 3.3. Ortalama 1 ppm formaldehit inhale eden sıçanların deney kabinde bulunması	42
Çizim 3.4. Ortalama 10 ppm formaldehit inhale eden sıçanların deney kabinde bulunması	43
Çizim 3.5. Sıçanların deney esnasındaki görüntüleri	44
Çizim 3.6. Sıçanlara intraperitoneal yolla anestezi uygulanması	45
Çizim 3.7. Sıçanlardan kardiyak ponksiyon yoluyla kan alınması	45
Çizim 3.8. Sıçanlara perfüzyon işleminin uygulanması	46
Çizim 3.9. Kontrol ve deney gruplarına ait H&E boyanması örneği	47,48
Çizim 4.1. Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların tüylerinin renk değişimleri ve kafes içinde kaçınmaları	53
Çizim 4.2. Kontrol grubuna ait H&E mikrografları	55
Çizim 4.3. D.D.G.'na ait H&E mikrografları	56
Çizim 4.4. Y.D.G.'na ait H&E mikrografları	57

Çizim 4.5. Cortex'e ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	59
Çizim 4.6. Hippocampus'e ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	60
Çizim 4.7. Thalamus'a ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	61
Çizim 4.8. Cortex'e ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	64
Çizim 4.9. Hippocampus'e ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	65
Çizim 4.10. Thalamus'a ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları	66
Çizim 4.11. Cortex'e ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri	69
Çizim 4.12. Hippocampus'e ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri	70
Çizim 4.13. Thalamus'a ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Formaldehit'in fiziksel ve kimyasal özellikleri	18
Çizelge 4.1. Deney hayvanlarının ağırlık ortalamaları ile standart sapmaları	54
Çizelge 4.2. Deney hayvanlarının ağırlık ortalamalarının p değerleri	54
Çizelge 4.3. Cortex'te kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	62
Çizelge 4.4. Cortex'te kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	62
Çizelge 4.5. Thalamus'ta kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	62
Çizelge 4.6. Thalamus'ta kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	62
Çizelge 4.7. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	63
Çizelge 4.8. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	63
Çizelge 4.9. Cortex'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	67
Çizelge 4.10. Cortex'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	67
Çizelge 4.11. Thalamus'ta kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	67
Çizelge 4.12. Thalamus'ta kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	67

Çizelge 4.13. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor ortalama değerleri	68
Çizelge 4.14. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H- skor p değerleri	68
Çizelge 4.15. Kontrol ve deney gruplarına ait Cortex'teki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin ortalama değerleri	72
Çizelge 4.16. Kontrol ve deney gruplarına ait Cortex'teki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin p değerleri	72
Çizelge 4.17. Kontrol ve deney gruplarına ait Thalamus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin ortalama değerleri	72
Çizelge 4.18. Kontrol ve deney gruplarına ait Thalamus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin p değerleri	73
Çizelge 4.19. Kontrol ve deney gruplarına ait Hippocampus'deki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin ortalama değerleri	73
Çizim 4.20. Kontrol ve deney gruplarına ait Hippocampus'deki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indexlerin p değerleri	73
Çizim 4.21. Sıçan serumunda BDNF değerleri	74
Çizim 4.22. Sıçan serumunda S100B değerleri	74
Çizim 4.23. Sıçanların doku ELİSA testinde BDNF değerleri	74
Çizim 4.24. Sıçanların doku ELİSA testinde S100B değerleri	74

1. GİRİŞ

Formaldehit (FA), merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde toksik etkileri olan yaygın bir çevresel kirleticidir (Jiang ve diğ. 2015). Formaldehit, insan vücudunda, otomobil emisyonları ve tütün dumanı gibi çevresel kaynaklarda doğal olarak bulunan en reaktif aldehitlerden biridir. Formaldehit'e maruz kalan çalışanlarda nazofarenks kanseri oranlarının artması ve miyeloid lösemi riskinin göreceli olarak artması, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın formaldehitin insanlar için kanserojen olarak sınıflandırılmasını sağlamıştır (Kumaria 2012).

Solunum, dermal ve lokal temas, FA toksisitesine neden olabilecek maruz kalma biçimleridir (Arıcı ve diğ. 2014). Karaciğer ve eritrositlerde formik aside dönüşen FA, idrar, feçes ve solunum yoluyla vücuttan atılır (Aşık 2016).

Endüstri alanının yanı sıra sağlıkçılarda, özellikle anatomi, histoloji ve patoloji bölümlerinde çalışanlarda kimyasal maddelere maruziyetin ana giriş yolu solunumdur.

FA'nın dokuları koruma özelliği nedeniyle anatomi laboratuvarlarında ve morglarda mumyalama sıvısı olarak da kullanılır (Winkler 2011). Sağlık alanında iyi bir fiksasyon olması nedeniyle anatomi, histoloji ve patoloji çalışanları için en büyük toksik risk oluşturan kimyasal maddelerden biri de formaldehittir.

Formaldehitin; immün sistemi, solunum sistemi, ürogenital sistemi, sindirim sistemi ve sinir sistemini olumsuz yönde etkilediğini gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Özellikle sinir sisteminde nöronal tau proteinin yanlış katlanmasına, nöronal apoptoza, kognitif ve hafıza fonksiyon kayıplarına neden olmaktadır (Chi ve diğ. 2012).

Haziran 2004'te, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, altı ana kohort çalışmasına dayanarak formaldehiti insanlar için 1. grup kanserojen olarak sınıflandırdı (Kumaria 2012).

1.1. Formaldehit

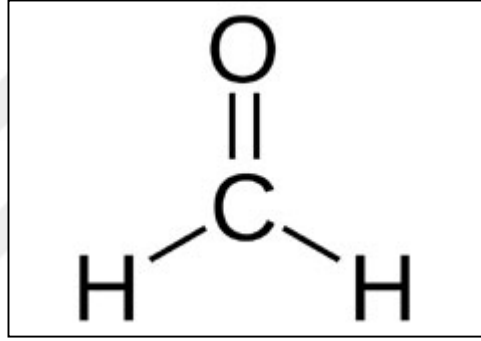
İlk olarak 1855 yılında Rus bilim adamı Alexander Michailowitsch Butlerow tarafından tanımlanan FA, teknik olarak 1867'de Alman kimyager August Wilhelm von Hofmann tarafından metanolün dehidrasyonu ile sentez edilmiştir (Salthammer ve diğ. 2010).

1.1.1. Formaldehitin Kimyasal Özellikleri

Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)) tarafından metanol olarak isimlendirilen, bunun yanında formik aldehyd, metaldehyd, metil aldehyd, metilen oksit, oxometan, oximetilen olarakta

bilinen formaldehit renksiz ve keskin kokulu bir gazdır (IARC 2006, Winkler 2011, Viegas ve diğ. 2010).

Oksijen, karbon ve 2 hidrojen den oluşan FA'nın kimyasal formülü CH₂O'dur (Çizim 1.1). Molekül ağırlığı 30.03 gr olup ortamda doğal olarak bulunan bir maddedir (OSHA 2010, IARC 2006). -21°C ile -19°C arasında kaynama noktasına ulaşır, 150 °C'yi geçtikten sonra metanol ve karbon monoksit'e parçalanır (Aydın 2009). Formaldehit, yanıcı ve suda aşırı derecede çözünen uçucu organik bileşiktir. Formaldehit, yanıcı ve suda aşırı derecede çözünen uçucu organik bileşiktir. Formaldehitin içinde alkol dengeleyici ihtiva eden sıvı formuna formalin, katı haldeki formuna ise paraformaldehit (CH₂O)₃ denilmektedir. Ticari olarak en sık tüketilen formu %37'lik formalindir (IPCS 2002, Winkler 2011, Tang ve diğ. 2009, ATSDR 1999) (Çizelge 1.1).



Çizim 1.1. Formaldehitin kimyasal formülü (www.formaldehit.net)

Çizelge 1.1. Formaldehitin fiziksel ve kimyasal özellikleri. Aydın (2009)'dan alınmıştır.

Özellikler	Bilgi
Kimyasal adı	: Formaldehit
IUPAC adı	: Metanal
Sinonimleri	: Formik aldehit, metanal, metil aldehit, metilen oksit, oksimetilen, oksometan
% 37'lik sulu çözeltisine ait kayıtlı ticari isimlendirilmesi	: Formalin, formol, morbicid, veracur Sulu çözeltisi stabilize edici % 10-15 metanol içerir.
Polimerik formunun ticari isimlendirilmesi	: Paraformaldehit, polioksimetilen, metilen glikol, paraform, formagen Polimerize formülü (CH ₂ O) _n 'dir.
Kimyasal formülü	: CH ₂ O
Kimyasal yapısı	: $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C} \\ \backslash \\ \text{H} \end{array}$
Molekül ağırlığı	: 30.03 g/mol
Erime noktası	: -118 °C ve -92 °C arasındır
Kaynama noktası	: -21 °C ve -19 °C arasındır
Spesifik yoğunluğu	: 0.815 g/ml (-20 °C) ve 1.08 g/ml (20 °C)
pH	: 2.8-4.0
Koku	: Keskin, boğucu ve rahatsız edici kokulu
Havada eşik koku limiti	: 0.5-1.0 ppm
Suda eşik koku limiti ve tat limiti	50 ppm
Polimerizasyonu	: Suda hızla polimerize olur
Fotoliz	: Güneş ışığında yarı-ömrü 1.6-19 saattir ve fotoliz sonrası H ₂ ve CO veya H ⁺ ve HCO ⁻ oluşur.
Parlama noktası	: 60 °C
Geçimsizlik	: Alkali, asit ve oksidanlar, izosiyanat ve anhidritler ile reaksiyona girer. Hidroklorik asitle reaksiyonunda etkin karsinojen bis-klorometil eter oluşur. Nitrojen oksit, nitro metan, perklorik asit ve anilin ile reaksiyona girer veya peroksiformik asit ile patlayıcı ürün oluşturur.

1.1.2. Doğada Bulunuş ve Maruz Kalma

Formaldehit, canlı sistemde ve çevrede doğal olarak bulunan bir moleküldür. Meyvelerde ve bazı yiyeceklerde doğal olarak bulunur, insanlar dahil olmak üzere memelilerde oksidatif metabolizma sonucu endojen olarak oluşur.

Kırsal kesimlerde açık havada bulunan FA miktarı 0,2 parts per billion (ppb) iken şehir merkezlerine yaklaşırken bu miktar 2-6 ppb'ye, kalabalık bir şehirde veya endüstrinin yoğun olduğu bölgelerde FA seviyesi 10-20 ppb'ye kadar yükselebilmektedir (ATSDR 1999).

Motorlu taşıtlardan, enerji santrallerinden, rafinerilerden, odun sobalarından gelen emisyonlar aracılığıyla, formaldehit bazı işlemler sonrası ve iş yeri kaynaklarından da salınabilir. 1999 yılında Amerika Toksik Maddeler Salınım Araştırma Merkezi tarafından yaklaşık 6000 ton/yıl havaya, 175 ton/yıl sulara formaldehit salındığını rapor etmişlerdir.

Kapalı ortamlarda ise açık alanlara göre daha fazla formaldehit salınımı gerçekleşmektedir. Lateks boyası, tırnak sertleştirici ve tırnak cilasından havaya büyük miktarda formaldehit salınır. Kontrplak ve yonga levhası, bunlardan yapılmış mobilya ve dolaplar, fiberglas ürünler, yeni halılar, dekoratif laminatlar ve bazı kalıcı kumaşlardan orta miktarda formaldehite maruz kalınmaktadır. Bunlara ek olarak formaldehit, antiseptik olarak kullanılması esnasında, temizlik maddelerinden, sigara, gübreler, boyalardan, korunmuş gıdalardan da salınmaktadır (IARC 2006, Winkler 2011 Tang ve diğ. 2009, ATSDR 2009).

FA kullanımı sağlık alanında laboratuvarlarda yoğunlaşmaktadır. Anatomi bölümlerinde kadavranın ve organların tespiti ve bozulmadan uzun süre saklanması için, histoloji ve patoloji laboratuvarlarında dokuların fiksasyonu için kullanılmaktadır. Ayrıca diş hekimliğinde kaplamaların yapımında, klinikte inatçı sistit tedavisinde ve bazı ilaçlarda da koruyucu madde olarak formaldehitten faydalanılmaktadır. Hemodiyaliz ünitesinde kullanılan solüsyonlarda da formalin bulunmaktadır (Ünsaldı ve Çiftçi 2009). İyi bir fiksasyon sağladığı, çok güçlü bir bakterisit ve fungusit olduğu için anatomi, histoloji ve patoloji laboratuvarlarında sıkça kullanılan formaldehit, bu alanlarda çalışanlar için direk maruziyete yol açmaktadır. IARC'ın 2006'daki raporuna göre anatomi ve patoloji laboratuvarında çalışanlar kısa süreli yüksek seviyelerde (3ppm ve daha yukarısı) formaldehite maruz kalmaktadırlar. Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü (NIOSH), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 1.329.332 kişinin formaldehitle mesleki maruz kalma potansiyeline sahip olduğunu tahmin etmektedir (ATSDR 1999).

1.1.3. Formaldehitin Sağlık Üzerine Etkileri

Formaldehitin sağlık üzerine etkisini araştırmak üzere pek çok çalışmalar yapılmıştır. Potansiyel etkilerini boğaz ağrısı, öksürük, nefes darlığı, baş ağrısı, kusma, bulanık görme ve diyare olarak sıralayabiliriz (Tang ve diğ. 2009). 0,3-0,4 ppm formaldehit maruziyetinde, gözyaşının artması, burun, boğaz ve gözde irritasyona neden olduğu belirtilmektedir (Aydın 2009). Formaldehitin allerjen ve irritasyon etkisi nedeniyle maruziyet durumunda, ciltte

değişik inflamasyonlara ve kontakt dermatite neden olduğu bilinmektedir (Saito ve diğ. 2009, Winkler 2011).

Formaldehitin solunması sonucu burundan ve akciğerlerden hızla emilmektedir. Bunun sonucu olarak formaldehitten en çok etkilenen yerlerin başında solunum sistemi organları gelmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde FA inhalasyonunun burun, nasopharynx, sinonasal, akciğer kanserleri ve lösemiye yol açtığı rapor edilmiştir.

FA'nın solunum sisteminin yanı sıra sindirim, ürogenital sistemlere de olumsuz etkilerinin olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (Aydın 2015, Çuğlan 2012, Aşık 2016).

FA'nın en çok etkilediği bölgelerden biri de sinir sistemidir. 1985'li yıllarda yapılan araştırmalarda formaldehite maruz kalan kadın histoloji teknikerlerinin büro çalışanlarına göre konsantrasyon eksikliği, uyku bozukluğu, hafıza kaybı ve sinirlilik gibi belirtilerin daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir (Killburn ve diğ. 1985, ATSDR 1999). Başka bir araştırmada Kilburn (1994), işyerinde 14-30 yıl formaldehite maruz kalmış üç anatomistin çeşitli nörolojik davranış testlerinde performans bozukluğu gösterdiğini bildirmiştir. Arıcı ve arkadaşları (2014) yaptıkları deneysel araştırmada, tavşanlara 40 mg/kg/gün olacak şekilde 5 gün boyunca oral yoldan formaldehit verdikten sonra merkezi sinir sisteminde DNA hasarı, nöronal hasar ve apoptotik hücreler tespit etmişlerdir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların nöronal tau proteinin yanlış katlanması ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Nie ve diğ. (2007) hem endojen hem de eksojen tau'nun hücre kültüründe düşük konsantrasyonlarda formaldehitin apoptoz sırasında in vivo olarak amiloid benzeri agregatlara tau'yu indükleyebildiğini göstermiştir. Bunun sonucunda da metanol ve formaldehit toksisitesinin tau proteinin yanlış katlanması ve agregasyon ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

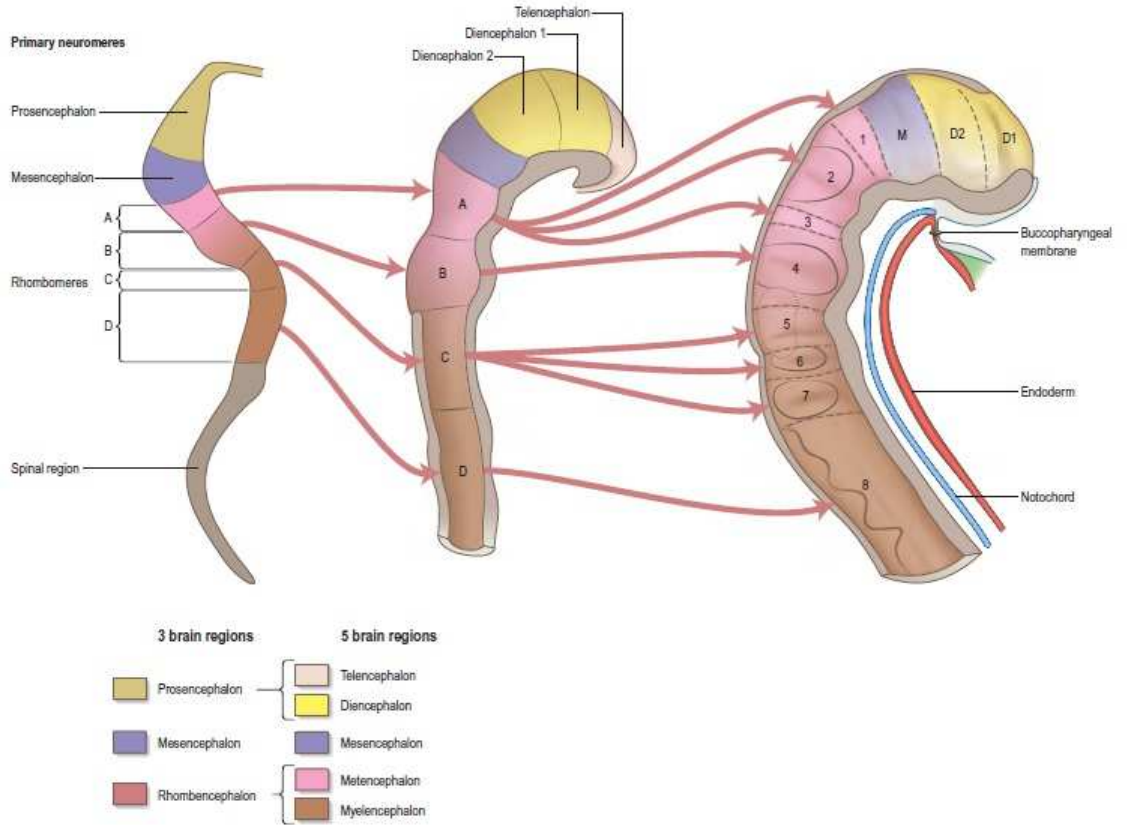
Formaldehit maruziyetinin DNA ve nöronal hasarların yanında beyin fonksiyonlarını da etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Formaldehitin, başlıca DNA hasarı formu olarak DNA Protein Crosslink'leri ürettiği iyi bilinmektedir (Lim 2011). Li ve diğ. (2016) fareleri bir hafta boyunca farklı dozlarda formaldehit gazına maruz bırakmışlar ve 1 ppm formaldehitin inhalasyonunun anksiyete benzeri davranış düzeylerini azalttığını, 2 ppm formaldehitin inhalasyonunda ise vücut ağırlığının düştüğünü, fakat depresyon benzeri davranış düzeylerinin arttığını, yeni cisim tanımayı bozduğunu göstermişlerdir. Sıçanlarda

yapılan bir başka çalışmada ise FA ile bozulan hipokampusta endojen H₂S (hidrojen sülfid) oluşumunun, oksidatif stres aracılı nöron hasarına yol açtığını ve bunun sonucunda öğrenme ve hafıza işlevini olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur (Tang ve diğ. 2012).

Formaldehit için çeşitli maruz kalma sınırları, ülkemizde Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından 09.10.2013 tarih ve 28790 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliği Tıbbi Laboratuvar güvenliği başlıklı bir genelgeyle belirlenmiştir. Günde 8 saat ve haftada 40 saat çalışma zamanı süresince uzun süreli ve tekrarlayan maruziyetlerde çalışanların sağlığını bozmayacak TWA (Eşik Sınır Değer Zaman Ağırlıklı Ortalama / Threshold Limit Value Time Weighed Avarage) sınırı 0,75 ppm olarak önerilmektedir. Bir günün herhangi bir anında aşılması gereken 15 dakikalık zaman ağırlıklı ortalama maruziyet sınırı TLV-STEL (Eşik Sınır Değer - Kısa Süreli Maruziyet Sınırı / Threshold Limit Value_Short Term Exposure Limit) ise bakanlıkça 2 ppm olarak belirlenmiştir.

1.2. Merkezi Sinir Sistemi Embriyolojisi

Tüm sinir sistemi, her biri sinir ektodermi adı verilen erken epiblastın özel hücre popülasyonlarından türetilen üç kaynaktan köken alır. İlk kaynak, MSS, somatik motor sinirleri ve pregangliyonik otonomik sinirlerin oluşacağı sinir plakasıdır. İkinci kaynak, nöral plakanın çevresindeki nöral krest hücrelerinden gelmektedir; bu hücreler, plakadan epitel / mezenkimal geçişle kendilerini uzaklaştırmakta ve bir sinir tüpüne kaynaşmadan hemen önce göç etmektedirler. Bu hücreler, periferik sinir sisteminin (PSS) nöronlarının ve glialarının çoğunluğunu, somatik ve otonomik gangliyonları, postganglionik otonom sinirleri oluşturacaklardır. Üçüncü kaynak, embriyonik başı örten ektodermin kalınlaşmasını oluşturan ektoderm plazmalardır. Hücreleri, koku alma epiteli, iç kulak epitelinin oluştururlar ve nöronal olmayan göz merceği ile kafatası içindeki duyu nöronlarına katkıda bulunurlar (Gray's Anatomy 2016) (Çizim 1.3).



Çizim 1.2. Merkezi sinir sisteminin embriyolojik gelişimi. Gray's Anatomi (2006)'den alınmıştır.

1.2.1. Diencephalon Embriyolojisi

Diensefalon, sulcus hypothalamicus ile dorsal (pars dorsalis diensefali) ve ventral (pars ventralis diensefali) kısımlara bölünür; her biri farklı sinirsel yapılara katkıda bulunur. Sırt kısmı en yüksek dorsocaudal yanal duvar ve çatı, epithalamus oluştururken, lateral duvarı hemen suprasülkal alan boyunca (dorsal) talamus ve metathalamus gelişir. Talamus ilk önce dorsal bölgenin rostral kısmını içeren bir kalınlaşma olarak görülebilir. Talamus, lateral ve medial genikülat gövdeler veya metathalamus'un kaudal özelliği, önce iç yüzeye yüzey girintileri, yan duvarın dış tarafındaki yükselmeler olarak tanımlanabilir. Thalamus düz ovoid kütleler halinde genişledikçe aralarındaki geniş aralık, üçüncü ventrikülün büyük bir bölümünü oluşturan dikey olarak sıkıştırılmış bir boşluğa giderek daralır. Bir süre sonra, bu medial yüzeyler değişken alanın üstünde temas edebilir ve yapışabilir, intertalamik adezyon veya massa intermedia'yı oluşturan bağlantı (tekli veya çoklu) olabilir. Başlangıçta, gelişen talamusun yanal yüzü bir yarıkla serebral hemisferin medialinden ayrılır ancak büyüme ile birlikte talamus, korpus striatum'un geliştiği yarı küre kısmıyla kaynaştığı için yarık ortadan kalkar. Daha sonra, neokorteks projeksiyon liflerinin (corticofugal ve corticopetal)

gelişmesiyle talamus, iç kapsül ile ilişkilendirilir ve iç kapsül korpus striatumun yan kısmı (lentiform nükleus) arasına girer.

Pineal bez, posterior ve habenüler komissürler ve trigonum habenulaları içeren epithalamus, çatı plakasının kaudal kısmı ve diensefalonun yanal duvarlarının bitişik bölgeleriyle birlikte gelişir. Erken dönemde, lateral duvardaki epithalamus, pürüzsüz bir elipsoid kütle halinde üçüncü ventriküle doğru uzanır ve bitişik olanlardan daha büyüktür. Talamus kütlesi iyi tanımlanmış bir sulcus epithalamicus ile ayrılmıştır. Takip eden aylarda, thalamusun büyümesi epithalamustan hızlı bir şekilde geriler ve araya giren sulkuslar tıkanır.

Diencephalon'un ventral kısmı üçüncü ventrikülün subkullal lateral duvarlarını oluşturur ve hipomorfizmin meme gövdeleri, yumru kök cinereumu ve infundibulumu da dahil olmak üzere hipotalamus oluşumunda yer alır. Corpus mamillare'ler, üçüncü ayda ortanca bir olukla bölünen tek bir kalınlaşma olarak ortaya çıkar. Tuber cinerum infundibulumu kadar uzanan bir hücre proliferasyonu ile corpus mamillare'nin rostralinde geliştirir. Tuber cinereumun önünde, diencephalon'un tabanında geniş ağızlı bir divertikül oluşur, stomodeal çatıya doğru büyür ve stomodeumdan dorsal yönlendirilmiş bir iç büyümenin posterior yüzü ile temas haline gelir. Bu iki divertikül birlikte hipofiz cerebriyi oluştururlar. Kalan kaudolateral duvarlar ve ventral diensefalon zemini orta beyin tegmentumunun bir uzantısı olan subtalamustur. Bu, nucleus ruber'in, substantia nigra'nın, sayısız retiküler çekirdeklerin ve iç içe geçmiş sinir liflerinin rostral sınırlarını oluşturur (Gray's Anatomy 2016).

1.2.2. Cerebral Hemisferlerin Embriyolojisi

Serebral hemisfer telencephalon'un lateral duvarlarından divertikül olarak ortaya çıkar ve diencephalonun lateral duvarının rostral kısmında büyüme devam eder. Büyüme ilerledikçe, her bir hemisfer ileri, yukarı ve geriye doğru büyür. Oval bir ana hat, medial ve superolateral duvarlar ve bir zemin oluşur. Sonuç olarak medial yüzeyler median longitudinal fissürü doldurarak yaklaşır. Erken dönem gelişmekte olan hemisferlerin bölgeleri, gelecekteki ana türevlerine göre adlandırılır. Rostromedial ve ventral zemin, şekillenmekte olan koku alma yapılarıyla bağlantılı hale gelir ve ilkel koku alma lobu olarak adlandırılır. Her hemisferin geri kalan kısmının zemini (ventral duvarı veya taban), primer korpus striatum ve amigdaloid kompleksi oluşturur. hemisferlerin geri kalan kısmı, yani medial, lateral, dorsal ve kaudal bölgeler, hemisferin üst bölümündedir. Yüzey alanı açısından en büyük olmasına rağmen, başlangıçta nispeten duvarları incedir. Her oval

hemisferin rostral ucu, belirgin frontal kutup haline gelir. Yarım küre genişledikçe, orijinal arka kutup, bir koç boynuzu gibi bir eğri izleyerek nispeten bir kaudovertral ve lateral yönde hareket eder; temporal kutup oluşturmak için nucleus caudatus ve diğer yapıların büyümesi ile birlikte öne doğru eğilir. Gelişmiş beyinde oksipital kutup olarak bilinen yeni bir arka kısım oluşur. Serebral hemisferlerdeki, medial duvarın merkezi alanları hariç nöroblastların çoğalması ve göçü hem striat hem de suprastriat bölgelerde yüzeysel bir gri madde tabakası oluşturur. Nöroblast farklılaşması, korteks veya pallium olarak adlandırılan oldukça organize bir subpial yüzeyel örtü katmanını üretir. Bundan sonra büyüyen hemisferler diensefalonu ve mesencefalonu ard arda örter ve serebellumun rostral yüzeyini karşılar. Temporal loblar beyin sapının kenarlarını sarar.

Korteks bölgelerini tanımlamak için kullanılan terminoloji evrim kavramlarına dayanır. Korteksin en eski kısımları, koku alma ile ilgili bilgi alır; bunlar archicortex (archipallium) ve paleocortex (palaepallium) olarak adlandırılır ve her ikisi de genel bir tahsisatın alt bölümleridir. Archicortex, hipokampal lobun öncüsüdür ve paleokorteks piriform alanı oluşturur. Geriye kalan korteks yüzeyi memelilerde genişler ve neokorteksi oluştururlar, daha önceki kortekslerin yerini alırlar ve böylece her yarı kürede kısmen dahili olarak uzanırlar (Gray's Anatomy 2016).

1.2.3. Hippocampus Embriyolojisi

Limbik lob, korteksin farklılaşmasını sağlayan ilk kısımdır ve ilk olarak hemisferlerin medial ve inferior yönlerinde dairesel bir şerit oluşturur. Fissura choroidea'nın dışındaki kısım hipokampal formasyonu oluşturur. Bu bölgede gelişmekte olan korteksin nöral progenitörleri çoğalır ve göç eder. hemisferlerin duvarı kalınlaşır, ventriküllerin medial tarafına doğru uzanan bir yükseklik oluşturur. Bu yükseklik hipokampustur; ilk önce hemisferin medial duvarında, lamina terminalisin üstündeki ve önündeki bölgede görülür ve yavaş yavaş geriye doğru uzanır, piriform alana bitişik olan temporal kutup bölgesine doğru kıvrılır. Hipokampus yakınındaki marjinal bölge, gyrus dentatus'u oluşturmak için nöronlar tarafından işgal edilir. Her ikisi de paraterminal alandan fissura choroidea'nın yukarısına doğru uzanır, aşağı ve ileriye doğru devam ederek polus temporalis'e doğru ilerler. Sığ bir oluk olan hippocampal sulkus, hipokampal oluşumu boyunca hemisferlerin medial yüzeyini çaprazlar. Hipokampusun hücrelerinden gelen efferent lifler medial kenarı boyunca toplanır ve fissura choroidea'nın hemen üstünde ileri doğru devam ederler. Rostral olarak, ventrale doğru dönerler ve lamina terminalisin lateral kısmına girerek hipotalamusa, buradan corpus

mamillare'ye ve komşu çekirdeklere girerler. Bu efferent hipokampal lifler fimbria hippocampi ve fornix'i oluşturur (Grays Anatomy 2016).

1.3. Merkezi Sinir Sistemi Histolojisi

1.3.1. Cortex Cerebri Histolojisi

Embriyolojik ve filogenetik farklılıklardan dolayı allocortex ve neocortex olmak üzere ikiye ayrılan cortex cerebride, allocortex karakteristik olarak 3-5 tabakadan oluşur. Paleocortex, archicortex ve periallocortex olmak üzere 3 alt tiplere ayrılır. Paleocortex 3-5 tabakadan oluşan hücre yapısı vardır. En ilkel korteks tipi olan archicortex 3-4 tabakadan oluşmaktadır. Periallocortex paleocortex ile neocortex arasında geçiş görevi üstlenir.

Cortex cerebri'nin %90'ını neocortex oluşturmaktadır. İnsan beyninde neocortex 6 tabakalı bir yapıya sahiptir. Neocortex'inde proisocortex ve isocortex olmak üzere 2 alt tipi mevcuttur.

Yeni kortekste denilen neocortex'in tabakalarını lamina I-VI olarak ifade edilir. Bunlar yukarıdan aşağı doğru sırasıyla lamina molecularis (lamina I), lamina granularis externa (lamina II), lamina pyramidalis externa (lamina III), lamina granularis interna (lamina IV), lamina pyramidalis interna (lamina V) ve lamina multiformis (lamina VI) olarak isimlendirilir.

Neocortex'de projeksiyon nöronları ve internöronlar bulunur. Projeksiyon nöronların çoğunluğu piramidal hücreler oluşturur. Lamina IV'te bulunan projeksiyon nöronları dikenli yıldız ve yıldız piramit olarak iki tiptir. Primer motor kortekste lamina IV ve yıldız nöronlar bulunmaz. Motor kortekste en belirgin olarak lamina V'te Betz'in dev hücreleri görülür. Başka premotor alanlarda bulunmaz.

Kortikal laminalarda bulunan nöronlardan çıkan lifler longitudinal ve horizontal olarak seyrederek. Cortex cerebri'nin afferent ve efferent uzantıları dik seyir izlerken, kortikal afferentlerin uç dalları, kollateral uzantılar ve dendritler paralel seyir izler (Erzurumlu ve diğ. 2019).

Neocortex'te bulunan hücre tipleri aşağıdaki gibidir:

Piramidal hücreler: Neocortex nöronlarının çoğu bu tip hücredir. Hemen her lamina bulunurlar. Tek bir apikal dendritleri vardır ve bu dendritler lamina I'e kadar inceleterek yükselirler. Üçgen şeklindeki piramidal hücrelerin altta iki yandan uzanan bazal dendritler aynı lamina içinde veya komşu laminalara uzanırlar. Alt ortasından çıkan akson ya aşağı inerek lamina VI'nın altındaki beyaz cevhere girerek bir yolağa katılır ya da yatay uzanarak komşu laminalara gider.

Betz hücreleri: Adını bu nöronu tanımlayan Vladimir Alekseyevich Betz'den alan hücreler sinir sisteminin en büyük hücreleridir. Primer motor korteks lamina Vb'ye özgü hücrelerdir. Aksonları tr. corticospinalis yoluyla medulla spinalis'in cornu anterius'unda bulunan alt motor nöronlarla direk sinaps yaparlar.

Dikenli yıldızlı hücreler: Duyusal kortekslerin lamina IV'üne özel hücre tipidir. Hücre gövdesinden çıkan çok sayıda dendrit sürekli dallanarak lamina IV içinde alan kaplarlar. Aksonları yukarı doğru çıkarak lamina II ve III'de eksitator sinaps yaparlar. Lamina IV'de yine multipolar ama gövdesi üçgen olan nöronlarda bulunur. Bu nöronlar yıldız piramit hücreler olarak isimlendirilir.

Cajal- Retzius hücreleri: Lamina I'de bulunurlar. Gelişim sırasında daha yoğun olurlar, yetişkinlerde korteksin büyümesiyle seyrelmiş durumdadırlar. Morfolojik olarak paralel ekseninde görünürler. Akson ve dendritleri lamina I'de ağ gibi yayılır. Salgıladıkları reelin isimli hücreler arası matriks proteini radial ekseninde gerçekleşen nöronal göçte rol oynar. Bu proteinin genetik eksikliği şizofreni, otizm ve temporal lob epilepsisine yol açtığı düşünülmektedir.

Avize hücreleri: GABAerjik internöronlardır. Bu hücrelerin akson terminalleri ergenlik döneminde büyük morfolojik değişiklikler gösterdiğinden, ergenlik sonrası ortaya çıkan psikiyatrik patolojilerde etkili olabileceği öne sürülmüştür. Şizofreni hastalarında bu hücrelerin akson terminalleri yoğunluğunda anlamlı azalma olduğu saptanmıştır.

Martinotti hücreleri: Küçük multipolar inhibitör nöronlardır. Aksonları piramidal hücrelerin distal dendritleriyle sinaps yaparlar.

Sepet hücreleri: Kısa aksonlu ve ana hücrenin çevresindeki komşu nöronları inhibe eden küçük sepet hücreleri, uzun aksonlu ve akson dallanmalarıyla komşu kortikal kolonlardaki hedef hücreleri inhibe eden büyük sepet hücreleri ve buldukları kortikal laminada hedef hücrelerle aksosomatik sinaps yapan 'kuş yuvası' tipi sepet hücre olarak 3 alt tipi vardır. İnternöron görevi yaparlar.

Mekik hücreleri: İnsanda cortex cinguli anterior, frontal insula korteksi ve dorsolateral prefrontal kortekste görülmektedir. Kortikal laminerden aldığı bilgileri uzak kortikal alanlara özellikle frontal loba taşıdığı ve duygusal, motivasyonel, bireysel kontrol, farkındalık gibi durumlarda rol aldığı düşünülmektedir (Erzurumlu ve diğ. 2019).

1.3.2. Hippocampus Histolojisi

Hippocampus'u oluşturan esas hücre tipi piramidal nöronlardır. Bu nöronların apikal dendritleri gyrus dentatus'a doğru, bazal dendritleri ise ventriküler yüzeye doğru uzanırlar.

Bazal dendritler komşu piramidal hücrelerden, septal liflerden ve karşı taraftan afferent alırlar. Aksonları ise esas efferentleri olup hippocampus'u geçerek alveus'u oluştururlar.

Hippocampus korteksin en eski bölümü olup 6 tabakadan oluşmaktadır. Ventriküler yüzeyden gyrus dentatus'a doğru sırasıyla aşağıdaki gibi sıralanmıştır.

Stratum plexiforme externum (alveus): Piramidal hücre aksonlarından oluşan en derin tabakadır.

Stratum oriens: Piramidal hücrelerin bazal dendritleri, sepet hücreleri ve horizontal trilaminar hücrelerin bulunduğu tabakadır.

Stratum pyramidalis: Bu tabakadaki piramidal hücreler hippocampus'un tipik C harfine benzer görüntüsünü oluşturur. Aksonları stratum oriens'den geçerek alveus içinde seyredir. CA (Cornu Ammonis) 3 bölgesinde internöronlara ait hücre gövdeleri ile yosunsu liflerle oluşturulan sinapslar bulunur.

Stratum lucidum: İnsanda daha belirgindir ve sadece CA3 alanında bulunur. Hippocampus'un en ince tabakasıdır.

Stratum radiatum: Septal, komissural, bellek ve emosyonel bağlantı ağının temel unsuru olan CA3'den CA1'e giden Schaffer kollateral lifler ve sepet hücreler bulunur.

Stratum lacunosum moleculare: piramidal hücrelerin apikal dendritleri tarafından oluşturulmuştur.

Gyrus dentatus ise üç tabakalı bir yapıya sahiptir. Yüzeyden derine doğru sırasıyla polimorfik hücre tabakası, granüler hücre tabakası ve moleküler tabaka'dan oluşmaktadır. Polimorfik hücre tabakası; modifiye piramidal hücreler ve internöronlardan oluşmaktadır. Granül hücre tabakasındaki granüler hücreler, moleküler katmana uzanan unipolar dendritlere sahiptir. Moleküler tabaka ise hippokampal afferent lifler tarafından oluşturulmuştur (Erzurumlu ve diğ. 2019).

1.4. Merkezi Sinir Sistemi Anatomisi

1.4.1. Thalamus Morfolojisi

Diencephalon mesencephalon ile cortex cerebri arasında bulunan merkezi sinir sistemi bölümüdür. Epithalamus, hypothalamus, subthalamus ve thalamus bölümlerinden oluşmaktadır. Thalamus, ortada yer alan oval şekilli bir gri cevher alanıdır. Thalamusun dorsal tarafı serebral hemisfer altındayken ventral taraf hipotalamus tarafından kaplanır.

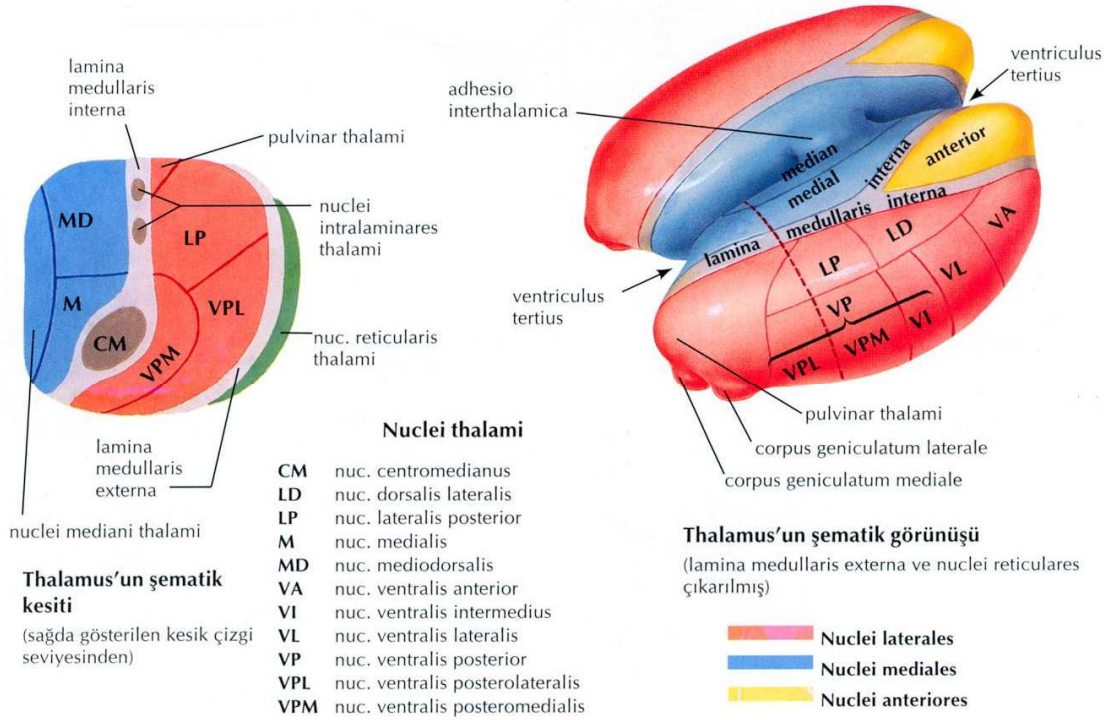
Thalamus, koku alma haricinde tüm duyuşsal bilgileri, serebral neokortekse aktarmada önemli bir rol oynar. Aynı zamanda motor sistemi için cerebellum ve bazal ganglionlardan gelen uyarıları iletmede bir kontrol mekanizmasıdır. Thalamus hasar gördüğünde, sadece motor ve duyuşsal belirtiler değil, aynı zamanda bilinç, dikkat, ruh hali, hafıza, dil ve soyut / kategorik düşünme gibi nöropsikolojik fonksiyonlar da etkilenir (Maeshima 2018). Thalamus'u üstte stratum zonale lateralde lamina medullaris lateralis adı verilen beyaz cevher tabakası kaplamaktadır. Thalamus üst medialde ventriculus tertius'un tela choroidea'sı ve fornix ile, üst lateralde ventriculus lateralis'in tabanı ile, alt ön tarafta hypothalamus ile, alt arka tarafta ise mesencephalan'un tegmentum parçası ile komşudur. Sağ ve sol iki thalamus arasında oluşan boşlukta ventriculus tertius oluşmaktadır. Thalamus'un arkadaki geniş kısmına pulvinar thalami, sağ ve sol thalamus'u birbirine bağlayan gri cevher kitlesine ise adhesio interthalamica denilmektedir. Nuclei thalami kabaca, thalamus'un içine giren beyaz cevher tabakası lamina medullaris medialis ile anterior, medial ve lateral nukleuslarına ayrılır. Bu nucleuslarda konum itibari ile kendi içinde alt nucleus gruplarına ayrılmaktadır. Lamina medullaris medialis ile lamina medullaris lateralis arasındaki bölümde önde olan nucleus grubuna nuclei ventrales thalami, arkada olana ise nuclei dorsales thalami denilmektedir. Lamina medullaris medialis içinde bulunan gruba nuclei intralaminares thalami, ventriculus tertius'a bakan kısımdakilere nuclei mediani thalami, lamina medullaris lateralis'in lateralinde bulunan gruba ise nuclei reticulares thalami ismi verilir. Corpus geniculatum mediale ve corpus geniculatum laterale'den oluşan metathalamus da thalamus'un bir parçası kabul edilmektedir.

Bu nucleus gruplarının içinde bulunan başlıca çekirdekler şu şekildedir:

- ◆ Nuclei anteriores thalami: Nucleus anterodorsalis, nucleus anteromedialis ve nucleus anteroventralis,
- ◆ Nuclei mediales thalami: Nucleus mediodorsalis, nucleus medioventralis,
- ◆ Nuclei ventrales thalami: Nucleus ventralis anterior, nuclei ventrales laterales, nuclei ventrobasales (nucleus ventralis posteromedialis (VPM) ve nucleus ventralis posterolateralis (VPL)), nucleus ventralis posterior inferior ve nuclei ventrales mediales,
- ◆ Nuclei dorsales thalami: Nucleus dorsalis lateralis, nucleus lateralis posterior, nuclei pulvinares,
- ◆ Nuclei posteriores thalami: Nucleus limitans, nucleus posterior, nucleus suprageniculatus,

- ◆ Nuclei mediani thalami: Nucleus paratenialis, nuclei paraventriculares thalami, nucleus reuniens ve nucleus comissuralis rhomboidalis,
- ◆ Nuclei intralaminares thalami: Nucleus paracentralis, nucleus centralis lateralis, nucleus centralis medialis, nucleus centromedianus ve nucleus parafascicularis,
- ◆ Nuclei reticulares thalami: bazı küçük nucleustan oluşmuşlardır (Sargon 2016).

Nuclei anteriores thalami, corpus mamillare'den lif alır ve gyrus cinguli ve gyrus parahipocampalis dahil olmak üzere kortikal bölgelere katılır. Bu çekirdekler duyu hafıza ve limbik sistem ile ilişkilidir. Nuclei mediales thalami'nin ana çekirdeği olan nucleus mediodorsalis, cerebral çekirdeklerdeki striatum ile iletişim kurar, somatik bilgiyi bütünleştirir ve frontal loba yansıtır. Bu nucleuslar duyu temelli duygular ile ilişkilidir ve hypothalamus yoluyla otonom sinir sistemi üzerinde etkilidirler. Nuclei dorsales thalami nucleusları mesencephalon ve diğer beyin bölgelerinden afferent lifleri alır, efferent lifleri ile de korteksin ilgili bölgesine iletir. Bu çekirdekler limbik sistemle ilgilidir bunun yanı sıra hafıza ve duyunun oluşumunda rol oynarlar. Nucleus lateralis posterior, thalamus'un diğer çekirdeklerinden lif alır ve parietal asosiasyon bölgesi ile iletişim kurar. Böylece duyu bilgileri analiz edilir ve asosiasyon bölgesine entegre edilir. Nucleus ventralis anterior ve nucleus ventralis posterior, sırasıyla serebral bazal ganglion ve serebellumdan afferent lifler alır. Efferent lifleri ise serebral korteksin motorla ilişkili alanlarına gönderir (Maeshima 2018). Nuclei ventrobasales, somatik duyu için ara nucleustur. VPL'ye afferent lifler lemniscus medialis ve tr. spinothalamicus'lardan gelir. Servikal ve torakal bölgelerden gelen lifler medialde, lumbal ve sakral bölgelerden gelen lifler ise lateral tarafta sonlanır. VPM'ye gelen afferent lifler ise, nuc. spinalis nervi trigemini, nuc. sensorius principalis nervi trigemini, nuc. mesencephalicus nervi trigemini ve nuc. tractus solitarii'den başlar. Tat duyu ile ilgili olan lifler Brodmann'ın 43 nolu sahasında sonlanırken diğer efferent lifler primer somatik duyu merkezinde (Brodmann 3,1,2 numaralı sahası) sonlanır.



Çizim 1.3. Thalamus'un şematik anatomisi ve nucleusları. Netter Anatomi Atlası (2010)'ndan alınmıştır.

Bütün duyarlar beyin korteksine ulaşmadan önce thalamus'a uğrarken koku duyusu direk ilgili merkeze ulaşmaktadır (Sargon 2016).

1.4.2. Cortex Cerebri Anatomisi

Beyin bilişsel, duyasal ve motor hareketler olarak pek çok davranıştan sorumlu bir organdır (Miterko 2018). Beyin hemisferleri merkezi sinir sisteminin en büyük kısmını oluşturan parçadır. Dışarıdan çıplak gözle baktığımızda gördüğümüz kabarıntılara gyrus, bu gyrusların aralarında bulunan yarıklara ise sulcus denilmektedir. Her bir hemisfer ana sulculara göre altı loba ayrılmıştır. Beyin hemisferleri histolojik olarak incelendiğinde ise dış kısımda bulunan gri tabakaya latince kabuk anlamına gelen cortex cerebri, altında kalan beyaz cevher alanına ise substantia alba ismi verilmektedir.

Cortex cerebri'nin kalınlığı her yerde aynı değildir. Gyrusların en kabarık olduğu yerde kalın, sulcusların en derininde ise daha ince tabaka halindedir.

Beynin çevreden aldığı bilgiyi işlemesi, düşüncelerini geliştirmesi, duyguları tartması ve karşılık verme davranışlarının yönlendirilmesi, her birinin kendi özel işlevlerine sahip, farklı beyin yapılarının tam olarak koordineli etkileşimine bağlıdır (Miterko 2018). Alman anatomist Korbinian Brodmann (1868-1918) beyin hemisferlerindeki kortikal bölgelerin

histolojik ve hücre mimarisi çeşitliliğini temel alarak korteksi 52 bölgeye ayırmıştır. Brodmann'ın Nissl boyaması ile yaptığı ve 1909'da yayınladığı bu sınıflamada başlıca laminasyon özelliklerini ve nöron tiplerini kriter olarak kullanmıştır (Erzurumlu ve diğ. 2019).

Fonksiyonlarına göre gruplandığımızda cortex'i duyu bölgeleri, motor bölgeler ve assosiasyon bölgeleri olarak 3 grupta incelemekteyiz (Çizim 1.4).

Duyu bölgeleri; primer somatik duyu merkezi (Brodmann'ın 3,1,2 numaralı sahaları), primer görme merkezi (Brodmann'ın 17 numaralı sahası), primer işitme merkezi (Brodmann'ın 41 numaralı sahası) ve tat merkezi (Brodmann'ın 43 numaralı sahası) primer duyu bölgeleridir. Sekonder duyu bölgeleri, primer duyu bölgelerinden gelen duyuları daha üst düzeyde değerlendirir ve ilgili duyunun ayırt edici özellikleri algılanır.

Primer somatik duyu merkezi genel somatik duyular ile ilgilidir. Thalamus'un VPL ve VPM nucleuslarından başlayan afferent lifleri vücudun karşı yarımının somatik duyularını taşır. Sekonder somatik duyu merkezi ipsilateral ve kontralateral primer somatik duyu merkezi ve thalamus'un VPL ile VPM nucleuslarından afferent lifler alır. Efferent lifleri de ipsilateral primer somatik duyu merkezi ve primer motor merkeze gider.

Primer görme merkezinin afferentleri corpus geniculatum lateral'den, radiatio optica ile gelir. Duyular retinotopik bir organizasyon ile merkeze ulaşır. Sekonder görme alanları (Brodmann'ın 18.19.39 numaralı sahaları) primer görme merkezinden gelen duyuları değerlendirir, hareket eden objelerin takip edilmesi, aynı rengin farklı tonlarının ayırt edilmesi, objelerin şekillerinin analiz edilmesini gerçekleştirir.

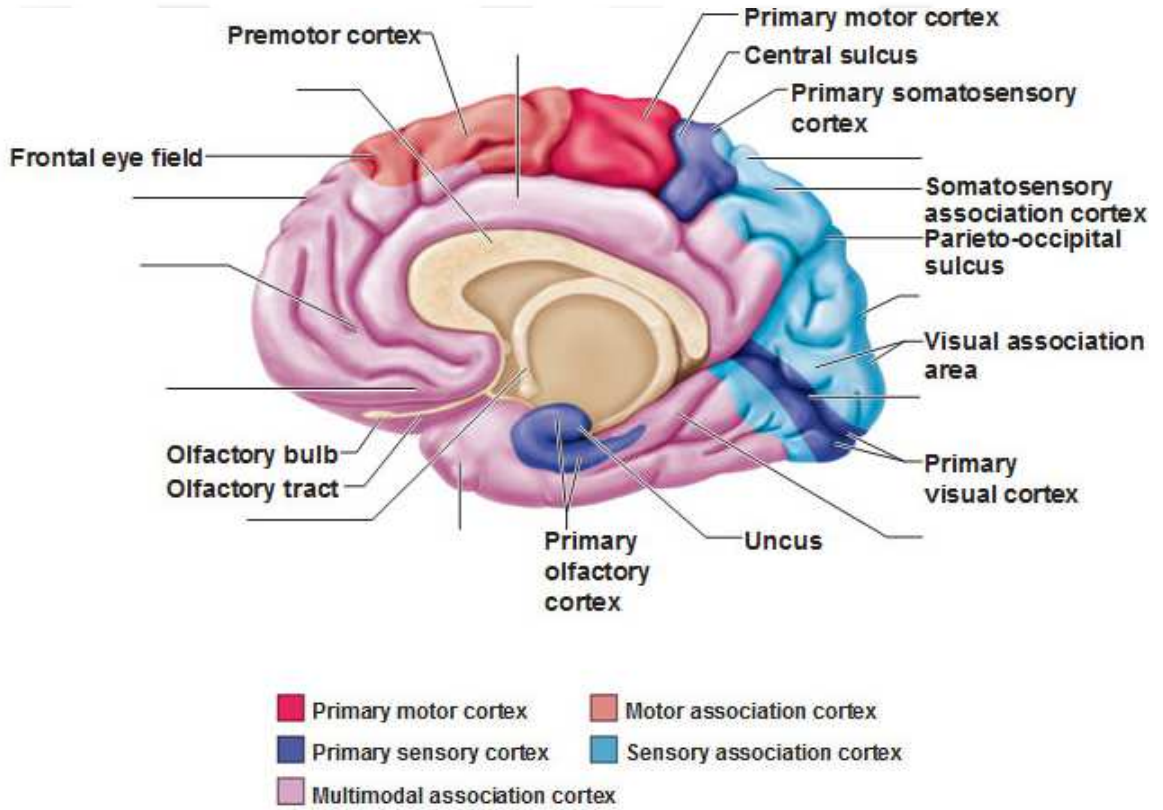
Primer işitme merkezinin afferentleri corpus geniculatum mediale'den, radiatio acustica aracılığı ile gelir. Efferentlerin bir kısmı Brodmann'ın 42 numaralı işitme ile ilgili assosiasyon bölgesinde sonlanır. Sekonder işitme merkezi corpus geniculatum mediale ve primer işitme merkezi ile bağlantıları mevcuttur.

Tat merkezine thalamus'un VPM nucleusundan afferent lifler gelir.

Motor bölgeler; primer motor bölge (Brodmann'ın 4 numaralı sahası), premotor bölge (Brodmann'ın 6 numaralı sahasının alt kısmı), yardımcı motor bölge (Brodmann'ın 6 numaralı sahasının üst kısmı) ve frontal göz sahası (Brodmann'ın 8 numaralı sahası) cortex cerebri'de bulunan motor bölgelerdir.

Primer motor bölge uyarıldığında vücudun karşı yarımında basit motor hareketler görülür. Premotor bölge uyarıldığında ise özel bir duyu uyarana bağlı yapılan istemli motor hareketlerin planlanması ve başlatılmasında rolü vardır. Yardımcı motor bölgenin kesin görevi bilinmemekle beraber harabiyetinde bazal ganglionların lezyonlarına benzer bulgular ortaya çıkmaktadır. Frontal göz sahası ise isteğimiz doğrultusunda yapılan göz hareketleri ile ilgilidir.

Motor bölgelere afferent sinir lifleri, primer somatik duyu merkezi, thalamus, globus pallidus ve cerebellum'dan gelir. Motor bölgelerden başlayan efferent lifler ise tractus corticospinalis aracılığı ile medulla spinalis'in motor nöronları üzerinde etkili olur (Sargon 2016).



Çizim 1.4. Cortex'in fonksiyonel bölümleri. www.antranik.org'dan alınmıştır.

1.4.3. Hippocampus Anatomisi

İnsanlarda hippocampus, lobus temporalis medialis'in derinlerine gömülmüş denizati şeklinde bir yapıdır (Knierim 2015). Yaklaşık 5cm uzunluğunda olan hippocampus caput, corpus ve cauda olmak üzere 3'e ayrılır. Caput kısmı geniştir ve pes hippocampi adı verilen 2-3 sığ oluklu bir yapıya sahiptir. Gyrus dentatus, hippocampusun medial yönü boyunca bir zincir şeklindeki kortikal çıkıntılardan oluşur. Medial kenarı boyunca, sulcus hippocampalis

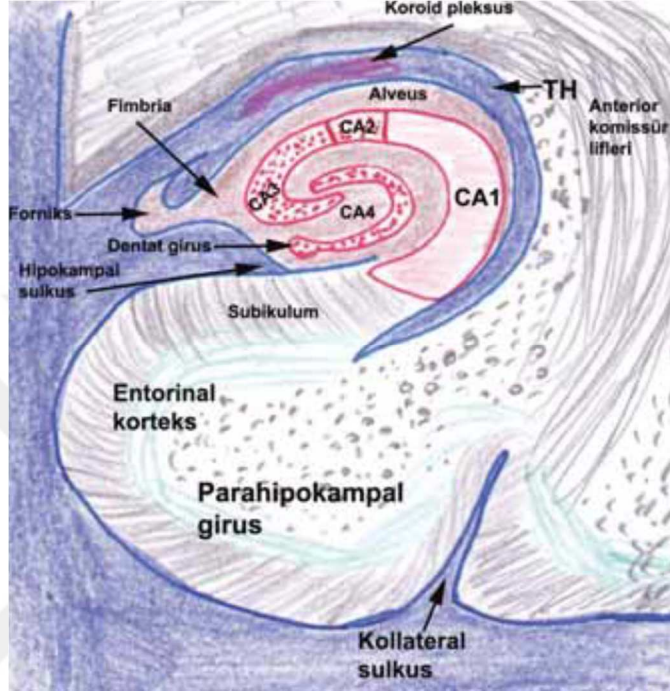
ile gyrus parahippocampus'un subikulumundan ayrılır. Daha üst ve medialde gyrus dentatus, sulcus hippocampalis'e paralel uzanan sulcus fimbriodentatus ile fimbria fornici's'ten ayrılır. Hippocampus'un üzeri alveus denilen beyazı cevher tabakası ile kaplıdır. Histolojik olarak incelendiğinde hippocampus, pleksiform tabakalar arasına sıkıştırılmış tek bir piramidal hücreler tabakası olan trilaminar archicortex'ten oluşur. Üç farklı alana ayrılmıştır: CA1, CA2 ve CA3. CA3 alanı, gyrus dentatus ile CA2 alanı arasında sınırlanmıştır. CA3 alanı piramidal hücreleri, hippocampusun en büyük hücreleridir. Bu hücreler dentat granül hücrelerin proksimal dendritleri ile iletişim halindedir. CA3 ve CA2 arasındaki sınır belirgin değildir. CA2 alanı en küçük piramidal hücre katmanına sahiptir. Buradaki hücreler sadece dentat granül hücreleri ile değil, aynı zamanda hipotalamusun supramammiller bölgesi ile de iletişim halindedir. CA1 alanı genellikle hippocampusun alt bölümleri içinde en karmaşık olanıdır. Görünümü transvers ve rostrocaudal eksenleri boyunca değişir. CA1 / CA2 sınırı keskin olmamakla birlikte CA1 diğer ucunda, subiculum ile üst üste gelmektedir.

Uzun ekseninin bir kesiti, hipokampal anatomik bağlantının, "trisinaptik döngü" adı verilen klasik betimlemeyi göstermektedir (Knierim 2015). Entorhinal korteksten gyrus dentatus'a uzanan projeksiyon nöronları, stratum lacunosum içinde ilerleyerek burada hipokampal piramidal hücrelerin apikal dendritleri ile sinaps yaparlar (sinaps 1). Stratum radiatum ve stratum oriens'de, CA3 ve CA2 hücreleri nucleus septalis ve supramammiller bölge gibi subkortikal yapılardan afferentler aldığı gibi hippocampusun diğer rostrocaudal seviyelerinden de afferent bağlantılar alır (sinaps 2). Çoğunlukla Schaffer kollateralleri olarak adlandırılan CA3 ve CA2 alanların piramidal hücrelerinden CA1 alanına çıkan projeksiyon lifleri, stratum radiatum ve stratum oriens'de sonlanır (sinaps 3). Son olarak CA1 alanındaki projeksiyon lifleri entorhinal kortekse giderek döngü tamamlanır (Knierim 2015, Grays Anatomy 2016).

Gyrus dentatus yetişkin dönemde lateral ventriküllerin subventriküler bölgesi dışında yeni nöron üretiminin gerçekleştiği ender yerlerden biridir. Subgranüler alanda bulunan öncü nöronlardan üretilen yeni nöronlar fonksiyoneldir ve bilişsel ve emosyonel süreçlerde rol alır. Hippocampus'te günde yaklaşık 1400 yeni nöron oluşmaktadır. Bu nöronlar diğer nöronlara göre daha kolay uyarılabilmektedir ve gelen benzer bilgileri daha iyi ayırt edebilmektedir (Erzurumlu ve diğ. 2019).

Nöral öncü hücrelerin proliferasyonu ile başlayan hipokampal nörogenez, bu hücrelerin granüler nöron ve glia hücrelerine farklılaşmasıyla sonuçlanır. Erken evre

nörogenezde sağkalım için GABA önemlidir. Üçüncü haftadan itibaren nöral ağlar oluşturabilir, 4-6. haftalarda uyarılabilirlikleri en yüksek seviyededir. Sekizinci haftadan itibaren olgun granüler hücreler ile aynı özelliklere sahip olurlar. Bu süreçte BDNF ve diğer büyüme faktörleri hücrelerin sağkalım ve farklılaşmasında önemli rol oynarlar (Erzurumlu ve diğ. 2019).



Çizim 1.5. Hippocampus bölümleri. İzci ve Erbaş (2015)'tan alınmıştır.

1.5. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Proteini

1.5.1. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Fonksiyonu

Nörotrophin ailesinin bir üyesi olan BDNF, insanlarda 11. kromozom'da bulunan BDNF geni tarafından kodlanır (Luo 2018). Gelişim sırasında nöronal hayatta kalma, aksonal büyüme, nörotransmisyon ve yetişkin memeli beyninde sinaptik plastisiteye katkıda bulunan BDNF'nin merkezi sinir sistemi yaralanmalarında nöronları nörodejenerasyondan kurtardığı ve birçok etkili nöronunda oksidatif hasarı önlediği gösterilmiştir (Yin 2014, Jiang 2015). Beyinde, öğrenme, bellek ve kompleks düşünme için hayati önem taşıyan hippocampus, korteks ve bazal ön beyin bölgelerinde aktif rol oynar (Yamada ve Nabeshima 2003). Nöronlar, astrositler ve mikroglia, beynin diğer farklı bölgelerin yanı sıra böbrek, tükürük, retina ve prostatta da eksprese olur (Mandel ve diğ. 2009, Yin ve diğ. 2014). BDNF uzun süreli bellek için önemlidir (Bekinschtein ve diğ. 2008). Nöronların büyük çoğunluğu prenatal olarak oluşsa da, bazı yetişkin beynin bölümleri (thalamus, hypothalamus, septum

gibi) nörojenez olarak bilinen bir süreçte nöral kök hücrelerden yeni nöronlar üretme kabiliyetini koruduklarını belirten çalışmalar mevcuttur. BDNF’inde üyesi olduğu nörotrophin ailesi nörojenez uyarıya ve kontrol etmeye yardımcı olan proteinlerdir (Zigova ve diğ. 1998, Benraiss ve diğ. 2001, Pencea ve diğ. 2001) BDNF'nin nöronal farklılaşmanın güçlü bir promotörü olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Bath ve diğ. 2012). Çeşitli çalışmalar BDNF ile depresyon, şizofreni, obsesif-kompulsif bozukluk, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, Rett sendromu ve demans gibi ayrıca anoreksiya nervoza ve bulimiya nervoza gibi durumlar arasındaki olası bağlantıları göstermiştir (Luo 2018, Dwivedi 2009, Brunoni ve diğ. 2008, Xiu ve diğ. 2009, Maina ve diğ. 2010, Zuccato ve Cattaneo 2009, Zajac ve diğ. 2010, Zeev ve diğ. 2009, Arancio ve Chao 2007, Mercader ve diğ. 2007, Kaplan ve diğ. 2008). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada BDNF eksikliği olan farelerin koordinasyon ve dengelerinin bozulduğu gösterilmiştir. BDNF üretilmeden doğmuş olan farelerde ise beyin ve duyuşal sinir sisteminde gelişimsel kusurların olduğunu, genellikle doğumdan hemen sonra öldüklerini belirtmişlerdir (Ernfors ve diğ. 1995). Bu durum BDNF'nin normal nöral gelişimde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

BDNF, endoplazmik retikulumda yapılır ve yoğun çekirdekli veziküllerden salgılanır. Karboksipeptidaz E'yi (CPE) bağlar. Bu bağın bozulması BDNF’nin veziküllerden kaybına yol açar. Bu durumda da koordinasyonu, dengeyi, duyumu, tadı ve nefesi etkileyen duyuşal nöron kayıplarının yanı sıra postnatal ölüme de neden olabilir (http://www.informatics.jax.org/searches/allele_report.cgi?_Marker_key=537&int:_Set_key=847156).

Bazı fiziksel egzersizlerin, BDNF sentezini belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir (Szuhany ve diğ. 2015).

1.5.2. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) Çalışma Mekanizması

BDNF, büyüme faktörüne cevap verebilen hücrelerin yüzeyinde en az iki reseptöre bağlanır. Bu reseptörler TrkB ve LNGFR’dir (Patapoutian ve Reichardt 2001). BDNF'nin ayrıca, reelin sinyalleme zinciri ile etkileştiği gösterilmiştir (Hossein 2008).

Yapısal olarak, BDNF transkripsiyonu, her biri 3'lü kodlama ekzonuna eklenmiş 8 translate edilmemiş 5 'ekzondan (I ila VIII) birini içeren farklı transkriptlere yol açan 8 farklı promotör tarafından kontrol edilir. Ekson IV içeren mRNA'nın translasyonuna yol açan promotör IV aktivitesi, kalsiyum tarafından kuvvetle uyarılır ve esas olarak Cre düzenleyici

bir bileşenin kontrolü altındadır ve transkripsiyon faktörü CREB ve BDNF'nin aktiviteye bağlı etkilerinin kaynağı için varsayılan bir rol önerir. BDNF ekson IV spesifik ekspresyonunu artırabilen pek çok nöronal aktivitesi mekanizması vardır. Stimulus aracılı nöronal uyarma, bir kalsiyum girişini tetikleyerek N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) reseptör aktivasyonuna yol açabilir. NMDA reseptör aktivasyonu, düzenleyici inhibitörün salınmasını tetikler ve BDNF ekzon IV upregülasyonunun aktivitenin başlattığı kalsiyum akışına tepki olarak gerçekleşmesine izin verir. BDNF ekson IV ekspresyonu ayrıca TrkB aktivasyonu yoluyla kendi ekspresyonunu daha fazla uyarabilir. BDNF, post-sinaptik zardan aktiviteye bağımlı bir şekilde serbest bırakılır, bu da lokal TrkB reseptörleri üzerinde hareket etmesine ve Erk ve CaM KII / IV'ü içeren sinyal kaskadlarına yol açabilen etkilere aracılık etmesine izin verir. Bu yolların her ikisi de muhtemelen, CRE13'ün kalsiyum aracılı fosforilasyonunu Ser133'te içerir, böylelikle BDNF'nin Cre düzenleyici alanı ve yukarı-regülasyon transkripsiyonu ile etkileşime girmesine izin verir. Dopamin reseptörü D5'in aktivasyonu, prefrontal korteks nöronlarında BDNF'nin ekspresyonunu da teşvik eder (Zheng ve Wang 2009, Tao ve diğ. 1998, Jiang ve diğ. 2008).

1.6. Kalsiyum Bağlayıcı Protein B (S100B)

S100 proteinleri çok çeşitli hücrelerin sitoplazmasında ve çekirdeğinde lokalize olur ve hücre döngüsü ilerlemesi ve farklılaşması gibi bir dizi hücresel işlemin düzenlenmesinde rol oynar. Organotropik ve promigrator bir molekül olan S100B, glial spesifiktir ve esas olarak beyindeki astrositler tarafından ifade edilir. Ancak bütün astrositlerde exprese olmaz. S100B'nin sadece kan damarlarını kaplayan olgunlaşmış astrositlerin bir alt tipi ve nöron glial antigen 2 (NG2) ifade eden hücreler tarafından exprese edildiği gösterilmiştir (Wang ve Bordey 2008). Ayrıca periferik sinir sisteminde, özellikle Schwann hücrelerinde ve adipositler, kondrositler ve aynı zamanda melanositlerdeki sinir sistemi dışında da bulunabilir. Buna rağmen S100B serum seviyeleri ekstrakraniyal hasarlarda artmaz (Chen 2018). Gelişmekte olan MSS'de nörotrofik faktör ve nöronal sağ kalım proteini olarak görev yapar. Son zamanlarda, S100B ayrıca bir nörotrofik sitokin olarak kabul edilmiştir. S100B proteininin glial proliferasyon, aksonal büyüme ve Ca²⁺ + hemostazı ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Alataş ve diğ. 2015). Glial protein S100B molekülü, kafa travması sonrası genellikle yükseldiği için beyin hasarının boyutuyla doğrudan ilişkili olduğuna inanılmaktadır (Dadas ve diğ. 2018). Kafa travmasının yanı sıra nörodejeneratif hastalıklarda da S100B seviyesinin arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Marchi ve diğ. 2007).

1.7. İmmünohistokimya

Albert Coons isimli araştırmacı 1941 yılında immünohistokimya (İHK)'yı tanımladı ve ilk olarak bu prosedürü uyguladı. O zamandan beri, bu amaçla, peroksidaz (Nakane ve Pierce 1967) ve alkalın fosfataz (Mason ve Sammons 1978) gibi enzim etiketlerinin kullanımını içeren çeşitli immünohistokimya (IHK) teknikleri geliştirilmiştir (Moon ve diğ. 2010). İmmünohistokimya uygulamasında immünoloji, histoloji ve kimya olmak üzere 3 disiplin birlikte çalışmaktadır.

İHK, biyolojik dokularda antijenlere spesifik olarak bağlanan antikorların ilkesini kullanarak bir doku kesitindeki hücrelerde seçici olarak proteinler görüntüleme işlemini içerir. İmmünooglobulin molekülü, antijenler ve diğer antikorlar için bağlanma bölgelerine sahiptir. Antijen-antikor bağlanması, ışık veya flüoresan mikroskobu ile görülebilen renkli bir histokimyasal reaksiyonla gösterilir. Günümüzde İHK tanı, prognoz, terapötik karar verme ve patogeneizde daha geniş ve klinik olarak yönlendirilmiş uygulamalara sahiptir (Ramos-Vara 2005).

1.8. Enzim Bağlı İmmünosorbent Deneyi (ELISA)

Antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırarak ölçüm yapma yöntemidir. ELISA, sitokinlerin ve solüsyondaki diğer analizi yapılacak olan maddelerin miktarının belirlenmesi için spesifik ve oldukça hassas bir yöntemdir. İlk olarak 1971'de geliştirilmiştir. Halen klinik ve araştırma laboratuvarlarında en çok kullanılan tekniklerden biridir.

Analiz, bir mikrotitre plakası kaplamak için kullanılan spesifik bir monoklonal antikor (mAb) içerir. Örneğin eklenmesinden sonra, plaka üzerindeki spesifik antikor, ilgili proteini yakalayacaktır. Tespit için kullanılan ikinci bir mAb, protein üzerinde farklı bir epitopu bağlar. Tarama antikorunu, bir streptavidin-konjuge enzimin müteakip bağlanmasına izin veren biyotin ile işaretlenir. Bağlanmamış reaktifler yıkanarak giderilir. Bir substrat eklendikten sonra, bağlı protein miktarı ile doğru orantılı bir renk reaksiyonu gelişecektir. Örnek içindeki protein konsantrasyonu, bilinen protein konsantrasyonlarının standart eğrisi ile karşılaştırılarak belirlenir.

ELISA'nın duyarlılığı esas olarak antikorların afinitesine ve kullanılan amplifikasyon sistemine bağlıdır. Sitokin ELISA'ları için tespit limitleri tipik olarak düşük pg / ml aralığındadır.

Sitokin ELISA'nın doğruluğu, genellikle bir harici referans standardı ile kalibrasyonu yapılarak kurulur (<https://www.mabtech.com/knowledge-center/assay-principles/elisa-assay-principle>).



2. AMAÇ

FA, anatomistler başta olmak üzere patoloji ve histoloji çalışanları için iş gereği sürekli maruz kalınan toksik maddedir. FA insan vücudunda başta solunum olmak üzere gastrointestinal sistem, ürogenital sistem, endokrin sisteminde zararlı etkilere yol açmaktadır. Bunun yanı sıra sinir sistemine olan zararları da ayrıca merak konusu olmuş ve çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Cerebral hemisferlerde cortex cerebri motor ve duyu fonksiyonu için, hippocampus öğrenme, bellek ve emostonel durumlar için, thalamus ise motor ve assosiasyon fonksiyonu için merkezi sinir sisteminin özelleşmiş anatomik yapılarıdır. FA'nın thalamus ve cortex cerebri'ye olan etkisini araştıran çalışmalar az olmasına karşın, bulbus olfactorius üzerine yoğun araştırmalar yapıldığı gözlenmiştir.

BDNF nöronların gelişim aşamasında büyümesi, nöronları oksidatif hasara ve nörodejenerasyona karşı korumakla görevli bir proteindir. S100B'de aynı şekilde nöronal sağkalım için önemli bir proteindir. S100B seviyesi beyin travmasında veya toksik bir durumla karşılaştığında artması beklenirken, BDNF ise aksine sağlıklı bir beyin dokusunda en yüksek seviyede olması beklenmektedir.

FA çevresel bir maruziyet olabileceği gibi insan vücududa metabolit sonucu endojen olarak FA üretmektedir. İnsan sağlığı için önemli olan, FA'e maruz kalıp kalmamak değil, FA'nın sağlığı olumsuz yönde etkilemeyecek düzeyde olmasıdır.

Bu bilgiler kapsamında çalışmamızda, düşük doz ve yüksek dozda subkronik FA maruziyetine kalan ratlarda, sinir sisteminin çeşitli bölgelerindeki (cortex cerebri, thalamus ve hippocampus) hücre sayı ve yüzdelerinin, BDNF ile S100B proteinlerinin düzeyleri saptanarak sinir sistemi üzerindeki etkisini incelemek amaçlanmıştır.

Hem düşük doz hem de yüksek doz FA'ya maruz bırakılan deney gruplarında BDNF ve S100B proteinlerin düzeyleri, hem immünohistokimya hem de doku ve serumda eliza testiyle tespit edilerek kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda TUNEL analizi ile immünohistokimyada çıkan sonuçları desteklenmesi planlanmıştır.

3. YÖNTEM

Çalışmamız, etik kurallara uygun olarak 16.02.2016 tarihli ve 2/5 – 2016 sayılı Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi (DETAB)'nde yürütüldü. Çalışmamız, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından 2016/078 proje numarasıyla desteklenmiştir.

3.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel çalışmamız için gerekli olan 24 adet 6 aylık dişi Wistar albino ırkı sıçanlar Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edildi. Sıçanların ağırlıkları deneye ilk başlandığı sırada $254,42 \pm 13,25$ gr arasında ölçüldü. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, kendi kafeslerinde serbest şekilde yaşamlarını devam ettirmeleri sağlandı. Normal içme suyu ve palet yem ile beslenmeleri gerçekleştirildi. Sıçanların normal yaşam alanları standartlara uygun olarak oda sıcaklığı ortalama 20°C ve nem oranı da ortalama %20-40 arasında olacak şekilde klimalı sistemle sağlandı.

Deneysel başlarken hayvanlar rasgele seçilerek 8'erli olarak 3 gruba ayrıldı;

- Kontrol grubu (K.G.) (n=8): 3 ay boyunca normal hava solunması sağlandı. Haftalık kilo kontrolü yapıldı. Kilo kontrolünü sağlıklı takip edebilmek için sıçanların kuyrukları her ölçümde aynı renk boya ile boyandı.

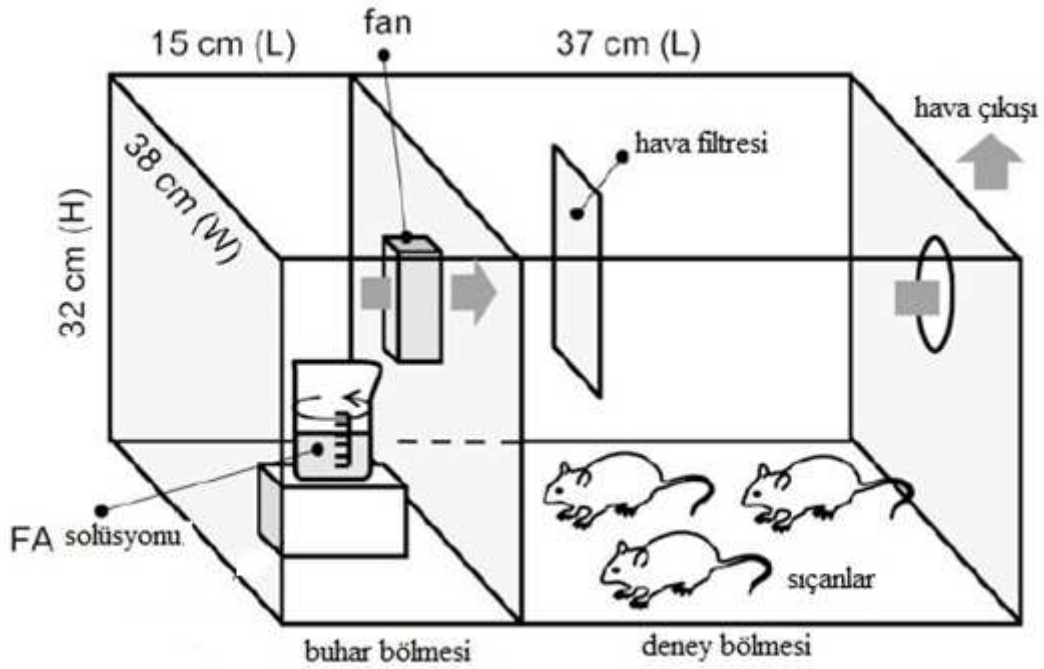
- Düşük doz FA inhale ettirilen grup (D.D.G.) (n=8): 3 aylık süreçte haftanın 5 günü 4 saat boyunca ortalama 1ppm'lik FA inhale ettirildi (Katsnelson ve diğ. 2013). Aynı şekilde haftalık kilo takibi ve hayvanların karışmaması için farklı renklerde kuyruk boyama işlemleri yapıldı.

- Yüksek doz FA inhale ettirilen grup (Y.D.G.) (n=8): Bu gruptaki hayvanların da haftalık kilo kontrolü ve kuyruk boyama işlemleri gerçekleştirildi. Haftanın 5 günü 4 saat olacak şekilde toplamda 12 hafta boyunca ortalama 10ppm'lik FA inhale ettirildi (Katsnelson ve diğ. 2013).

Deneyselimizde hayvanlara, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü'nün (The Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD/OCDE)) en son 2009 tarihinde yayınlanan "OECD Guideline for the Testing of Chemicals" protokolüne uygun olarak subkronik FA maruziyeti sağlanmıştır.

3.2. Deney Düzenegi

Deney için öncelikle 100cm*70cm*35cm ebatlarında camdan yapılmış kabin hazırlatıldı. Kabinin iç kısmı 20cm- 80cm olacak şekilde yine cam bir bölmeyle ayrıldı. Aradaki bölmede hava geçişini sağlamak için 6cm çapında delik açıldı. Geniş bölmenin dış duvarındaki cam duvarına da aynı şekilde 6cm çapında bir delik açıldı ve buraya takılan bir plastik boru ile kabin içindeki FA yoğunluklu havanın dışarı atılması amaçlandı. Kabinin her iki bölümü için ayrı ayrı üstten açılabilen kapak yapıldı. Deney hayvanlarının kabine konulup alınması bu şekilde sağlandı (Çizim 3.1, 3.2) (Matsuoka ve diğ. 2010).



Çizim 3. 1. Referans aldığımız kabin modeli. Matsuoka ve diğ. (2010)'den alınmıştır.

Deney boyunca ratların fiziki durumlarını kontrol edebilmek amacıyla camdan yapılmış kafes tercih edildi (Çizim 3.2).



Çizim 3.2. Sıçanların formaldehit soluduğu deney kabini.

Kabin içindeki küçük bölmeye ortalama 1 ppm'lik FA inhale ettirmek için üzerine 2 damla FA damlatılmış peçete bırakıldı. Ortalama 10 ppm'lik FA inhale ettirmek için ise 9damla FA damlatılmış peçete bırakıldı. Kabinin büyük bölümüne ise ratların bulunduğu kafes konuldu. Deney esnasında hayvanlar yem ve sudan faydalanmaya devam ettiler (Çizim 3.3, 3.4).



Çizim 3.3. Ortalama 1ppm FA inhale eden sıçanların deney kabininde bulunması.



Çizim 3.4. Ortalama 10ppm FA inhale eden sıçanların deney kabininde bulunması.

Kabin içindeki FA düzeyini sağlıklı bir şekilde gözlemleyebilmek için Honeywell ToxiRAE PRO (HCHO) markalı dozimetre kullanıldı. Uzun süreli FA'e maruz kaldığı için güvenilir sonuç vermesi açısından her gün sabah deney başlamadan kalibrasyonu yapıldı. Deney esnasında dozimetre deney hayvanları ile aynı yere konuldu. Deney süresince değerler takip edildi (Çizim 3.5). Ayrıca sıçanların güneş ışığı ve sıcaktan etkilenmemeleri için deney esnasında buldukları odanın penceresi perdeyle kapalı tutuldu.



Çizim 3.5. Sıçanların deney esnasındaki görüntüsü.

Deneye başlamadan önce hem cihazın, hem kabinin kullanılabilirliğini ölçmek hem de kullanılacak FA miktarının optimizasyonunu sağlamak için 1 hafta boyunca kabin içinde hayvan olmaksızın denemeler yapıldı. En doğru sonuca ulaşıldıktan sonra deneye başlandı.

3.3. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu

12 haftalık deney süresi sonunda tüm hayvanların intraperitoneal (ip) olarak uygulanan 6 mg/kg xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 30 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar, Parke-Davis, İstanbul, Türkiye) ile anestezisi yapıldı (Çizim 3.6). Yüksek doz FA alan ratlarda istenilen anestezi etki elde edilemediğinden aynı anestezi maddelerden 2'şer ünite daha hayvanlara intraperitoneal yolla verildi. Anestezi altındaki hayvanların toraks boşluğu açılarak ilk önce kardiyak ponksiyon yoluyla kanları alındı (Çizim 3.7). Daha sonra perfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Perfüzyon işlemi için kan alındıktan sonra serum fizyolojik sıvısı bağlı olan serum setinin iğnesi sol ventriküle takıldı, sağ atriuma da küçük bir kesi atıldı. Yaklaşık 500ml serum fizyolojik sistemik dolaşıma verilerek vücuttaki ve dokulardaki bütün kanın sağ atriümden dışarı atılması sağlandı. Sağ atriümden dışarı çıkan sıvı berrak olana dek perfüzyon işlemi devam etti (Çizim 3.8). Bu sayede beyin dokusundaki kan hücreleri uzaklaştırılarak ışık mikroskopi işlemleri için daha uygun hale gelmesi sağlandı. Perfüzyon işlemi tamamlandıktan sonra hayvanlar giyotin ile sakrifiye edildi. Son işlem olarak beyin dokusu çıkartıldı.



Çizim 3.6. Sıçanlara intraperitoneal yolla anestezi uygulanması.



Çizim 3.7. Sıçanlardan kardiyak ponksiyon yoluyla kan alınması.



Çizim 3.8. Sıçanlara perfüzyon işleminin uygulanması.

Çıkarılan beyin hemisferlerinden sağ hemisferler biyokimyasal analizler için serum fizyolojik ile yıkanarak öncelikle cortex, thalamus ve hippocampus bölgeleri ayrıldı ve uygun şartlarda paketlenildi. Analiz zamanına kadar -40°C 'de saklandı. Sol hemisferler ise histolojik doku takibi ve analizi için %10'luk tamponlanmış formaldehit (Tekkim) içerisinde muhafaza edildi.

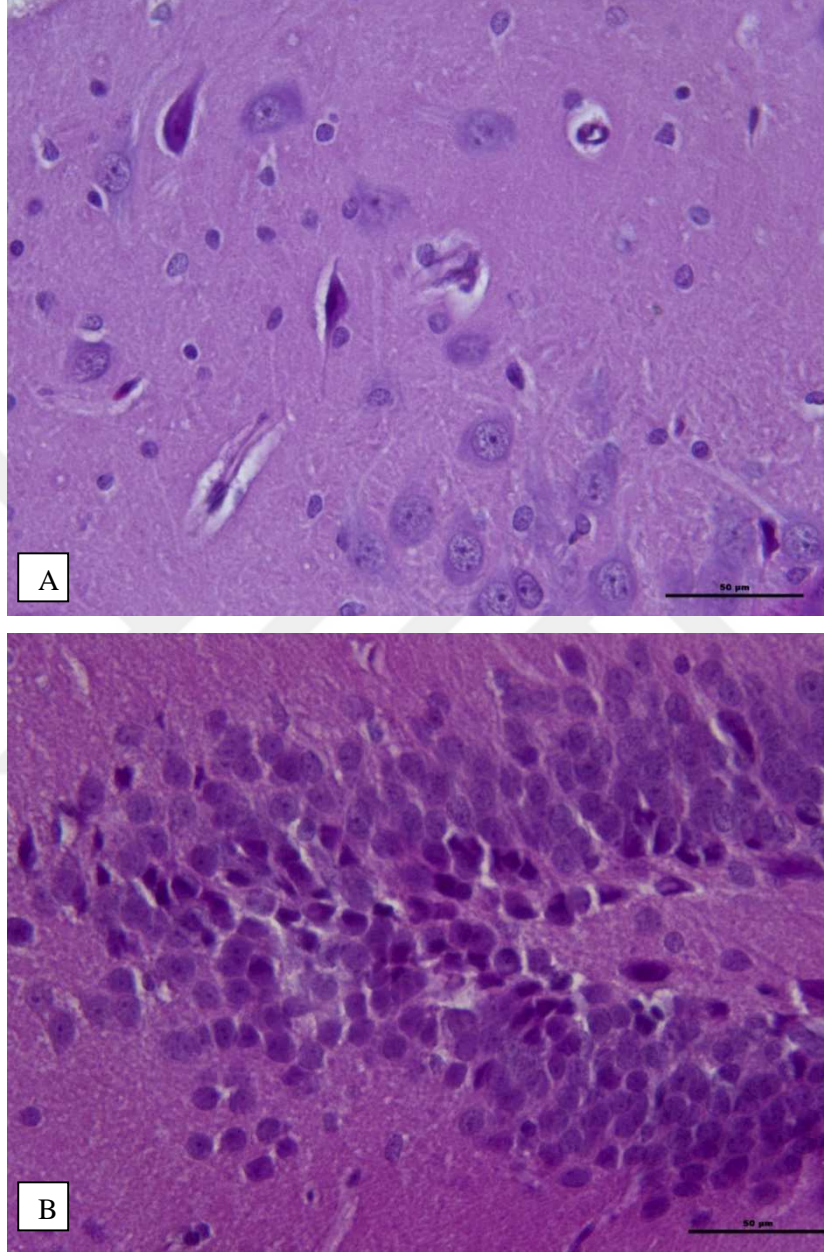
3.4. Deney Hayvanlarının Ağırlıklarının Ölçülmesi

Deney başlamadan önce ve 12 haftalık deney süresince her hafta hayvanların genel fiziki durumlarında değişiklik olup olmadığını takip etmek amacıyla Scaltec-STB31 markalı hassas terazi ile ağırlık ölçümleri yapıldı ve kaydedildi.

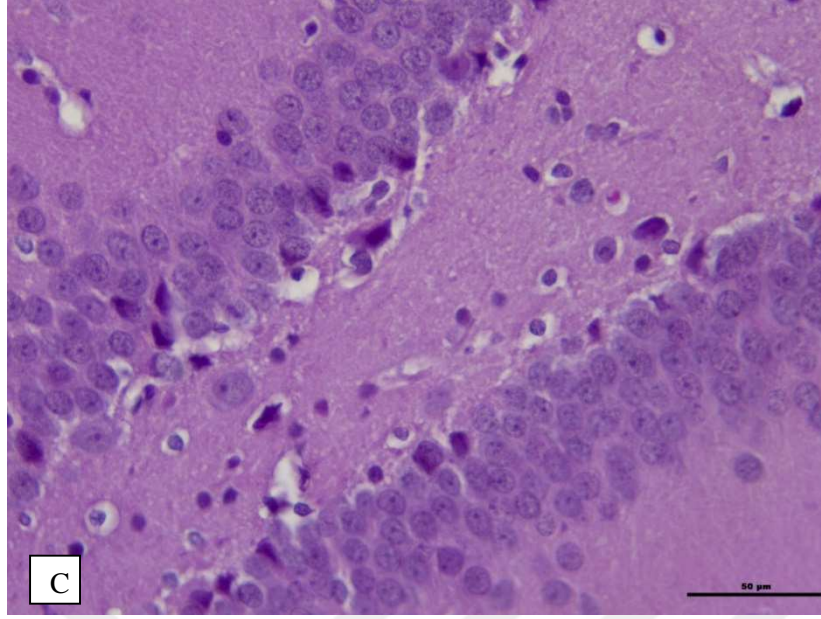
3.5. Işık Mikroskopi Uygulamaları

Histolojik çalışmalar, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda ilgili öğretim elemanları tarafından yürütülmüştür. Morfolojik çalışma için ayrılan beyin sol hemisferleri öncelikle %10'luk nötral tamponlu formalin (Tekkim) solüsyonuna konularak fikse edildi. Ardından dokular yükselen alkol serilerinde (sırasıyla %70, %90, %96 ve %100) 24 saat tutularak dehidrate edildi. Daha sonra toluol (Merck Millipore: 108327) içinde 30 dk süreyle şeffaflaştırma işlemi yapıldı. Bir sonraki adımda 56°C 'lik etüvde (Elektro-mag) önce yumuşak daha sonra sert sıvı parafin içinde 45'er dk bekletilen numuneler parafin bloklara

gömüldü. Bu bloklardan mikrotom (Leica SM 200R) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitlere ayrı ayrı hematoksilin&eoizin boyaması (H&E), BDNF ve S100B immünohistokimyası ile TUNEL işaretleme uygulandı (Çizim 3.9).



Çizim 3.9. Kontrol ve deney gruplarına ait H&E boyanması örneği. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X)



Çizim 3.9. Kontrol ve deney gruplarına ait H&E boyanması örneği. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X)

3.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyaması ile Morfolojik Değerlendirme

56°C'lik etüvde kesitlerin üzerinde bulunan parafin eritildikten sonra, 30 dk toluen içinde bekletilerek uzaklaştırıldı. Kesitler, sırasıyla azalan alkol serisinden (100°, 96°, 90°, 70°) geçirildi, ardından saf suya alındı. Ardından Mayer Hematoksilen'de (Mayer's Hematoxylin, Labvision: TA-125-MH) 5 dk bekletilerek nöron çekirdekleri boyandı. Preparatlardan fazla boyanın giderilmesi için iki kez saf sudan geçirildi. Ardından kesitler mavileştirme solüsyonunda 10-15 saniye (sn) bekletildi ve tekrar saf suya konuldu. Daha sonra hızlıca %100 etanolden geçirilen kesitler sitoplazmik boyanma için Eozin Y solüsyonunda 2-3 dk bekletildi ve tekrar %100 etanole konuldu. 3 kez %100 etanol serisinden geçen preparatlar ikişer defa 15'er dk toluende bekletilerek şeffaflaştırıldı ve Entellan (Merck Milipore: 107961) ile kapatıldı.

3.5.2. İmmünohistokimya Uygulamaları

Hazırlanan preparatlardaki hemisferlerde, korteks, talamus ve hipokampus bölgelerinde BDNF ve S100B proteinlerinin ekspresyon tayini için immünohistokimyasal boyama yapıldı. Ayrıca hemisferlerdeki ilgili bölgelerde apoptotik hücreler TUNEL kiti kullanılarak işaretlendi.

3.5.2.1. BDNF immünohistokimyası

Polilizinli lamalar üzerine 5µm kalınlığında alınan kesitler öncelikle 56 °C'lik etüvde parafini giderildikten sonra 3x5 dk toluolde bekletilerek parafinden iyice arındırıldı. Ardından, sırasıyla 2x5 dk 100° alkolde, 1x5 dk 96° alkolde, 1x5 dk 90° alkolde, 1x5 dk 70° alkolde ve son olarak 2x5 dk distile su içinde bekletildi. Antijen retrieval işlemi için kesitler sitrik asit solüsyonu içine alınarak mikrodalgada (Regal) 10 dk kaynatıldı ve soğuması için 20 dk bekletildi. 2 kez 5'er dakika fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS) ile yıkamanın ardından kesitler endojen peroksidazı bloklamak için metanolde (Sigma: 24229) hazırlanan %0,3' lük H₂O₂'de 5 dk bekletildi. 2 kez PBS'de yıkanan lam üzerindeki kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizilerek havuz oluşturuldu. 1 kez T-PBS'de yıkanan kesitlere özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere 5 dk protein blok solüsyonu uygulandı. Ardından kesitlere 1:100 dilüsyonundaki BDNF (BDNF Antibody (N-20), rabbit polyclonal IgG, SANTA CRUZ, sc-546) primer antikorunu uygulandı ve 37°C'lik etüvde 1 gece bekletildi. 3 kez PBS ile yıkama sonrasında biyotinlenmiş sekonder antikor (sc-2023 ImmunoCruz™ mouse ABC Staining System, suff. for SANTA CRUZ) solüsyonunda 32 dk bekletildi. Yıkama sonrasında kesitlere 5 dk DAB kromojen solüsyonu (ScyTek: ACH500) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 15 sn Mayer hematoksileni uygulanarak zıt boyama yapıldı ve ardından yıkama sonrasında Entellan ile kapatıldı. Korteks, talamus ve hipokampus'te BDNF pozitif boyanma esas olarak nöronlarda yoğunlaşmıştır. Leica DM 1000 ışık mikroskobu ile her bir korteks, talamus ve hipokampus sınıfındaki nöronların BDNF ekspresyonunun şiddeti ve yaygınlığı skorlanarak ölçüldü. Boyanma açık sarı ile koyu kahverengi arasında gözlemlendi ve yoğunluğu; 0, renksiz; 1, açık sarı; 2, kahverengi-sarı; 3, kahverengi olacak şekilde skorlandı. Tanımlanan şiddet değerlerinde boyanan hücrelerin yüzde değeri ile ağırlıklı boyanma şiddetlerinin çarpımlarının toplanması sonucunda H skor hesaplandı [$HSCORE = \sum Pi(i + 1)$; i, boyanma şiddeti değeri; Pi, boyanan hücre yüzdesi] (Rençber ve diğ. 2018, Guzel ve diğ. 2011).

3.5.2.2. S100B immünohistokimyası

S100B için yapılan immünohistokimya uygulamasında BDNF immün boyaması sırasında tarif edilen basamaklar izlendi. Primer antikor olarak S-100 a/β chain Antibody sc-58839 mouse monoclonal IgG1, SANTA CRUZ 1:100 dilüsyonunda kullanıldı, daha sonra 37°C'lik etüvde 1 gece bekletildi. 3 kez PBS ile yıkama sonrasında biyotinlenmiş sekonder antikor ImmunoCruz™ goat ABC Staining System, suff. for sc-2017 SANTA CRUZ Seconder Set solüsyonunda 32 dk bekletildi. Yıkama sonrasında kesitlere 5 dk DAB

kromojen solüsyonu uygulaması yapıldı. Kesitlerin distile su ile yıkanmasının ardından 15 sn Mayer hematoksileni uygulanarak zıt boyama yapıldı daha sonra Entellan ile kapatıldı. Talamus, korteks ve hipokampus'taki nöron ve glia hücrelerindeki S100B ekspresyonunun şiddeti ve yaygınlığı yukarıda anlatılan H-skor (Histo' Score / HSCORE) yöntemi ile ölçüldü. HSCORE yönteminde incelemeye alınan parametreler üzerinde; 0 (herhangi bir boyanma yok), 1 (zayıf fakat kontrole göre kısmen boyanmış), 2 (belirgin boyanma var), 3 (yoğun boyanma var) olmak üzere şiddet değerleri belirlendi. Çıkan sonuca göre H skor hesaplaması yapıldı (Rençber ve diğ. 2018, Guzel ve diğ. 2011).

3.5.2.3.TUNEL Boyaması

Parafin bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi ve ardından toluolde 3x10 dk bekletilerek parafinden iyice arındırıldıktan sonra azalan alkol serilerinden (sırasıyla %100, %100, %96, %90, %70) geçirilip 5 dk PBS'de yıkandı. Daha sonra 15 dk oda ısısında proteinaz K (Merck Millipore: 21627) solüsyonu uygulandı ve distile su ile yıkanan (2x2 dk) kesitler endojen peroksidazı bloklamak için metanol ile hazırlanan %3'lük H₂O₂'de 5 dk bekletildi. PBS (2x5 dk) ile çalkalandıktan sonra lam üzerindeki kesitlerin etrafı hidrofobik kalemle çizilerek havuz oluşturuldu ve kesitlere 10 dakika oda ısısında dengeleme tamponu uygulandı. Daha sonra kesitler 37 °C'de terminal deoksinükleotidil transferaz enziminde 1 saat bekletildikten sonra durdurma tamponuyla 15 sn çalkalandı ve oda ısısında 10 dk bekletildi. PBS'de yıkanan (3x1 dk) kesitlere oda ısısında 30 dk anti-digoksinjeninperoksidaz konjügatı uygulandı ve yıkama sonrasında 7 dk DAB kromojen solüsyonu uygulaması yapıldı. Metil green (TM of Trevigen) ile zıt boyama yapılmasının ardından kesitler kapatma medyumu ile kapatıldı. Leica DM 1000 ışık mikroskobu ile tüm nöron ve glia hücreleri incelendi. Korteks, talamus ve hipokampus'te görülen TUNEL pozitif nukleuslar ayrı ayrı sayıldı. İşaretlenen hücrelerin toplam hücre sayısına bölünmesi ile nöron ve glia hücrelerinin apoptotik indeksi hesaplandı (Rençber ve diğ. 2018, Kılıç ve diğ. 2012).

3.6. Biyokimyasal Analiz

Kalpten alınmış olan kan numunelerinde Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda serum BDNF ile S100B seviyelerinin tayini yapıldı. Hayvanlardan alınan beyin dokularında ise aynı şekilde BDNF ve S100B tesbiti yapıldı. Biyokimyasal analizler Biyokimya Anabilim Dalı'nda ilgili öğretim elemanları tarafından yapıldı.

3.6.1. Kanda BDNF ve S100B Ölçümü

Sıçanlardan alınan kan örnekleri öncelikle pıhtılaşması amacıyla 10-20 dk oda sıcaklığında bekletildi. 2000-3000 RPM'de yaklaşık 20 dk santrifüj edildi ve süpernatantlar dikkatlice toplandı. Elde edilen serumda BDNF ve S100B seviyeleri rutin biyokimya otoanalizörü ile ölçüldü.

3.6.2. Doku Homejenizasyonu

Sıçan beyinlerinde (cortex, thalamus ve hippocampus); BDNF ve S100B protein tayini için dokular tartılarak üzerine 1/20 (ağırlık/volüm) oranında PBS (0,1 M / pH 7,4) eklenip doku homojenizatörü (IKA T18 Digital ULTRA TURRAX homojenizatör) ile homojenize edildi (Calkins ve diğ. 2001). Homojenatlar 15 dk 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve protein tayini, S100B ve BDNF kitleri için ayrı ayrı eppendorflara alınarak -40°C de analiz edilecek zamana kadar saklandı.

3.6.3. BDNF ve S100B Tayini

Total protein tayini Lowry modifiye metoduyla yapıldı (Hartree 1972). SHIMADZU 1240 UV mini spektrofotometre kullanılarak analiz edilecek parametrelerin doku sonuçları, doku protein miktarına oranlanarak tayin edildi.

Doku ve serum örnekleri BDNF ve S100B'nin her ikisi için de Elabscience (Wuhan, China) marka ELISA kiti kullanılarak (Alisei Quality System Seac Radim Company analyser (Italy/Rome)-ELISA READER) çalışılmıştır.

3.7. İstatiksel Analiz

Yaptığımız biyokimyasal ve histolojik çalışmalardan elde ettiğimiz verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS 22 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. İlk aşamada bütün verilerin tanımlayıcı istatistikleri yapıldı. İkinci aşama olarak verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığını değerlendirmek için Kolmogrov-Simirnov Testi uygulandı. Çıkan sonuçlarda $p > 0,05$ olanlar normal dağılıma uygun kabul edilip, değişkenlerde gruplar arasındaki farklılık için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi yapıldı. Analiz sonucu farklılık bulunan parametrelerin hangi gruptan kaynaklandığını öğrenmek için de Post hoc Tukey HSD testi uygulandı. Thalamus verileri homojeniteye uymadığı için LSD testi ile gruplar arasındaki fark belirlendi. Kolmogrov-Simirnov Testi sonucu değeri $p < 0,05$ 'ten küçük olanlar normal dağılıma uymadığı için değişkenlerde gruplar arasındaki farklılık Kruskal Wallis Testi ile belirlendi. Yapılan istatistik çalışmalarında $p < 0,05$ 'ten küçük olanlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda FA inhalasyonunun beyin dokusu üzerindeki etkisini incelemek için toplam 24 sıçan kullanılmış ve 3 gruba ayrılmıştır. İlk 8 hayvan kontrol grubu (K.G.) olarak belirlenmiş bir işleme tabi tutulmamıştır. İkinci 8 hayvana haftanın 5 günü 4'er saat olmak üzere ortalama 1ppm FA (D.D.G.) inhale ettirilmiştir. Üçüncü deney grubuna ise aynı sürede ortalama 10ppm FA (Y.D.G.) inhalasyonu sağlanmıştır.

Deney gruplarını kişisel gözlemle değerlendirdiğimizde yüksek doz FA alan grupların kafesin köşelerine özellikle de kabinin dış ortama açılan deliğin yakınına kaçma eğiliminde olmaları ve talaşları farklı bir yere yığıldıkları gözlenmiştir. FA inhale eden sıçanların tüylerinde sararmalar gözlenmekle birlikte FA dozu arttıkça sararmaların daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizim 4.1).



Çizim 4.1. Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların tüylerinin renk değişimleri ve kafes içinde kaçınmaları. A: K.G.; B: D.D.G.; C: Y.D.G.

Deneye başlamadan önce ve deney süresince her hafta ağırlık takibi yapılmıştır. Sıçanların ağırlık ortalamaları ve standart sapmaları çizelge 4.1.'de verilmiştir. Deney süresince yapılan ağırlık takibinde elde edilen verilerin istatistiksel analizi yapıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu farkın Y.D.G. ile K.G. ve D.D.G. arasında olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan sıçanların ağırlık ortalamaları ile standart sapmaları.

	Ortalama (gr)	Standart sapma (\pm)
K.G.	266,88	12,66
D.D.G.	257,29	5,42
Y.D.G.	239,40	35,28

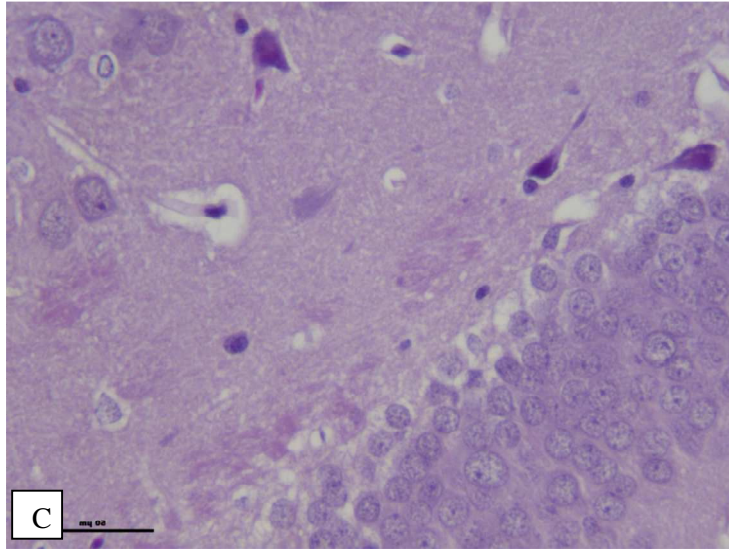
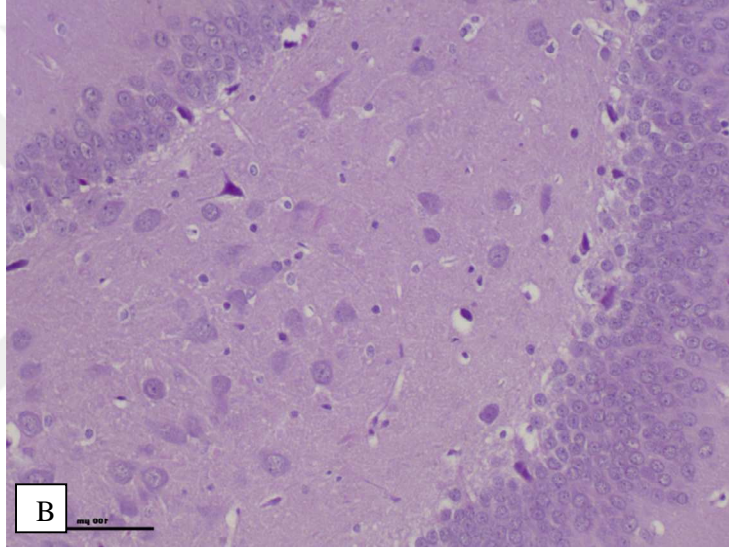
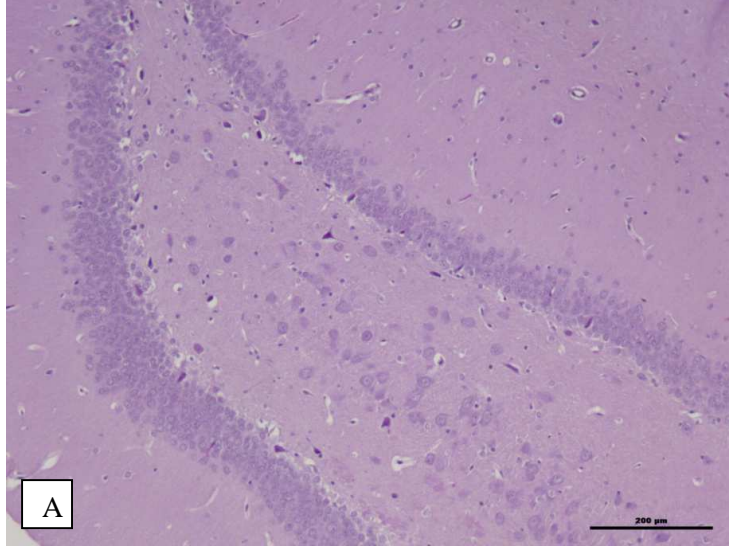
Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan sıçanların ağırlık ortalamalarının p değeri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,386	,003*
D.D.G.	,386		,035*

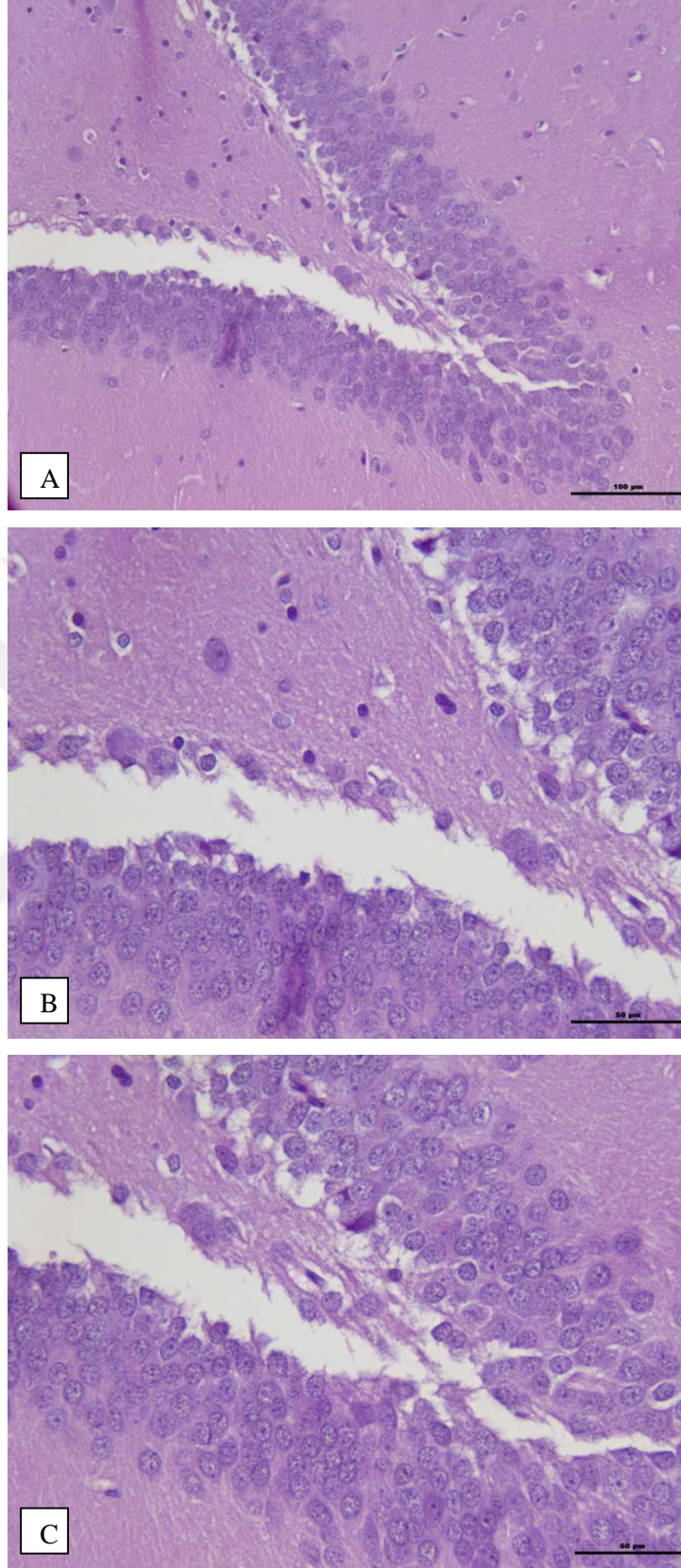
*: $p<0,05$

4.1. Işık Mikroskopi Bulguları

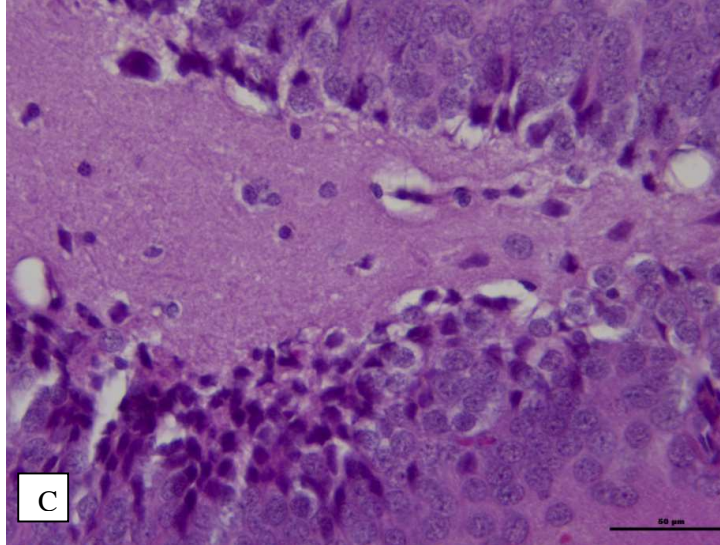
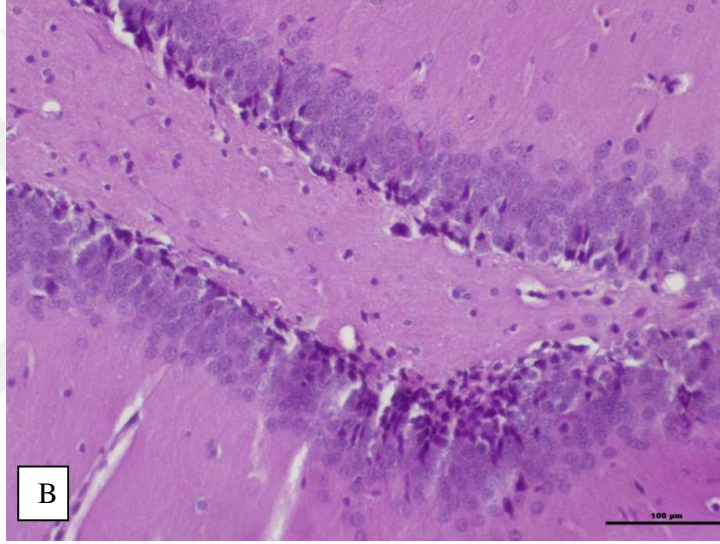
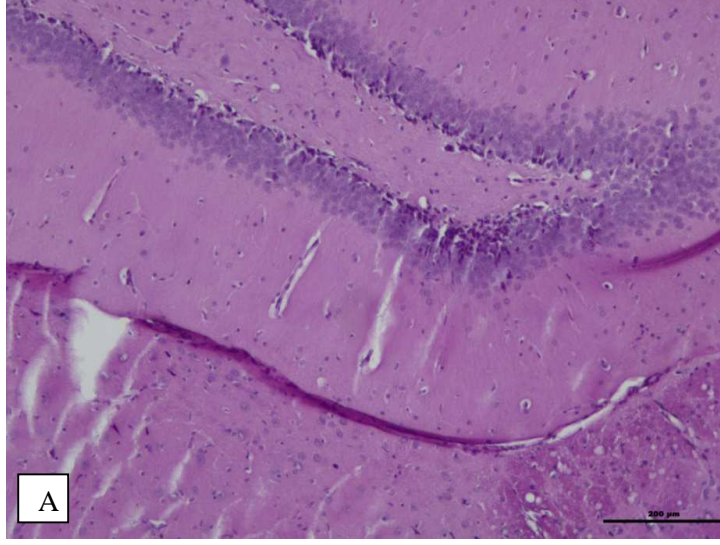
Yaptığımız çalışmada FA'in etkisini incelemek için beyin bölgelerinden hafıza, duygu, düşünce, duyu ve motor bölgeler için önem arz eden cortex, thalamus ve hippocampus'u seçtik. Kontrol ve deney gruplarına ait beyin hemisferlerinde bulunan nöron hücreleri morfolojik olarak incelenmiştir. Yapılan hematoksilin - eozin (H&E) boyamasında deney gruplarındaki hücrelerde kontrol grubuna göre ayrılmalar gözlenmiştir.(Çizim 4.2, 4.3, 4.4)



Çizim 4.2. Kontrol grubuna ait H&E mikrografları. A, 10X. B, 20X. C, 40X.



Çizim 4.3. D.D.G.'na ait H&E mikrografları. Dokuda açılmalar görülmeye başlandı. A, 10X. B, 20X. C, 40X.

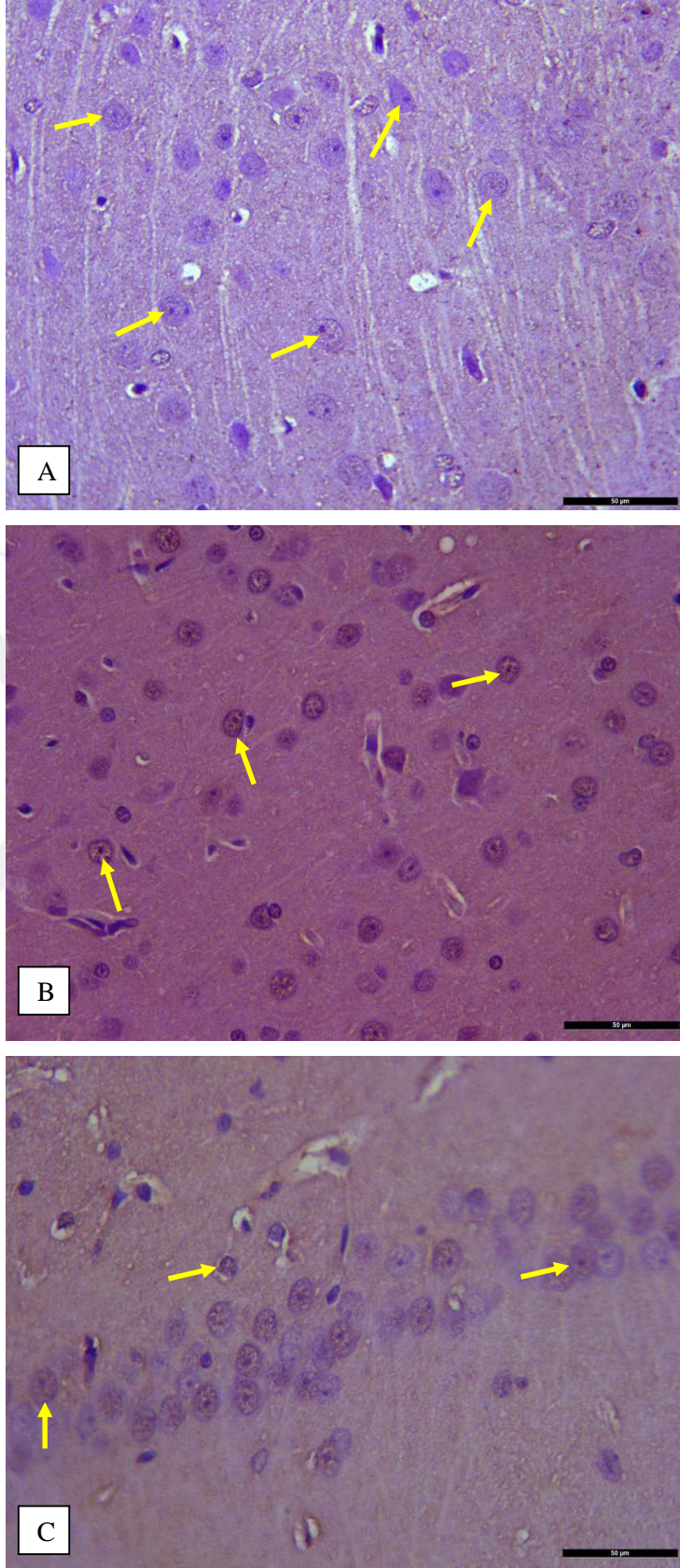


Çizim 4.4. Y.D.G.'na ait H&E mikrografları. A, 10X. B, 20X. C, 40X.

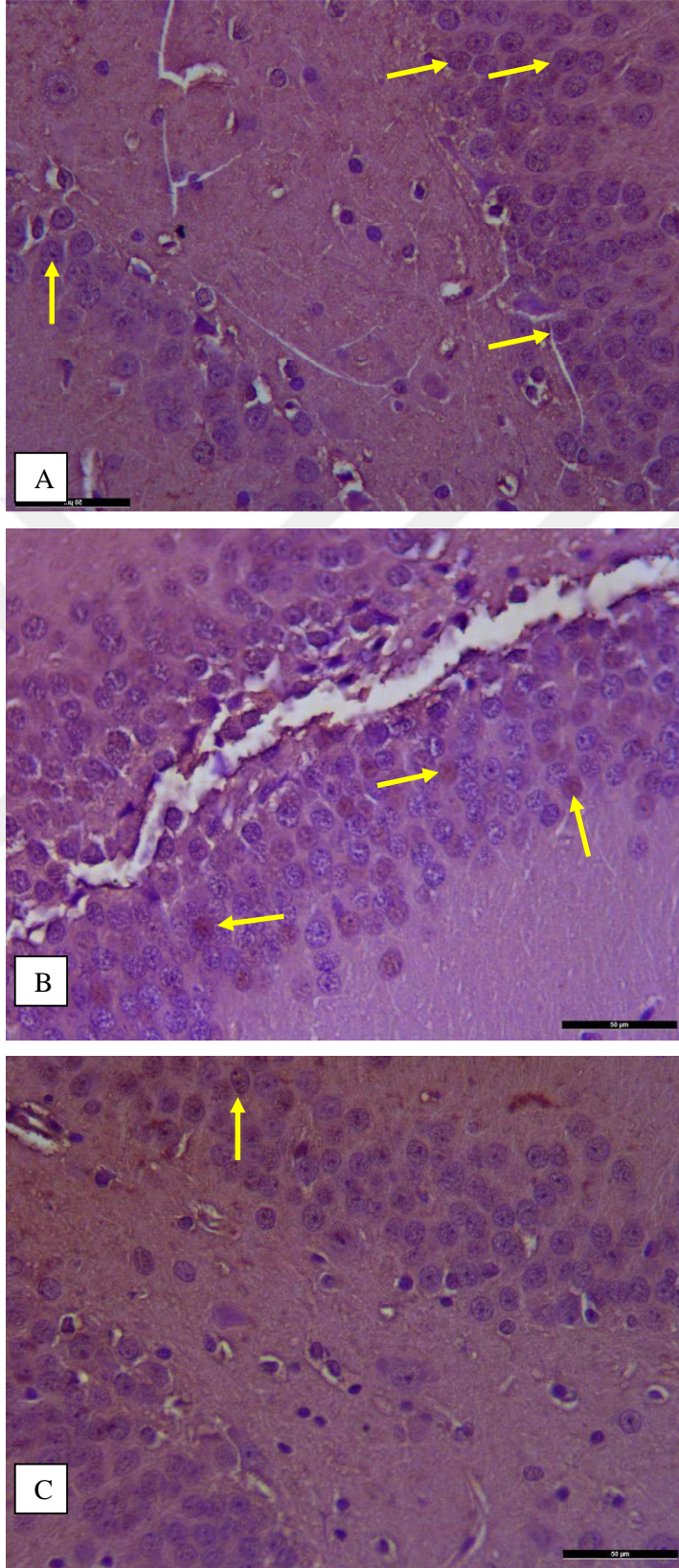
4.1.1. BDNF İşaretleme

İmmünohistokimyasal çalışma yapıldığında kontrol ve deney gruplarına ait bütün sıçanların cortex, thalamus ve hippocampus bölgelerinde BDNF ekspresyonu incelendi. Belirlenen bölgelerdeki immünohistokimyasal BDNF boyanma şiddeti ve yaygınlığı semikantitatif H-skor yöntemi kullanılarak değerlendirildi (Çizim 4.5, 4.6, 4.7). Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cortex'te BDNF immünoaktivitesi anlamlı olarak farklı çıkmıştır. Çıkan farkın K.G. ile D.D.G. arasından kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, 4.4).

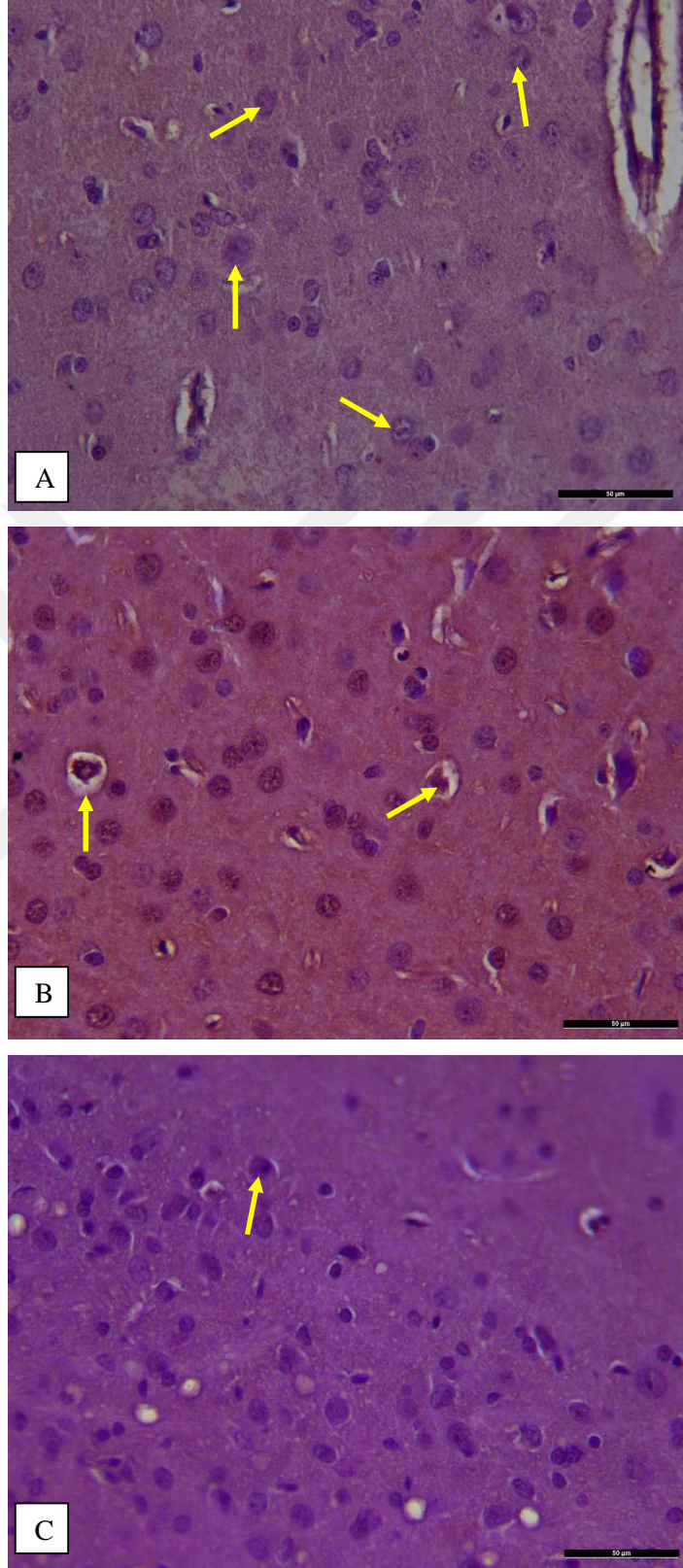




Çizim 4.5. Cortex'e ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. BDNF ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile işaretlenmiştir.



Çizim 4.6. Hippocampus'a ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. BDNF ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile işaretlenmiştir.



Çizim 4.7. Thalamus'a ait BDNF işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. BDNF ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile işaretlenmiştir.

Çizelge 4.3. Cortex’de kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma (±)
K.G.	220,02	12,70
D.D.G.	149,20	50,75
Y.D.G.	189,50	22,17

Çizelge 4.4. Cortex’de kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,008*	,333
D.D.G.	,008*		,103

*: p<0,05

Thalamus’ta BDNF immünoreaktivitesi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Bu farkın kontrol grubu ile D.D.G. ve Y.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5, 4.6).

Çizelge 4.5. Thalamus’da kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	40.10	8.55
D.D.G.	20.70	2.97
Y.D.G.	21.26	1.41

Çizelge 4.6. Thalamus’da kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,020*	,017*
D.D.G.	,020*		1,00

*: p<0,05

Hippocampus'u incelediğimizde BDNF ekspirasyonu, gruplar arasında istatistiksel olarak farklı çıkmıştır ($p<0,05$). Bu farkın K.G. ile D.D.G. ve Y.D.G. arasından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7, 4.8).

Çizelge 4.7. Hippocampus'da kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	69.30	6.54
D.D.G.	71.05	15.70
Y.D.G.	68.66	16.03

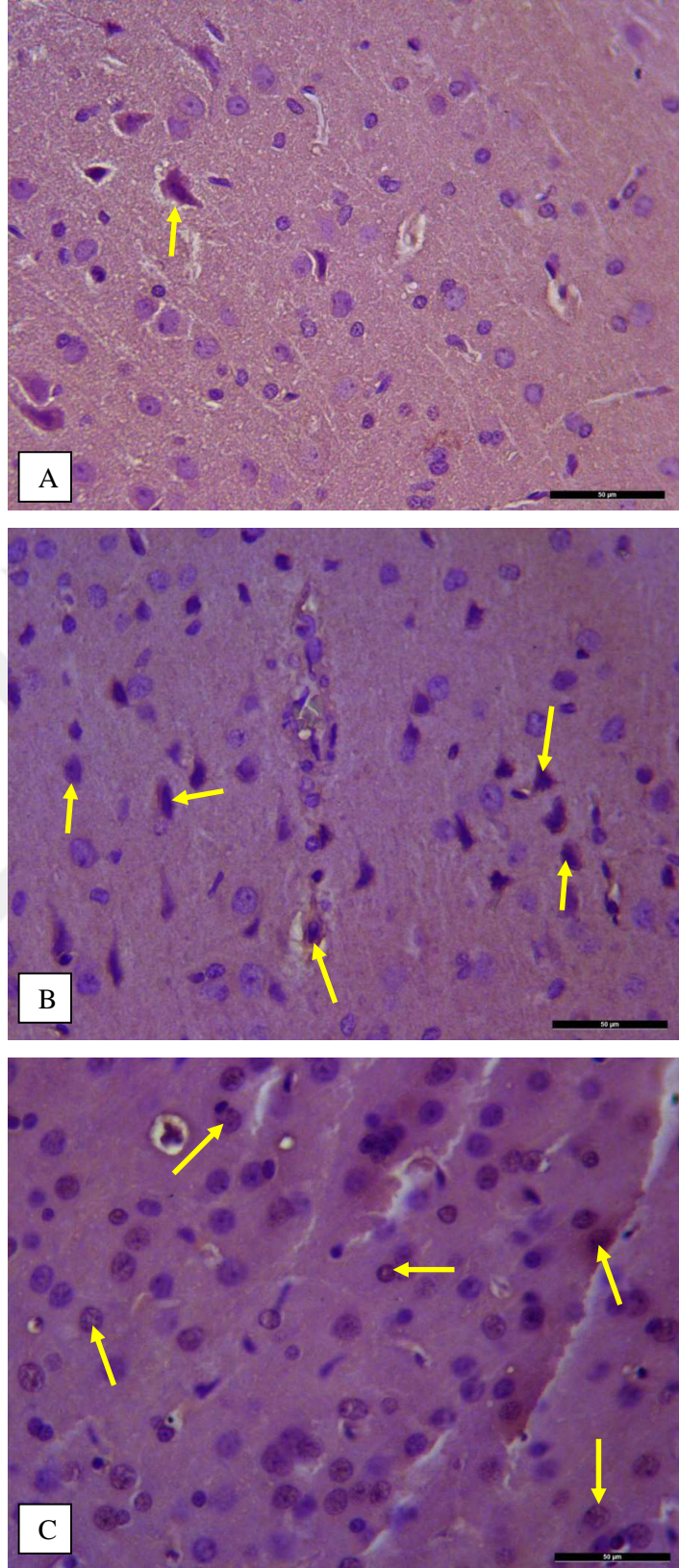
Çizelge 4.8. Hippocampus'da kontrol ve deney gruplarına ait BDNF immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,002*	,000*
D.D.G.	,002*		,713

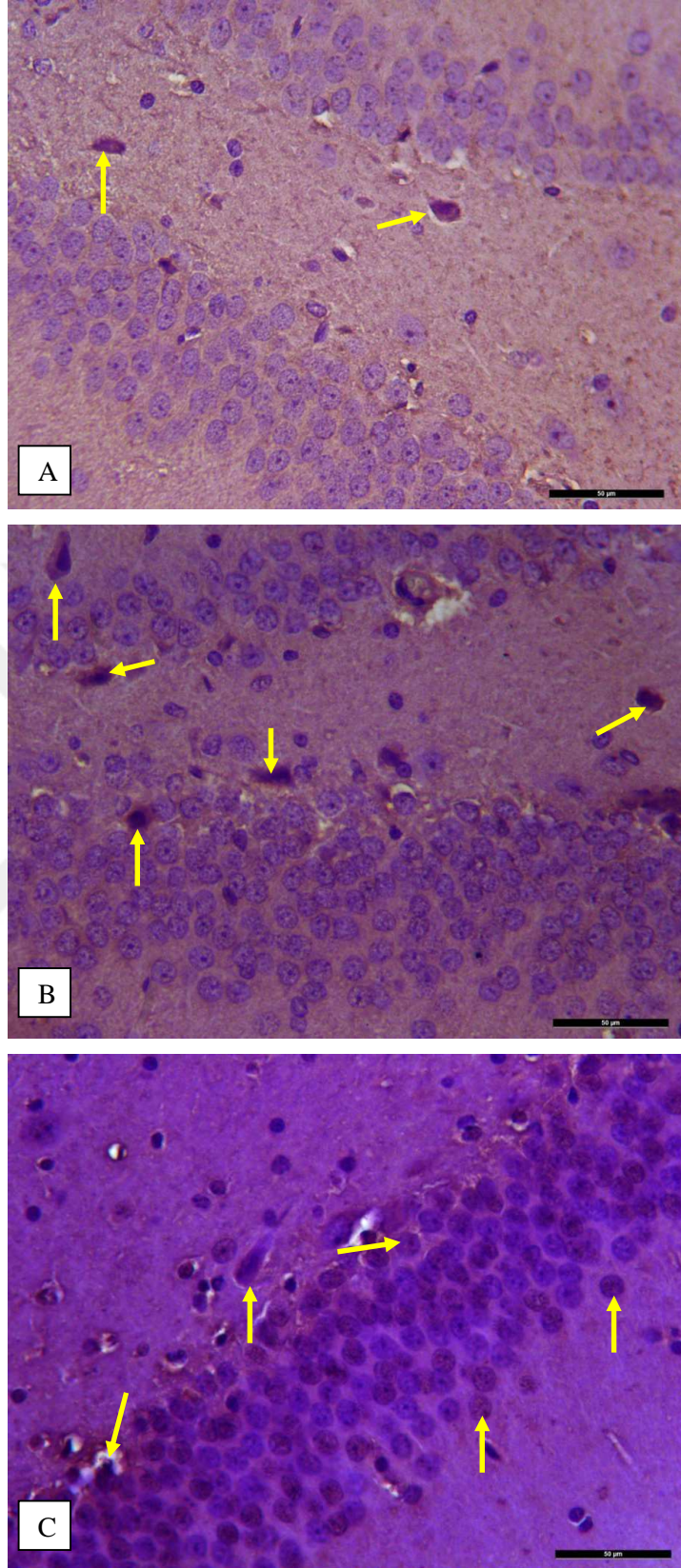
*: $p<0,05$

4.1.2. S100B İşaretleme

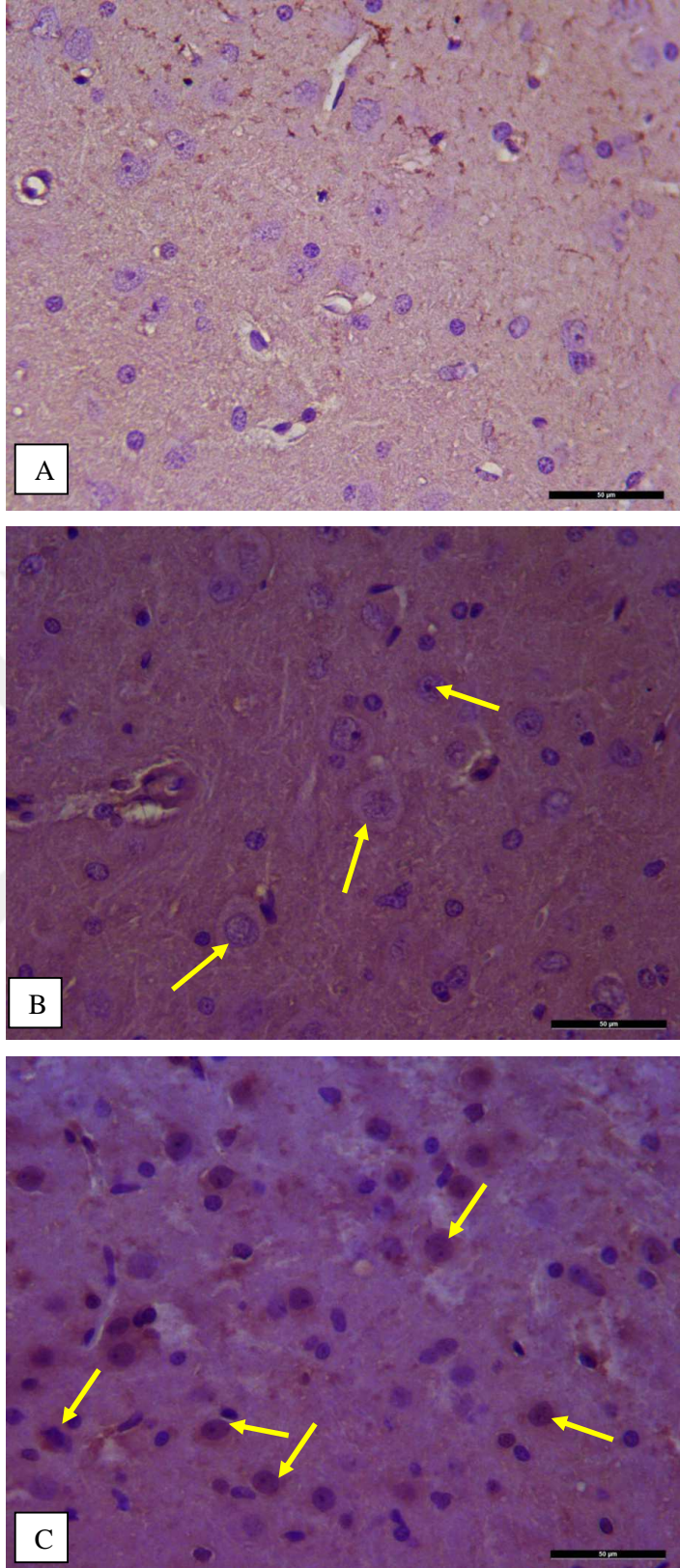
Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların beyin hemisferlerinde S100B ekspirasyonu incelendi (Çizim 4.8, 4.9, 4.10). Belirlenen bölgelerden elde edilen immünohistokimya bulguları istatistiksel olarak değerlendirildi. Cortex'teki S100B immünoreaktivitesinde anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu farkın Y.D.G. ile K.G. ve D.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9, 4.10).



Çizim 4.8. Cortex'e ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X). S100B ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.



Çizim 4.9. Hippocampus'e ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X). S100B ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.



Çizim 4.10. Thalamus'a ait S100B işaretlemesini gösteren ışık mikrografları. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X). S100B ile eksprese olan hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Cortex’de kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	129.92	21.06
D.D.G.	136.07	20.43
Y.D.G.	194.57	47.45

Çizelge 4.10. Cortex’de kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,939	,007*
D.D.G.	,939		,010*

*: $p < 0,05$

Thalamus’ta S100B ekspresyonu incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu farkın D.D.G. ile Y.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11, 4.12).

Çizelge 4.11. Thalamus’da kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	15,20	3,57
D.D.G.	9,66	2,71
Y.D.G.	16,14	6,87

Çizelge 4.12. Thalamus’da kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,053	,728
D.D.G.	,053		,022*

*: $p < 0,05$

Hippocampus'e baktığımızda gruplar arasında S100B immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu farkın Y.D.G. ile D.D.G. arasında olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.13, 4.14).

Çizelge 4.13. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	19.00	4.39
D.D.G.	16.17	6.49
Y.D.G.	27.66	10.18

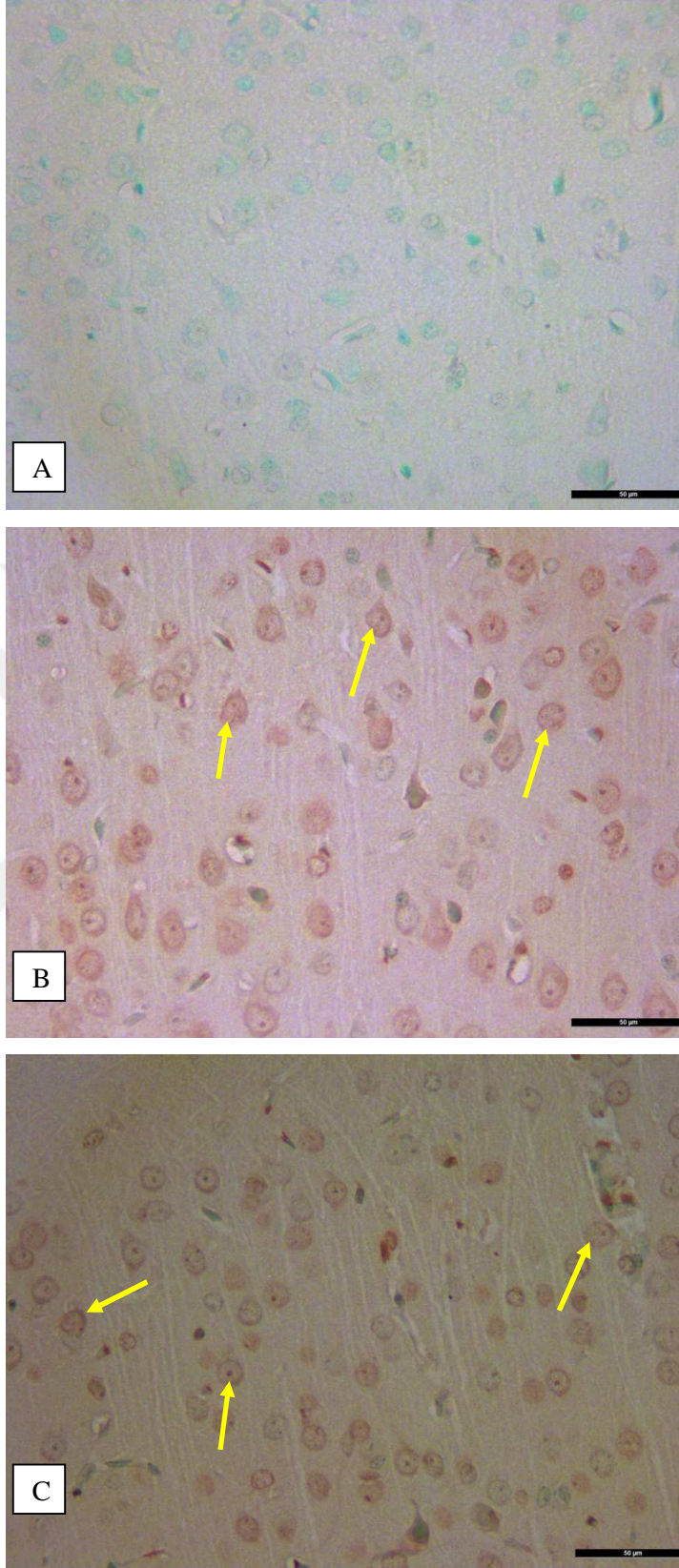
Çizelge 4.14. Hippocampus'te kontrol ve deney gruplarına ait S100B immünreaktivitesine ait H-skor p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,782	,129
D.D.G.	,782		,029*

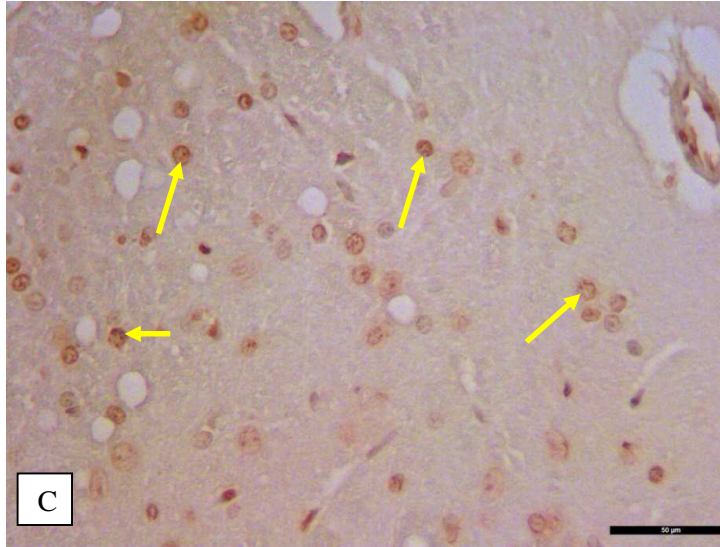
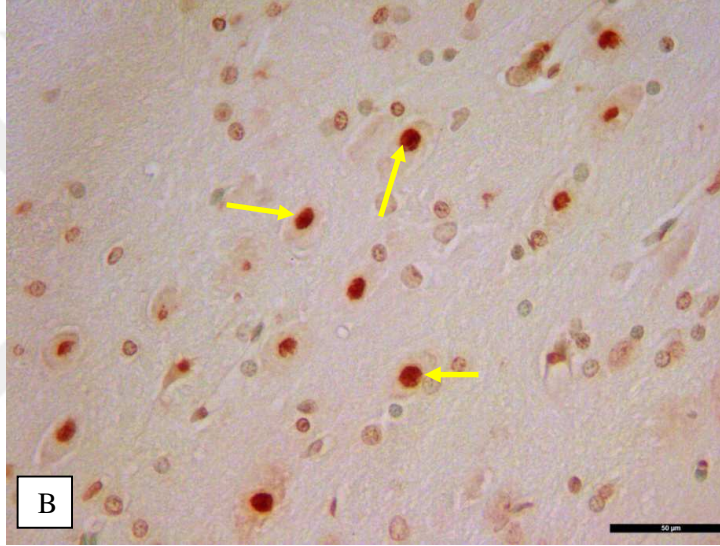
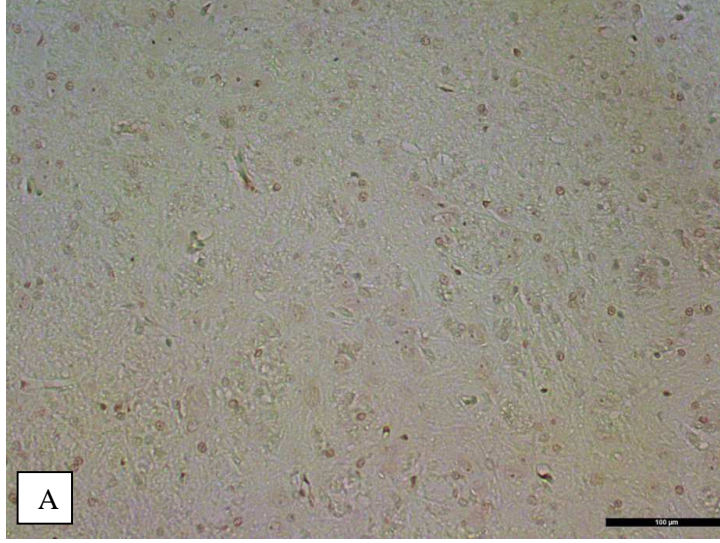
*: $p<0,05$

4.1.3. TUNEL İşaretleme

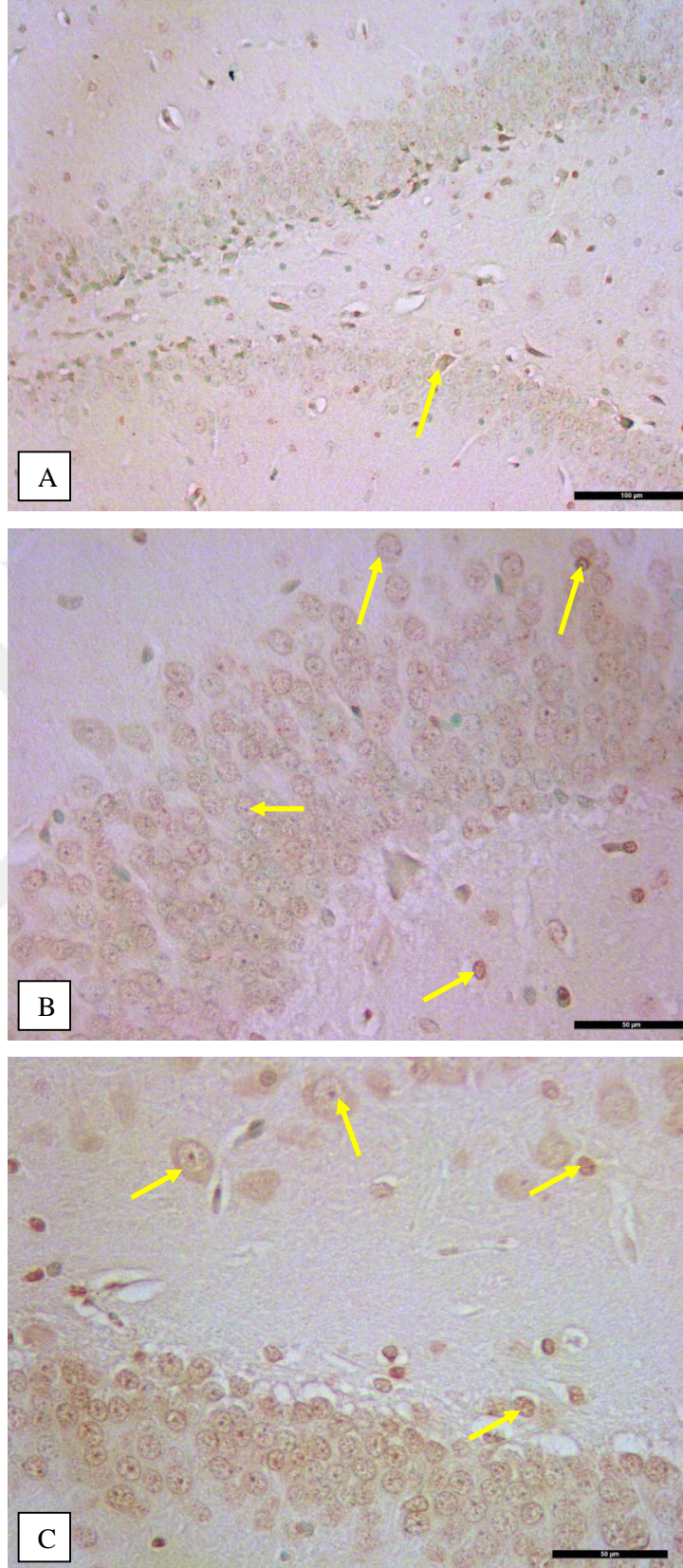
Çalışmamızdaki sıçanların beyin hemisferlerinde belirlediğimiz bölgelerdeki apoptotik hücreler TUNEL işaretleme ile sayıldı (Çizim 4.11, 4.12, 4.13). Apoptotik indeks değerleri hesaplandı.



Çizim 4.11. Cortex'e ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X). Apoptotik hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.



Çizim 4.12. Thalamus'a ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X) Apoptotik hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.



Çizim 4.13. Hippokampus'e ait TUNEL işaretlemesini gösteren ışık mikroskopi görüntüleri. A: K.G. B: D.D.G. C: Y.D.G. (40X) Apoptotik hücrelerden bazıları ok işareti ile gösterilmiştir.

Cortex'teki verilerin istatistiksel analizinde, hem D.D.G. hem de Y.D.G.'daki apoptotik indeks değerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0,05$) (Çizelge 4.15, 4.16).

Çizelge 4.15. Kontrol ve deney gruplarına ait cortex'deki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	22.68	12.20
D.D.G.	74.50	2.87
Y.D.G.	74.28	9.12

Çizelge 4.16. Kontrol ve deney gruplarına ait cortex'deki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,042*	,007*
D.D.G.	,042*		1,00

*: $p<0,05$

Thalamus'taki apoptotik indeks değerlerinin istatistiksel analizi yapıldığında kontrol grubuna göre FA soluyan her iki gruptaki apoptotik hücre artışı anlamlı bulunmuştur ($p<0,005$) (Çizelge 4.17, 4.18).

Çizelge 4.17. Kontrol ve deney gruplarına ait thalamus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	38.04	4.39
D.D.G.	72.63	9.25
Y.D.G.	81.48	12.53

Çizelge 4.18. Kontrol ve deney gruplarına ait thalamus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,000**	,000**
D.D.G.	,000**		,295

*: $p < 0,005$

Hippocampus bölgesinde gözlenen apoptotik hücrelerin indeks değerlerinin istatistiksel analizinde aynı şekilde D.D.G. ve Y.D.G.'da kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.19, 4.20).

Çizelge 4.19. Kontrol ve deney gruplarına ait hippocampus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin ortalama değerleri.

	Ortalama	Standart sapma
K.G.	34.68	6.93
D.D.G.	69.70	8.65
Y.D.G.	78.64	8.83

Çizelge 4.20. Kontrol ve deney gruplarına ait hippocampus'daki hücrelerin TUNEL işaretlemesi ile elde edilen apoptotik indekslerin p değerleri.

	K.G.	D.D.G.	Y.D.G.
K.G.		,000**	,000**
D.D.G.	,000**		,209

*: $p < 0,005$

4.2. Biyokimya Bulguları

Biyokimya bulgularını incelediğimizde ilk önce serum BDNF ve S100B değerlerine bakılmıştır. Serumda yapılan çalışmada her iki parametre için de gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.21, 4.22). Bu nedenle tek yönlü varyans analizinden sonra Tukey testi yapılmadığından gruplar arasındaki fark ayrı ayrı incelenmemiş ve tek bir p değeri elde edilmiştir.

Çizelge 4.21. Sıçan serumunda BDNF değerleri.

	Ortalama	Standart sapma	P değeri
K.G.	1,365	,510	
D.D.G.	1,135	,350	,289
Y.D.G.	,972	,479	

Çizelge 4.22. Sıçan serumunda S100B değerleri.

	Ortalama	Standart sapma	P değeri
K.G.	,048	,017	
D.D.G.	,050	,027	,892
Y.D.G.	,054	,018	

Aynı şekilde dokuda ELİSA testi uygulandığında ele aldığımız üç bölgede BDNF ve S100B seviyelerinde istatistiksel olarak gruplar arasında bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.23, 4.24).

Çizelge 4.23. Sıçanlarda doku ELİSA testinde BDNF değerleri.

	Cortex			Thalamus			Hippocampus		
	Ort.	Std.sp.	p	Ort.	Std.sp.	p	Ort.	Std.sp.	p
K.G.	2,76	1,42		3,50	1,28		1,90	,60	
D.D.G.	3,70	1,97	,605	3,41	1,77	,966	2,95	2,03	,350
Y.D.G.	3,95	2,63		3,30	1,38		1,95	,74	

Çizelge 4.24. Sıçanlarda doku ELİSA testinde S100B değerleri.

	Cortex			Thalamus			Hippocampus		
	Ort.	Std.sp.	p	Ort.	Std.sp.	p	Ort.	Std.sp.	p
K.G.	5,31	,63		9,03	4,14		6,19	2,45	
D.D.G.	6,69	1,78	,118	11,66	2,89	,559	7,96	1,72	,307
Y.D.G.	7,16	2,17		11,97	8,26		7,21	2,31	

5. TARTIŞMA

Formaldehit (FA) insan sağlığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip bir moleküldür. Solunan formaldehitin başta solunum yolları üzerinde olmak üzere merkezi sinir sistemi, deri ve gözlerde akut ve kronik etkileri vardır (Attia ve diğ. 2016). Sağlık alışanları arasında anatomi, histoloji ve patoloji çalışanları görevleri gereği kullandıkları FA nedeniyle böyle bir riskle karşı karşıya bulunmaktadır. FA insan vücudunda metabolit olarak üretilip endojen olarak bulunacağı gibi çevresel maruziyet sonucu da bulunabilir. İnsan kanındaki endojen formaldehitin fizyolojik konsantrasyonu ~ 0.1 mmol / L'dir (Heck H, 2004). İnsan sağlığı için önemli olan, FA'e maruz kalıp kalmamak değil, FA'nın vücutta sağlığı olumsuz yönde etkilemeyecek düzeyde olmasıdır.

FA verilen hayvanların fiziksel özellikleri incelendiğinde genel olarak hayvanların köşelere kaçmaya çalışmaları, biraraya toplanıp saklanmaya çalışmaları, tüylerinde sararmalar meydana gelmesi ve kilo kayıpları görülmektedir (Aşık 2016, Arıcan 2005, Çuğlan 2012, Aydın 2015). Bizim alışmamızda da literatürle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

FA'in oluşturduğu etkilerin biyokimyasal temellerine bakıldığında mitokondriyal membran potansiyeline etki ederek reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu aktive ettiği gösterilmiştir. Oksijen radikallerinin dejeneratif etkisi üzerinden FA'nın toksikolojik ve DNA hasarı sonucu karsinojenik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Tang ve diğ. 2011). FA'nın diğer birçok hüresel yolda etkili olduğu ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Boja JW ve diğ. 1985'te yaptıkları çalışmada, FA maruziyeti sonucu hayvanlarda motor aktivitenin azaldığını göstermişlerdir. Yine aynı deneyde bu etkinin FA'nın merkezi sinir sisteminde bulunan dopamin ve 5-hydroxytryptamine reseptörü taşıyan nöronlarda dejeneratif değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir.

Tavşanlarda yapılan diğer bir çalışmada, 7 gün boyunca 5 ppm düzeyinde FA ile doğrudan temas etmenin, in vitro ve in vivo korneal epitel hücrelerinde hasara yol açtığı belirtilmektedir. Düşük FA konsantrasyonuna maruz kalmanın, kısa süreli değerlendirmede net bir hasara yol açtığı gösterilmemiş olmasına karşın, uzun süreli maruziyetten sonra kornea epitel hücrelerinde anormal hücre sayısı, morfolojisi ve gözyaşı üretimi görüldüğü de rapor edilmiştir (Lai ve diğ. 2013). FA'nın akut ve kronik etkilerinin oluşması maruziyet dozuna ve süresine bağımlı olarak değerşebilmektedir.

FA'in doğal savunma sistemi hücreleri üzerine de etkilerinin olduğu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çerçevede temas yoluyla FA'in etkileri incelendiğinde, deney

hayvanlarının kulak yoluna %5-10 FA sürülmesi ile; nötrofiller, eozinofiller ve monositler dahil olmak üzere enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ve epidermis hipertrofisi gözlemlenmiştir. Bu süreçte FA'in iritan etkisi sonucu dermatite neden olduğunu göstermişlerdir. Bu etkilerinin biyolojik basamaklarına bakıldığında; FA maruziyeti, hücrelerdeki sitokinler (IL-4), BDNF, NGF gibi faktörlerin salgılanmasına ve servikal lenf düğümlerinde hiperaktivasyona sebep olduğu gösterilmiştir (Saito ve diğ. 2011).

Arıcı S. ve diğ. (2014) yaptıkları çalışmada, FA verilen hayvanlarda biyokimyasal nörotoksisiteyi gösteren belirteçlerden birisi olan glial fibrillary acidic protein (GFAP)'ın arttığını göstermiştir. Apoptoz sürecinde görevli caspase-3 ve Bcl-2 gibi proteinlerde anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda cortex ve hippocampus'te apoptotik hücrelere baktıklarında formaldehit alan grupta apoptotik hücre sayısında artış tespit edilmiştir. Çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilmiş olup apoptotik hücre oranlarında benzer şekilde artış saptanmıştır.

Çalışmamızda FA maruziyeti düşük (1 ppm) ve yüksek (10 ppm) doz olmak üzere iki deney grubu şeklinde hayvanlara uygulanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırmalı değerlendirilmiştir. Deney ve kontrol gruplarından alınan serum ve beyin dokuları biyokimyasal olarak ELİSA metodu ve immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Hayvanlardan elde edilen beyinler korteks, hipokampus ve talamus olmak üzere üç farklı doku alanına ayrılarak nöron sağkalımı için önemli biyobelirteçler olan BDNF ve S100B açısından değerlendirilmiştir. Aynı zamanda hayvanlardan elde edilen serumlardan da aynı belirteçler için ölçümler alınmıştır. Doz ve doku bağımlı ölçümler yapılarak gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapılmıştır.

Çalışmamızda düşük ve yüksek doz formaldehit inhalasyonu sağlanan sıçanların korteks'ine bakıldığında ve elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; hem D.D.G. hem de Y.D.G. hayvanların apoptotik indeks değerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.15, 4.16). Hem düşük doz hem de yüksek doz formaldehit verilen gruplar ile kontrol grubu arasında beyin kesitlerinde korteks bölgelerinde apoptotik hücre sayıları arasında anlamlı fark belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

FA, kimyasal yapısı nedeniyle reaktif oksijen radikalileri (ROS) oluşumuna etki etmektedir. ROS birikmesi ile ilişkili olarak oksidatif hücresel hasara yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu etki doğrultusunda FA'nın nöronal hasara neden olduğu

gösterilmiştir (Arıcı ve diğ. 2014). FA ayrıca kimyasal yapısı gereği diğer organik moleküllerle çapraz bağlar kurup etki göstermektedir. DNA molekülü ile de etkileşime girerek canlı organizmalarda hasarlara sebep olabilmektedir. Çiftçi ve diğ. (2015) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada FA verdikleri grupta, beyinde oksidatif stresin arttığını ve DNA hasarına yol açtığını rapor etmişlerdir.

Hücre kültürü çalışmalarında da FA'nın etkisi araştırılmıştır. Hipokampal nöronları model olarak kullanan çalışmada, düşük konsantrasyondaki formaldehitin hücre içi $[Ca^{2+}]$ iyon artışına neden olduğunu, dahası membran NMDAR receptörlerinin ve T-tipi Ca^{2+} kanallarının bu artışın önemli aracılığı olduğu gösterilmiştir (Chi ve diğ. 2012). FA'in nöron hücresi Ca^{2+} düzeyinde oluşturduğu değişim hücre toksikolojik etkilerin oluşmasında rol oynamaktadır. Bir nöronun sitoplazmasındaki Ca^{2+} iyon konsantrasyonu, hormon, peptid salgılanması ve hatta gen transkripsiyonu değişimleri, hücre çoğalması gibi biyolojik olayların kontrolünde oldukça önemli bir rol oynar.

FA'in MSS dışındaki organlarda da dejeneratif etkileri araştırılmıştır. Böbrekler üzerindeki etkisine bakılan bir başka çalışmada; FA'nin kortekste bulunan glomerulların parietal epitel tabakasına, mononükleer hücre iltihabına, renal tübüllerde membran hasarına sebep olduğu gösterilmiştir. Bu etkide hücrelerin çekirdeklerinde pignotik değişimler olduğu gösterilmiştir. Böbrekte tubuler alana etkileri de gözlenmiş ve medullar henle kulbu ve tübüllerinde hipertrofik hücreler gözlenmiştir. Ayrıca böbreklerde hücresel değişimler tespit edilmiştir. Bu değişimlerde hücre çekirdeklerinde kromatin materyalinin düzensizliği ve mitokondrial lamellerde cristae kaybı gözlemlenmiştir (Bakar ve diğ. 2015).

Ramos ve diğ. (2016) ratlara uyguladıkları FA maruziyeti sonucunda düşük FA (%1 FA) konsantrasyonlarına maruz kalan hayvanların renal parankiminde yüksek düzeyde CCL2, CCL3 ve CCL5 (C-C Motif Chemokine Ligand) ifadesi gözlemlenmiştir. Aynı şekilde yüksek doz FA'ya maruz kalan sıçanlarda kontrol grubuna göre serum üre ve kreatinin seviyelerinde anlamlı artış tespit etmişlerdir. Bunun da böbrek fonksiyonlarında bozulmaya neden olabileceğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak kısa sürede formaldehit maruziyetinin böbrek fonksiyonlarında, enflamasyonda ve morfolojide değişikliklere yol açtığını ve aynı zamanda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ve oksidatif hasarın artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Zhang ve diğ. (2014) ise farelere 7 gün boyunca 6'şar saat FA inhale ettirmişler ve yaptıkları deneyde hayvan idrarlarında hippurik asit ile sinamoil glisin tespit etmişlerdir. Ayrıca bunların FA maruziyetinde böbrek dejenerasyonu için biyobelirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tang ve diğ. 2013 yılında ratlara cerebroventricular aralığa FA enjekte ederek yaptıkları deneyde FA'nın öğrenme ve hafızada bozulmaya yol açtığını, hippocampus nöronlarında apoptoz artışı ve lipid peroksidasyonunda bozulmalar olduğunu göstermişlerdir. FA, endojen H2S oluşumunu azaltarak ve oksidatif stres, apoptoz ve daha fazla doku hasarını artırarak nöronal hasara neden olur. Epidemiyolojik veriler histoloji teknisyenlerinde uzun süre FA'ye maruz kalmanın nörobilişsel ve nöro-davranışsal bozulmaya neden olabileceğini ileri sürmektedir (Li 2016). Bununla birlikte; uzun süreli yüksek doz FA maruziyetinin nörodejeneratif bozukluklara neden olabileceğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Kilburn 1994).

FA'in MSS üzerine etkisinde; BDNF'nin aşağı regülasyona uğradığı gösterilmiş ve bunun depresyon patofizyolojisine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca; "Yin-yang Neurotrophin Hipotezi" ne göre de BDNF, TrkB ile bazal sinaptik iletimi güçlendirmek için etkileşime geçmekte olduğu ve hipokampusta uzun dönem potansiyalizasyon (Long Term Potentiation, LTP) indüksiyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. FA'nın BDNF üzerine olan dejeneratif etkisi bu sinyal yolağında bozulmalara yol açıp öğrenme sürecine negatif bir katkı sağladığı ileri sürülmüştür (Luo 2018).

Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiş olup, FA maruziyeti sonucu hipokampus dokularında BDNF açısından anlamlı farklar bulunmuştur. Bu değişim FA'nın beyin dokusuna özellikle hipokampal dokuya verdiği zararı göstermektedir. Deney grubundan elde ettiğimiz beyin dokularında hippocampus'u incelediğimizde BDNF ifadesi, gruplar arasında istatistiksel olarak farklı çıkmıştır ($p < 0,05$). Bu farkın K.G. ile D.D.G. ve Y.D.G. arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7, 4.8). Çalışmamızda beyin üç farklı doku alana ayrılmış olup kortekste de BDNF miktarına baktığımızda anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, korteks'te BDNF immünoaktivitesi anlamlı olarak farklı çıkmıştır. Çıkan farkın K.G. ile D.D.G. arasından kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.3, 4.4). Thalamus'ta BDNF immünoaktivitesi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu farkın kontrol grubu ile D.D.G. ve Y.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11, 4.12).

S100B proteini MSS lezyonlarında biyobelirteç olarak kullanılan astroglial hücrelerde bulunan kalsiyuma bağlanan asidik bir proteindir. MSS hasarlarında seruma ve beyin omurilik sıvısına (BOS) çıkan yarılanma ömrü yaklaşık 2 saat olan bir proteindir. Çalışmamızda farklı beyin dokularında S100B proteinine baktığımızda, FA maruziyeti olan

deney gruplarında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Korteks'teki S100B immünoaktivitesine baktığımızda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0,05$). Elde ettiğimiz bu farkın Y.D.G. ile K.G. ve D.D.G. arasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9, 4.10). Elde edilen bu veriler literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Thalamus'ta S100B ekspresyonu incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu farkın D.D.G. ile Y.D.G. arasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11, 4.12).

Hipokampus'e baktığımızda da gruplar arasında S100B immünoaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,05$). Bu farkın Y.D.G. ile D.D.G. arasında olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.13, 4.14). Beyinde korteks, thalamus ve hipokampus dokuları için ayrı ayrı S100B immünohistokimya analizi yapıldığında yüksek doz FA maruziyetinin her üç dokuda da diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

Tong ve diğ. (2012) endojen formaldehit fazlalığının yaşa bağlı hafıza azalmasında patojenik bir faktör olacağını rapor etmişlerdir. Aşırı formaldehitin NMDA reseptörünü bloke ederek hipokampal LTP'yi baskıladığını ve aynı zamanda NMDA reseptörünün ekspresyonunu azaltarak uzamsal bellek bozulmasını indüklediğini belirtmişlerdir.

Li ve diğ. (2010) FA'nın hipokampus ve bulbus olfactorius üzerine etkisini incelediklerinde; hipokampus nöronları ve bulbus olfactorius'ta morfolojik değişiklikler oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Bu değişimlerde FA'nın nöron hücrelerinde Glu, GABA ve NOS gibi nöromediatörler üzerine etkisinin olduğunu ve bu moleküllerin genomik ifadelerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Bu değişimlerin olmasının öğrenme ve hafızayı bozabileceğini ileri sürmüşlerdir. Fujimaki H. ve diğ. düşük doz FA maruziyetinin hipokampus'te NGF (nöron büyüme faktörü) düzeylerini arttığını göstermişlerdir. Liu ve Bai (2005) formaldehitin aşırı maruz kalmasının, korteks nöronlarında sitokrom oksidaz aktivitesini azalttığını ve bununda hücresel enerji metabolizmasını bozduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde FA'nın nörodejeneratif etkisini araştıran diğer bir çalışmada da Hayashi ve diğ. (2003) uzun süreli düşük doz formaldehit maruziyetinin, bulbus olfactorius'taki nöron fonksiyonlarını etkileyebileceğini göstermişlerdir.

FA maruziyetinin süresi ve dozu oldukça önemlidir. Endojen olarak üretilen FA üzerine yapılan çalışmada, literatürde gösterilen maruziyet çalışmalarını aksine düşük yoğunlukta bulunan endojen FA'in sıçan hipokampusünde hücre dışına doğru K +

akımlarının inhibe edildiğini göstermişlerdir. Bu sayede endojen FA'nın nöronal apoptozu bastırıldığını belirten çalışmalar da mevcuttur (Liu ve diğ. 2011)

Liu ve diğ. (2010) çalışmalarında; FA'e maruz kalan sıçanların hafıza ve öğrenmelerinin bozulduğunu ancak hippocampus'teki nöronların sayı ve morfolojilerinde değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Aynı ekibin (2009) yaptıkları başka bir çalışmada ise FA'nın frontal cortex'teki sinaptozomlarda dopamin artışına ve 5HT'nin azalmasına sebep olduğu ve bu nedenle hayvanlarda agresif davranışların gözlemlendiğini rapor etmişlerdir.

Liu ve diğ (2018) erken evre alzheimer hastalığı benzeri değişikliklerin gelişiminin arkasındaki toksisite mekanizmalarını araştırmak için kan-beyin bariyerinin (BBB) geçirgenliği, astrosit ve mikroglia aktivasyonu, oksidatif stres (OS) oluşumu ve inflamasyon süreçlerini analiz etmişlerdir. BBB' de bozulmalar olduğu, astrosit ve glial hücrelerde biyokimyasal değişimler gerçekleştiğini göstermişlerdir. Düşük düzey FA konsantrasyonuna (0.155 mg / kg / gün) maruz kalan fare beyni üzerinde çok az olumsuz etkisi olmuştur veya hiç etkisi olmamıştır. Fakat Tau agregatları oluşumu gösteren transgenik hayvanlar ile yapılan başka bir çalışmada; Li ve diğ. (2007), FA maruziyeti ile alzheimer yatkınlığı olan hayvanların beyin dokularında apoptozun arttığını göstermişler ve beyin içi tau birikimde artış tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda literatürle benzer şekilde FA maruziyeti ile apoptotik indeks arasında bağlantı kurulmuştur. Beyin dokusu apoptoz açısından incelendiğinde FA maruziyeti ile hücre ölümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Deney grubu hayvanlarından elde edilen thamus ve hipokampuste apoptoz açısından artışlar tespit edilmiştir. Thalamus'taki apoptotik indeks değerlerinin istatistiksel analizi yapıldığında kontrol grubuna göre FA soluyan her iki gruptaki apoptotik hücre artışı anlamlı bulunmuştur ($p<0,005$) (Çizelge 4.17, 4.18).

Hem düşük hem de yüksek doz FA maruziyeti sonucu hippocampus bölgesinde gözlenen apoptotik hücrelerin indeks değerlerinin istatistiksel analizinde aynı şekilde D.D.G. ve Y.D.G.'da kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.19, 4.20).

FA proteinler ile çapraz bağlar oluşturan aldehit grubu bir moleküldür. Kronik maruziyet sonucu literatürün de desteklediği üzere organizmada dejeneratif etkiler oluşturmaktadır. Çalışmamızda serumda gruplar arasında doza bağımlı anlamlı bir farklılık bulunmamasına karşın; beyin dokularında (korteks, thalamus ve hipokampus), hem BDNF hem de S100B miktarlarında anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Bu farklılıklarla birlikte FA

maruziyeti dokularda apoptoz artışları oluşturmuştur. Kronik ve doza bağımlı olarak FA'nın oluşturduğu dejeneratif etkilerin çok yönlü araştırılması hücresel hasarın biyolojik mekanizmalarının belirlenmesine ve engellenmesine yönelik katkı sunabileceğini düşünmekteyiz.

5.1. Sınırlılıklar

Çalışmamızda, maddi şartlarımız elvermediği için, deney kabiniinde motorlu fan sistemi kullanamadık. Ayrıca ELISA testini desteklemek için genel kabul gören Western Blot analizini yapamadık. Bu konuları sınırlılıklarımız olarak kabul etmekteyiz.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Deney süresince yapılan ağırlık takibinde elde edilen verilerin istatistiksel analizi yapıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu farkın Y.D.G. ($239,40 \pm 35,28$ gr) ile K.G. ($266,88 \pm 12,66$ gr) ve D.D.G. ($257,29 \pm 5,42$ gr) arasında olduğu belirlendi (Çizelge 4.1, 4.2) ($p < 0,05$).

Deney sonunda hayvanlara anestezi uygularken Y.D.G. hayvanlarında istenilen etki görülmediğinden normalde verdiğimiz dozdan 2'şer ünite daha fazla vererek anestezileri sağlandı.

Cortex'te BDNF immünoreaktivitesi istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık gözlenmiştir. Çıkan farkın K.G. ile D.D.G. arasından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, 4.4) ($p < 0,05$).

Thalamus'ta BDNF immünoreaktivitesi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu farkın K.G. ile D.D.G. ve Y.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5, 4.6).

Hippocampus'u incelediğimizde BDNF ekspirasyonu, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p < 0,05$). Bu farkın K.G. ile D.D.G. ve Y.D.G. arasından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7, 4.8).

Cortex'teki S100B immünoreaktivitesinde anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu farkın Y.D.G. ile K.G. ve D.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9, 4.10).

Thalamus'ta S100B ekspresyonu incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu farkın D.D.G. ile Y.D.G. arasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11, 4.12).

Hippocampus'e baktığımızda gruplar arasında S100B immünoreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu farkın Y.D.G. ile D.D.G. arasında olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.13, 4.14).

Cortex'teki verilerin istatistiksel analizinde, hem D.D.G. hem de Y.D.G.'daki apoptotik indeks değerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.15, 4.16).

Thalamus'taki apoptotik indeks değerlerinin istatistiksel analizi yapıldığında kontrol grubuna göre FA soluyan her iki gruptaki apoptotik hücre artışı anlamlı bulunmuştur ($p < 0,005$) (Çizelge 4.17, 4.18).

Hippocampus bölgesinde gözlenen apoptotik hücrelerin indeks değerlerinin istatistiksel analizinde aynı şekilde D.D.G. ve Y.D.G.'nda K.G.'na göre anlamlı artış tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.19, 4.20).

Serumda ve dokuda yapılan elisa çalışmalarında her iki parametre için de gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.21, 4.22, 4.23, 4.24).

Çalışmamızda, BDNF immünreaktivitesi cortex cerebri, thalamus ve hippocampus bölgelerinde sağlıklı beyin dokusunda daha yüksek bulunmuştur. Cortex cerebri'de sadece D.D.G. ile arasında anlamlı farklılık bulunmasına karşın, thalamus ve hippocampus'te her iki deney grubu ile arasında farklılık tespit edilmiştir. Cortex cerebri, thalamus ve hippocampus bölgelerinde ise Y.D.G.'nda S100B ekspirasyonu daha yüksek bulunmuştur. Bu hasar thalamus ve hippocampus'te sadece D.D.G. ile arasında anlamlı bulunsa da cortex cerebri'de hem K.G. hem de D.D.G. ile arasında anlamlı bulunmuştur. Apoptotik hücre sayısı da beklendiği üzere FA inhale ettirilen dozla uyumlu bir şekilde artmıştır. Böylece FA'nın beyin dokusu üzerindeki hasarın, nöronal ölümün yanısıra protein düzeyinde de olabileceği gösterilmiştir. FA'nın beyin dokusu üzerinde ciddi hasara yol açabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Alatas ÖD, Gürger M, Ateşçelik M. Neuron-Specific Enolase, S100 Calcium-Binding Protein B, and Heat Shock Protein 70 Levels in Patients With Intracranial Hemorrhage Medicine. 2007; 94(45) DOI: 10.1097/MD.0000000000002007
- Arancio O, Chao MV. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. *Current Opinion in Neurobiology*. 2007; 17 (3): 325–30. Doi:10.1016/j.conb.2007.03.013.
- Arıcan RY. Formaldehit inhalasyonunun sıçan burun mukozasındaki hücrelerarası bağlantı kompleksleri üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005.
- Arici S, Karaman S, Dogru S ve diğ. Central nervous system toxicity after acute oral formaldehyde exposure in rabbits: An experimental study. *Human & Experimental Toxicology*. 2014; 33(11), 1141–1149. <https://doi.org/10.1177/0960327113514098>
- Aşık G. Formaldehit maruziyeti sonucu sıçan testislerinde oluşan morfolojik değişiklikler üzerine üzüm çekirdeği ekstraktının (vitis vinifera) koruyucu etkisi. Yüksek lisans tezi. Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016.
- ATSDR Agency for toxic substances and disease registry toxicological profile for formaldehyde. Atlanta, GA. 1999. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp111.html> (Erişim: 7 Şubat 2019)
- Attia D, Mansour N, Taha F ve diğ. Assessment of lipid peroxidation and p53 as a biomarker of carcinogenesis among workers exposed to formaldehyde in the cosmetic industry. *Toxicology and Industrial Health*. 2016; 32(6): 1097–1105. <https://doi.org/10.1177/0748233714547152>
- Aydın S. Formaldehite maruz kalan işçilerin immün ve genetik göstergelerinin incelenmesi. Doktora tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
- Aydın S. Sıçan akciğer ve karaciğerinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasar ve irisin hormon değişimlerine karşı karnozinin etkisinin biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Doktora tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- Bakar E, Uluçam E, Cerkezayabekir A. Protective effects of proanthocyanidin and vitamin E against toxic effects of formaldehyde in kidney tissue. *Biotechnic & Histochemistry : Official Publication of the Biological Stain Commission*. 2015; 90(1), 69–78. <https://doi.org/10.3109/10520295.2014.954620>
- Bath KG, Akins MR, Lee FS. BDNF control of adult SVZ neurogenesis. *Developmental Psychobiology*. 2012; 54 (6): 578–89. Doi: 10.1002/dev.20546.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Katze C ve diğ. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008; 105 (7): 2711–16. Doi:10.1073/pnas.0711863105.
- Benraiss A, Chmielnicki E, Lerner K ve diğ. Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *The Journal of Neuroscience*. 2001; 21 (17): 6718–31.
- Boja JW, Nielsen JA, Foldvary E. Acute low-level formaldehyde behavioural and neurochemical toxicity in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 1985; 9(5–6): 671–674.
- Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2008; 11 (8): 1169–80. Doi:10.1017/S1461145708009309.

Calkins CM, Bensard DD, Heimbach JK ve diğ. L-arginine attenuates lipopolysaccharide induced lung chemokine production. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001; 280(3): 400-408.

Chen L, Hu X, Wu H ve diğ. Over-expression of S100B protein as a serum marker of brain metastasis in non-small cell lung cancer and its prognostic value. *Pathology, Research and Practice.* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2018.11.011>

Chi YN, Zhang X, Cai J ve diğ. Formaldehyde increases intracellular calcium concentration in primary cultured hippocampal neurons partly through NMDA receptors and T-type calcium channels. *Neuroscience Bulletin.* 2012; 28(6): 715–722. <https://doi.org/10.1007/s12264-012-1284-9>

Cıftıcı G, Aksoy A, Cenesiz S. Therapeutic Role of Curcumin in Oxidative DNA Damage Caused by Formaldehyde. *Microscopy Research And Technique.* 2015; 78:391–395.

Cumhur M (Ed). Netter İnsan Anatomisi Atlası (5. Baskı). Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, 2010.

Çuğlan S. Gebe ratlarda formaldehit maruziyetinin fetusların morfolojik yapıları ile karaciğer dokusunun gelişimi üzerine zararlı etkilerinin araştırılması; chrysin'in muhtemel koruyucu rolünün incelenmesi. Yüksek lisans tezi. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.

Dadas A, Washington J, Diaz-Arrastia R ve diğ. Biomarkers in traumatic brain injury (TBI): a review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment.* 2018; 14: 2989–3000. <https://doi.org/10.2147/NDT.S125620>

Duric V, Mccarson KE. Persistent pain produces stress-like alterations in hippocampal neurogenesis and gene expression. *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society.* 2006; 7(8): 544–555. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2006.01.458>

Dwivedi Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. *Neuropsychiatric Disease and Treatment.* 2009; 5: 433–49. Doi:10.2147/ndt.s5700.

Ernfors P, Kucera J, Lee KF ve diğ. Studies on the physiological role of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in knockout mice. *The International Journal of Developmental Biology.* 1995; 39 (5): 799–807.

Erzurumlu R, Şengül G, Ulupınar E. Nöroanatomî. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2019.

Formaldehit ve Ksilen Ölçüm Standartları Hakkında Genelge, Genelge: 2014/5, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, 2014.

Guzel E, Basar M, Ocak N ve diğ. Bidirectional interaction between unfolded-protein-response key protein HSPA5 and estrogen signaling in human endometrium. *Biol Reprod.* 2011; 85(1): 121–7.

Hartree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry.* 1972; 48(2): 422-27.

Hayashi H, Kunugita N, Arashidani K ve diğ. Long-term exposure to low levels of formaldehyde increases the number of tyrosine hydroxylase-immunopositive periglomerular cells in mouse main olfactory bulb. *Brain Research.* 2004; 1007(1–2): 192–197. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.12.052>

Heck H, Casanova M, Dodd PB ve diğ. Formaldehyde (CH₂O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH₂O under controlled conditions. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1985; 46:1-3.

Hossein FS. Reelin Glycoprotein: Structure, Biology and Roles in Health and Disease. Berlin: Springer. 2008; 444: . 237–45. see the chapter "A Tale of Two Genes: Reelin and BDNF"; pp).

http://www.informatics.jax.org/searches/allele_report.cgi?_Marker_key=537&int:_Set_key=847156 (Erişim: 7 Şubat 2019)

<https://antranik.org/functional-areas-of-the-cerebral-cortex/> (Erişim: 7 Şubat 2019)

<https://formaldehit.net/> (Erişim: 7 Şubat 2019)

<https://www.mabtech.com/knowledge-center/assay-principles/elisa-assay-principle> (Erişim: 7 Şubat 2019)

IARC International agency for research on cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono88.pdf>, 39-325. (Erişim: 7 Şubat 2019)

IPCS The international programme on chemical safety. Concise international chemical assessment document (CICADS), 40. 2002. <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad40.html> (Erişim: 7 Şubat 2019)

Jiang JM, Zhou CF, Gao SL ve diğ. BDNF-trkb pathway mediates neuroprotection of hydrogen sulfide against formaldehyde-induced toxicity to PC12 cells. *Plos One*. 2015; 10(3). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0119478>

Jiang X, Tian F, Du Y ve diğ. BHLHB2 controls Bdnf promoter 4 activity and neuronal excitability. *The Journal of Neuroscience*. 2008; 28 (5): 1118–30. Doi:10.1523/JNEUROSCI.2262-07.2008.

Kaplan AS, Levitan RD, Yilmaz Z ve diğ. A DRD4/BDNF gene-gene interaction associated with maximum BMI in women with bulimia nervosa. *The International Journal of Eating Disorders*. 2008; 41 (1): 22–28. Doi:10.1002/eat.20474.

Katsnelson BA, Tamara D, Degtyareva I ve diğ. Attenuation of subchronic formaldehyde inhalation toxicity with oral administration of glutamate, glycine and methionine. *Toxicology Letters*. 2013; 220: 181–186.

Kilburn KH, Warshaw R, Boylen CT ve diğ. Pulmonary and neurobehavioral effects of formaldehyde exposure. *Archives of Environmental Health*. 1985; 40: 254-260.

Kilburn KH. Neurobehavioral impairment and seizures from formaldehyde. *Archives of Environmental Health*. 1994; 49(1): 37–44. <https://doi.org/10.1080/00039896.1994.9934412>

Kilic S, Yuksel B, Lortlar N ve diğ. Environmental tobacco smoke exposure during intrauterine period promotes granulosa cell apoptosis: a prospective, randomized study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012; 25(10): 1904–8.

Knierim JJ. The hippocampus. *Current Biology*. 2015; 25(23): 1116–1121. <https://doi.org/10.1016/j.CUB.2015.10.049>

Kumaria A, Lim YX, Newell AH ve diğ. Formaldehyde-Induced Genome Instability is Suppressed by an XPF-dependent Pathway. *DNA Repair (Amst)*. 2012; 11(3): 236–246. doi:10.1016/j.dnarep.2011.11.001.

Lai LJ, Hsu WH, Wu AM ve diğ. Ocular injury by transient formaldehyde exposure in a rabbit eye model. *Plos One*. 2013; 8(6): e66649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066649>

Li G, Yang J, Ling S. Formaldehyde exposure alters mirna expression profiles in the olfactory bulb. *Inhalation Toxicology*. 2015; 27(8): 387–393. <https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1062580>

Li HL, Wang HH, Liu SJ ve diğ. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing beta-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(9):3591-6.

Li Y, Song Z, Ding Y ve diğ. Effects of formaldehyde exposure on anxiety-like and depression-like behavior, cognition, central levels of glucocorticoid receptor and tyrosine hydroxylase in mice. *Chemosphere*. 2016; 144: 2004–2012. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.102>

Li YQ, Chen HH, Yin YF ve diğ. Formaldehyde inhalation may damage olfactory bulb and hippocampus in rats. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2010; 39(3): 272-7.

- Liu P, Guo J, Qi Z. Formaldehyde suppresses neuronal apoptosis via inhibition of outward K(+) currents in rat hippocampus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2011; 89(11): 837–844. <https://doi.org/10.1139/y11-083>
- Liu T, Bai XT. Effect of formaldehyde on energy metabolism in postnatal rat cortex neurons in culture. *Wei Sheng Yan Jiu = Journal of Hygiene Research*. 2005; 34(3); 275–277.
- Liu X, Zhang Y, Wu R ve diğ. Acute formaldehyde exposure induced early Alzheimer-like changes in mouse brain. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2018; 28(2): 95–104.
- Luo L, Li C, Du X ve diğ. Effect of aerobic exercise on BDNF/probdnf expression in the ischemic hippocampus and depression recovery of rats after stroke. *Behavioural Brain Research*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.037>
- Maeshima S, Osawa A. Thalamic Lesions and Aphasia or Neglect. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2018; 18(7): 39. <https://doi.org/10.1007/s11910-018-0844-4>
- Maina G, Rosso G, Zanardini R, Bogetto F, Gennarelli M, Bocchio-Chiavetto L (April 2010). "Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in drug-naïve obsessive-compulsive patients: a case-control study". *Journal of Affective Disorders*. 122 (1–2): 174–78. Doi:10.1016/j.jad.2009.07.009.
- Mandel AL, Ozdener H, Utermohlen V (July 2009). Identification of pro- and mature brain-derived neurotrophic factor in human saliva". *Archives of Oral Biology*. 54 (7): 689-95. Doi:10.1016/j.archoralbio.2009.04.005.
- Marchi N, Angelov L, Masaryk T ve diğ. Seizure-promoting effect of blood–brain barrier disruption. *Epilepsia*. 2007; 48 (4): 732–42. Doi:10.1111/j.1528-1167.2007.00988.x.
- Mason DY ve Sammons R. Alkaline phosphatase and peroxidase for double immunoenzymatic labelling of cellular constituents. *Journal of Clinical Pathology*. 1978; 31: 454-460.
- Matsuoka T, Takaki A, Ohtaki H ve diğ. Early changes to oxidative stress levels following exposure to formaldehyde in ICR mice. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2010; 35(5): 721–730.
- Mercader JM, Fernández-Aranda F, Gratacòs M ve diğ. Blood levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with several psychopathological symptoms in anorexia nervosa patients. *Neuropsychobiology*. 2007; 56 (4): 185–90. Doi:10.1159/000120623.
- Miterko LN, Lackey EP, Heck DH ve diğ. Shaping Diversity Into the Brain's Form and Function. *Frontiers in Neural Circuits*. 2018; 12: 83. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00083>
- Moon IS, Lee HS, Park SD ve diğ. Immunonucleochemistry: a new method for in situ detection of antigens in the nucleus of cells in culture. *Cytotechnology*. 2010; 62:83–93. <https://doi.org/10.1007/s10616-010-9266-0>
- Nakane PK ve Pierce GB. Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *Journal Of Cell Biology*. 1967; 33: 307-18.
- Nie CL, Wei Y, Chen X ve diğ. Formaldehyde at low concentration induces protein tau into globular amyloid-like aggregates in vitro and in vivo. *Plos One*. 2007; 2(7): e629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000629>
- OECD Organisation for economic cooperation and development-screening information data set. 2009. <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/44098118.pdf> (Erişim: 7 Şubat 2019)
- OSHA Occupational Safety and Health Administration. Formaldehyde Standard; Extension of the Office of Management and Budget's (OMB) Approval of Information Collection (Paperwork) Requirements. 2010. <https://www.osha.gov/laws-regs/interlinking/standards/1910.1048>. (Erişim: 7 Şubat 2019)
- Patapoutian A ve Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Current Opinion in Neurobiology*. 2001; 11 (3): 272–80. Doi:10.1016/S0959-4388(00)00208-7.

- Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ ve diğ. Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *The Journal of Neuroscience*. 2001; 21 (17): 6706–17.
- Ramos CO, Nardeli CR, Campos KKD ve diğ. The exposure to formaldehyde causes renal dysfunction, inflammation and redox imbalance in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology : Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*. 2017; 69(6), 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2017.02.008>
- Ramos-Vara JA. Technical Aspects of Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. 2005; 42 (4): 405–426. Doi:10.1354/vp.42-4-405.
- Rençber S, Ozbek S, Eraldemir C ve diğ. Effect of resveratrol and metformin on ovarian reserve and ultrastructure in PCOS: an experimental study. *Journal of Ovarian Research*. 2018; 11(1): 55. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0427-7>
- Saito A, Tanaka H, Usuda H ve diğ. Characterization of skin inflammation induced by repeated exposure of toluene, xylene, and formaldehyde in mice. *Environmental Toxicology*. 2011; 26(3), 224–232. <https://doi.org/10.1002/tox.20547>
- Salthammer T, Mentese S, Marutzky R. Formaldehyde in the Indoor Environment Chemical Reviews. 2010; 110(4); 2536–2572.
- Sargon MF. Anatomi Akıl Notları (1. Baskı). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2016.
- Standring S (Ed). Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. 41th edition, Elsevier Health Sciences, 2016.
- Szuhany KL, Bugatti M, Otto MW. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *Journal of Psychiatric Research*. 2015; 60: 56–64. Doi:101016/j.jpsychires.2014.10.003.
- Tang XQ, Ren YK, Chen RQ ve diğ. Formaldehyde induces neurotoxicity to PC12 cells involving inhibition of paraoxonase-1 expression and activity. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 2011; 38(4): 208–214. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2011.05485.x>
- Tang XQ, Ren YK, Zhou CF ve diğ. Hydrogen sulfide prevents formaldehyde-induced neurotoxicity to PC12 cells by attenuation of mitochondrial dysfunction and pro-apoptotic potential. *Neurochemistry International*. 2012; 61(1): 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.04.011>
- Tang XQ, Zhuang YY, Zhang P ve diğ. Formaldehyde impairs learning and memory involving the disturbance of hydrogen sulfide generation in the hippocampus of rats. *Journal of Molecular Neuroscience : MN*. 2013; 49(1): 140–149. <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9912-4>
- Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB ve diğ. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron*. 1998; 20 (4): 709–26. Doi:10.1016/s0896-6273(00)81010-7.
- Tong Z, Han C, Luo W ve diğ. Accumulated hippocampal formaldehyde induces age-dependent memory decline. *Age (Dordrecht, Netherlands)*. 2013; 35(3): 583–596. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9388-8>
- Tong Z, Zhang J, Luo W ve diğ. Urine formaldehyde level is inversely correlated to mini mental state examination scores in senile dementia. *Neurobiology of Aging*. 2011; 32(1): 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.07.013>
- Ünsaldı E, Çiftçi MK. Formaldehit,Kullanım Alanları,Risk Grubu,Zararlı Etkileri ve Koruyucu Önlemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2010; 21(1): 71–75.
- Viegas S, Ladeira C, Nunes C, ve diğ. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: A study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2010; 5:25.

- Wang DD, Bordey A. The astrocyte odyssey. *Prog. Neurobiol.* 2008; 86 (4): 342–67. Doi:10.1016/j.pneurobio.2008.09.015.
- Winkler KW. Formaldehyde Exposures in a University Anatomy Laboratory. Thesis (MS). The University of Toledo, 2011.
- Xu P, Wang K, Lu C ve diğ. Protective effects of linalool against amyloid beta-induced cognitive deficits and damages in mice. *Life Sciences.* 2017; 174: 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.02.010>
- Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/trkb signaling in memory processes. *Journal of Pharmacological Sciences.* 2003; 91 (4): 267–70. Doi:10.1254/jphs.91.267.
- Yin JB, Wu HH, Dong YL ve diğ. Neurochemical properties of BDNF-containing neurons projecting to rostral ventromedial medulla in the ventrolateral periaqueductal gray. *Frontiers in Neural Circuits.* 2014; 8: 137. <https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00137>
- Zajac MS, Pang TY, Wong N ve diğ. Wheel running and environmental enrichment differentially modify exon-specific BDNF expression in the hippocampus of wild-type and pre-motor symptomatic male and female Huntington's disease mice. *Hippocampus.* 2010; 20 (5): 621–36. Doi:10.1002/hipo.20658.
- Zeev BB, Bebbington A, Ho G ve diğ. The common BDNF polymorphism may be a modifier of disease severity in Rett syndrome. *Neurology.* 2009; 72 (14): 1242–47.
- Zhang Q, Yan W, Bai Y ve diğ. Repeated formaldehyde inhalation impaired olfactory function and changed SNAP25 proteins in olfactory bulb. *International Journal of Occupational and Environmental Health.* 2014; 20(4), 308–312. <https://doi.org/10.1179/2049396714Y.0000000079>
- Zheng F, Wang H. NMDA-mediated and self-induced bdnf exon IV transcriptions are differentially regulated in cultured cortical neurons. *Neurochemistry International.* 2009; 54 (5–6): 385–92. Doi: 10.1016/j.neuint.2009.01.006.
- Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ ve diğ. Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Molecular and Cellular Neurosciences.* 1998; 11 (4): 234–45. Doi:10.1006/mcne.1998.0684.
- Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neurology.* 2009; 5(6): 311–22. Doi:10.1038/nrneurol.2009.54.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı soyadı: Rabia TAŞDEMİR

Doğum yeri ve tarihi: Afyonkarahisar- 08/02/1983

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı,
Umuttepe Kampüsü, İzmit-KOCAELİ. 0262.3037044

2. Eğitim Bilgileri

Lisans: Selçuk Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü

Yüksek lisans: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi (Tıp) Anabilim Dalı

Doktora: Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı

Yabancı Dil: İngilizce

3. Mesleki Deneyimi

Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi- Hemşire (2005-2006) ANKARA

Dinar Devlet Hastanesi- Hemşire(2006-2007) AFYONKARAHİSAR

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi- Hemşire (2007-2008) İSTANBUL

Paşabahçe Devlet Hastanesi- Hemşire (2008-2010) İSTANBUL

Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu- Öğretim
Görevlisi (2010-2011) KARAMAN

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi- Arş. Gör. (2011- Devam ediyor) KOCAELİ

4. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Anatomi ve Klinik Anatomi Derneği

5. Aldığı Kurslar

Deney hayvanları kursu, Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi (DETAB), Kocaeli
Üniversitesi, 2015.

Radyolojiye Giriş Kursu (Kocaeli Üniversitesi), 4-8 Mayıs 2015.

Beyin ve Fibril Diseksiyon Kursu (Ege Üniversitesi- TAKAD), İzmir, 30 Haziran- 2
Temmuz 2017.

SPM ve Web Tabanlı Sistemler Kullanılarak Beyin ile İlgili Yapıların Hacimlerinin
Hesaplanması ve DTI ile Traktografi kursu (Turcosa), 21- 22 Ekim 2017.

Makale ve Tez Yazımı kursu (Kocaeli Üniversitesi), 10 Kasım 2017.

Psikiyatrik bozuklukların mekanizmaları ve deney hayvanlarında modellenmesi kursu (TÜBİTAK Martek), 23- 24 Aralık 2017.

6. Bilimsel Etkinlikler

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. ÖRS ABDULLAH, BAMAÇ BELGİN, SİVRİ İSMAİL, TAVAS OZAN, AKSU ELİF, **TAŞDEMİR RABİA**, ÇOLAK SERAP, ÇOLAK TUNCAY, BİNAY GÜLÜZAR (2018). Determination Of Knowledge Levels On Traditional And Complementary Medical Applications Of Medical Students. TOJET: The Turkish Online Journal of Educational Technology, 359-365.
2. ÖRS ABDULLAH, ÇOLAK TUNCAY, BAL ERDAL, ÇOLAK SERAP, SİVRİ İSMAİL, **TAŞDEMİR RABİA**, YENER MEHMET DENİZ, GÜZELORDU DİLŞAT, AKSU ELİF, BAMAÇ BELGİN, MEDİŞOĞLU SABRİ (2018). “Determining the Relationship Between Anthropometric, Physical and Muscle Strength Parametres of The Amateur Boxing Athletes”. International Journal of Current Research, 10(5), 69133-69137
3. BAMAÇ BELGİN, YENER MEHMET DENİZ, ÇOLAK TUNCAY, **TAŞDEMİR RABİA**, AKSU ELİF, GÜZELORDU DİLŞAT, SİVRİ İSMAİL, ÖRS ABDULLAH, ÇOLAK SERAP (2018). Evaluation of attitudes and knowledge of Kocaeli University medical students on dissection, brain death and organ donation. Anatomy, 12(1), 45-48., Doi: 10.2399/ana.18.021
4. BAMAÇ BELGİN, ÇOLAK SERAP, ÇOLAK TUNCAY, ERALDEMİR FATMA CEYLA, ÇOLAK ENİS, SU NİHAN, MARAL KIR HALE, **TAŞDEMİR RABİA**, AKSU ELİF, SON MURAT (2018). RELATIONSHIP BETWEEN SERUM 25-HYDROXYVITAMIN D CONCENTRATION AND CONCENTRIC ISOKINETIC KNEE STRENGTH IN PROFESSIONAL FEMALE FUTSAL PLAYERS. PONTE International Scientific Researchs Journal, 74(2), Doi: 10.21506/j.ponte.2018.2.13
5. SİVRİ İSMAİL, ÇOLAK TUNCAY, YENER MEHMET DENİZ, GÜZELORDU DİLŞAT, AKSU ELİF, **TAŞDEMİR RABİA**, BAMAÇ BELGİN, ÖRS ABDULLAH, ÇOLAK SERAP (2017). The Effect of Publishing Anatomy Laboratory Videos Online on Success of the Students at School of Medicine. TOJET: The Turkish Online Journal of Educational Technology, 314-319.
6. AKSU ELİF, YENER MEHMET DENİZ, ÇOLAK TUNCAY, **TAŞDEMİR RABİA**, BAMAÇ BELGİN, ÇOLAK SERAP, GÜZELORDU DİLŞAT, SİVRİ İSMAİL, ÖRS ABDULLAH (2017). The evaluation of attitudes of nursing students about cadaver and organ donation. TOJET: The Turkish Online Journal of Educational Technology, 363-368.
7. ÇOLAK TUNCAY, BAMAÇ BELGİN, **TAŞDEMİR RABİA**, YENER MEHMET DENİZ, GÜZELORDU DİLŞAT, SİVRİ İSMAİL, AKSU ELİF, ÖZBEK AYDIN (2016). The Nursing Students Metaphors About Education of Anatomy. SHS Web

8. ÇOLAK SERAP,GÜZELORDU DİLŞAT,ÇOLAK TUNCAY,BAMAÇ BELGİN BELGİN BAMAÇ, SİVRİ İSMAİL,ÇOLAK ENİS,AKSU ELİF,**TASDEMİR RABİA**,TEKİN ORHA Ayla ,SON MURAT (2016). THE RELATIONSHIP AMONG STATISTICS SELF EFFICACY SCORES DEMOGRAFIC CHARACTERISTICS AND EDUCATION LEVEL OF POSTGRADUATE STUDENTS MASTERS DEGREE PHD DEGREE. The Turkish Online Journal of Educational Technology
9. ÇOLAK TUNCAY, SİVRİ İSMAİL, YENER MEHMET DENİZ, GÜZELORDU DİLŞAT, **TASDEMİR RABİA**, AKSU ELİF, BAMAÇ BELGİN, ÇOLAK SERAP (2016). Investigating The Anatomy Education Self Efficacy Beliefs Of The Students Of Biomedical Instrumnet Technology Program. TOJET- The Turkish Online Journal of Educational Technology
- 10 **TASDEMİR RABİA**, SİVRİ İSMAİL, GÜZELORDU DİLŞAT, YENER MEHMET DENİZ, AKSU ELİF, ÇOLAK SERAP, BAMAÇ BELGİN, ÇOLAK TUNCAY (2016). Determination of nursing students self efficacy belief levels in anatomy lectures. SHS web of conferences
- 11 ÇOLAK SERAP, YENER MEHMET DENİZ, ÇOLAK ENİS, **TASDEMİR RABİA**, ÇOLAK TUNCAY, BAMAÇ BELGİN,SON MURAT (2016). The postgraduate students master PhD metaphors about education of statistic. SHS WEB OF CONFERENCES
- 12 ÇOLAK SERAP, GÜZELORDU DİLŞAT, YENER MEHMET DENİZ, **TASDEMİR RABİA**, DEVECİ TOPAL ARZU, BAMAÇ BELGİN, ÇOLAK TUNCAY (2016). Metaphors About Computer Education of First Year Nursing Students. SHS Web of Conference
- 13 **TASDEMİR RABİA**, ÇOLAK SERAP, SİVRİ İSMAİL,YENER MEHMET DENİZ,GÜZELORDU DİLŞAT,ÇOLAK TUNCAY,BAMAÇ BELGİN,gazmend rahova (2015). THE COMPARISON OF SELF EFFICACY BELIEFS OF ANATOMY BETWEEN THE FIRST AND THE SECOND CLASS STUDENTS IN MEDICAL SCHOOL. Turkish Online Journal of Educational Technology



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2016 /4 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Ratlarda Formaldehit İnhalasyonunun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkisinin Morfolojik ve Biyokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNvani/ADI KURUMU	Prof.Dr. Tuncay ÇOLAK/ KOÜ Tıp Fak Anatomisi AD
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Arş.Gör. Rabia TAŞDEMİR, Prof.Dr. Süreyya CEYLAN, Yrd.Doç.Dr. Ceyla ERALDEMİR
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır.	
	KARAR NO: KOÜ HADYEK2/5 -2016	KARAR TARİHİ: 16.02.2016

ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili, Raportör	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Hayvanları Araştırma Birimi, Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Ülkem CİLASUN Üye	KOU Dış Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	KOU Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Murat KASAP Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt ÖZER Üye	KOU Deneysel Hayvanları Araştırma Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

EK 10. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

19 / 02 / 2019

Prof.Dr. Tuncay ÇOLAK

İmza