

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**GEBELİK SÜRESİNCE UYGULANAN AKRİLAMİDİN  
FETAL BEYİN GELİŞİMİNE VE POSTNATAL BİLİŞSEL  
FONKSİYONLARA ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE E  
VİTAMİNİNİN KORUYUCU ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Zeynep AKSUNGUR  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ**

**MALATYA – 2018**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**GEBELİK SÜRESİNCE UYGULANAN  
AKRİLAMİDİN FETAL BEYİN GELİŞİMİNE VE  
POSTNATAL BİLİŞSEL FONKSİYONLARA  
ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE E VİTAMİNİNİN  
KORUYUCU ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Zeynep AKSUNGUR  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ**

**MALATYA - 2018**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	iii
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET.....	vi
ABSTRACT .....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ .....	xviii
1. GİRİŞ .....	19
2. GENEL BİLGİLER .....	21
2.1. FETUSTA MORFOLOJİK GELİŞİM .....	21
2.2. FETAL BEYİN GELİŞİMİ.....	22
2.2.1. Sinir Sisteminin Kökeni.....	22
2.2.1.1. Nörolasyon .....	23
2.2.1.2. Beyin gelişimi .....	25
2.2.2. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) .....	25
2.2.2.1. Nöronal plastisite .....	25
2.2.2.2. Beyin kaynaklı körotrofik faktör (BDNF) Nedir? .....	26
2.2.2.2.1. BDNF geni ve düzenlenmesi.....	27
2.2.2.2.2. Santral sinir sisteminde BDNF'nin dağılımı .....	29
2.2.2.2.3. BDNF'nin etki mekanizması.....	30
2.2.2.2.4. Oksidatif stresin BDNF ve beyin üzerine olan etkileri .....	31
2.3. RATLARDA SİNİR SİSTEMİNİN KÖKENİ VE ANATOMİK YAPISI.....	32
2.4. HİPOKAMPUS .....	33
2.5. AKRİLAMİDİN KİMYASAL YAPISI ve İLGİLİ ARAŞTIRMALARIN TARİHÇESİ .....	38
2.5.1. Akrilamidin kimyasal olarak oluşumu.....	39
2.5.2. Gıda kaynaklı akrilamidin oluşumu.....	41
2.5.3. Akrilamidin gıdalarda bulunuşu .....	42
2.5.4. Besinlerin işlenmesi sırasında oluşan akrilamidi azaltma yolları.....	45
2.5.5. Akrilamidin toksik etkileri.....	46

2.5.6. Akrilamidin fetal hayat üzerindeki etkileri.....	47
2.6. E VİTAMİNİNİN KİMYASAL YAPISI.....	48
2.6.1. E vitamini'nin metabolizması.....	49
2.6.2. E vitamininin antioksidan etki mekanizması.....	49
2.6.3. E vitamininin nöroprotektif etkisi.....	50
2.6.4. E vitamini içeren gıdalar.....	51
3. MATERYAL ve METOT.....	52
3.1. HİPOTEZ.....	52
3.2. ARAŞTIRMANIN TÜRÜ.....	52
3.3 ARAŞTIRMANIN EVRENİ ve ÖRNEKLEM BÜYÜKLÜĞÜ.....	52
3.4. DENEY GRUPLARI.....	53
3.5. DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ.....	55
3.5.1. Morfolojik Yapı ve Gelişim Parametreleri Değerlendirme Yöntemi.....	55
3.5.2. Histolojik İnceleme Yöntemi.....	55
3.5.3. Biyokimyasal Analizler.....	56
3.5.3.1. Dokuların biyokimyasal analizlere hazırlanması.....	56
3.5.3.2. Redükte glutatyon (GSH) düzeyinin ölçümü.....	56
3.5.3.3. Malondialdehid (MDA) düzeyinin ölçümü.....	56
3.5.3.4. Total oksidan kapasitenin (TOK) ölçümü.....	56
3.5.3.5. Total antioksidan kapasitenin (TAK) ölçümü.....	57
3.5.3.6. BDNF düzeylerinin ölçümü.....	57
3.5.4. Morris Water Maze testi (Morris'in su tankı testi).....	57
3.5.5. İstatiksel Analizler.....	58
3.5.6. Genetik Analizler.....	58
3.5.6.1. Kullanılan kimyasal malzemeler, alet ve gereçler.....	58
3.5.6.2. Moleküler analizler.....	59
3.5.6.2.1. Dokudan RNA saflaştırılması.....	59
3.5.6.2.2. cDNA sentez protokolü.....	60
3.5.6.2.3. Gerçek zamanlı PCR protokolü.....	61
4. BULGULAR.....	63
4.1. MORFOLOJİK YAPI VE GELİŞİM PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	63

4.1.1. Grupların Gelişim Parametrelerine Ait Bulgular .....	64
4.1.2. Grupların Fetus Ağırlıklarının Karşılaştırılması.....	64
4.1.3. Grupların CRL mesafelerinin karşılaştırılması.....	65
4.1.4. Grupların plasenta ağırlıklarının karşılaştırılması .....	66
4.1.5. Grupların fetal beyin ağırlıklarının karşılaştırılması .....	66
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR .....	67
4.2.1. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	69
4.2.3. Grupların TOK düzeylerinin karşılaştırılması .....	70
4.2.4. Grupların TAK düzeylerinin karşılaştırılması .....	71
4.2.5. Grupların BDNF düzeylerinin Karşılaştırılması.....	72
4.3. GRUPLARIN BDNF GEN EKSPRESYONU DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI .....	74
4.3.1. Fetus Beyin Dokusu Tanımlayıcı İstatistik Verileri .....	74
4.3.2. Postnatal Erkek Yavru Beyin Dokusu Tanımlayıcı İstatistik Verileri.....	75
4.4. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	76
4.4.1. Kontrol Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	82
4.4.2. Mısır Yağı Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	84
4.4.3. E Vitamini Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	86
4.4.4. Akrilamid Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	87
4.4.5. Akrilamid + E vitamini Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	89
4.4.6. Kontrol Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	90
4.4.7. Mısır Yağı Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	92
4.4.8. E Vitamini Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	93
4.4.9. Akrilamid Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	95
4.4.10. Akrilamid + E Vitamini Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular .....	96
4.5. WATER MAZE TESTİ ANALİZ BULGULARI.....	98

5. TARTIŞMA .....	101
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	113
KAYNAKLAR .....	114
EKLER.....	127
EK 1:Özgeçmiş ve Yayın Listesi .....	127
EK 2: Çalışmada kullanılan rat fetuslarına ait ağırlık, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlık ölçümleri .....	129
EK 3: Etik kurul onay sayfası.....	130



## TEŞEKKÜR

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

Tıbbi Biyokimya A.D.'nin öğretim üyelerine,

İstatistiksel analizler konusundaki desteklerinden dolayı Yard. Doç. Dr. Harika GÖZÜKARA BAĞ'a, histolojik analizler sırasında yardım ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Mehmet GÜL'e,

alışmalar sırasında benden yardımını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan memnuniyet duyduğum; Tıbbi Biyokimya A.D.'nin asistan ve tüm çalışanlarına içtenlikle teşekkür ederim.

Yaşamımın her alanında ve her anında olduğu gibi eğitim hayatımda da destek ve sabırlarını esirgemeyen aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Bu araştırmayı 2016/193 nolu proje ile destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

## ÖZET

### **Gebelik Süresince Uygulanan Akrilamidin Fetal Beyin Gelişimine ve postnatal bilişsel fonksiyonlara etkisinin İncelenmesi ve E Vitamininin Koruyucu Rolünün Araştırılması**

**Giriş ve Amaç:** Gıdaların yüksek sıcaklıklarda kızartılması ve fırınlanması sonucu bol miktarda akrilamid oluşmakta ve bu gıdaları tüketen insanlar her gün belli miktarlarda akrilamide maruz kalmaktadırlar. Gebe kadınlarda gebelik boyunca gıda kaynaklı akrilamide maruz kalmakta ve bebekleri muhtemelen bundan etkilenmektedir. Bu araştırmada, gebelik süresince ratlara uygulanan akrilamidin, fetal beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) düzeyleri ve beyin gelişimi üzerindeki etkilerinin mekanizmasının ortaya çıkartılması amaçlanmıştır. Fetal BDNF geninin mRNA düzeyleri ve protein seviyeleri analiz edilerek akrilamidin, BDNF sentezi üzerinde meydana getirdiği inhibitör etki/etkilerin transkripsiyonel, translasyonel yada posttranslasyonel aşamaların hangisi/hangilerinde gerçekleştiği araştırıldı ve akrilamidin nörotoksik etki mekanizması açığa çıkartılmaya çalışıldı. Bu nörotoksik etkinin E vitamini ile engellenebilirliği test edildi. Ayrıca fetal hayatta akrilamide maruz kalan yavruların, beyin gelişiminin büyük oranda tamamlandığı 8. haftadaki bilişsel fonksiyonlarının bundan etkilenip etkilenmediği araştırıldı.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamızda, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde üretilen 250 gr ağırlığında 70 adet yetişkin dişi Spraque Dawley türü rat kullanıldı. Bu araştırma için, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan etik onay alınmıştır (Onay no: 2016/ A-24). Ratlarda gebelik oluşturuldu. Gebe ratlar; Kontrol, Mısır yağı, E vitamini, Akrilamid, E vitamini+Akrilamid olmak üzere her bir grupta 12 gebe dişi olmak üzere 5 farklı gruba ayrıldı. Gebelikleri vajinal smear testi ile doğrulandı. Akrilamid çözeltisi saf suda, E vitamini çözeltisi ise mısır yağında hazırlanmıştır. Gebeliğin 1-20. günleri arasında: akrilamid ve E vitamini+akrilamid grubu ratlara 10 mg/gün/kg canlı ağırlık olacak şekilde akrilamid, E vitamini ve E vitamini+akrilamid grubu ratlara 100 mg/gün/kg canlı ağırlık olacak şekilde E vitamini ve mısır yağı grubu ratlara mısır yağı oral gavaj ile verildi. Ratlar deney süresi boyunca ad-libitum beslendiler. Gebeliğin 20. gününde her gruptaki gebe



ratların yarısından fetuslar sezeryan ile alındı. Tüm gruplardan sezeryanla elde edilen fetusların morfolojik gelişim parametreleri ölçüldü. Fetal beyin dokularında lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid, redükte glutatyon, total antioksidan kapasite, total oksidan kapasite, Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör mRNA ve protein sentez düzeyleri ölçüldü. Ayrıca parafinize edilen fetal beyin dokularında histopatolojik incelemeler yapıldı.

**Bulgular:** Kontrol grubu verileri ile deney grubu verileri karşılaştırıldığında; akrilamid uygulanan grubun fetuslarının morfolojik gelişim parametrelerinin ciddi derecede bozulduğu, fetusların beyin dokularında malondialdehid, total oksidan kapasite seviyelerinin önemli derecede arttığı, beyin-kaynaklı nörotrofik faktör, redükte glutatyon ve total antioksidan kapasite seviyelerini ise azaldığı, histopatolojik bulgu olarak nöronlarda önemli derecede dejenerasyon ve hemorajik hasarların meydana geldiği tespit edilmiştir. Fetal beyin BDNF mRNA düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta önemli derecede azalmış ve E vitamini uygulaması, akrilamidin BDNF mRNA düzeyleri üzerinde meydana getirdiği düşüşü engelleyememiştir. Akrilamid uygulaması hem fetal beyin dokusu ve hemde postnatal 8. hafta yavrularının serum BDNF düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı olmayan bir düşüşe neden olmuştur. Gebe ratlara E vitaminin akrilamidle beraber uygulanmasının, akrilamid kaynaklı fetal morfolojik gelişim parametrelerindeki bozulmayı önemli derecede düzelttiği, fetal beyin dokusunda malondialdehid, total oksidan kapasite düzeylerini önemli derecede düşürdüğü; BDNF, redükte glutatyon ve total antioksidan kapasite seviyelerini ise önemli derecede artırdığı ve tüm bunların sonucu olarak fetus beyin dokusunda meydana gelen histopatolojik doku hasarlarını önemli derecede geriletmediği ortaya konulmuştur. Fetal hayatta akrilamide maruz kalan yavruların doğum sonrası 8. haftada ölçülen bilişsel fonksiyon parametrelerinin akrilamid uygulanan gruplarda önemli derecede bozulduğu, E vitamini uygulamasının bilişsel fonksiyon parametrelerinde ciddi iyileşmeler sağladığı görülmüştür.

**Sonuç:** Akrilamid uygulamasının, fetal beyin BDNF mRNA düzeylerini anlamlı derecede düşürmüş olması, akrilamidin BDNF geni üzerindeki baskılayıcı etkisinin transkripsiyonel aşamada gerçekleşebileceğini işaret etmektedir. Akrilamid

uygulamasının postnatal 8. hafta yavrularında BDNF mRNA düzeylerinde bir düşüşe yol açmamıştır. Akrlamid uygulaması, hem fetal beyin ve postnatal 8. hafta yavrularının serum BDNF düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı olmayan bir düşüşe neden olmuştur. Akrlamidin, BDNF mRNA'sının proteine dönüşüm (translasyon) aşamasındaki baskılayıcı etkisinin çok belirgin olmadığı görülmüştür.

E vitamini uygulamasının, fetal beyin ve postnatal 8. hafta yavrularının serum BDNF düzeylerinde ve doğum sonrası yavruların 8. hafta bilişsel fonksiyon parametrelerinde ciddi derecede iyileşme sağlaması nedeni ile, gıda kaynaklı akrlamidin fetus gelişimi üzerinde meydana getireceği toksik etkileri en aza indirmek için gebe kadınların koruyucu olarak E vitamini içeren gıdaları günlük olarak yeterince tüketmesini tavsiye ediyoruz.

**Anahtar kelimeler:**Sıçan, Gebelik,Akrlamid, E vitamini,Fetus, Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör, Oksidan ve Antioksidan Parametreler, Histopatoloji

## ABSTRACT

### **Investigation of the Effects of Acrylamide on Fetal Brain Development and Postnatal Cognitive Functions and Protective Role of Vitamin E**

**Introduction and Purpose:** A liberal amount of acrylamide is produced as a result of frying or baking foods in high temperatures and individuals take certain amounts of acrylamide everyday by consuming these food items. Pregnant women are also exposed to acrylamide originating from food during pregnancy and their babies are probably affected. In this study we attempted to determine the effects of acrylamide applied to rats during pregnancy on fetal brain development and brain-derived neurotrophic factor synthesis. By analyzing the mRNA levels and protein levels of the fetal BDNF gene, it was found that BDNF synthesis and brain development damage caused by the inhibitor effect on the BDNF gene synthesis steps of the acrylamide and the mechanism of neurotoxic action of acrylamide was tried to be clarified. This neurotoxic effect was tested for inhibition by E Vitamin. We also investigated the effects of acrylamide, which is exposed in fetal life, on cognitive functions at 8 weeks when brain development is largely completed.

**Materials and Methodology:** 40 young female Wistar albino rats weighing 250 grams each that were bred in İnönü University, Faculty of Medicine, Experimental Animals Breeding and Research Center were used in the study. For this research, ethical approval was obtained from the experimental animals ethics committee of İnönü University Faculty of Medicine, Malatya, TURKEY (Approval no: 2016/ A-24). The rats were made pregnant. And then the rats were divided into five different groups of control, corn oil, vitamin E, acrylamide, and vitamin E + acrylamide with 12 pregnant rats in each group. 100 mg/kg/day body weight vitamin E dissolved in corn oil with oral gavage; 10 mg/kg/day body weight acrylamide dissolved in drinking water with oral gavage were administered to the 40 pregnant rats, which were determined as pregnant (+) by vaginal smear test, during the 1-20<sup>th</sup> days of the pregnancy. Rats were fed ad libitum during the experiment. On the 20<sup>th</sup> day of pregnancy, fetuses were removed using Caesar section in half of pregnant rats in each group. Morphological development parameters of the fetus obtained by Caesar section from all groups were measured. The levels of malondialdehyde (end-product of lipid peroxidation), reduced glutathione, total antioxidant capacity, total oxidant

capacity, and brain-derived neurotrophic factor and Brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein synthesis levels were analyzed and histopathological examinations were performed in brain tissue of the fetus obtained by Caesar section from all groups.

**Findings:** Comparison of control group and study group data indicated that acrylamide application damaged fetal development by suppressing fetal development parameters; caused degeneration in neuron structures in fetal brain tissue and caused hemorrhagic damages; dramatically decreased BDNF levels; increased malondialdehyde, total oxidant capacity levels and decreased reduced glutathione, total antioxidant capacity levels. Fetal brain BDNF mRNA levels were significantly reduced in the acrylamide-treated group compared to that in the control group, and administration of vitamin E did not prevent the decrease of acrylamide on BDNF mRNA levels. Acrylamide administration resulted in a statistically insignificant decrease in both fetal brain tissue BDNF levels and serum BDNF levels of postnatal 8<sup>th</sup> week fetuses. The administration of vitamin E together with acrylamide to pregnant rats significantly improved the deterioration of the fetal morphological development parameters of acrylamide, lowered the levels of malondialdehyde and total oxidant capacity in fetal brain tissue significantly; BDNF, reduced glutathione, and total antioxidant capacity levels were significantly increased, and all of them resulted in a significant decrease in histopathological tissue damage that occurred in fetal brain tissue. It was observed that the cognitive function parameters measured at the 8<sup>th</sup> week after birth of the infants exposed to acrylamide in fetal life significantly deteriorated in the acrylamide-treated groups and that the application of vitamin E significantly improved the cognitive function parameters.

**Result:** The fact that acrylamide administration has severely reduced fetal brain BDNF mRNA levels has shown that the inhibitory effect of acrylamide on the BDNF gene was achieved in the transcriptional stage. Acrylamide administration did not cause a decrease in BDNF mRNA levels in postnatal week 8<sup>th</sup> pups. Acrylamide administration resulted in a statistically insignificant decrease in both fetal brain tissue BDNF levels and serum BDNF levels of postnatal 8<sup>th</sup> week fetuses. The suppressive effect of acrylamide on the protein translation stage of the BDNF mRNA was not found to be significant. E vitamini administration was associated with a

significant improvement in both fetal BDNF levels and postnatal 8th week cognitive function parameters, we suggest that pregnant women consume enough vitamins containing vitamin E on a daily basis to reduce the most toxic effects of food-borne acrylamide on the development of the fetus.

**Key words:** Rat, Pregnancy, Acrylamide, Vitamin E, Fetus, Brain-Derived Neurotrophic Factor, Oxidant and Antioxidant Parameters, Histopatology



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Aa	: Amino asit
Akr	: Akrilamid
ATP	: Adenozin Trifosfat
BAD	: Bcl-2 Associated Death Promotor Protein
Bcl-2	: Apoptosis ile İlişkili Protein
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
CREB	: cAMP response element binding protein
CRL	: Tepe Oturma Noktası Ölçümü
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E/D	: Erkek/Dişi
EGCG	: Epigallokateşin-3-gallat
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	: Redükte glutatyon
H•	: Hidrojen Radikali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
MDA	: Malondialdehit
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte)
NGF	: Sinir Büyüme faktörü
NGFR	: Sinir büyüme faktör reseptörü
NO	: Nitrik oksid
NT-3	: Nörotrofin 3
NT-4	: Nörotrofin 4
O <sub>2</sub> •	: Süperoksit Radikali
RNA	: Ribonükleik Asit
ROO•	: Lipid Peroksil Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SSS	: Sentral Sinir Sistemi
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif yapılar

TOK : Total Oksidan Kapasite  
Trk : Bir nörotrofin reseptörü olan tirozin kinaz  
TÜBİTAK : Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurulu  
WHO : Dünya Sağlık Örgütü  
MWM : Morris'in Su Tankı



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Notokord Uzantısının gelişimini gösteren çizimler.....	23
Şekil 2.2. Notokord uzantısının ileri gelişimi ile notokorda dönüşümü .....	24
Şekil 2.3. Nöral tüp ve nöral kristanın oluşumu .....	25
Şekil 2.4. BDNF geninin yapısı .....	27
Şekil 2.5. BDNF gen transkripsiyonunu düzenleyen Ca <sup>++</sup> 'un aktive ettiği sinyal yolu... 29	
Şekil 2.6. İnsan ve rat beyin yapısının şematik gösterimi .....	33
Şekil 2.7. Hipokampusun intraoperatif (A) ve hipokampektomi sonrası (B) görünümü.....	34
Şekil 2.8. Diseke edilen ve deniz atına benzetilen hipokampus .....	35
Şekil 2.9. Hipokampusun ambiensistern ve temporal horn ile ilişkisi görülmektedir. ....	35
Şekil 2.10. Hipokampusun ventrikül yüzeyine doğru en dış tabakası.....	36
Şekil 2.11. Akrilamidin kimyasal yapısı.....	39
Şekil 2.12. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu.....	40
Şekil 2.13. Farklı moleküllerden akrilamid oluşum yolları .....	41
Şekil 2.14. E vitaminin kimyasal yapısı .....	49
Şekil 3.1. Araştırmada her bir gruba ait beyin doku örneklerinden saflaştırılan RNA'lar. ....	60
Şekil 3.2. "Hydrolysis Probe" kullanılarak β-aktin ve BDNF mRNA'larından sentezlenen cDNA'ların gerçek zamanlı PCR ile çoğaltım eğrisi.....	62
Şekil 3.3. β-aktin ve BDNF cDNA'larının PCR'deki çoğaltımının agaroz jel (%1,5) elektroforezi görüntüsü.....	62
Şekil 4.1. Tüm gruplardan örneklenen 20 günlük fetusların genel görünüşü. Kontrol grubu (Resim 1) ve Mısır yağı grubu (Resim 2) fetusların görünümü normal, akrilamid grubu (Resim 3) fetusların vücutlarında yaygın hemarojik alanlar mevcut, E vitamini grubu (Resim 4) ve Akrilamid + E vitamini grubu (Resim 5) fetusların görünümü normal.....	63
Şekil 4.2. Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı .....	65
Şekil 4.3. CRL mesafesinin gruplara göre dağılımı.....	65
Şekil 4.4. Plasenta ağırlığının gruplara göre dağılımı .....	66



<b>Şekil 4.5.</b> Fetal Beyin ağırlığının gruplara göre dağılımı .....	67
<b>Şekil4.6.</b> Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	69
<b>Şekil 4.7.</b> Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı .....	70
<b>Şekil 4.8.</b> Fetal beyin dokusu TOK düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	71
<b>Şekil 4.9.</b> Fetal beyin dokusu TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı .....	72
<b>Şekil 4.10.</b> Fetal beyin dokusu BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı .....	73
<b>Şekil 4.11.</b> Postnatal Erkek Yavru serum BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı. .....	74
<b>Şekil 4.12.</b> Fetüs beyin dokusunda ölçülen <i>BDNF</i> mRNA seviyelerinin gruplara göre dağılımı.....	75
<b>Şekil 4.13.</b> Postnatal Erkek yavru beyin dokusu gruplarında ölçülen <i>BDNF</i> mRNA seviyeleri. ....	76
<b>Şekil 4.14a.</b> Kontrol grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10.....	83
<b>Şekil 4.14b.</b> Kontrol grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H- E, x20.....	83
<b>Şekil 4.14c.</b> Kontrol grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40 .....	84
<b>Şekil 4.15a.</b> Mısır yağı grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10.....	84
<b>Şekil 4.15b.</b> Mısır yağı grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20 .....	85
<b>Şekil 4.15c.</b> Mısır yağı grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40 .....	85
<b>Şekil 4.16a.</b> E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10.....	86
<b>Şekil 4.16b.</b> E Vitamini grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20 .....	86
<b>Şekil 4.16c.</b> E Vitamini grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40 ....	87
<b>Şekil 4.17a.</b> Akrilamid grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız), hemorajik odak (ok başı). H-E, x10.....	87
<b>Şekil 4.17b.</b> Akrilamid grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız), hemorajik odak (ok başı). H-E, x20 .....	88

<b>Şekil 4.17c.</b> Akrilamid grubu; piknotik görünümlü nöron nukleusları (ok), hemorajik odak (ok başı), hidropik dejenerasyon ( ok başı) H-E, x40.....	88
<b>Şekil 4.18a.</b> Akrilamid+E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10 .....	89
<b>Şekil 4.18b.</b> Akrilamid+E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20.....	89
<b>Şekil 4.18c.</b> Akrilamid+E Vitamini grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40.....	90
<b>Şekil 4.19a.</b> Kontrol grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10 .....	90
<b>Şekil 4.19b.</b> Kontrol grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20 .....	91
<b>Şekil 4.19c.</b> Kontrol grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40 .....	91
<b>Şekil 4.20a.</b> Mısır yağı grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10 .....	92
<b>Şekil 4.20b.</b> Mısır yağı grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20 .....	92
<b>Şekil 4.20c.</b> Mısır yağı grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40 .....	93
<b>Şekil 4.21a.</b> E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10 ....	93
<b>Şekil 4.21b.</b> E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20 .....	94
<b>Şekil 4.21c.</b> E Vitamini grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40.....	94
<b>Şekil 4.22a.</b> Akrilamid grubu; Pia mater (kalın ok), beyin korteksi (yıldız), korteks içinde glial hücre infiltrasyonu (ince ok). H-E, x10.....	95
<b>Şekil 4.22b.</b> Akrilamid grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (siyah yıldız), stratum molekulare tabakasında hidropik dejenerasyon (beyaz yıldız) H-E, x20 .....	95
<b>Şekil 4.22c.</b> Akrilamid grubu; Piknotik görünümlü nöron nukleusları (kalın ok), glial hücre infiltrasyonu (ince ok), hidropik dejenerasyon ve nöron yoğunluğu azalmış korteks alanı (yıldız). H-E, x40.....	96
<b>Şekil 4.23a.</b> Akrilamid + E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10 .....	96
<b>Şekil 4.23b.</b> Akrilamid + E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20.....	97

<b>Şekil 4.23c.</b> Akrlamid + E Vitamini grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40 .....	97
<b>Şekil 4.24.</b> Grupların kadranda kalma sıklıklarının karşılaştırılması .....	98
<b>Şekil 4.25.</b> Grupların kadranda kalış sürelerinin karşılaştırılması.....	99
<b>Şekil 4.26.</b> Grupların kadranda kalış sürelerinin yüzdelerinin karşılaştırılması.....	99



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Amerikada sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içeriği .....	43
<b>Tablo 2.2.</b> Türkiyede sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içeriği.....	45
<b>Tablo 2.3.</b> Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği .....	51
<b>Tablo 3.1.</b> Primer dizilimleri .....	61
<b>Tablo 4.1.</b> Grupların gelişim parametrelerine ait tüm bulgular.....	64
<b>Tablo 4.2.</b> C/S ile alınan Yavrularda Grupların Biyokimyasal parametrelere ait bulgular .....	68
<b>Tablo 4.3.</b> Fetüs Beyin Dokusu PCR analiz sonuçları .....	74
<b>Tablo 4.4.</b> Postnatal Erkek Yavru Beyin Dokusu PCR analiz verileri.....	75
<b>Tablo 4.5.</b> Fetüs Beyin Dokusu histopatolojik verilerin skorlanması .....	79
<b>Tablo 4.6.</b> Postnatal 8. Hafta Erkek Yavru Beyin dokusu histopatolojik verilerin skorlanması.....	81
<b>Tablo 4.7.</b> Water Maze Testi verileri.....	100

## 1. GİRİŞ

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

E vitamini serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı hücreleri koruyan güçlü bir antioksidan olup bunu serbest radikalleri daha az reaktif bileşiklere dönüştürerek sağladığı ifade edilmektedir. Antikarsinogenik ve nöroprotektif etkileri de olan E vitaminin hücresel inflamasyonu ve adezyonları azaltıcı yönde etki gösterdiği de ortaya konulmuştur. E vitamini plasentayı kolaylıkla geçebilmekte ve yağda kolay çözünen (lipofilik) yapısından dolayı fetusun kan-beyin bariyerini de geçip fetal beyin dokusuna ulaşabilmektedir. Özellikle beyin; antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeni ile oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve E vitamini gibi güçlü antioksidanların koruyucu etkisine ihtiyaç duymaktadır.

Bu araştırmada; gebelik boyunca akrilamide maruz kalan ratların fetuslarının beyinlerinde meydana gelen akrilamid kaynaklı gelişimsel hasarların, bu hasarların mekanizma/mekanizmalarının, prenatalakrilamid maruziyetinin postnatal

bilişsel fonksiyonlara etkilerinin ve akrilamid kaynaklı nörotoksisiteye karşı E vitamini'nin koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. FETUSTA MORFOLOJİK GELİŞİM

İnsanda embriyogenez ve organogenez, erkek gamet hücresi spermatozon ile dişi gamet hücresi oositin birleşip zigot denen yeni bir organizma oluşturması anlamına gelen fertilizasyon olayı ile başlar. Zigot bölünerek, hücre bölünmesi, göçü, büyümesi ve farklılaşması ile çok hücreli insana dönüşür (1).

Bedenin hızla büyümesi; doku ve organların olgunlaşması ve gelişimini tamamlaması ile karakterize olan süreci kapsayan gebeliğin 3. ayının başından doğuma kadar süren intrauterin döneme fetal dönem denir. Fetal dönem süresince gelişim, birincil olarak vücudun gelişimini kapsamakla beraber doku, organ ve sistemlerin farklılaşması ile de ilgilidir (2).

Fetus gelişimi 3 evrede değerlendirilebilir; birinci evre; yaklaşık olarak gebeliğin ilk 18–20 haftasını içerir, hücrelerin hızlı mitoz bölünmeleri sonucu çoğalmasıyla karakterize olup hücreler sayıca artar. İkinci fazda (20–28 gebelik haftası arası) hiperplazi ve hipertrofi bir arada görülür. Üçüncü evrede ise; (28 gebelik haftası sonrası) hücre büyüklüklerinde artış, kas ve konnektif doku birikimi vardır (3).

Fetus gelişimi, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir ve bu faktörler fetal gelişimin yönünü belirleyici olabilmektedir. Fetal gelişimin sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için öncelikle gebelik haftasının doğru olarak tespit edilmiş olması gerekmektedir. Gebelik haftasının tayininde ise en etkili yöntem; trimestirdeki ultrasonografik değerlendirmeler, tepe-oturma noktası (CRL) ölçümü, fetal biyometrik ölçümlerdir (3).

Fetal dönemde fetusun yaş tayini için kullanılan en önemli ölçüt fetal boydur. Fetusun boyu, CRL ya da ayakta durma yüksekliğini veren tepe-topuk mesafeleri ölçülerek hesaplanır. Bu ölçümler, daha sonra hafta ve lunar ay olarak verilen fetusun yaşı ile karşılaştırılır (2).

Fetus büyüme ve enerji üretimi için ihtiyaç duyduğu maddelerin çoğunu plasental zarlar yoluyla alır. Büyüme ve fetal metabolizma için gerekli temel enerji kaynağı glukoz olmasına rağmen fetal gelişimin devamı için aminoasitlere de ihtiyaç duyulur. Glukoz metabolizması için gerek duyulan insülin, fetal pankreas tarafından salgılanır. İnsülin, insan büyüme hormonu ve bazı küçük polipeptidlerin fetal büyümeyi uyardıkları bilinmektedir (1).

## 2.2. FETAL BEYİN GELİŞİMİ

### 2.2.1. Sinir Sisteminin Kökeni

Sinir sistemi nöral plaktan köken alır. Notokord ve paraksiyal mezoderm, üzerindeki ektoderm tabakasını nöral plağa farklılaşmak üzere uyarır. Nöral plaktan gelişen yapılar; nöral katlantılar, nöral tüp ve nöral kristadır. Nöral tüp Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'ne farklılaşır. Nöral krista; periferik sinir sistemi ve otonom sinir sistemi'nin büyük bölümünü yapan hücreleri oluşturur (4).

Nöral plak ve nöral tüp oluşumunu kapsayan nörolasyon süreci 4. haftanın başında (22–23. günler) başlar. Nöral katlantıların birleşmesi kranial ve kaudal yönde her iki uçta da sadece küçük bir açıklık kalıncaya kadar devam eder. Kranial açıklık (rostral/anterior nöropor) 25. günde kapanırken kaudal/ posterior nöroporun kapanması 2 gün sonra olur. Nöral tüpün duvarları beyin ve medulla spinalisi oluşturmak üzere kalınlaşırken nöral kanaldan; beynin ventriküler sistemi ve medulla spinalis'in kanalis sentralis'i oluşur (4).

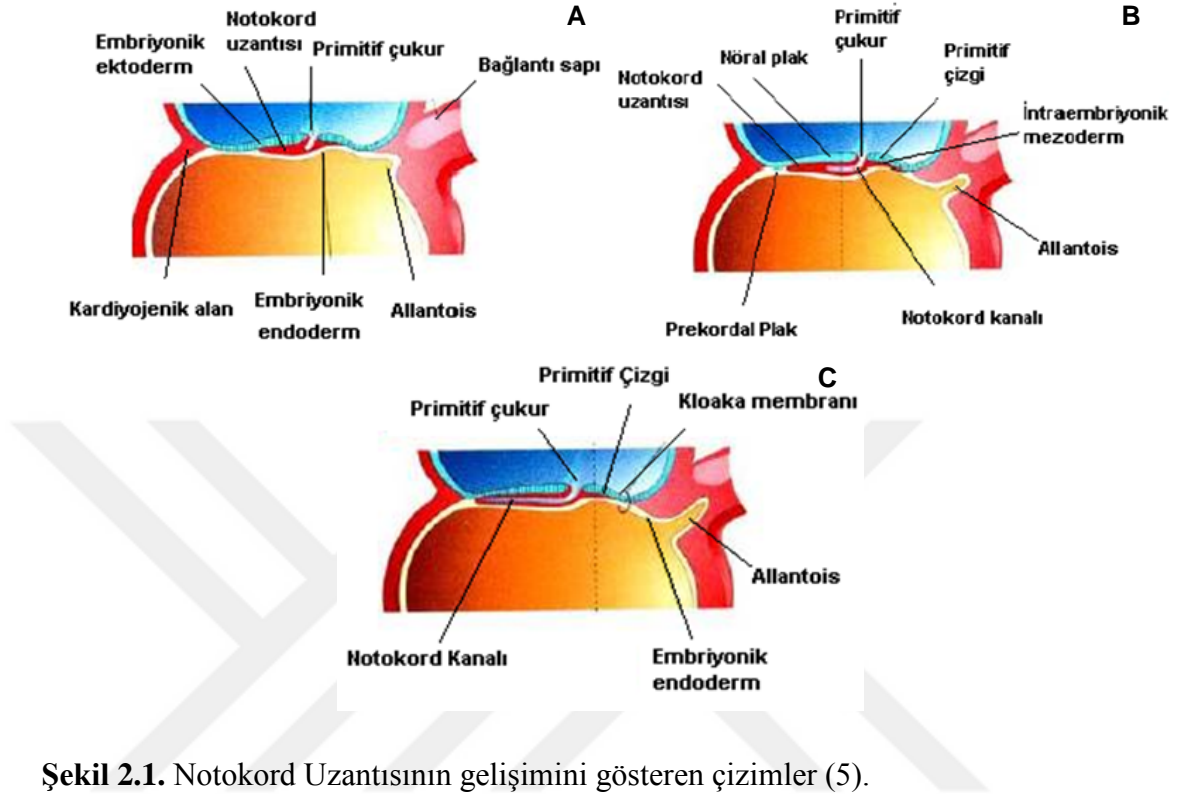
Mezenşimal hücrelerin bir kısmı primitif düğüm ve çukurdan kraniale doğru göç edip orta çizgide notokord uzantısı denen hücresel bir kordon meydana getirirler (Şekil 2.1. A-B). Bu uzantıda kısa zamanda bir lümen, notokord kanalı oluşturur (Şekil 2. 1. B-C). Notokord uzantısı ektoderm ve endoderm arasında kraniale doğru, silindirik endodermal hücrelerin oluşturduğu küçük yuvarlak bir alan olan prekordal plağa ulaşana kadar ilerler. Prekordal plak üstündeki ektoderme sıkıca yapışık olduğundan dolayı notokord uzantısı daha fazla ilerleyemez. Bu kaynaşmış tabakalar ileride ağız boşluğunun gelişeceği orofarengial membranı oluşturur (Şekil 2.2. B). Primitif çizgideki bazı hücreler notokord uzantısının her iki tarafında kraniale doğru ve prekordal plak çevresine göç eder. Burada kardiyojenik alanda, üçüncü haftanın sonunda gelişmeye başlayan kalp; primordiyumunu oluşturacak olan kardiyojenik mezodermi yapmak üzere birleşirler. Primitif çizginin kaudalinde ileride anüsün gelişeceği dairesel bir alan olan kloaka membranı bulunur (Şekil 2.1.) (2).

Notokord;

- Hücresel bir çubuktur.
- Embriyonun primordiyal eksenini belirler.
- İleride omur cisimlerinin oluşturacağı yeri belirler.
- Embriyoya diklik verir.



• Aksiyal iskeletin (kafa ve omurga kemikleri) gelişimi için baz teşkil eden yönlendirici rol oynar.



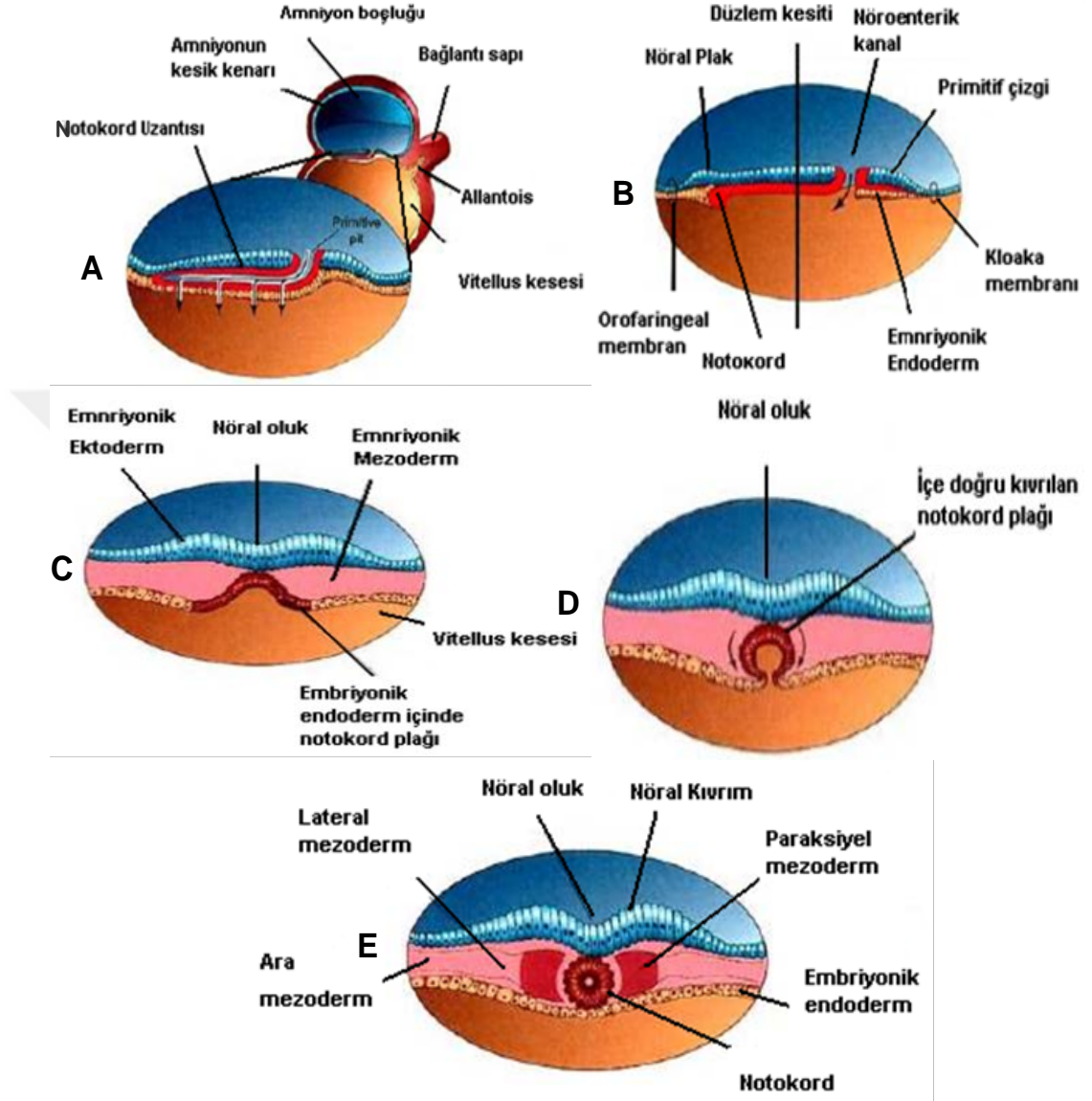
**Şekil 2.1.** Notokord Uzantısının gelişimini gösteren çizimler (5).

Notokord etrafında, orofarenjial membrandan primitif düğüme kadar uzanan omurga oluşur. Omur cisimleri oluştuğça notokord dejenere olur ve kaybolur, yalnızca her bir intervertebral diskin nukleus pulposusu içinde varlığını sürdürür. Üstünde uzanan embriyonik ektodermin kalınlaşmasını ve MSS'nin primordiumu olan nöral plağın (Şekil 2.2. A-C) oluşumunu uyarır (2).

### 2.2.1.1. Nörolasyon (Nöral tüpün oluşumu)

Notokord gelişince üzerindeki ektodermi indükleyerek kalınlaşmasına ve uzun, kalınlaşmış nöroepitelyal hücrelerden oluşan nöral plak denen yapının oluşumuna neden olur. Nöral plağın ektoderminden; merkezi sinir sistemi gelişir. Notokord uzadıkça nöral plak genişler ve kraniale doğru orofarenjial membrana kadar ilerler (Şekil 2.2.B). Yaklaşık 18. günde nöral plak, merkez eksenini boyunca invajine olarak her iki yanında nöral kıvrımların bulunduğu orta çizgide longitudinal olarak uzanan nöral oluğu oluşturur (Şekil 2.2.D-E). Nöral kıvrımlar embriyonun kranial ucunda daha kabarık görünümündedir, bu da beyin gelişiminin ilk belirtisidir.

Üçüncü haftanın sonunda nöral kıvrımlar birbirine doğru yaklaşıp birleşmeye başlar ve nöral plak, nöral tüpe dönüşür. Nöralasyonun dördüncü haftasında tamamlanır (6).

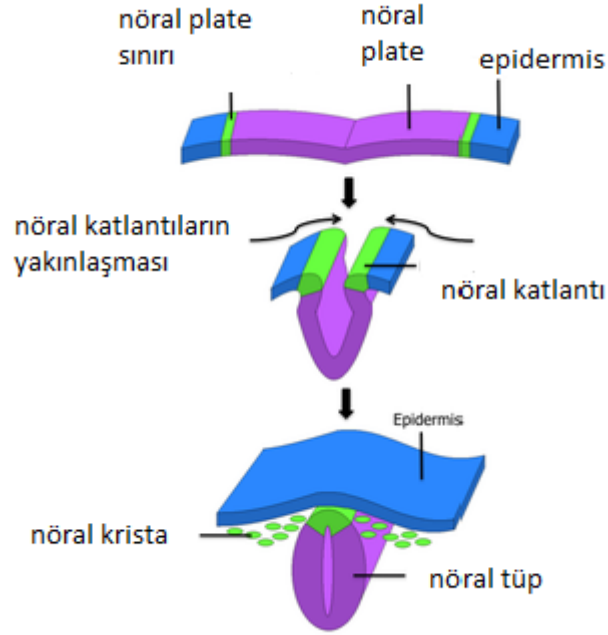


Şekil 2.2. Notokord uzantısının ileri gelişimi ile notokorda dönüşümü (5).

Nöral kıvrımlar nöral tüpü oluşturmak üzere birleştikçe her bir kıvrımın kenarı boyunca uzanan bazı nöroektodermal hücreler epitelyum ile olan ilgilerini ve komşu hücrelerle olan bağlantılarını kaybederler. Nöral tüp yüzey ektoderminden ayrılınca nöral krista hücreleri nöral tüpün her iki yanına dorsolateral yönde göç eder.

Bu hücreler daha sonra nöral tüp ile üzerinde uzanan yüzey ektodermi arasında, yassılaştırmış düzensiz bir kitle biçiminde olan nöral kristayı oluştururlar (Şekil 2.3). Bu hücrelerin birçoğu çeşitli yönlerde göç ederek mezenşim içinde

dağılır. Nöral krsta hücreleri spinal gangliyonlar ve otonomik sinir sistemi gangliyonları gibi çeşitli hücre tiplerine farklılaşır. V, VII, IX ve X. kranial sinirlerin gangliyonları da kısmen nöral krsta hücrelerinden köken alır. Nöral krsta hücreleri aynı zamanda periferik sinirlerin kılıfını ve beyin ile medulla spinalisin örtülerini oluşturur (7).



Şekil 2.3. Nöral tüp ve nöral krstanın oluşumu(8)

### 2.2.1.2. Beyin gelişimi

Beyin, 4. somit çiftinin kranialindeki nöral tüpten gelişir. Nöral katlantıların tamamen birleşmesinde önce; gelişen nöral tüpün rostral ucunda üç farklı kesecik görülür. Rostralden caudale, 3 primer beyin keseciği ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon- midbrain) ve arka beyindir (rhombensefalon-hindbrain). 4. haftanın başlamasıyla ön beyin telensefalon ve diensefalon olmak üzere; iki sekonder beyin kesecikleri-veziküllerine ayrılır. Arka beyin de 5. haftada metensefalon ve miyelensefalona ayrılır (6, 9, 10).

### 2.2.2. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)

#### 2.2.2.1. Nöronal plastisite

İnsanlarda nöronal migrasyon gebeliğin ilk haftalarında başlar ve ikinci trimesterin sonunda nöronların büyük kısmı oluşur. Doğum sonrası dönemde yaklaşık olarak altı yaşınakadar sinaptik gelişim oldukça hızlı şekilde oluşmaktadır.

On dört yaşından sonra ise sinaps oluşumu, nöronal yenilenme ve onarım hızında azalma başlar (11).

Plastisite terimi Yunanca da “plaistikos” kelimesinden köken alır; biçimlendirmek anlamına gelir (12). Nöroplastisite ise çeşitli iç ve dış uyaranlara bağlı olarak beyindeki nöronların ve bu nöronların oluşturduğu sinapsların özellikleri ve işlevlerindeki değişiklikler olarak tanımlanabilir. Eğer ortaya çıkan değişiklikler sadece bir nöron düzeyinde olmayıp sinaptikbağlantıları da kapsıyorsa uyaranlara karşı oluşmuş buduruma ‘sinaptik plastisite’ denir. Esas olarak nöroplastisite merkezi sinir sisteminin değişimlere uyum sağlayabilme yetisidir (13, 14). Nörotrofinler nöronal plastisite (sinir dokunun gelişmesi ve farklılaşması) açısından önem taşıyan hücre içi faktörlerdir. Birçok nörotrofin bildirilmiştir: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4 (NT-4) gibi. Nörotrofinlerin merkezi sinir sisteminde hücre ölümünün (apoptozis) programlanmasında ve yürütülmesinde önemli rolleri vardır. Çeşitli iç ve dış nedenlere bağlı olarak azalma gösterdiklerinde beyinde etkiledikleri nöronların ölümü ile sonuçlanacak biyolojik olaylar zinciri tetiklenir (11, 15).

#### **2.2.2.2. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) nedir?**

Nörotrofin ailesinin prototipi olarak kabul edilen “sinir büyüme faktörü”nün (nerve growth factor) 1950’li yıllarda saptanmasıyla birlikte bu alandaki çalışmalar yoğunlaşmıştır (16). İçlerinde BDNF, NT-3 ve NT-4/5’in de yer aldığı nörotrofinler 30-35kDA prekürsör proteinlerden ya da pronörotrofinlerden sentezlenir (17, 18). Tüm nörotrofinler temel ortak yapıya sahip olup, promotor bölgenin içerdiği farklı domainlerin sayesinde spesifikreseptörlerine bağlanırlar ve biyolojik yanıtlar oluştururlar (17, 19). Bu bağlamda hepsip75NGFR reseptörüne bağlanırlar ama her birinin ayrıca yüksek ilgi ile bağlandıkları “trk”(tropomiyosine-related kinase) ailesinden spesifik reseptörleri vardır (20, 21). Örneğin BDNF için bu TrkB reseptörüdür (21).

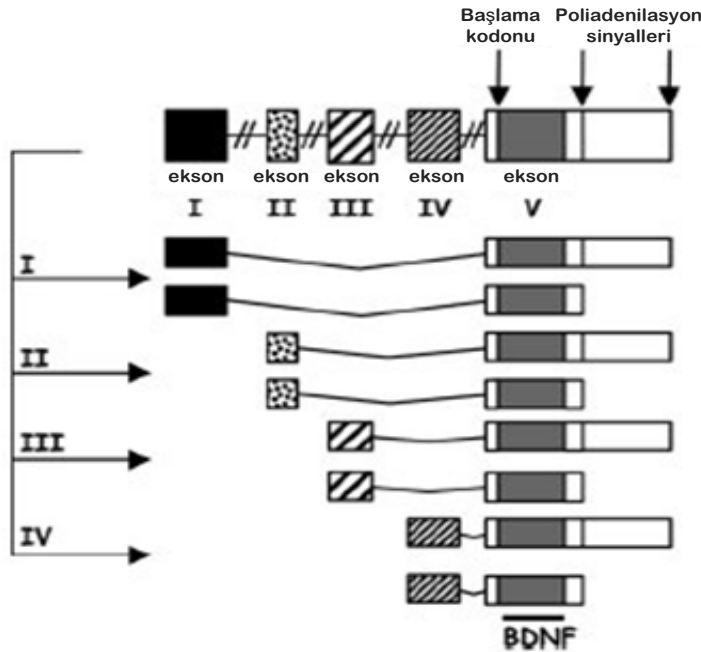
BDNF sinirlerin büyümesinden sorumlu küçük dimerik bir protein olup nöronların gelişimi, öğrenme ve hafızada anahtar moleküldür (15). Beynin gelişimi sırasında immatür nöronların büyümeve farklılaşmasını indükler. Nöronların yaşamlarını sürdürmesinde görev alır (22). Serotoninerjik ve noradrenerjik nöronların gelişimlerini destekleyip, bu nöronların toksik hasarlardan etkilenmeye karşı korunmasında rol alır. Dendritlerin büyüme ve gelişimi üzerine olumlu etkisiyle

nöronal devamlılık ve plastisiteyi regüle eder (23-25). Nöronlarda sentezlenen BDNF başlıca hipokampus ve korteks serebri olmak üzere beyinde çok yaygın olarak bulunmaktadır (13).

Fare beyin korteksinden izole edilmiş nöronlardan oluşan hücre kültürüne BDNF uygulanarak nöronların incelendiği bir araştırmada, BDNF uygulamasının dendrit ve sinapslarda gelişmeyi incelediği tespit edilmiştir (26). BDNF geninin fare striatumundaki hücrelerin bir grubuna implante edilip ardından tüm hücrelere nörotoksin uygulanarak hücrelerdeki değişikliklerin incelendiği başka bir çalışmada, BDNF implantasyonu yapılan hücrelerde diğer hücrelerin aksine serotonin ve dopamin kaybı gelişmediği tespit edilmiştir (27). Elde edilen bu sonuçlar BDNF'nin nöronlar üzerinde koruyucu etkisi olduğu ve nöroplastisite ile ilişkisi olduğu görüşünü desteklemektedir (14).

#### 2.2.2.2.1. BDNF geni ve düzenlenmesi

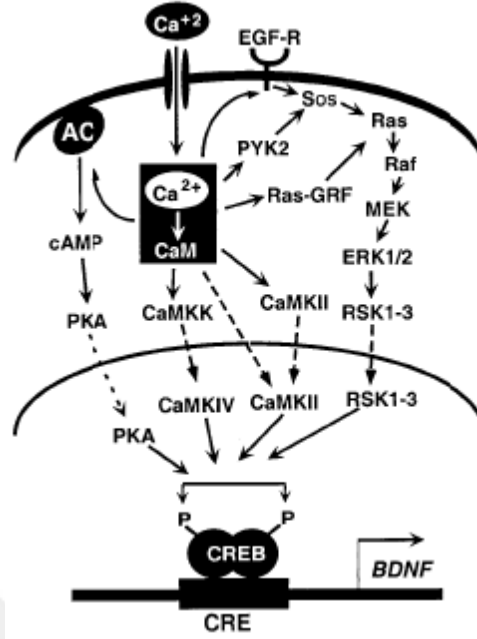
BDNF geninin farklı promotorlar içeren dört kısa 5' eksonu (non-coding exon I-IV), olgun (mature) BDNF proteinini kodlayan bir 3' eksonu (ekson V) ve pek çok düzenleyici elementi ile kompleks bir yapısı vardır. Promotorların alternatif kullanımları ve farklı bağlantılar 8 farklı BDNF mRNA oluşmasına neden olur (28) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4.** BDNF geninin yapısı (28). BDNF geninden kaynaklanan sekiz olası transkript ve alternatif ekleme (splicing) bölgeleri.

Sonuçta aynı BDNF proteinini kodlayan bu farklı BDNF mRNA'ların var oluş sebepleritartışılmakla birlikte dokuya/bölgeye spesifik bazal BDNF ekspresyonunu ve stimulusunu uyararak regülasyonu sağladıkları düşünülmektedir. Bu bağlamda mRNA içeren I, II ve III eksonlar ağırlıklı olarak beyinde, promoter IV ise periferik dokularda aktiftir. Beyinde çeşitli BDNF mRNA'ları diurnal ritim, iskemi, egzersiz, aktivite, antidepresan tedavi, stres gibi fizyolojik ve patolojik uyaranlara yanıt olarak farklı biçimde regüle edilirler (29).BDNF geninin aktivite-bağımlı kalsiyum ilintili düzenlenmesinde bir dizi işlemde ilk adım sitoplazmaya kalsiyum girişidir (30). Böylece BDNF ekson III ekspresyonun indüksiyonu seçici olarak aktiflenir. Ancak bu aktivasyon için CREB (cAMP/Ca<sup>++</sup>- response element binding protein) gerekli olmakla birlikte yeterli değildir (31). Aktivasyon için CREB'in Serin-133 bölgesinin cAMP bağımlı protein kinaz, kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz IV ya da mitojence aktive edilen protein kinaz tarafından fosforilasyonu gerekmektedir (Şekil 2.5) (30, 31).

Santral sinir sisteminde (SSS) aktivite bağımlı BDNF regülasyonu klasik nörotransmitterlerden etkilenmekte, BDNF mRNA glutamat, asetilkolin ve serotonin ile "up-regüle", GABA ile "down-regüle" olmaktadır (28). Diğer yandan, BDNF'nin III ve IV transkriptlerinin nöronal aktivasyona ya da elektriksel stimulusa yanıt olarak "early gene" olarak yeni protein sentezine gereksinim olmadan hızla indüklenebildikleri de gösterilmiştir (28, 30).



**Şekil 2.5.** BDNF gen transkripsiyonunu düzenleyen  $Ca^{++}$ 'un aktive ettiği sinyal yolu (30). Nöronlarda nörotransmitter alımı ve membran depolarizasyonu ile ligand ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılması, plazma zarından kalsiyum akışı, kalsiyuma duyarlı adenilat siklaz, kalsiyum / kalmodulin ile aktive edilmiş kinazlar ve Ras proteinlerinin aktivasyonu ve çekirdeğe translokasyonu sonucunda BDNF geninin transkripsiyonu gerçekleşir.

#### 2.2.2.2.2. Santral sinir sisteminde BDNF'nin dağılımı

Erişkin sıçan beyinde BDNF mRNA'sı hipokampus, septum, hipotalamus, korteks ve adrenerjik beyin sapı çekirdeklerinde yaygın olarak bulunur (28). BDNF immünoreaktivite isesoma, dendrit ve liflerde lokalize olarak serebral korteks, hipokampus, bazal ön beyin, striatum, hipotalamus, beyin sapı ve serebellumda saptanmıştır. Ayrıca, bu immünoreaktivitenin bazı kortikal, hipokampal bölgelerde ve amigdalada soma çekirdeklerinde saptanması BDNF'nin nöron çekirdeğine girerek doğrudan transkripsiyonu etkilediğinin işareti olabileceği öne sürülmektedir. BDNF reseptörü TrkB'nin de BDNF ile benzer dağılım gösterdiği, nöron gövdesinde, aksonlarda ve dendritlerde lokalize olduğu gösterilmiştir. İlginç olarak BDNF ve reseptörünün hipokampal ve kortikal nöronlarda birlikte ekspresyonu BDNF'nin SSS'deki etkilerini otokrin ya da parakrin mekanizmalarla gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir (28).

### 2.2.2.2.3. BDNF'nin etki mekanizması

BDNF yaşamın erken döneminde SSS'de nöronal gelişimin hemen hemen tüm safhalarını etkiler. Bunlar arasında; nöronal proliferasyon, migrasyon, nöronal canlılık ve korunma, nörogenez, morfogenetik ve kemotrofik etkiler, aksonal dallanma, dendritik büyüme ve dallanma, sinaps formasyonu, sinaptik ileti, nöronal uyarılma, plastisite, eksitatör ve inhibitör sinapsların modülasyonu, NMDA reseptörlerinin modülasyonu, nörotransmitter ve nöropeptid sentezinin uyarılması, salıverilmesi sayılabilir. BDNF'nin başlıca fonksiyonu; nöroprotektif etki göstermekve nöron hayatta kalımını sağlamaktır (32). BDNF kendi tirozin kinaz reseptörüne bağlanır ve Ras/ MAPK ve fosfotidilinozitol-3P kinaz/Akt yolak reaksiyonlarını kapsayan bir dizi büyüme ve hayatta kalımı tetikleyen hücre içi sinyal yollarını uyarabilir (11).

Trk bir nörotrofin reseptörüdür. Trk'nın ekstrasellüler bölgesinde nörotrofin için ligand-bağlayıcı bölge, sitoplazmik bölgesinde ise bir protein tirozin kinaz bulunur. BDNF, Trk reseptörüne bağlandığında protein kinaz aktivasyon meydana gelir. Bu reseptör etkileşimi sonucu Grb, Sos gibi proteinler bu bölgede birikirken, küçük G proteini olan Ras proteininde aktivasyon gözlenir. Aktive olmuş Ras proteini, protein fosforilasyon zincirinin başlamasına yol açar. Ras aktivasyonu, Raf proteininde aktivasyonu sağlar. Aktive olmuş Raf ise MAP (MitojenAktivatör Protein) kinaz kinazı aktive eder. MAP kinaz da başka bir protein kinazı aktive eder. Bu ardışık proteinlerin fosforilasyon zinciri reaksiyonları sonucunda; önemli bir proapoptotik protein olan Bcl-2 ile ilişkili ölüm destekleyici protein (BAD: Bcl-2 associated death promotor protein) üretiminin baskılanması ve temel antiapoptotik protein olan Bcl-2 ekspresyonunun artması yoluyla apoptozda inhibisyon oluşur. Bu etkilerin ortaya çıkmasında cAMP yanıt elemanı bağlayan protein (CREB-cAMP response element binding protein) önemli role sahiptir. Bu reseptörlerin uyarılması, yetişkinlerde nöral sistemlerin yeniden regülasyonunu sağlayan sinaptik plastisitede rol alırlar (11, 33).

Bir nöronun yaşamını sürdürebilmesi için nöronal uyarın alınması ve sinaptik işlevselliğin devamlılığı şarttır. Nöronal uyarın almayan ve sinaptik işlevselliği inaktive olmuş nöronlar apoptozda gitmektedir. Nöronal işlevsellikle doğru orantılı olarak BDNF sentez ve salınımında artış görülmektedir. Alınan uyarınlarla beraber BDNF hem yeni sinaptik oluşumlara yol açmakta hem de pro-apoptotik protein olan



BAD yapımını inhibe etmektedir. BDNF transkripsiyonunda görev yapan CREB proteini aynı zamanda antiapoptotik olan Bcl-2 seviyesini de arttırmaktadır. CREB fosforilasyonun engellenmesiyle apoptoz tetiklenir (11, 33–36)

Nöronal aktivite, BDNF gen transkripsiyonunu, BDNF mRNA'sının dendritlere transportunu ve sinaptik aralığa BDNF proteininin salınımını stimüle etmektedir. BDNF, hipokampal ve kortikal nöronların yanı sıra bazal ön beyindeki kolinerjik nöronların hayatta kalımında da etkili olmaktadır (37).

#### **2.2.2.2.4. Oksidatif stresin BDNF ve beyin üzerine olan etkileri**

Yaşamın erken dönemlerindeki çevre koşullarının, erişkin dönemdeki davranışları ve fizyolojik fonksiyonları etkilediği, bu anlamda sosyal ve biyolojik açıdan büyük önem taşıdığı bilinmektedir (38). Davranış ve fizyolojik fonksiyonlarda ortaya çıkan değişikliklerin altında yatan mekanizmalar bilinmemekle birlikte, sosyal çevrenin hipokampal BDNF ve nörojenezi modüle ettiği kabul gören bir görüştür (39).

Tek veya tekrarlanan immobilizasyon stresinin ya da eksojen kortikosteron uygulamasının hipokampusta BDNF mRNA ve protein miktarını düşürürken (40), adrenalektominin ise hipokampusta BDNF mRNA ve protein miktarını artırdığı gösterilmiştir (41). Nöronal yaşamda, gelişim sürecinde ve hasar sonrasında nörotrofik faktörler çok önemli rol oynamaktadır. Nörotrofik desteğin yeterli olmaması apoptotik nöronal ölümü indüklemektedir. Hayvan modelleri üzerinde yürütülen araştırmalarda, nöronal desteğin azalmasının dopaminerjik hücrelerde dejenerasyona sebep olduğu ortaya konulmuştur (42, 43).

BDNF geninin yapısı oldukça karmaşıktır. BDNF geninin aktivite-bağımlı kalsiyum ilintili düzenlenmesinde bir dizi işlemde ilk adım sitoplazmaya kalsiyum girişidir. Böylece BDNF ekson III ekspresyonunun indüksiyonu seçici olarak aktiflenir. Ancak bu aktivasyon için CREB (cAMP/Ca<sup>++</sup> response element binding protein) gerekli olmakla birlikte yeterli değildir. Aktivasyon için CREB'in Serin-133 bölgesinden cAMP bağımlı protein kinaz, kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz IV ya da mitojene aktive edilen protein kinaz tarafından fosforilasyonu gerekmektedir (41). Yapılan bilimsel çalışmalarda artan oksidatif hasarın CREB'in seviyesini azalttığı, NF-kB gen ekspresyonunu artırdığı, BDNF düzeyini azalttığı ve kognitif fonksiyonlara hasar verdiği belirlenmiş ve bu hasarın; BDNF'nin sinaptik

plastisitedeki fonksiyonunun azalmasının synapsin I ve CREB moleküllerinin modülasyonu aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir (44, 45).

Nöronal membranlar arasında kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) trafiğinin hızlı olması, oksijen tüketiminin yüksek olması, eksitotoksik aminoasitler; glutamat ve aspartatın varlığı, bazı nörotransmitterlerin kolay otookside olmaları, nöron zarlarında bulunan antioksidanenzimlerinin düşük seviyede olması, sitokrom P450 enziminin bazı beyin bölgelerinde bulunması, beyin metabolizmasının  $H_2O_2$  oluşturması, yüksek oranda kolayca okside olabilen çoklu doymamış yağ asiti içermesinden dolayı beyin ve sinir dokusu oksidatif strese oldukça hassastır (46).

### **2.3. RATLARDA SİNİR SİSTEMİNİN KÖKENİ VE ANATOMİK YAPISI**

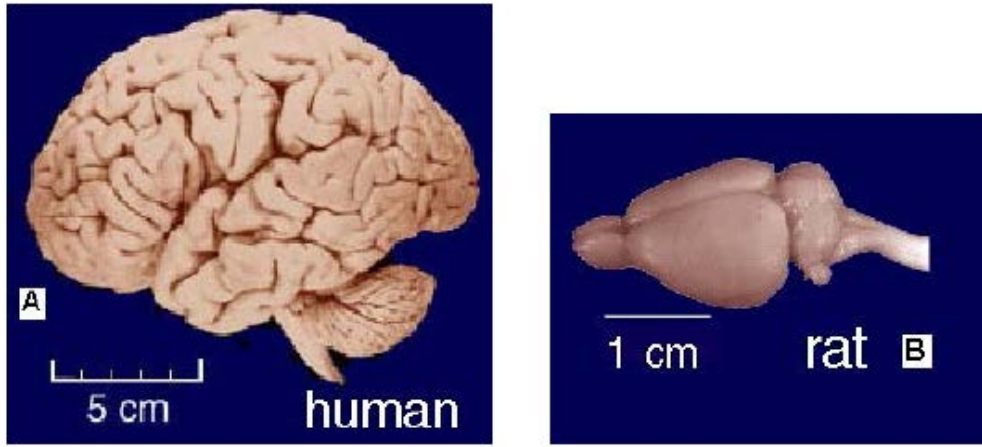
Galenin ilk denemelerinden bugüne deneysel çalışmalar klinik hekimliğe yol gösterici olmuştur. Tüm laboratuvar hayvanları arasında ise rodentler (kemirgenler) biyomedikal araştırmalar için en çok tercih edilen hayvanlardır (47,48). Ratın ve insanın embriyonik gelişimi arasındaki en önemli fark gebelik süresidir. Bu süre ratlarda 21–22 gün, insanlarda ise yaklaşık 267 gündür. Fertilizasyon ve blastula safhası benzerlik gösterir (49). Ratlarda intrauterin hayatın 8-14. günleri organogenez dönemi olarak bildirilmiştir (50).

Ratlarında somit oluşumu 9. günün sonunda ve 10. günde başlar ve her gün yeni somitlerin ilave olmasıyla artarak 16. günde tamamlanır. Yaklaşık 65 somitin, 4'ü oksipital, 8'i servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral, 30'u kaudal bölgede bulunur (51). Ratlarda karakteristik olarak spinal cord, dorsal yarığın alt kısımlarında pyramidal şekilli kortikospinal iplikler içerir. Öte yandan, rat omuriliğinin organizasyonu diğer memeli türleri ile benzerdir ve 8 servikal, 13 torakal, 6 lumbal ve 4 sakral segmentten oluşur. Erişkin bir erkek ratta omurilik 113–125 mm uzunluğunda yaklaşık 0,7 gr ağırlığındadır (52,53). Rat embriyosunun 12,5 günlük iken bütün organlarının belirgin olduğu belirtilmiştir (51).

Ratlarda da insanlarda olduğu gibi beyin; ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon- midbrain) ve arka beyin (rhombencefalon-hindbrain) oluşturacak şekilde bölümlere ayrılır. Beynin en büyük kısmı olan ön beyin, diensefalon ve telensefalon olarak iki alt bölümde incelenir. İki büyük serebral hemisferden oluşan telensefalon beynin en büyük kısmını oluşturur ve erişkin bir ratta  $278 \text{ mm}^2$  kadar yüzey alanına sahiptir. En dikkat çeken iki özelliği; lisencephalos (gyrus ve sulkuslar bulunmaz), yani kıvrımları olmayan düz yapıda

olması ve bulbus olfactoriusların oldukça büyük olmasıdır. Kortikal gri madde miktarı ise çok azdır. Ratlarda optik chiasma beyin tabanında bulbus olfaktoriusların hemen kaudalinde bulunur (53, 54).

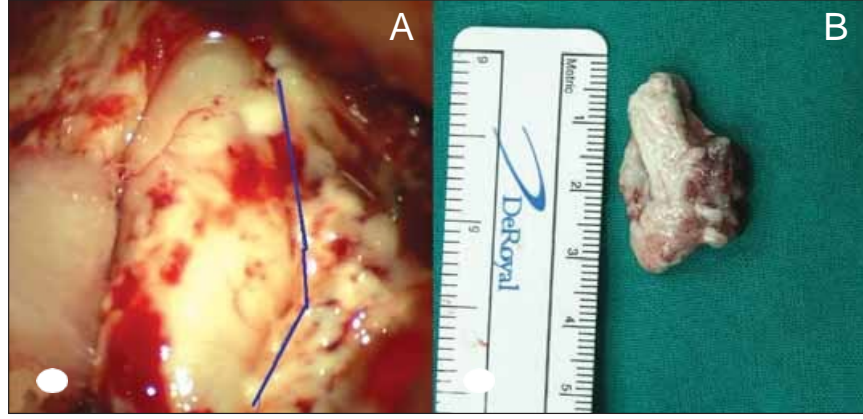
Serebellum bol kıvrımlı bir görünüştedir. Orta, ortanın iki yanında birer yan lob ve bunların dış yanlarında kafatasının periotik kapsülün içinde yer alan parafloküler loblar olarak 5 ayrı bölümden oluşur. Parafloküler loblar kemirgenlere has bir yapıdır ve içine yerleştiği periotik kapsül petros kemiğin uzantısıdır (Şekil 2.6.), (53). Beyin ventrikülleri insandakine benzer özelliktedir. İnsanlarda olduğu gibi 12 çift kranial sinirleri vardır (53).



**Şekil 2.6.** İnsan ve rat beyin yapısının şematik gösterimi A) gyrus ve sulkuslar belirgin, B) Rat beyni için tipik olan lisensefaloz ve beynin ön bölümünde belirgin halde olan bulbus olfaktoriuslar görülmekte (55).

## 2.4. HİPOKAMPUS

Hipokampus temporal lobun medialinde yer alan lateral ventrikülün temporal hornu ile yakın komşuluğu bulunan bir beyin bölgesidir (56, 57). Hafıza, duygulanım, konumlama ve yön bulmada önemli fonksiyona sahiptir (58). Gri cevher tabakasından oluşan hipokampus, Arşikorteks olarak da adlandırılmaktadır ve lateral ventrikülün temporal hornu boyunca uzanım göstermektedir (59). Yaklaşık 5-8 cm uzunluğundadır (Şekil 2.7A, 2.7B). Filogenetik olarak en eski beyin bölümlerindedir (59). Hipokampustaki nöral plastisite yaşam boyunca devamlılık göstermektedir. Hipokampus, “Limbik sistem”in önemli bir bileşenidir.



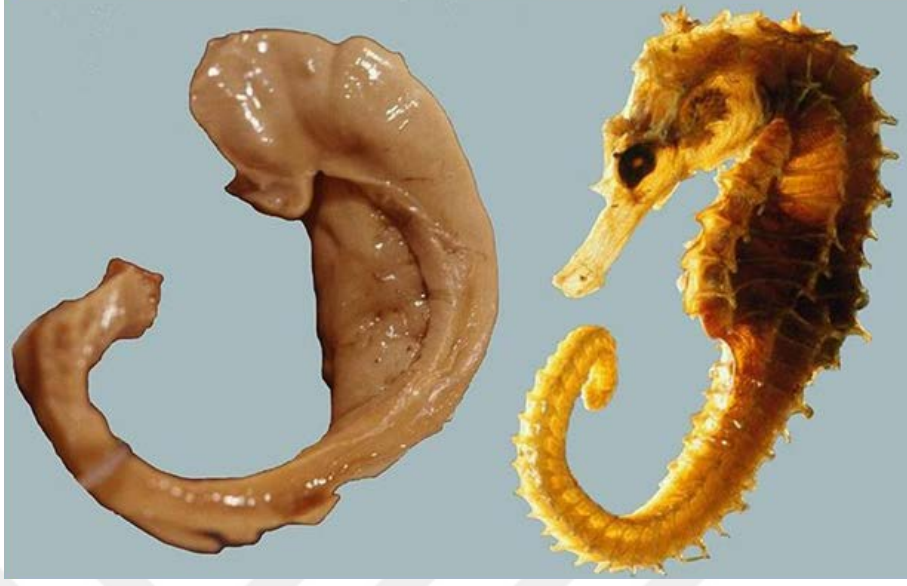
**Şekil 2.7.** Hipokampusun intraoperatif (A) ve hipokampektomi sonrası (B) görünümü. Hipokampus mavi çizgi ile gösterilmiştir. (Prof. Dr. Erdoğan'ın olgusundan alınmıştır).

İçinde 200 milyon kadar nöron bulunduran rat beyni yaklaşık bir üzüm tanesi büyüklüğündedir (60). İnsan hipokampusu rat hipokampusundan 100 kat, maymun hipokampusundan ise 10 kat daha büyüktür (60). Erişkin bir insan beyninde hipokampusun hacmi yaklaşık 3-3,5 cm<sup>3</sup> olup, hipokampusun tüm insan neokorteksine oranı yaklaşık 0,009'dur(61). Kemirgenlerde ise bu oran daha yüksektir (61).

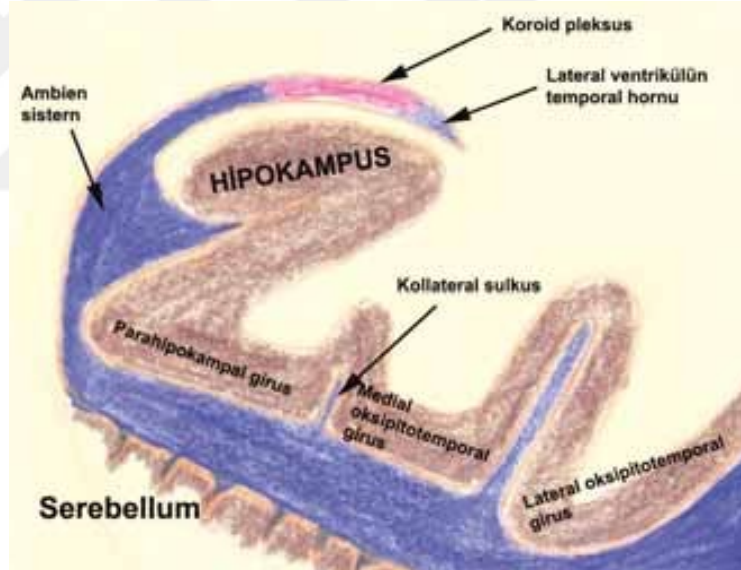
Koronal beyin kesitlerinde C harfi şeklinde izlenen hipokampusu,denizatna benzerliğinden dolayı “hipokampus” ismi verilmiştir (Yunanca: ιππος, hippos = at, κάμπος, kampos = deniz) (56).Dış yüzü koç boynuzuna benzediğinden dolayı “Cornu Ammonis” olarak da anılmıştır (Şekil 2.7.). Ammon koç başlı bir Mısır Tanrısına verilen isimdir. Bundan dolayı hipokampusun bölümleri CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak kısaltılarak adlandırılmıştır (56).

Hipokampusinsanlarda koroid fissür kavsinin dış parçasından gelişir (59). Öncünöronların(nöralprogenitörhücreler) proliferasyonu ve proliferasyonu takip eden hücresel göç olayı ile hipokampusun embriyonel gelişim süreci başlar(62,1).Gestasyonelhayatın 13-14. haftalarında temporal lobun medial yüzeyinde hipokampal fissür ile çevrili katlanmamış bir hipokampus yapısı vardır. 15 ve 16. haftalarda ise dentat girus ve kornu ammonis içe doğru katlanmaya başlar, ancak hipokampal sulkus halen açıktır. (59). Dentat girus dar ve U şeklinde bir anatomik yapıdır. 18 ile 20. haftalarda ise fetal hipokampus giderek erişkin hipokampusuna benzemeye başlar (1). Embriyonel hayattahemisferduvarıbiriyandankalınlaşırken,diğeryandan

da ventrikülün medial kenarında doğru bir kıvrıntı yapar (Şekil 2.8. ve Şekil 2.9.). İşte bu kıvrıntı hipokampusu meydana getirir (62,59).



**Şekil 2.8.** Diseke edilmiş ve deniz atına benzetilen hipokampus

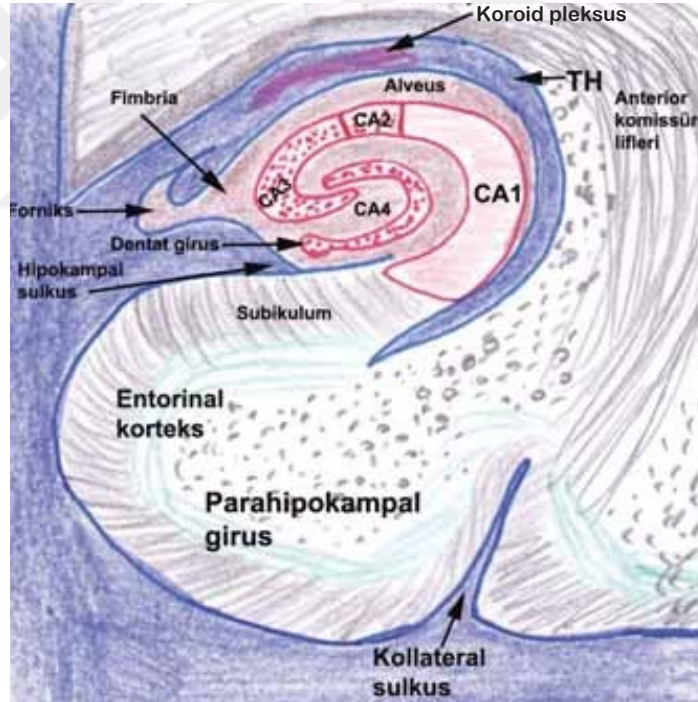


**Şekil 2.9.** Hipokampusun ambiensistern ve temporal horn ile ilişkisi görülmektedir

Cornu Amnionis'in İngilizce baş harflerini temsilen "CA" olarak da ifade edilebilen hipokampus, histolojik olarak yapısal farklılıklarından kaynaklı CA1, CA2, CA3 ve CA4 olmak üzere dört bölgeye ayrılmıştır (56-58). Subikuluma en yakın alanı CA1 alanı iken, dentat girusa ise en yakın olan alanı CA4 alanıdır (Şekil 2.10.). Spasyal (uzaysal) öğrenme ve bellek oluşumunun sağlanabilmesi için CA1 bölgesi nöronlarının yapısal ve işlevsel bütünlüğü esastır. CA1 bölge nöronlarında, entorinal korteksten veya CA3 bölgesinden alınan impulslar işlenir. Referans

hafızanın oluşması için CA3 ve CA1- CA3 bağlantısının bütünlük ve devamlılığı şarttır. Adölesan dönem öncesinde CA1 ve CA3'deki hücre sayıları az miktarda iken adölesan dönemi sonrasında sayıları giderek artmaktadır (61). Hücre sayısında gözlenen bu artış durumu adölesan dönemde uzaysal öğrenme ve belleğin geliştiğine dikkat çekmektedir (59,61,63).

Hipokampus kısa süreli hafıza ile çok yakından ilişkilidir. Yeni öğrenilen bilgilerin depolanmasını sağlar. Anıların kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya aktarılmasında görev alan hipokampus, öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının sağlanabilmesi için çok önemli role sahiptir. Hipokampusta oluşacak bir lezyon/hasar, belirtilen fonksiyonlarda işlev kaybına yol açabilir. Sağ ve sol hipokampus olmadan verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (64). Ayrıca, sağ hipokampus görsel, sol hipokampus ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıplar gelişmektedir (65).



**Şekil 2.10.** Hipokampusun ventrikül yüzeyine doğru en dış tabakası Alveus'dur. Sonra sırasıyla CA1, CA2 ve CA3 tabakaları gelir. En içteki tabaka CA4'tür. Entorinal korteks ile arasında hipokampal sulkus vardır. TH: Temporal horn. CA: Cornu Ammonis

Bilişsel fonksiyonlar, kişinin analiz yeteneği ve gelen bilgiyi davranışı ile koordine bir şekilde kullanabilme kapasitesidir. Kişinin çevreden gelen bilgiyi alarak

özümleme ve yine çevreye karşı etkili olarak kullanabilme yeteneğidir. Oryantasyon ve bellek fonksiyonları da dahil olmak üzere algılama, dikkat, yargılama, soyutlama, hesaplama, zeka ve gerçeği değerlendirme yetilerini kapsar (66). Bellek fonksiyonlarında hipokampus, parahipokampus, entorinal korteks gibi yapıların önemli rolleri vardır. Duyusal uyarılar (görme, işitme, koku, dokunma vs.), hipokampusta aktivasyona yol açar. Hipokampus da ventral talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece, hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinden önce, limbik sistemi etkileyen hipokampus, davranışların şekillenmesine katkıda bulunmuş olur (65).

Metabolik veya mekanik nedenlerden ötürü, hipokampusun çift taraflı lezyonu sonucu yeni anıların kaydedilememesini içeren bir amnezi durumu ortaya çıkar. Korsakoff Sendromu (Disamnezik Sendrom) olarak adlandırılan bu durumu yaşayan kişiler hipokampal hasar öncesi öğrendikleri çok karmaşık işleri başarabilmelerine rağmen; çok daha basit olan yeni öğrenilmiş becerileri yapamazlar. Ayrıca geçmişi ile ilgili anılarında hatırlayamadıkları durumları; gerçek dışı deneyimler anlatarak doldurdukları ve buna kendilerinin de inandığı konfabulasyon denen durum ortaya çıkar (67).

Yakın zamana kadar yaşlanma sürecinde, hipokampustaki hücre sayısının önemli derecede azaldığı, oluşan bu hücresel azalmanın da yaşlılıkta oluşan bunamaya yol açabileceği düşünülüyordu. Ancak, yapılan son çalışmalarda, yaşlanma ile hipokampustaki hücre kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadığı anlaşılmıştır (68). Alzheimer hastalığı, kronik ve genellikle progresif olarak bellek ve entelektüel yetilerin azalması ile karakterize bir tablodur. Yapılan çalışmalarla kognitif fonksiyonların objektif ölçütü olarak kullanılan P300 aktivitesi incelenerek intrakraniyal işitsel olaya ilişkin potansiyel parametrelerin hipokampal kaynaklı olduğu ileri sürülmüş ve P300 latansında uzamanın potansiyel epileptojenik odak olan hipokampusun hasarlanması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (69). Bilişsel fonksiyon bozukluğu ve epilepsi arasındaki ilişki uzun yıllardır araştırılmaktadır. Epileptik hastalarda hem bilişsel hem de davranışsal problemler sık olarak görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar epilepsili çocukların yaklaşık %50'sinde öğrenme güçlüğü ve davranışsal problemlerin geliştiğini göstermektedir (70).

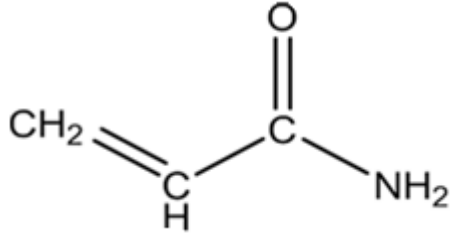
## 2.5. AKRİLAMİDİN KİMYASAL YAPISI ve İLGİLİ ARAŞTIRMALARIN TARİHÇESİ

Akrilamid; ilk defa 1893 yılında Almanya'da Christian Moureau tarafından bulunan kimyasal bir bileşiktir. Almanya'da 1952-1954 yılları arasında ticari ve kimyasal amaçlı olarak kullanılmaya başlanmış bir vinil polimeridir. Tekstil, kâğıt, kozmetik üretimi ve içme sularının iyileştirilmesi gibi pek çok değişik endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılan akrilamid, kimyasal olarak sentezlenebilen yüksek toksisiteye sahip, doymamış çift bağ içeren bir amiddir (71).

Yüksek moleküler ağırlıklı ve polimerik özellikli poliakrilamid, akrilamid ve bisakrilamid birimlerinin polimerizasyonu sonucu oluşmaktadır. Poliakrilamid, çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Bunların başlıcaları; matbaacılık alanında kâğıdın sağlamlılığını artırmada, atık suların arıtılması işleminin yoğunlaştırma aşamalarında, deodorant, parfüm gibi çeşitli kozmetik malzemelerin hazırlanma aşamalarında yağlı ve yumuşatıcı bir özellik kazandırmak için katkı maddesi olarak kullanılmasıdır. Ayrıca poliakrilamid, elektroforez ve kromatografi gibi moleküler biyoloji çalışmalarında, proteinlerin ayırımı ve saflaştırılması basamaklarında yoğun olarak kullanılmaktadır(72). Son yapılan araştırmalarda, yüksek sıcaklık derecelerine maruz bırakarak hazırlanan besinlerde de akrilamidin spontan olarak oluştuğu bulunmuştur. Yapılan araştırmalar, gıdaların 120 °C'nin üzerindeki sıcaklık derecelerinde pişirilmesi (özellikle kızartma, gril, ya da fırınlama) sırasında bol miktarda akrilamidin oluştuğunu ve bu pişirme işlemi sırasında oluşan akrilamid miktarının gıdaların maruz bırakıldıkları sıcaklık derecesi ve pişirme süresi ile doğru orantılı olarak artış gösterdiğini ortaya koymaktadır(73).

Diğer isimleri etilen karboksamid, propenoik asit amid, akrilik amid ve vinil amid olan akrilamid doymamış çift bağ içeren bir amiddir (73). Oda sıcaklığında kokusuz, tatsız, katı halde bulunan akrilamid; sıvı halde iken beyaz bir kristal gibi görünür ve suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. Erime sıcaklığı 84.5°C, kaynama sıcaklığı 125.6°C'dir. Mol ağırlığı 71.08 g/mol olan akrilamid suda ve diğer polar çözücülerde (aseton, metanol, etanol vb) kolaylıkla çözünürken; polar olmayan çözücülerde çözünmemektedir(74).Akrilamid; üre  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  ve formaldehit (HCHO) veya glioksal  $(\text{CHO})_2$ , aldehitler (RCHO), aminler ( $\text{R}_2\text{NH}$ ), tiyoller (RSH) gibi küçük reaktif moleküllerle reaksiyona girebilmektedir (75).Akrilamidin kimyasal yapısı Şekil 2.11.'de verilmiştir.





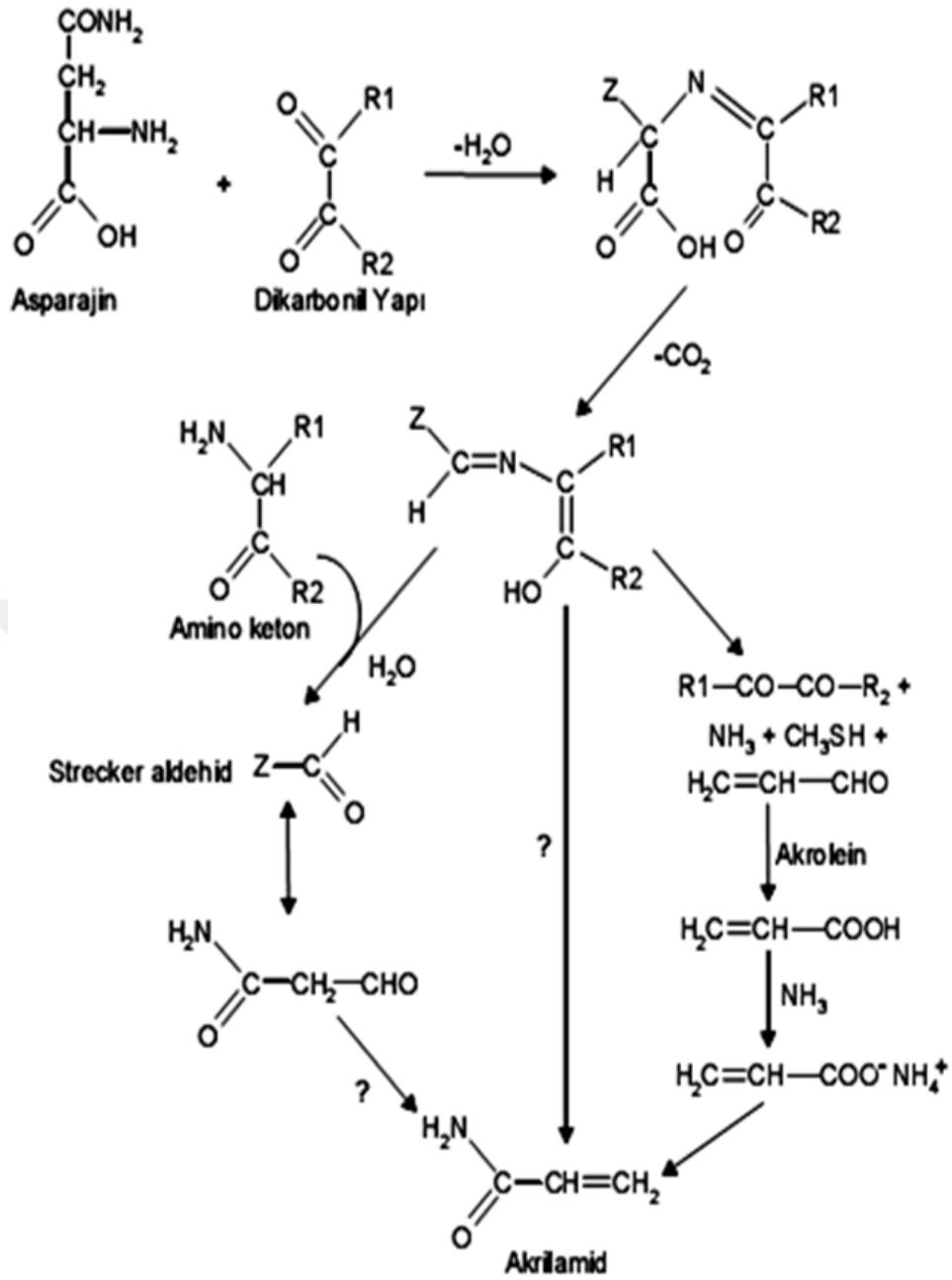
**Şekil 2.11.** Akrilamidin kimyasal yapısı

### **2.5.1. Akrilamidin kimyasal olarak oluşumu**

Gıda kaynaklı akrilamid 120 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda glukoz ya da fruktoz gibi monosakkaritlerle asparajin gibi amino asitler arasında oluşan Maillard reaksiyonu sonucunda spontan olarak oluşmaktadır (76). Maillard reaksiyonu ve akrilamid oluşumu Şekil 2.12.'de verilmiştir.

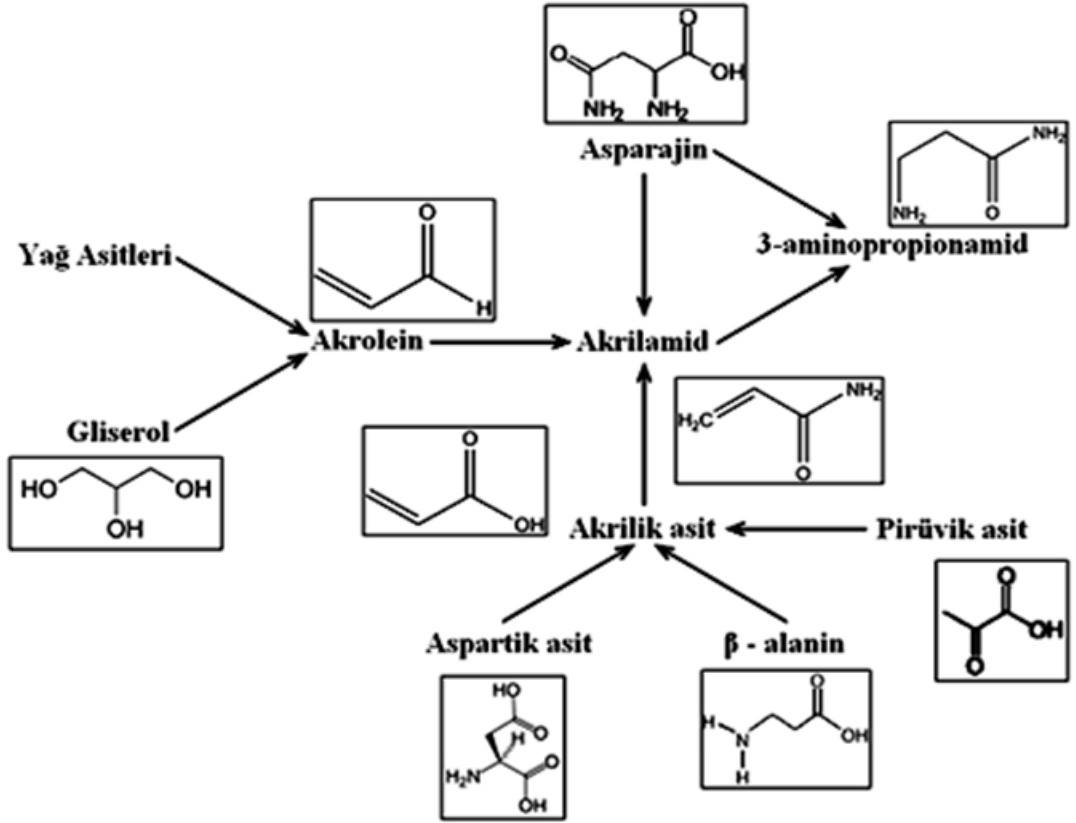
Yapılan araştırmalarda, akrilamid oluşumunda monosakkaritlerden glukozun, fruktoz ve galaktozdan daha etkili role sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca proteinlerin yapısına katılan standart 20 aminoasitten en yüksek akrilamid oluşturma kapasitesine sahip olan aa'in asparajin olduğu gösterilmiştir (77).

Asparajin aa kadar etkili olmasa da gıda kaynaklı akrilamid oluşumunda glutamin, sistin, arginin, metiyonin ve aspartik asit gibi aa'lerin de rol aldığı bulunmuştur (78).



Şekil 2.12. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu

Yapılan araştırmalarda, akrilamid oluşumunun asparajin yoluna ek farklı maddeler üzerinden de akrilamid oluşum yollarının mevcut olduğunu ortaya koymuştur. Asparajin yolu kadar etkili olmasa da akrilik asit, akrolein gibi farklı maddeler üzerinden de akrilamid oluşabilmektedir (75). Farklı moleküllerden akrilamid oluşum yolları Şekil 2.13.'te verilmiştir.



Şekil 2.13. Farklı moleküllerden akrilamid oluşum yolları

### 2.5.2. Gıda kaynaklı akrilamidin oluşumu

Gıda kaynaklı akrilamid oluşumu ile besinlerin pişirilme süresi ve sıcaklık derecesi arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. Aynı gıda tiplerinin farklı ürünleri arasında ya da aynı ürünlerin farklı tarihlerde üretilmiş olanlarının bile akrilamid içeriği yönünden değişkenlik gösterdikleri tespit edilmiştir (79). Akrilamid oluşumunda pişirme şeklinin de etkili olduğu bilinmektedir ki, yapılan bazı çalışmalarda haşlanarak pişirilen gıdalarda akrilamid oluşmadığı tespit edilmiştir (79). Bisküvilerin ve muhallebilerin hazırlanması esnasında süt, yağ ve şekerin yüksek sıcaklıkta pişirilmesi sonucu maillard reaksiyonu ile oluşan akrilamidin bu ürünlerle beraber alınması sağlığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Ayrıca Maillard reaksiyonu sonucu sütteki proteinlerin yapılarının bozulduğu, bazı zararlı maddelerin açığa çıktığı ve sonuçta bu durumun hepatotoksik etkilere yol açabileceği bildirilmiştir (80).

Gıda kaynaklı oluşan akrilamid miktarı, gıdaların asparajin aa ve indirgen şekerler (başlıca glukoz ve fruktoz) yönünden bileşimi, türü, saklama koşulları ve mevsim değişikliklerinden etkilenmektedir.

Bir araştırmada, su içeriğinin ve pH değerinin de akrilamid oluşumunu etkilediği ve ortamda Maillard reaksiyonuna girmeye, asparajin aa dışındaki diğer aminoasitlerin varlığı akrilamid oluşum miktarını azalttığı gösterilmiştir (80).

Dünya genelindeki resmi kuruluşların çoğu, gıdaların ısıl işlemi sırasında akrilamid oluştuğunun kanıtlanması sonrasında, insan sağlığını etkileyebilecek bu durumu dikkate almış ve gıdaların işlenmesi sırasında akrilamid oluşumunu azaltmaya yönelik çeşitli çalışmalar başlatmışlardır. Yayınlanan raporlarda, gıdaların üretim basamaklarında yapılan iyileştirme önlemleri ile patates cipslerindeki akrilamid miktarlarında % 30–40 oranında azalma sağlanabileceği belirtilmiştir (81). Fakat bu iyileştirici önlemlerin patates cipsi üreticileri tarafından hangi sıklıkta uygulandığı belirsizliğini korumaktadır. Yaygın olarak kullanılan kahvaltılık gevrekler ve kahve için de benzer önerilerle, oluşan akrilamid miktarında azaltma sağlanabilmesi söz konusudur.

Yapılan çalışmalarda, akrilamid oluşum miktarının azaltılabilmesi için çeşitli seenelerin bulunduğu bildirilmiştir(81). Pişirme öncesinde gıdaya asparajinaz katarak asparajinin aspartata dönüştürülmesi sonucu akrilamid oluşumunun baskılanması en verimli yöntemdir; çünkü akrilamid oluşumunda asparajin major rol almaktadır. Gıdaların asparajin içeriklerinin azaltılmasına yönelik alternatif yöntemler de bulunmaktadır. Maillard reaksiyonuna asparajinle kompetitif olarak giren aminoasitlerin katılması gibi temel gıda bileşenlerinin değiştirilmesi ve pişirme şartlarının (sıcaklığın derecesinin düşürülmesi ve/veya uygulama süresinin kısaltılması gibi) değiştirilmesi gibi akrilamid oluşum miktarının azaltılması için önerilen diğer yöntemlerdir (81).

### **2.5.3. Akrilamidin gıdalarda bulunuşu**

Akrilamid, insanlar üzerinde toksik etkilerinin gözlenebileceği dozların tam olarak bilinemediği kimyasallar grubunda değerlendirilmektedir. Akrilamidi de kapsayan bu grup kimyasal maddeler, çok düşük konsantrasyonlarda bile bir risk taşıyabilmektedir ve bunlar için tamamen zararsız denmesi mümkün değildir.

120°C'nin üzerindeki sıcaklık derecelerine maruz bırakılarak pişirilen gıdalarda yoğun miktarlarda akrilamid oluştuğunun rapor edildiği 2002 yılından sonra birçok kuruluş kendi ülkelerindeki gıdalarda bulunan akrilamid düzeylerini ve sınır değerlerini belirlemek için çeşitli çalışmalar yapmaya başlamıştır.

2002 yılından itibaren her yıl periyodik olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. FDA) piyasadan aldığı gıda numunelerinin akrilamid düzeylerinin ölçümünü yapmaktadır. Ayrıca elde edilen sonuçları kendi web sitesinden kamuoyuna duyurmaktadır (82). Amerika’da sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içerikleri Tablo 2.1.’de verilmiştir:

**Tablo 2.1.** Amerikada sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içeriği

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

Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu Marmara Araştırma Merkezi (TÜBİTAK-MAM) tarafından yürütülmüş olan bir çalışmada, 9 ay boyunca piyasadan rastgele yöntemle ev yemekleri, kavrulmuş çerezler, ekmek ve fırıncılık mamulleri, cipsler, kahve, bisküvi, kraker, çokolata, bebek mamaları, patates kızartmaları, geleneksel Türk tatlıları, pekmez, ızgara, kebab, döner ve köfte gibi çeşitli gıdalardan örnekler alınarak bu gıdaların akrilamid düzeyleri analiz edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları Tablo 2.2.’de verilmiştir(83). TÜBİTAK-MAM tarafından yapılan bu analiz sonuçları, fast-food ürünü olarak doğranıp dondurulmuş patatesten evde taze patatesin soyularak kızartılmasına oranla çok daha yüksek miktarda akrilamid oluştuğunu ortaya koymuştur.

Tulumba tatlısı ve beyaz ekmeğin kabuğunda da önemli denilebilecek düzeyde akrilamid bulunduğu ortaya konulmasına rağmen; ekmeğin iç kısmında, ızgara, döner, tahin helvası, çavdar ekmeği, baklava ve pilavda ise akrilamid düzeyleri ölçülebilir değerlerin altında bulunmuştur. Cips, kraker, kahvaltılık gevrekler, bisküvi/bebe bisküvileri, patates ve ekmek kızartmalarında önemli miktarlarda akrilamid oluştuğu tespit edilmiştir. Besinlerin haşlanması sırasında ise akrilamid oluşumunun söz konusu olmadığı ifade edilmiştir (84).

Elde edilen bu sonuçların doğrultusunda bilim insanları, çok yüksek düzeylerde akrilamid içeren gıdaların insan sağlığını önemli derecede tehdit eden bir durum olmasını göz önüne alarak, bu gıdaların üretiminin yasaklanması ya da bu gıdaların ambalajlarında “insan sağlığına zararlı akrilamid maddesi içerir” uyarı yazısının bulundurulması gerektiği yönünde ortak karara varmışlardır (85).

**Tablo 2.2.** Türkiyede sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içeriği(83).

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

#### 2.5.4. Besinlerin işlenmesi sırasında oluşan akrilamidi azaltma yolları

- Ticari olarak donmuş patateslerin kullanımından vazgeçilmesi ve mümkünse düşük şeker içerikli patateslerin tercih edilmesi,
- Patateslerin pişirme / kızartma işlemi yapmadan önce ılık / sıcak suda ya da oda sıcaklığında bekletilmesi,
- Kızartma işleminden önce suda bekletilmiş olan patateslerin suyunun iyice kurutulması,
- pH'yı düşürme, akrilamid oluşumunu % 20-30 oranında azaltmaktadır, Örneğin; patateslerin % 0.5-1.0 sitrik asit çözeltisinde < 20 dakika bekletmek veya suda bekletmek akrilamid oluşumunu önemli ölçüde azaltmaktadır,
- Patateslerin 8 °C'nin altındaki sıcaklıkta depolanmasının patatesteki indirgen şeker miktarını azalttığı gösterilmiştir (Bazı kaynaklara göre 6 °C),
- Hazır gıdalarda altın sarısı renginin oluşması için yapılan glukoz/dekstroz solüsyonuna daldırma işleminden vazgeçilmesi,
- Gıdaların galetaya bulanarak pişirilmesi oluşan akrilamid düzeyini önemli oranda artırmaktadır. Bu işleminden vazgeçilmesi,

- Derece/pişirme kuralları: başlangıç kızartma sıcaklığının 175 °C olması (tedrici olarak artış göstermemesi),
- Geleneksel fırınlarda pişirme sıcaklığının 200 °C'yi, fanlı fırınlarda 190 °C'yi geçmemesi,
- Pişirme süresi/ısının düşürülmesi, ancak tüm besinlerin; patojenleri öldürecek sıcaklık derecesinde ve yeterli süre pişirilmesi,
- Asparajın düzeyinin kontrol edilmesi: Ancak patatesin önemli bir bileşeni olarak yer alan aa seviyesinin kontrol edilmesinin pratik olduğu ile ilgili fikirler net değildir,
- Asparajinaz enziminin kullanımı, asparajin-glukoz etkileşimini durdurmaktadır ancak net bilgi verilebilmesi için ileri çalışmalar gerekmektedir,
- Tahıl ürünlerinde amonyum bikarbonat yerine sodyum hidrojen karbonatın yükseltgenme ajanı olarak kullanılması akrilamid düzeyini azaltmaktadır.
- Kızartma işlemi öncesinde uygulanan haşlama işlemi patatesten glukoz ve asparajin içeriğini azaltmıştır (85, 86).

### 2.5.5. Akrilamidin toksik etkileri

Yapılan çalışmalar, akrilamidin insan ve hayvan sinir sisteminde nörotoksik etkilerinden dolayı ve belli dozların üzerine çıkıldığında ishayvanlarda çeşitli kanserlerin oluşumunu indüklediğini ortaya koymuştur. Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları, akrilamidin gıdaların pişirilmesi sırasında oluşan diğer kanserojen ajanlarla benzer etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bununla beraber gıda kaynaklı kanserojen ajanların insanlar üzerindeki meydana getireceği etkiler tamamı olarak bilinmemektedir. Diyetle bulunan akrilamid düzeyinin, diğer gıda kaynaklı kanserojenlere oranladaha yüksek düzeylerde olması nedeni ile, akrilamidin kanserojen olabileceği yönündeki şüpheleri önemli ölçüde artmış ve akrilamid üzerine yapılan araştırmalar bu noktada yoğunluk kazanmıştır (87).

Monomerik yapıda olan akrilamidin sinir sistemindeki nöronal hücrelerde ve reproduktif sistemdeki üreme hücrelerinde hücre hasara yol açtığı ve özellikle hormonal duyarlılığı olan dokularda tümör gelişimini indüklediği deney hayvanları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda tespit edilmiştir (88). İnsanlar üzerinde yürütülmüş epidemiyolojik çalışmalarda, gıda kaynaklı akrilamide yoğun olarak maruz kalan toplumlarda nörotoksik etkilerinin belirgin derecede yaygın olmasına



rağmen kanser riski için böyle bir yaygınlıktan bahsetmenin mümkün olmadığı ileri sürülmüştür (89,90).

### **2.5.6. Akrilamidin fetal hayat üzerindeki etkileri**

Son yapılan araştırmalarda, akrilamidin fetusta yol açtığı hasarları; morfolojik, biyokimyasal ve histolojik olarak incelenmiş ve akrilamidin doza bağımlı olarak uygulanmasının fetusta ciddi morfolojik, biyokimyasal ve histolojik anormalliklere yol açtığını ortaya konulmuştur (91–93).

Allam ve ark. gebe ratlara gebeliğin 7. gününden doğuma kadar ve postpartum laktasyon süresi boyunca oral yolla günlük 10 mg/kg vücut ağırlığı dozunda akrilamid uygulayarak yaptıkları araştırmada, akrilamidin yavru ratlarda meydana getirdiği morfolojik ve biyokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Bu araştırmada akrilamidin, fetal beyin dokusunda granuler tabaka proliferasyonunda ve nöronal hücre sel farklılaşmada baskılanmaya, Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve kayıplara neden olduğu gözlemlenmiştir. Prenatal ve perinatal dönemde akrilamid maruziyetinin oksidatif strese yol açarak biyokimyasal antioksidan mekanizmalarda bozulmalar ve ratların serebellum gelişiminde önemli ölçüde baskılanmaya neden olduğunu vurgulamışlardır (91).

El-Sayad ve ark. ratlara gebelik sırasında bir grubu % 33'ü kızartılmış patates cipsinden oluşan akrilamidten zengin yemle besleyerek ve diğer bir grubada içme suyu ile 25 µg/kg dozda akrilamid uygulayarak yürüttüğü çalışmada, gebeliğin 14., 16. ve 17. gün ve postpartum fetuslar morfolojik ve histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Akrilamid ve kızartılmış patates cipsi uygulamasının fetal vücut ağırlığında ve boyutunda, tepe-oturma mesafesinde azalmalara (intrauterin gelişme geriliğine), kemiklerin gelişiminde geriliğe, spontan abortlara ve ölü doğumlara yol açtığı tespit edilmiştir. Hem prenatal hem de postnatal kızartılmış patates cipsi uygulanan grupta longitudinal vücut kemiklerinin oluşmadığını ancak içme suyu ile akrilamid uygulanan grupta böyle bir etkinin gözlemlenmediğini bildirmişler. Bu çalışmanın sonuçları, gebelik döneminde patates kızartmasından zengin diyetle beslenilmesinin gelişmekte olan fetusun sağlığını önemli ölçüde olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir (92).

Ogawa ve ark. ratlara gebeliğin 10. gününden 21. güne kadar 0, 4, 20 ve 100 ppm dozlarda akrilamidi içme suyu ile uyguladıkları çalışmada, annenin farklı dozlarda akrilamid maruziyetinin fetuslar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. 20 ve

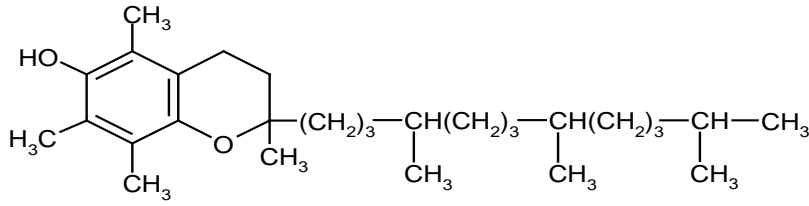
100 ppm akrilamid uygulanan gruplarda yeni doğan ratların beyin dokusunun hipokampal bölge nöronlarında dejenerasyon, hücre kaybı gibi olumsuz etkilerin meydana geldiğini ve oluşan nörotoksisite ve gelişim bozukluğu ile maruz kalınan akrilamidin dozuna bağımlı olarak pozitif korelasyon gösterebileceği rapor edilmiştir (93).

## 2.6. E VİTAMİNİNİN KİMYASAL YAPISI

1922 yılında Bishop ve Evans ratları ekşimiş yağ katılmış yemle besledikleri bir çalışmada, ratlarda fetal reabsorbsiyon gözlemlemiş ve bu olumsuz etkinin sebzelede bulunan bir madde tarafından önlenebildiğini tespit etmişler. Sebzelede bulunan bu bilinmeyen madde 1924 yılında Sure tarafından E vitamini olarak adlandırılmıştır. Evans ise ratlara bu bileşiği diyetel olarak uyguladığında ratların üreme performanslarında belirgin ölçüde artış meydana gelmesi sebebi ile bu bileşiği (tokos = doğurmak, phero = taşımak ve bileşiğin bir alkol olması nedeniyle 'ol') 'tokoferol' olarak isimlendirmiştir (94). Bu bileşikle ilgili yapılan sonraki araştırmalarda iki grup daha bulunmuş, bunlara gama ve delta tokoferol adı verilmiştir (95).1937 ve 1938 yıllarında alfa tokoferolün yapısı Erhand Fernholz tarafından keşfedilmiş;  $\alpha$ -tokoferolün kimyasal olarak sentezlemesi ise 1938'de Karrer ve ark. tarafından başarılmıştır (96). E vitaminin biyolojik aktif şekline tokoferol denir. Doğal E vitamini olan D-alfa- tokoferolün molekül ağırlığı 430.69, kaba formülü ise  $C_{29}H_{50}O_2$ 'dir. Doğal olan 8 tokoferol türü bulunmakta olup, bunlardan en aktif olanı  $\alpha$ -tokoferoldür. Plazmadaki E vitamininin %80-90 kısmını  $\alpha$ -tokoferol oluşturur ve dokudaki esas E vitamini şekli budur. Bunun nedeni  $\gamma$ -tokoferolün karaciğerde hızlıca yıkıma uğramasıdır. Bu sebeple araştırmalar  $\alpha$ -tokoferol üzerinde yoğunlaşmıştır.  $\alpha$ -tokoferol diyetle bulunan temel E vitamini faktörüdür.  $\alpha$ -tokoferol kanda  $\gamma$ -tokoferolden 4-10 kat fazladır.

Tokoferoller lipitlerde ve organik çözücülerin çoğunda kolaylıkla çözünebilen, suda çözünmeyen, yapışkan kıvamlı ve açık sarı renkte görünüme sahiptir. E vitamini ısıya, alkalilere, asitlere ve görünür ışığa karşı dayanıklı olmasına rağmen ultraviyole ışıkta kolaylıkla bozulmaktadır (95). E vitamini aktivitesine sahip bileşiklerin 6-hidroksi kroman aromatik halkası içeren tokol veya tokotrienol nükleusları vardır. Tokol ve tokotrienolün birbirinden ayırımını sağlayan yapı 13 karbonlu yan zincirindeki çift bağların varlığıdır (94, 97). Kroman halkasındaki metil gruplarının pozisyon ve sayısının farklı olmasıdır tokoferollerin birbirinden

ayrımını sağlar (98). E vitamininin kimyasal yapısı Şekil 2.14.'te verilmiştir.



Şekil 2.14. E vitamininin kimyasal yapısı

### 2.6.1. E vitamininin metabolizması

Ağız yoluyla alınan tokoferol gastrointestinal sistemden genelde iyi absorbe edilir (95). Yağda çözünen vitaminler grubunda yer alan E vitaminin absorpsiyonu safra tuzları ve lipitlerin varlığında kolaylaşır (95). Oral yoldan alınan tokoferoller, intestinal sistemde ince bağırsakta safra ile emülsifiye edildikten sonra reabsorbe edilir. Oral alımdan sonraki ilk birkaç saat absorpsiyon maksimum düzeydedir (98). Ortamda bozulmuş yağların bulunması durumunda E vitamini okside olur, mineral yağların bulunması durumunda ise E vitaminin absorpsiyonu inhibisyona uğrar (95).

Plazmada E vitamininin taşınması  $\beta$ -lipoproteinlere bağlanarak gerçekleşir. Tokoferolün safra ile atılım oranı çok düşük düzeydedir. Oral yoldan yüksek dozda tokoferol verildikten sonra insan idrarında; [(2-3-hidroksi-3-metil -5-karboksi pentil) -3,5,6-trimetil hidrokinon ve tokoferolün gamma laktonu] tespit edilmiştir (99). E vitamini cinsiyet ve yaşa göre değişen oranlarda karaciğer ve yağ dokularında depo edilmektedir. Dişi hayvanların dokularında tespit edilen E vitamini düzeyi erkek hayvanlara kıyasla daha yüksektir. E vitamini hipofiz bezi, adrenal bezlerde, uterusu ve plasentada da yüksek düzeyde depo edilmektedir (100). Tokoferol hücre içinde ise mitokondri, mikrozom ve lizozomlarda yoğun olarak bulunmaktadır (95).

### 2.6.2. E vitamininin antioksidan etki mekanizması

Tokoferoller kolayca oksitlenebilmektedir ve oksitlenmeye en duyarlı olanı  $\alpha$ -tokoferoldür. E vitamininin antioksidan aktivitesi, yapısında yer alan  $\alpha$ -tokoferolden kaynaklanır.  $\alpha$ -tokoferol serbet radikaller ile reaksiyona girerek oksidasyona duyarlı moleküllerin oksidasyondan korunmasını ya da oksidasyonun azaltılmasını sağlayarak antioksidan aktivite gösterir. Hücresel hasarın oluşumunda önemli etkenlerin başında hücresel antioksidan düzeylerinin azalması sonucu oluşan

oksidatif strestir (101). Antioksidan maddeler genel olarak; oluşan serbest radikalleri süpürücü ve giderici etkileri ile bağlayarak veya kararlı hale getirerek (95), zincir kırıcı etki ile serbest radikal oluşumuna yol açan kimyasal reaksiyonları inhibe ederek (102), supresif etki ile reaksiyon hızını azaltarak (103), onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşan hasarı rejenere ederek (104), hücrel kinaz kayıplarını önleyip oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak (102), organizmadaki SOD gibi antioksidanların sentezini indükleyerek etkilerini gösterirler (105).

E vitamini serbest radikallerin bulunduğu biyolojik ortamlarda; serbest radikalleri süpürücü etkiile toplayarak membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu erken dönemde baskılayarak oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır (105, 102).

Ayrıca E vitamininin lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunun sonlandırarak ve singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil radikallerini indirgeyerek antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (103). E vitamininin, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırarak antioksidan etki gösterdiği bilinmekteydi ancak son yapılan çalışmalar E vitamininin; radikal süpürme, baskılama, onarma ve endojen savunmayı artırma mekanizmalarının hepsini kullanabilen son derece güçlü antioksidan olduğunu ortaya koymuştur (105).

### **2.6.3. E vitamininin nöroprotektif etkisi**

Özellikle beyin dokusunun antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeni ile, beyin dokusu oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve E vitamini gibi güçlü antioksidanların koruyucu etkisine gereksinim duyar (106). Oldukça yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan E vitamini yağda çözünür özelliğinden dolayı kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçerek santral sinir sisteminde güçlü nöroprotektif etki gösterir (107, 108). E vitamini plasentayı da rahatlıkla geçip fetal dokularda antioksidan etki göstermektedir. İntrauterin dönemde plasentayı kolaylıkla geçen E vitamininin çok büyük kısmı fetal beyin dokusu tarafından alınır (109).

Rota ve ark., E vitamininden yoksun diyetle beslenen ratların hipokampal nöronlarında gen transkripsiyonunun, nörotransmisyon, beta amiloid metabolizmasının, apoptosiz ve hormon metabolizmasının önemli ölçüde bozulduğunu rapor etmişlerdir (110). Deney hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada, düşük E vitamini seviyelerinin; glial hücre fonksiyonlarını, nörojenezi, miyelinizasyonu ve sinaptogenezi bozduğu tespit edilmiştir (111). Betti ve

ark.epilepsi modeli oluşturdıkları ratlara E vitamininden zengin bir diyet uygulayarak yaptıkları çalışmada, ratların beyin dokusunda oksidatif stresin ve nöronal hücre hasarı ve kayıplarının oldukça azaldığını rapor etmişlerdir(112).

Galal ve ark. deltamethrin indüklü nörotoksisite oluşturulan ratlara E vitamini uygulanmasının, beyin dokusunun antioksidan kapasitesini artırdığını ve antiapoptotik etki meydana getirdiğini tespit etmişlerdir (113). Kosta ve ark. fosfamidon indüklü nörotoksisite oluşturulan ratlara E vitamini verilmesinin, beyin dokusunda oksidatif stresi azalttığını, öğrenme ve hafıza üzerinde olumlu yönde etki gösterdiğini tespit etmişler ve E vitamininin önemli bir nöroprotektan olduğu yönünde görüş bildirmişlerdir (114).

#### 2.6.4. E vitamini içeren gıdalar

Başta tahıllar olmak üzere ıspanak, kabak, lahana, marul gibi yeşil sebzelerde, zeytinyağı, balık yağı, fındık, ceviz, ton balığı, sardalye, yumurta sarısı, domates ve patatesten bol miktarda E vitamini bulunur. Özellikle bir avuç fındık günlük E vitamini ihtiyacının büyük kısmını karşılayabilecek oranda E vitamini içermektedir. Günlük E vitamini ihtiyacı: bebeklerde 5–6 mg, 4–11 yaş arasındaki çocuklarda 7 mg ve 12 yaşından büyüklerde ise 8-10 mg kadardır (115). Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği Tablo 2.3.'te verilmiştir.

**Tablo 2.3.**Çeşitli gıdaların E vitamini içeriği (116).

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

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. HİPOTEZ**

Ratlarda Gebelik Süresince Uygulanan Akrilamidin Fetal Beyin Gelişimine ve postnatal bilişsel fonksiyonlara olumsuz etkisine karşı E Vitamininin Koruyucu Rolü nedir?

#### **3.2. ARAŞTIRMANIN TÜRÜ**

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 2016/ A-24 nolu kararı ile onaylanmış deneysel hayvan çalışmasıdır.

#### **3.3 ARAŞTIRMANIN EVRENİ ve ÖRNEKLEM BÜYÜKLÜĞÜ**

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde (İNÜTF-DEHÜM) üretilen  $250 \pm 20$  gr ağırlığında 70 adet genç dişi Spraque Dawley türü rat kullanıldı. Her 2 dişiye bir erkek şeklinde akşam saat 17'de ratlar özel kafeslere alındılar. Ertesi gün saat 08'e kadar aynı kafeste tutulan ratlardan bu sürenin bitiminde erkek olan ratlar dişilerin yanından alındı. Erkek ratlarla aynı kafeste belli süre bırakılan dişi ratlardan vajinal smear alındı. Vajinal smear için puara sabitlenmiş pipete 0,5 mL serum fizyolojik çekilip rata karnı üstte başı aşağıda olacak şekilde pozisyonda vajinal yolla serum fizyolojik verilerek pipetin ucu vajinaya yerleştirilerek puar iki üç kez yavaşça sıkılarak vajinal sekresyon ve hücrelerin pipete alınması sağlandı. Pipetteki sıvıdan birkaç damla lam üzerine damlatılıp boyanmadan ışık mikroskopunda incelendi. Vajinal Smearında sperm tespit edilen dişiler yarım günlük gebe olarak kabul edildi. Gebelikleri smear ile doğrulanmayan dişiler araştırmaya dahil edilmedi. Gebe ratlar, İNÜTF-DEHÜM'de, 20 gün (gebelik dönemi) süreyle 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörlerle sürekli havalandırılan  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 'lik odalarda tutuldular. Deney süresi boyunca ad-libitum beslendiler. Gebeliğin 20. gününde her gruptaki gebe ratların yarısından fetuslar sezeryan ile alındı. Elde edilen 253 adet fetusta, morfolojik gelişim parametreleri olarak fetus ağırlığı, fetus CRL mesafesi, plasenta ve fetal beyin ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra dekapite edilen fetuslardan alınan beyin dokularında histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı. Her bir gruptaki geri kalan gebe ratlar normal vajinal yolla fetuslarını doğurdu ve doğan bu yavrular 21. güne kadar beslenmeleri için annelerinin yanında bırakıldı. Postnatal

laktasyon süresi bitiminde (3. haftanın sonu) erkek (E) / dişi (D) cinsiyet ayrımı yapılarak ayrı ayrı kafeslere alındı ve postnatal 8. haftaya kadar ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. haftada her grubun erkek ve dişi yavruları bilişsel fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla 5 gün süreyle Morris'in su tankı testine tabi tutuldu ve testin bitiminde bu postnatal yavruların total beyin dokuları ve hipokampus dokuları alınarak histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı.

### 3.4. DENEY GRUPLARI

**Grup 1: Kontrol grubu:** Deney grupları ile eş zamanlı olarak çiftleştirilmiş 14 adet gebe ratın vajinal smearda gebelik pozitif olan 12 adet rat deney süresince gebeliğin 0- 20. günleri arası ad-libitum beslendi. Gestasyonun 20. gününde 6 adet gebe rattan sezeryan ile alınan 55 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü ve beyin dokuları alındı. Bir kısım beyin dokuları malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH), total antioksidan kapasite (TAK), total oksidan kapasite (TOK) beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ölçümler için kullanıldı. Bir kısım beyin dokularında ise histolojik incelemeler yapıldı. Bir kısmı da genetik analizler (PCR) için kullanıldı. Geri kalan gebe ratların normal doğum sonrası yavruları laktasyon süresi bitiminde (postnatal 21. gün) Erkek/Dişi olmak üzere cinsiyet ayrımı yapılarak 8 adet Erkek yavru rat, postanatal analizler için herbir kafeste 4 adet rat olacak şekilde 2 ayrı kafese alındı ve ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. haftada ratlara Morris'in su tankı testi uygulandıktan sonra ratlar dekapite edilip hipokampus bölgesi izole edilerek alındı. Alınan bu dokular beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), histolojik incelemeler ve genetik analizler (PCR analizi) için kullanıldı.

**Grup 2: Mısır yağı grubu:** Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 14 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan 12 adet gebe rata araştırmaya alındıkları günden başlayarak gebelikleri süresince her gün 1 ml mısır yağı oral olarak verildi (20 gün). Gestasyonun 20. gününde 6 adet gebe rattan sezeryan ile alınan 53 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 53 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı. Geri kalan gebe ratların normal doğum sonrası yavruları laktasyon süresi bitiminde (postnatal 21. gün) E/D olmak üzere cinsiyet ayrımı yapılarak 8 adet E yavru rat postanatal analizler için herbir kafeste 4 adet rat olacak şekilde 2 ayrı kafese alındı ve ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. hafta'da ratlara Morris'in su tankı testi uygulandıktan sonra ratlar dekapite edilip hipokampus bölgesi izole edilerek

alındı. Alınan bu dokular beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), histolojik incelemeler ve genetik analizler için kullanıldı.

**Grup 3: Akrilamid Grubu:** Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 14 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan 12 adet gebe rataaraştırmaya alındıkları günden başlayarak gebelikleri süresince (20 gün) oral gavaj ile günde bir defa 10 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 41 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 41 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı. Geri kalan gebe ratların normal doğum sonrası yavruları laktasyon süresi bitiminde (postnatal 21. gün) E/D olmak üzere cinsiyet ayrımı yapılarak 8 adet E yavru rat postanatal analizler için herbir kafeste 4 adet rat olacak şekilde 2 ayrı kafese alındı ve ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. hafta'da ratlara Morris'in su tankı testi uygulandıktan sonra ratlar dekapite edilip hipokampus bölgesi izole edilerek alındı. Alınan bu dokular beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), histolojik incelemeler ve genetik analizler (PCR) için kullanıldı.

**Grup 4: E vitamini grubu:** Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 14 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan 12 adet gebe rataaraştırmaya alındıkları günden başlayarak gebelikleri süresince (20 gün) oral gavaj ile günde bir defa 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 52 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri ölçüldü. 52 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı. Geri kalan gebe ratların normal doğum sonrası yavruları laktasyon süresi bitiminde (postnatal 21. gün) E/D olmak üzere cinsiyet ayrımı yapılarak 8 adet E yavru rat postanatal analizler için herbir kafeste 4 adet rat olacak şekilde 2 ayrı kafese alındı ve ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. hafta'da ratlara Morris'in su tankı testi uygulandıktan sonra ratlar dekapite edilip hipokampus bölgesi izole edilerek alındı. Alınan bu dokular beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), histolojik incelemeler ve genetik analizler (PCR) için kullanıldı.

**Grup 5: Akrilamid + E vitamini grubu:** Deneye başlamadan önce çiftleştirilmiş 14 adet rattan gebelikleri vajinal smear ile + olarak tanımlanan 12 adet gebe rataaraştırmaya alındıkları günden başlayarak gebelikleri süresince (20 gün) her gün oral gavaj ile 10 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid ve oral gavaj ile 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini uygulandı. Gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan 52 adet fetusun morfolojik yapıları ve gelişim parametreleri



ölçüldü. 52 adet fetusun beyin dokuları alınarak histolojik, biyokimyasal ve genetik analizler yapıldı. Geri kalan gebe ratların normal doğum sonrası yavruları laktasyon süresi bitiminde (postnatal 21. gün) E/D olmak üzere cinsiyet ayrımı yapılarak 8 adet E yavru rat postnatal analizler için herbir kafeste 4 adet rat olacak şekilde 2 ayrı kafese alındı ve ad-libitum beslendiler. Postnatal 8. hafta'da ratlara Morris'in su tankı testi uygulandıktan sonra ratlar dekapite edilip hipokampus bölgesi izole edilerek alındı. Alınan bu dokular, beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), histolojik incelemeler ve genetik analizler için kullanıldı.

#### **Akrilamid uygulama yöntemi**

Gebeliğin 1-20. günleri arası günde bir defa oral gavaj ile 10 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde akrilamid (Acrylamide; Sigma A8887) içmesuyu içerisinde çözülerek uygulandı (117).

#### **E vitamini uygulama yöntemi**

Gebeliğin 1-20. günleri arası oral gavaj ile her gün 100 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde E vitamini ( $\alpha$ -Tocopherol; Sigma T3251) mısır yağı içerisinde çözülerek uygulandı (118).

### **3.5. DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ**

#### **3.5.1. Morfolojik Yapı ve Gelişim Parametreleri Değerlendirme Yöntemi**

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

#### **3.5.2. Histolojik İnceleme Yöntemi**

DeneySEL aşama sona erdiğinde, ratların total beyin dokuları ve beyinin hipokampus bölgesi alınarak %10'luk formaldehit içiren numune kaplarına bırakıldı. Dokular, tespit için 3 gün bu solüsyonda bekletildi. Tespit sonrası doku içindeki tespit solüsyonunun uzaklaştırılması amacıyla dokular çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra rutin histolojik doku takibi prosedürüne uygun olarak dehidrasyon ve parlatma işlemleri yapıldı. Son olarak takibi tamamlanan dokular parafin blok haline getirildi. Parafin bloklardan histolojik inceleme yapılabilmesi için 8  $\mu$ m kalınlıkta kesitler alındı. Elde edilen kesitler deparafinize edilerek hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandı. Boyanan kesitler Nikon Eclipse Ni-U ışık mikroskobu, Nikon DS Fi2

kamera ve Nikon Nis-Elements görüntü analiz sisteminde (Nikon Corporation, Tokyo Japan) incelenerek fotoğraflar çekildi. İncelenen kesitlerde nöroglial infiltrasyon, konjesyon ve hemoraji bulguları skorlandı (0 = yok, 1 = nadir/minimal düzeyde, 2 = şiddet/yaygınlık orta derecede, 3 = yaygın/şiddetli) ve beyin korteks kalınlıkları ölçüldü.

### **3.5.3. Biyokimyasal Analizler**

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

#### **3.5.3.1. Dokuların biyokimyasal analizlere hazırlanması**

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

#### **3.5.3.2. Redükte glutasyon (GSH) düzeyinin ölçümü**

GSH analizi, Ellman'ın tarif ettiği yöntemle yapıldı (119). Analiz tüpünde bulunan GSH'nin 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi ve oluşan bu rengin ışık şiddetinin 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunarak GSH konsantrasyonunun tayin edilmesi şeklinde yapıldı.

#### **3.5.3.3. Malondialdehid (MDA) düzeyinin ölçümü**

MDA analizi Uchiyama ve ark. (120) yöntemine göre yapıldı. MDA düzeyi, süpernatandaki MDA'nın 95 °C'de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli ürünün n-butanol fazından ekstrakte edilen süpernatanın spektrofotometre ile 535 ve 520 nm de ölçülmesiyle belirlendi.

#### **3.5.3.4. Total oksidan kapasitenin (TOK) ölçümü**

Total oksidan kapasitenin ölçümünde, ticari TOK ölçüm kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların

asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (121). TOK ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELİSA 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 µL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbans ölçüldü. Karışıma 25 µL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçülmesiyle TOK düzeyleri belirlendi.

#### **3.5.3.5. Total antioksidan kapasitenin (TAK) ölçümü**

Ticari TAK ölçüm kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (122). TAK ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, ELİZA cihazı 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 µL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbans ölçüldü. Karışıma 75 µL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçülmesiyle TAK düzeyleri belirlendi.

#### **3.5.3.6. BDNF düzeylerinin ölçümü**

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

#### **3.5.4. Morris Water Maze testi (Morris'in su tankı testi)**

Bilişsel fonksiyonların araştırılmasında Morris'in su tankı testi (Morris Water Maze Testi) uygulandı. Morris'in su tankı testi; sıçan ve farelerde en yaygın olarak kullanılan bir öğrenme ve bellek testidir (123). Kullanılan su tankı sirküler bir tank olup 120 cm çapında galvanizli ve 50 cm yüksekliğindedir. Su tankı 25 cm kadar su ile dolduruldu ve süt tozu ile boyanarak su yüzeyinden 2 cm alta bırakılan 10 cm çapındaki platformun görünmesi engellendi. Suyun ısısı 24±2 °C de sabit tutuldu.

Tankın yerleştirildiği konum ve platform yeri deney süresince sabit tutuldu. Deneklerin bulunduğu yerin uzaysal konumunu algılayabilmeleri için görsel bir işaret tank dışına konuldu (visual cues). Platform sanal olarak 4 eşit parçaya ayrılan tankın bir quadratının ortasına bırakıldı. Sıçan diğer ¼ oranındaki alanlardan birine bırakılarak yüzerek platformu bulması için 90 saniye (sn) zaman verildi. Platformu bulunca 30 sn platform üzerinde dinlenmesine izin verildi. Sonra alınıp kurutularak ayrı bir kafeste 30 sn bekletildi. Tekrar su tankına bırakılarak aynı işlem her hayvan için 4 kez tekrarlanıp platformu bulma süreleri kaydedildi. 90 sn içinde platformu bulamayan sıçan alınıp platforma bırakıldı ve 30 sn platform üzerinde kalması sağlandı. Her hayvan için 5 gün süreyle aynı denemeler yapıp deneklerin öğrenme yeteneği zaman olarak (sn) kaydedildi. Belleğin pekiştirilme işlemini test etmek için 5 günlük testten 24 saat sonra probe testi yapıldı. Bu testte platform tanktan alındı ve denekler yüzdürüldü. Denekler doğal olarak platformun önceden buldukları tankın dörtte birlik kısmında daha çok arama yaparlar. Bu süre belleğin pekiştirilmesini ölçer. Deneklerin eski platformun bulunduğu dörtte birlik alanda yüzdükleri süre kaydedildi. Öğrenme testleri tamamlandıktan sonra bu sıçanlar da dekapite edildi. Tüm gruplardan **kan**, beyin dokuları ve hipokampus bölgesi alındı ve -80 °C'de saklandı. Beyin dokularında **histolojik incelemeler**, hipokampus dokularında BDNF gen transkripsiyon seviyeleri **ve serum BDNF düzeyleri** analiz edildi.

### 3.5.5. İstatiksel Analizler

İstatiksel analizler SPSS 21.0 Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildi. Veriler normal dağılım göstermediği için nonparametrik istatistik yapılmış vesonuçlar ortanca (min–maks) olarak verilmiştir. Grupların karşılaştırılması için Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal–Wallis testi sonrası ikili karşılaştırmalar Conover yöntemiyle yapılmıştır. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edilmiştir ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.5.6. Genetik Analizler

#### 3.5.6.1. Kullanılan kimyasal malzemeler, alet ve gereçler

PCR için primerler, RNA saflaştırma kiti, gerçek zamanlı PCR reaksiyonu için master miks, cDNA sentez kiti Roche firmasından, temin edildi. Araştırmada;

millipore marka saf su ünitesi, Biorad-MyCycler marka PCR cihazı, Roche marka LC96 model gerçek zamanlı PCR cihazı, Denver Instrument marka terazi, Ohaus marka hassas terazi, Biorad marka elektroforez güç kaynağı, Retsch marka MM400 model bilyeli parçalama sistemi, MettlerToledo marka EL20 model pH metre, Hettich-zentrifugen marka 200 model masaüstü santrifüj cihazı, Hermle marka Z216MK model mikro santrifüj, EpochBiotek marka spektrofotometre cihazı, Heidolph marka vorteks, Heidolph marka manyetik karıştırıcı kullanıldı.

#### RNA saklama çözeltisi

70 gr amonyum sülfat 100 ml dietilpirokarbonat (DEPC)'lı suda çözüldü. Üzerine 10 mM EDTA (pH 8) ve 25 mM sodyum sitrat (pH 5,2) eklenip DEPC'li saf su ile 150 ml'ye tamamlandı ve pH 5,2'ye ayarlandı.

#### 10X TBE (Tris-Borat-EDTA) tamponunun hazırlanışı

1 litre 10X TBE tamponu hazırlarken; öncelikle 108 gr TRIS baz, 55 gr borik asit ve 40 ml 0,5 M EDTA çözeltisi 900 ml saf su içerisinde manyetik karıştırıcıda çözüldü. Çözeltinin pH değeri 8,0 oluncaya kadar HCl eklendi. Daha sonra çözeltinin toplam hacmi 1000 ml'ye tamamlandı ve 121 °C' de 20 dakika otoklavlandı.

#### Lizis solüsyonu hazırlanışı

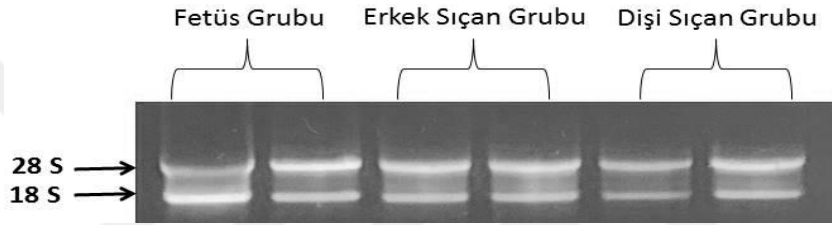
4 M Guanidinizotiyosiyanat, 25 mM sodyum sitrat (pH 7) ve % 0,5 sarkosil (N-Lauroylsarcosine) eklenerek lizis karışımı hazırlandı ve çalışma esnasında kullanılacak çözeltideki oranı % 1 olacak şekilde  $\beta$ -merkaptolanol eklenerek homojenizasyonda kullanıldı.

### 3.5.6.2. Moleküler analizler

#### 3.5.6.2.1. Dokudan RNA saflaştırılması

$\beta$ -Aktin, Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)mRNA seviyelerinin tespiti için gruplardan alınan beyin doku örnekleri RNA saklama çözeltisi içine konuldu ve bu dokulardan Roche firmasının "High Pure RNA Tissue Kit" (Lot no: 16529600 ve referans no:12033674001) saflaştırma kiti kullanılarak total RNA saflaştırılması yapıldı. 30 mg doku tartıldı ve üzerine 600  $\mu$ l "LysisBuffer" eklendi. Daha sonra bilyeli doku parçalayıcıda 30 Hz titreşim hızıyla yaklaşık 1 dakika süresince homojenize edildi. Homojenatın üzerine hacminin yarısı kadar etanol eklendi bu karışım vortekslelendikten sonra 13.000xg'de 10 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında kolona 100  $\mu$ l DNaz enzimi eklendi ve 15

1 dakika oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 500 µl Wash buffer-I eklenerek ve 8.000xg'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi, üzerine 500 µl Washbuffer-II eklendi ve tekrar 8.000xg'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Daha sonra üzerine 300µl Washbuffer-II eklendi ve 13.000xg'de 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolona 100 µl elüsyon tamponu eklendi ve 8.000xg'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi tüpte toplanan sıvı total RNA olarak elde edildi. “High Pure RNA Kit Protokolü” kiti ile beyin dokusu örneklerinden saflaştırılan total RNA'larda herhangi bir yıkımın olup olmadığını belirlemek amacıyla örnekler, % 1 agaroz jelinde ve 1X TBE tamponu ile 100 mV'de elektroforez işlemine tabi tutuldu. Saflaştırılan RNA'larda 28S ve 18S ribozomal bantlarının varlığı ve herhangi bir yıkım olmadığı görüldü (Şekil 3.1.)



**Şekil3.1.** Araştırmada her bir gruba ait beyin doku örneklerinden saflaştırılan RNA'lar.

Ayrıca dokulardan saflaştırılan RNA örneklerinin spektrofotometrik analizleri yapıldı, örneklerin saf RNA içerdiği tespit edildi. Örneklerin RNA'ları miktar ve saflık tayini için “Biotek” marka spektrofotometre cihazı ile “Gen5” programları kullanılarak 260 ve 280 nm'de UV spektrumunda ölçüldü. RNA miktarı ng/µL cinsinden hesaplandı ve 260/280 oranları yaklaşık 2 olan saf RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanıldı.

### 3.5.6.2.2.cDNA sentez protokolü

cDNA sentezinde Roche firmasının ürettiği “Transcriptor First strand cDNA Synthesis” kiti (Lot no: 11260125, Refno: 04 896 866 001) kullanıldı. 100 µl'lik PCR tüpüne fetus grubu için 4000, erkek sıçan grubu için 1000, dişi sıçan grubu için 1500 ng/µl toplam RNA, 1 µl OligodT18 (50 pmol/µl), 1 µl Random Hexamer Primer (600 pmol/µl) ve toplam hacim 13 µl olacak şekilde bidistile su eklendi ve karıştırıldı. Daha sonra 65 °C'de 10 dakika PCR cihazında ısıtıldı. Bu karışımın üzerine 4 µl “Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer”, 0,5 µl “Protector RNase Inhibitor”, 2 µl Deoxynucleotide Mix (her nükleotid için 10

mMkonsantrasyonda), 0,5 µl “TranscriptorReverseTranscriptase” enzimi eklendi ve böylece toplam hacim 20 µl oldu. Karıştırılan numuneler PCRCihazında 25 °C’de 10 dakika, 55 °C’de 60 dakika ve 85 °C’de 5 dakika ısıtıldı daha sonra -20 °C’de analize kadar saklandı.

### 3.5.6.2.3. Gerçek zamanlı PCR protokolü

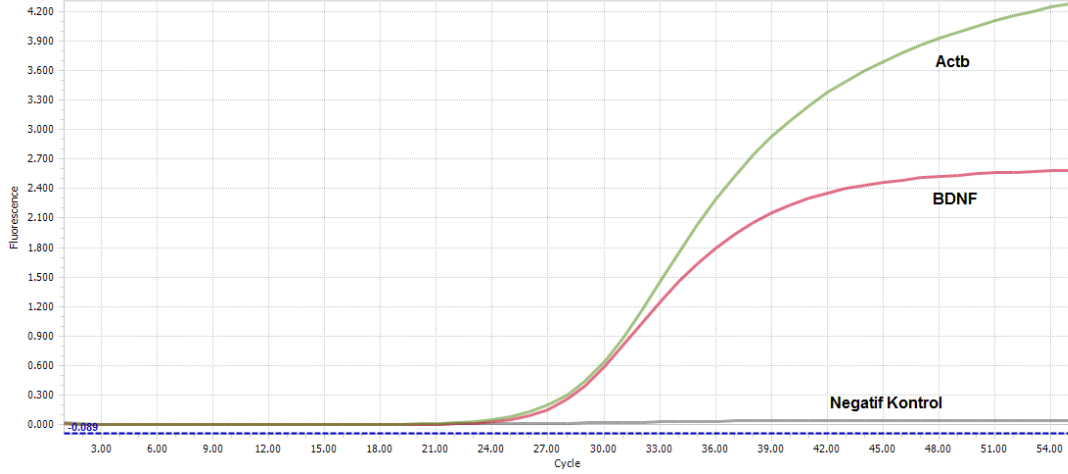
Gerçek zamanlı PCR analizi; RocheLightCycler 96 gerçek zamanlı PCRCihazı, Roche firmasının ürettiği “Fast Start Essential DNA Probes Master kit (Lot no: 11806100, Refno: 06 402 682 001)” ve “Real Time Ready Assay (BDNF Config No: 100129595, AssayId: 502486, LOT: 0000054844; β-ActinConfig No:100081783, AssayId: 500152, LOT:0000010971)”(8 pmol/µl) hidroliz probluprimerler kullanılarak yapıldı. Reaksiyonlar 10 µl toplam hacimde hazırlandı. Bunun için 5 µl master mix, 0,5 µl real time ready mix, 2 µl PCR kalitesinde su ve 2,5 µl cDNA olacak şekilde hazırlandı. Çalışmada her örnek için 3 tekrar yapıldı. PCR şartları firmanın önerdiği şekilde yapıldı; ilk denaturasyon 95 °C’de 10 dakika, ikinci denaturasyon 95 °C’de 10 saniye, bağlanma 60 °C’de 30 saniye ve polimerizasyon 72°C’de 1 saniye olarak oluşturuldu ve 55 döngü tekrarlandı. Tablo (3.1.)’de dizilimleri ve büyüklükleri verilen primerler gen ifadelerinin analizinde kullanıldı.

**Tablo 3.1.** Primer dizilimleri (Ek. ).

Gen	Primer dizisi (Forward ve Reverse)	Ref. Seq. Number	Ürün büyüklüğü
<i>β-Aktin</i>	F: 5’ CTAAGGCCAACCGTGAAAAG 3’ R: 5’ GCCTGGATGGCTACGTACA 3’	NM_031144	79 bp
<i>BDNF</i>	F: 5’ GTGGAGGCTAAGTGGAGCTG 3’ R: 5’ GTCCTACCGGTGAGTCTTTA 3’	NM_012513	69 bp

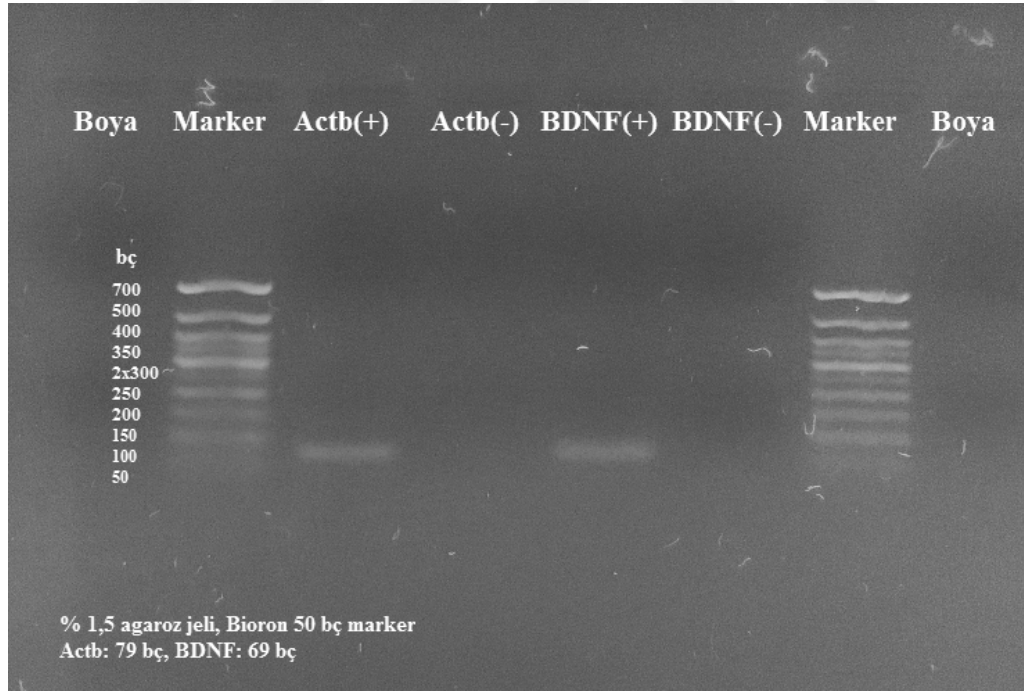
Her bir örnekten saflaştırılan RNA’lardan elde edilen cDNA’lar, β-Aktin, ve BDNF genlerine özgü primerler kullanılarak gerçek zamanlı PCR ile çoğaltıldı ve gen ifadesindeki değişimler β-aktin genine oranlanarak belirlendi.

Moleküler analizlerde “HydrolysisProbe” kullanılarak β –aktin ve BDNF mRNA’larından sentezlenen cDNA’ların gerçek zamanlı PCR ile çoğaltımı yapıldı (Şekil 3.2.).



**Şekil 3.2.** “Hydrolysis Probe” kullanılarak  $\beta$ -aktin ve BDNF mRNA’larından sentezlenen cDNA’ların gerçek zamanlı PCR ile çoğaltım eğrisi.

$\beta$ -aktin ve BDNFcDNA’ları kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PCR sonrası agarozjelinde örnekler koşturularak primer bağlanmasının özgülüğü kontrol edildi. Analiz sonucunda her iki gen için de tek ve istenilen boyda bir DNA bandı oluştuğu görüldü (Şekil 3.3.).



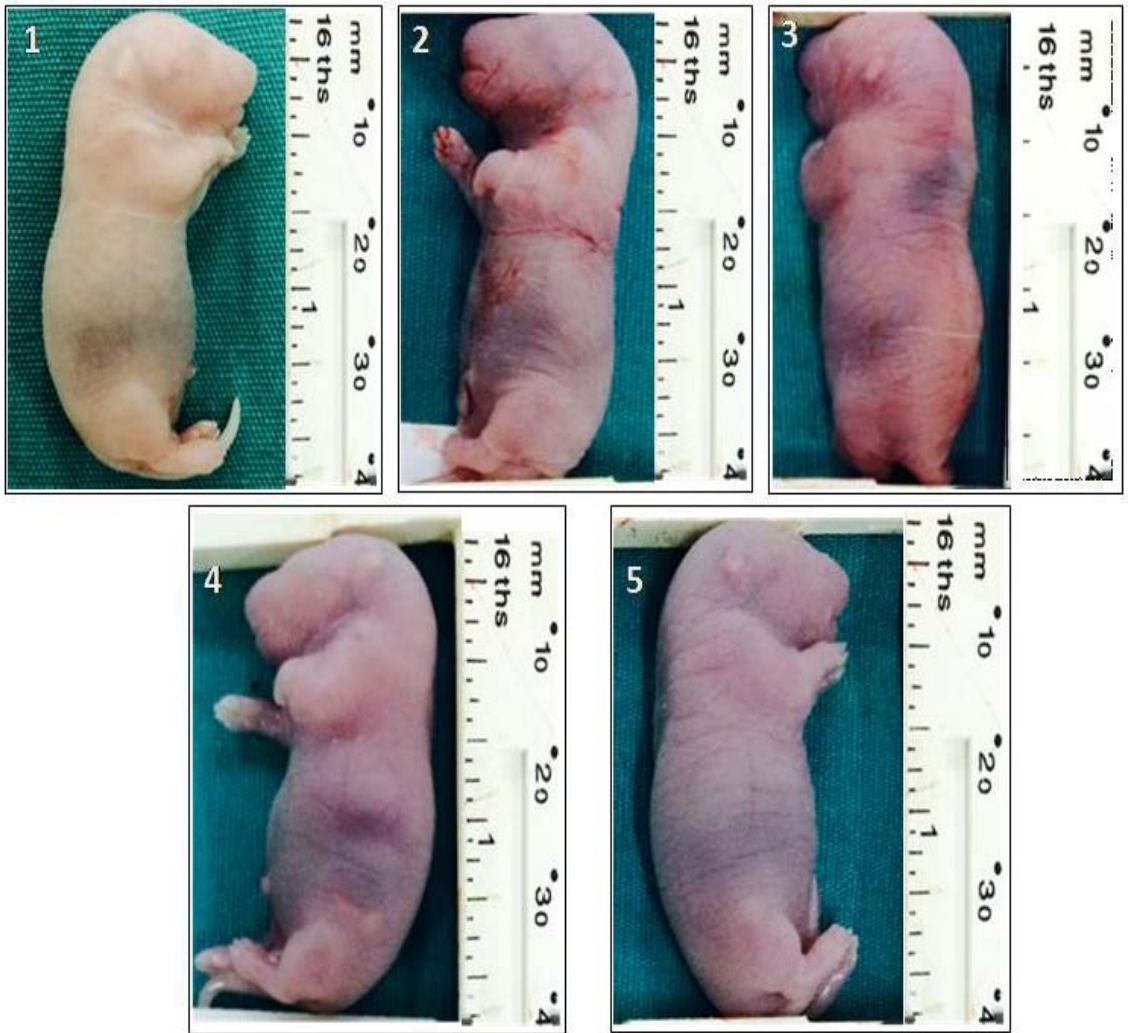
**Şekil 3.3.**  $\beta$ -aktin ve BDNFcDNA’larının PCR’deki çoğalımının agaroz jel (%1,5) elektroforezi görüntüsü. Kullanılan DNA Markeri 50 bp DNA Markeri’dir (Bion, 50 bp, catalog no: 304007).



## 4. BULGULAR

### 4.1. MORFOLOJİK YAPI VE GELİŞİM PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tüm gruplardaki gebe ratlardan sezeryan ile alınan toplam 253 adet fetusda ağırlık, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlıkları ölçüldü. Çalışmada kullanılan fetusların vücut ağırlığı, CRL mesafesi, plasenta ve beyin ağırlıklarına ait toplu sonuçlar Ek 2’de verilmiştir. Tüm gruplardan örneklenen 20 günlük fetusların genel görünüşü Şekil 4.1’de verilmiştir.



**Şekil 4.1.** Tüm gruplardan örneklenen 20 günlük fetusların genel görünüşü. Kontrol grubu (Resim 1) ve Mısır yağı grubu (Resim 2) fetusların görünümü normal, akrilamid grubu (Resim 3) fetusların vücutlarında yaygın hemarajik alanlar mevcut, E vitamini grubu (Resim 4) ve Akrilamid + E vitamini grubu (Resim 5) fetusların görünümü normal.

#### 4.1.1. Grupların Gelişim Parametrelerine Ait Bulgular

Çalışma sonunda tüm gruplardan gebeliğin 20. gününde sezeryan ile alınan fetuslar incelendiğinde akrilamid grubu da dahil olmak üzere tüm gruplarda herhangi bir ekstremitte anomalisine rastlanmadı. Grupların gelişim parametrelerine ait tüm bulgular Tablo 4.1.'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Grupların gelişim parametrelerine ait tüm bulgular

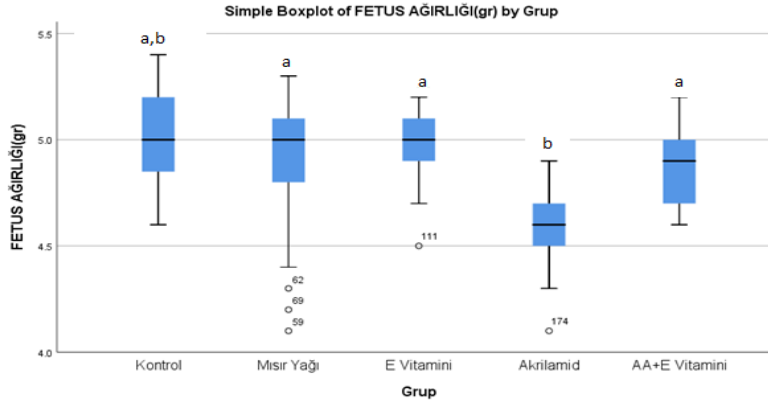
Morfolojik parametre	Gruplar	N	Median	Minimum	Maksimum	Anlamlılık
Fetus ağırlığı (gr)	Kontrol <sup>a,b</sup>	55	5,0	4,6	5,4	p<0.001
	Mısır yağı <sup>a</sup>	53	5,0	4,1	5,3	
	Akrilamid <sup>b</sup>	41	4,6	4,1	4,9	
	E vitamini <sup>a</sup>	52	5	4,5	5,2	
	Akrilamid + E vitamini <sup>a</sup>	52	4,9	4,6	5,2	
CRL mesafesi (mm)	Kontrol <sup>a</sup>	55	40	37	42	p<0.001
	Mısır yağı <sup>a</sup>	53	39	36	42	
	Akrilamid <sup>b</sup>	41	37	31	39	
	E vitamini <sup>a</sup>	52	40	38	41	
	Akrilamid + E vitamini <sup>a</sup>	52	40	38	41	
Plasenta ağırlığı (gr)	Kontrol <sup>a,b</sup>	55	0,70	0,62	0,80	p<0.001
	Mısır yağı <sup>a</sup>	53	0,68	0,60	0,79	
	Akrilamid <sup>b</sup>	41	0,57	0,51	0,64	
	E vitamini <sup>a</sup>	52	0,67	0,60	0,73	
	Akrilamid + E vitamini <sup>a</sup>	52	0,66	0,63	0,72	
Beyin ağırlığı (gr)	Kontrol <sup>a</sup>	55	0,20	0,18	0,21	p<0.001
	Mısır yağı <sup>a</sup>	53	0,19	0,18	0,21	
	Akrilamid <sup>b</sup>	41	0,18	0,17	0,19	
	E vitamini <sup>a</sup>	52	0,20	0,21	0,21	
	Akrilamid+ E vitamini <sup>a</sup>	52	0,20	0,19	0,21	

a: Akrilamide göre farklılığı, b: AA+E Vitaminine göre farklılığı ifade etmektedir (p<0.001).

#### 4.1.2. Grupların Fetus Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Yapılan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 20 günlük fetuslarda gelişim parametresi olarak incelenen fetus ağırlıkları, akrilamid uygulanması ile ciddi derecede azalırken (p<0.001), E vitamini uygulanmasıyla fetus ağırlığı anlamlı

derecede artmıştır ( $p<0.001$ ). Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı Şekil 4.2.'de verilmiştir.

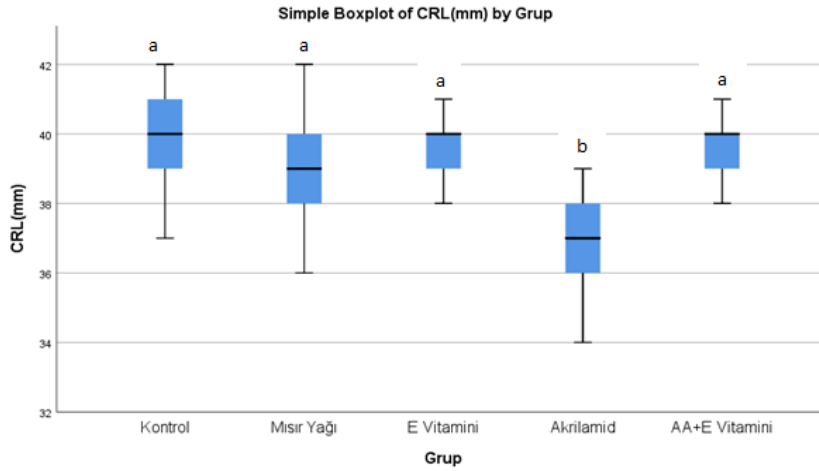


**Şekil 4.2.**Fetus ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

a: Akrilamide göre farklılığı, b: AA+E Vitamini'ne göre farklılığı ifade etmektedir ( $p<0.001$ ).

#### 4.1.3. Grupların CRL mesafelerinin karşılaştırılması

Yapılan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 20 günlük fetuslarda gelişim parametresi olarak incelenen CRL mesafesi, akrilamid uygulanan grupta belirgin ölçüde azalırken ( $p<0.001$ ), E vitamini uygulanan grupta ise anlamlı ölçüde artmıştır ( $p<0.001$ ). CRL mesafesinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.3.'te verilmiştir.

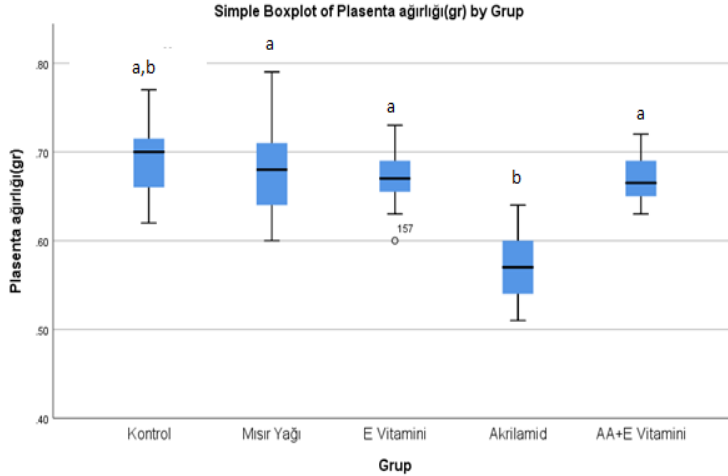


**Şekil 4.3.** CRL mesafesinin gruplara göre dağılımı

a: Akrilamide göre farklılığı, b: AA+E Vitamini'ne göre farklılığı ifade etmektedir ( $p<0.001$ ).

#### 4.1.4. Grupların plasenta ağırlıklarının karşılaştırılması

Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, plasenta ağırlığı, akrilamid uygulanan grupta belirgin ölçüde azalırken ( $p<0.001$ ), E vitamini uygulanan grupta ise ciddi derecede artmıştır ( $p<0.001$ ). Plasenta ağırlığının gruplara göre dağılımı Şekil 4.4'te verilmiştir.

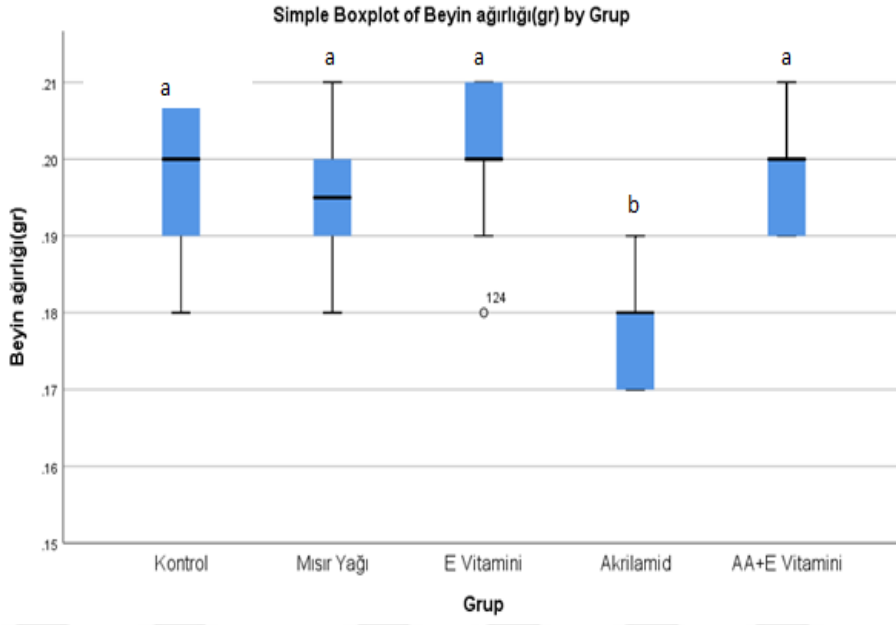


Şekil 4.4. Plasenta ağırlığının gruplara göre dağılımı

a: Akrilamide göre farklılığı, b: AA+E Vitamini'ne göre farklılığı ifade etmektedir ( $p<0.001$ ).

#### 4.1.5. Grupların fetal beyin ağırlıklarının karşılaştırılması

Grupların fetal beyin ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, fetal beyin ağırlığı akrilamid uygulanan grupta anlamlı ölçüde azalırken ( $p<0.001$ ), E vitamini uygulanmasıyla önemli derecede artmıştır ( $p<0.001$ ). Beyin ağırlığının gruplara göre dağılımı Şekil 4.5.'te verilmiştir.



**Şekil 4.5.** Fetal Beyin ağırlığının gruplara göre dağılımı

a: Akrlamide göre farklılığı, b: AA+E Vitamini'ne göre farklılığı ifade etmektedir ( $p < 0.001$ ).

## 4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Grupların biyokimyasal parametrelere ait bulgular Tablo 4.2.'de verilmiştir

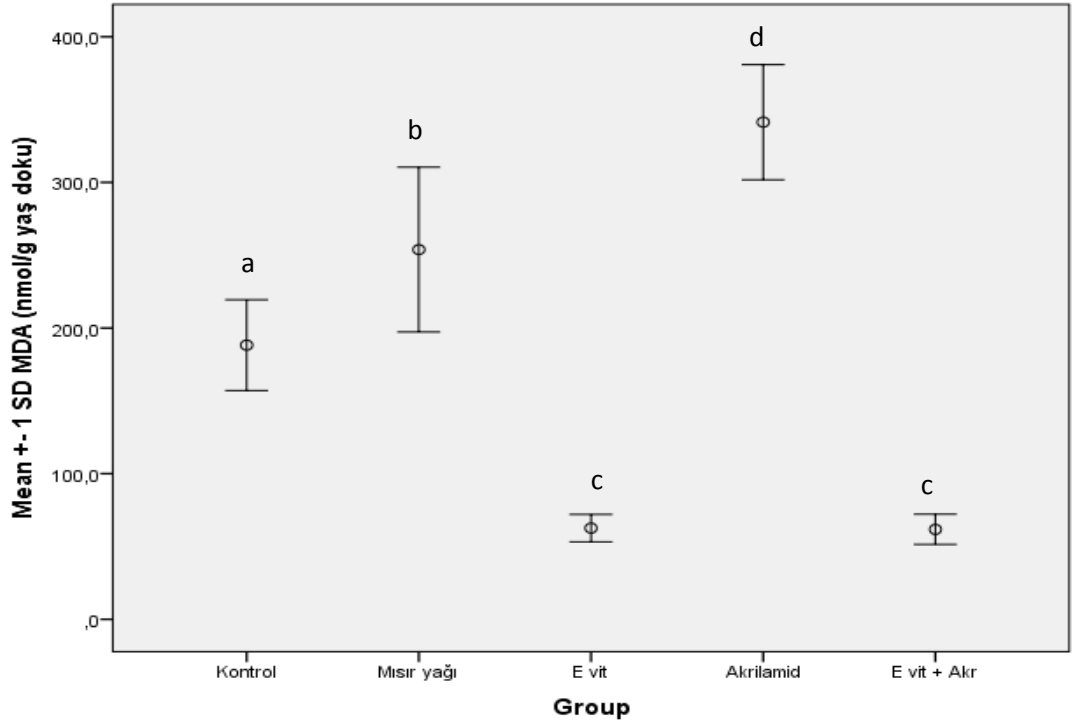
**Tablo 4.2.** Sezaryen ile alınan yavrularda grupların biyokimyasal parametrelere ait bulgular

	Gruplar	Mean	Std. Deviasyon	p
MDA (nmol/g yağ doku)	Kontrol <sup>a</sup>	188,25	31,16	<0,001
	Mısır yağı <sup>b</sup>	253,87	56,62	
	E vit <sup>c</sup>	62,63	9,43	
	Akrilamid <sup>d</sup>	341,38	39,51	
	E vit + Akr <sup>c</sup>	61,75	10,36	
GSH (nmol/g yağ doku)	Kontrol <sup>a</sup>	745,75	36,49	<0,001
	Mısır yağı <sup>a</sup>	677,13	66,17	
	E vit <sup>b</sup>	1214,75	79,29	
	Akrilamid <sup>a</sup>	644,50	95,17	
	E vit + Akr <sup>c</sup>	942,50	87,85	
TAS (mmol/L)	Kontrol <sup>a</sup>	1,15	0,10	<0,001
	Mısır yağı <sup>a,c</sup>	1,07	0,21	
	E vit <sup>b</sup>	1,96	0,28	
	Akrilamid <sup>c</sup>	0,79	0,14	
	E vit + Akr <sup>d</sup>	1,71	0,13	
TOS (μmol/L)	Kontrol <sup>a</sup>	7,00	1,38	<0,001
	Mısır yağ <sup>a</sup>	9,55	0,89	
	E vit <sup>c</sup>	4,88	0,52	
	Akrilamid <sup>b</sup>	11,17	2,21	
	E vit + Akr <sup>c</sup>	5,06	0,70	
OSI	Kontrol <sup>a</sup>	6,08	1,04	<0,001
	Mısır yağı <sup>b</sup>	9,22	2,13	
	E vit <sup>c</sup>	2,53	0,46	
	Akrilamid <sup>d</sup>	14,43	3,44	
	E vit + Akr <sup>c</sup>	2,98	0,51	
Beyin BDNF (pg/ml)	Kontrol <sup>a,b</sup>	135,14	6,65	0,007
	Mısır yağı <sup>a</sup>	146,37	18,67	
	E vit <sup>a</sup>	146,10	13,09	
	Akrilamid <sup>b</sup>	129,07	7,92	
	E vit + Akr <sup>a</sup>	148,27	7,47	
Postnatal 8. Hafta Erkek Yavru Serum BDNF (pg/ml)	Kontrol <sup>a,b,c</sup>	148,13	18,41	0,002
	Mısır yağı <sup>a,b</sup>	140,20	8,47	
	E vit <sup>c</sup>	183,18	20,35	
	Akrilamid <sup>b</sup>	133,47	11,42	
	E vit + Akr <sup>a,c</sup>	160,25	27,39	

Farklı harfler gruplar arasındaki farkların istatistiki olarak anlamlılığını ifade eder

#### 4.2.1. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması

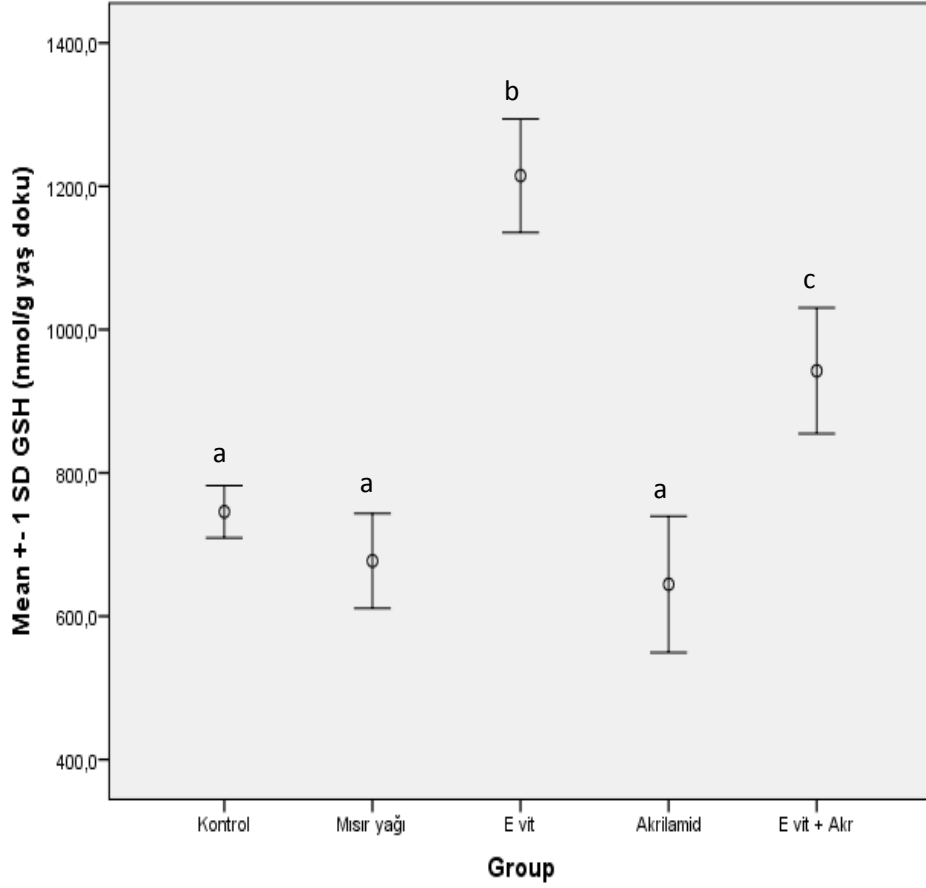
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid grubu fetal beyin dokusu MDA düzeyleri istatistikî olarak anlamlı şekilde artış gösterirken ( $p<0.001$ ), E vitamini uygulanması MDA düzeylerini istatistikî olarak önemli derecede düşürmüştür ( $p<0.001$ ) ve kontrol grubu değerlerine getirmiştir. Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil4.6. Fetal beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

#### 4.2.2. Grupların GSH düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid grubu fetal beyin dokusu GSH düzeyleri istatistikî olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlenirken, E vitamini uygulanmasıyla GSH düzeyleri istatistikî olarak önemli derecede artmış ( $p<0.001$ ) ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.7.'de verilmiştir.

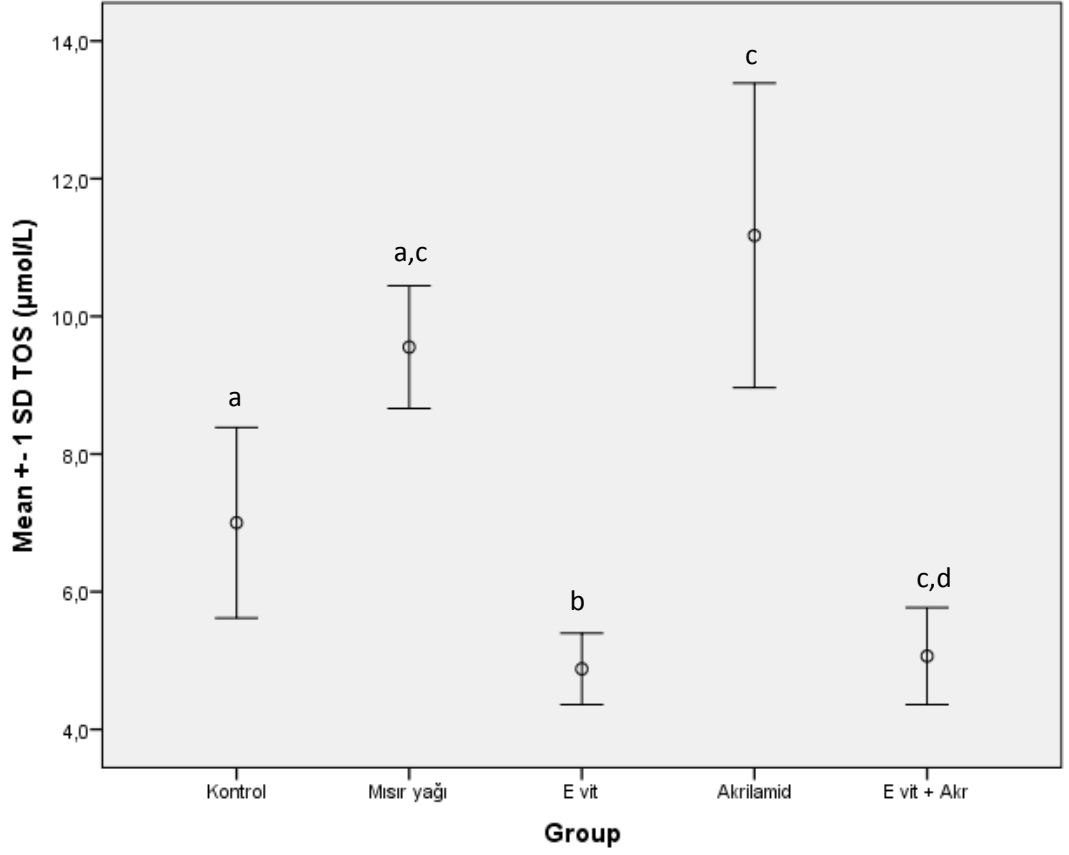


**Şekil 4.7.** Fetal beyin dokusu GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

#### 4.2.3. Grupların TOK düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu TOK düzeyleri istatistiki olarak anlamlı derecede artış gösterirken ( $p < 0.001$ ), E vitamini uygulanan grupta TOK düzeyleri istatistiki olarak önemli derecede azalmış ( $p < 0.001$ ) ve kontrol grubu değerlerine getirmiştir. Fetal beyin dokusu TOK düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.8.'de verilmiştir.



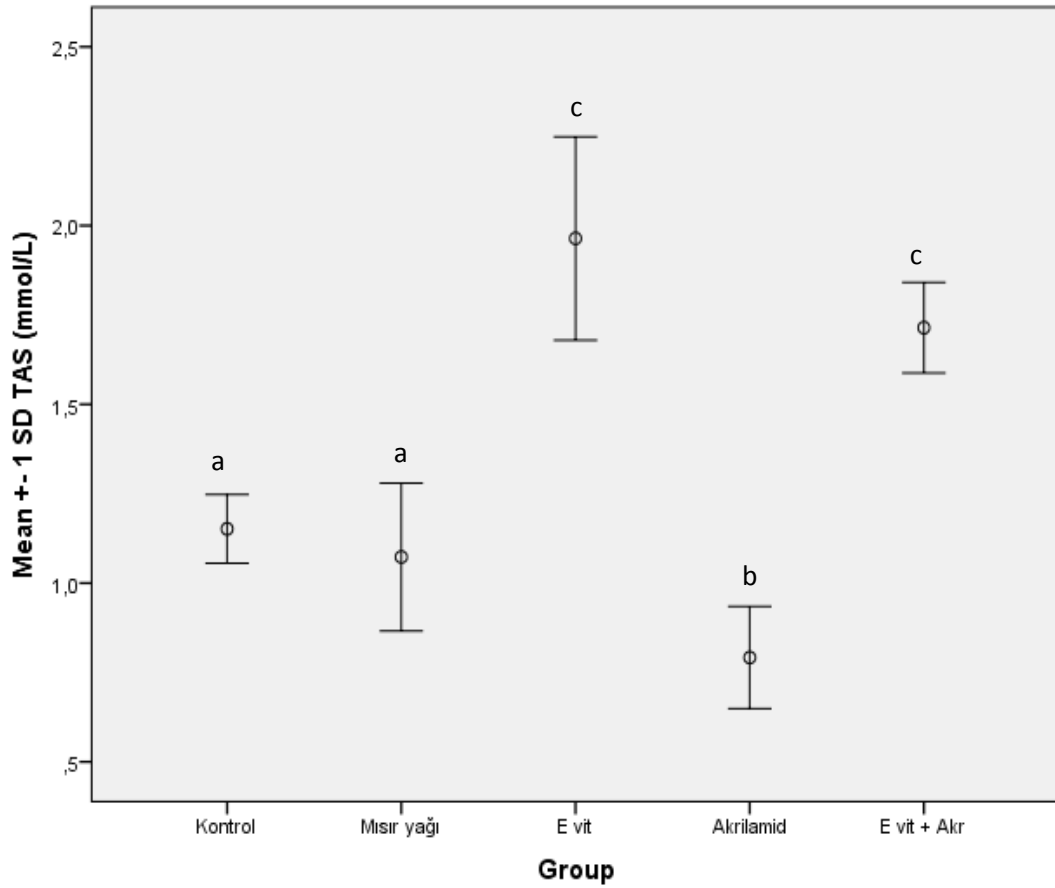


**Şekil 4.8.** Fetal beyin dokusu TOK düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade eder ( $p < 0.001$ ).

#### 4.2.4. Grupların TAK düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu TAK düzeyleri istatistiki olarak anlamlı derecede azalış gösterirken ( $p < 0.001$ ), E vitamini uygulanan grupta ise TAK düzeyleri istatistiki olarak önemli derecede artış göstermiş ( $p < 0.001$ ) ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Fetal beyin dokusu TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.9.'da verilmiştir.

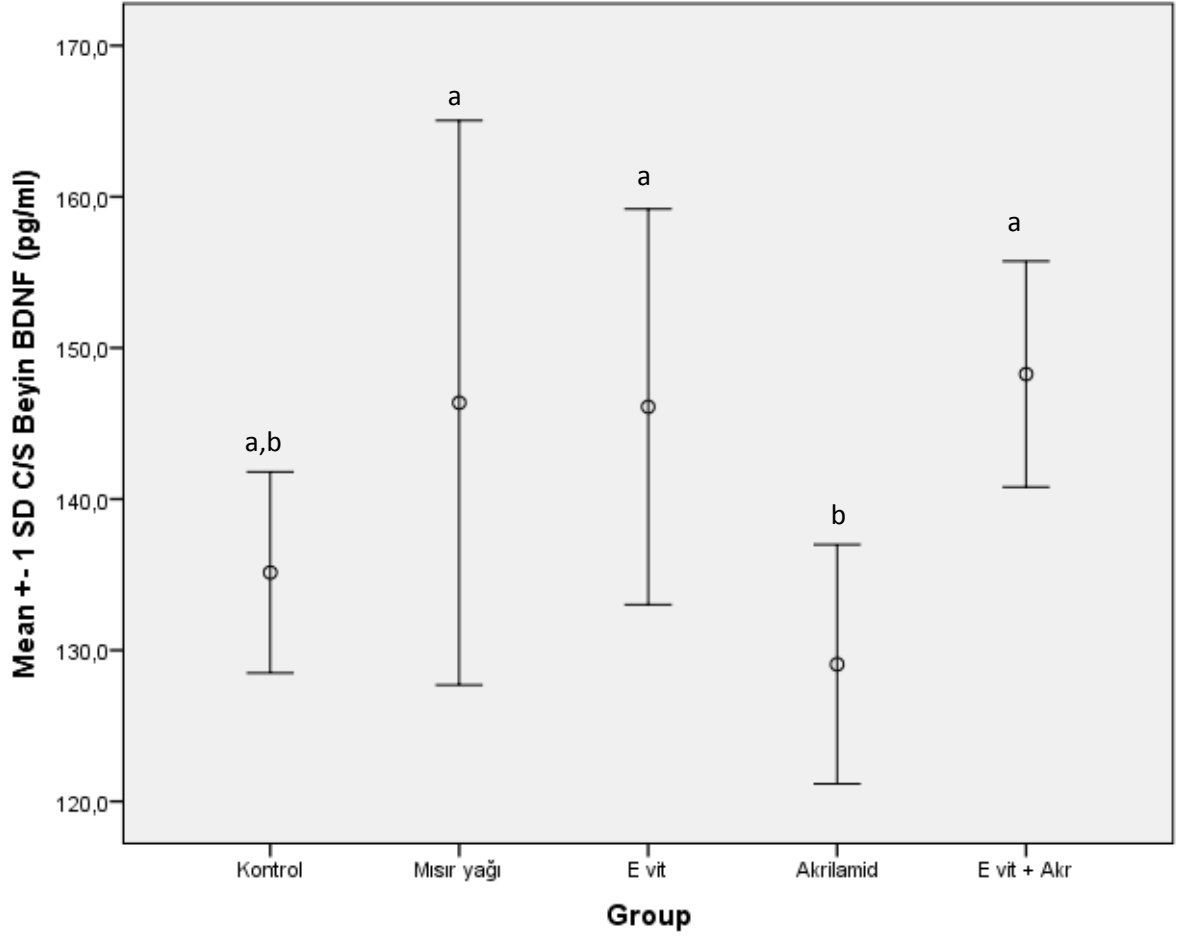


**Şekil 4.9.** Fetal beyin dokusu TAK düzeylerinin gruplara göre dağılımı

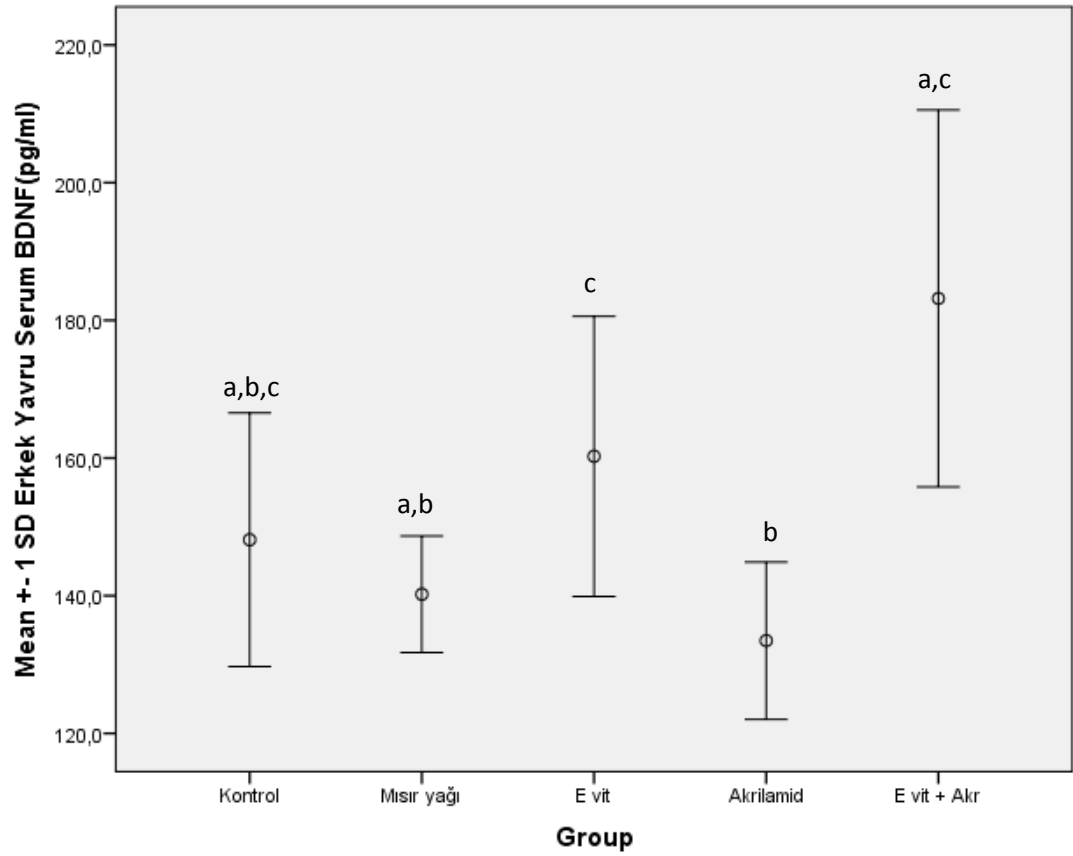
Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade eder ( $p < 0.001$ ).

#### 4.2.5. Grupların BDNF düzeylerinin Karşılaştırılması

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta fetal beyin dokusu BDNF düzeyleri istatistikî olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlenmiştir. Erkek postnatal yavrularda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta postnatal beyin dokusu BDNF düzeyleri istatistikî olarak anlamlı olmayan bir düşüş gösterirken, E vitamini uygulanmasıyla BDNF düzeylerinin istatistikî olarak anlamlı derecede yükseldiği ve kontrol grubuna yakın seviyelere çıktığı gözlemlenmiştir ( $p = 0.02$ ). Fetal beyin dokusu BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.10'da ve Postnatal erkek yavru BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.10. Fetal beyin dokusu BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı



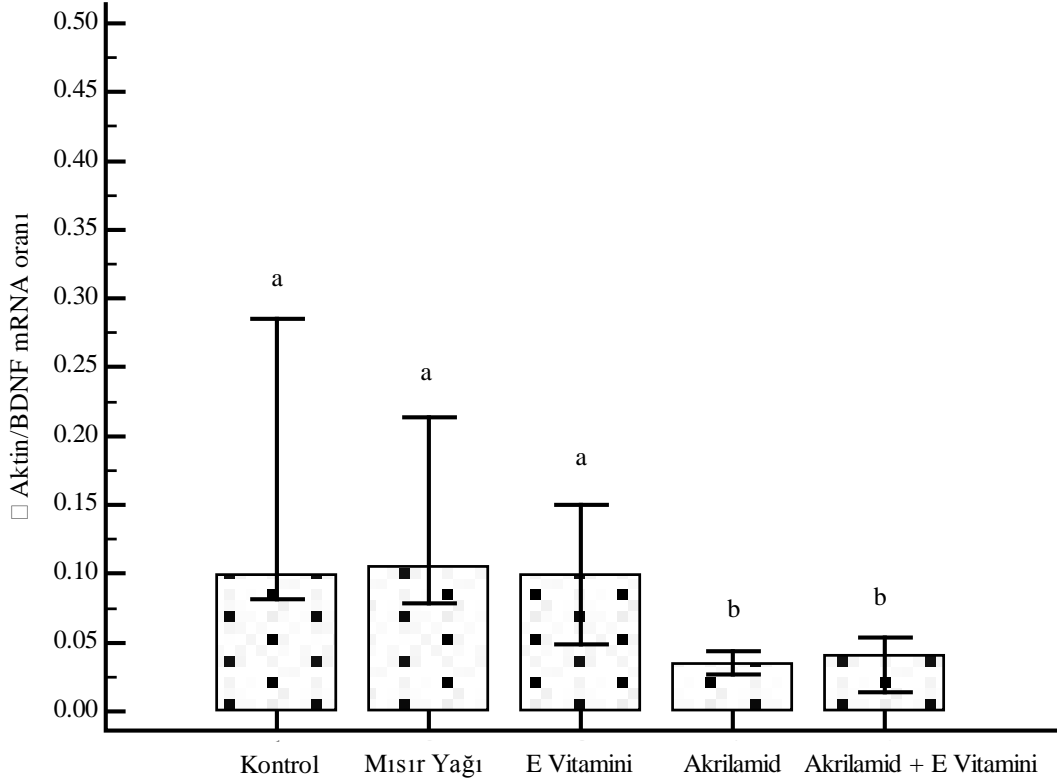
Şekil 4.11. Postnatal erkek yavru serum BDNF düzeylerinin gruplara göre dağılımı.

### 4.3. GRUPLARIN BDNF GEN EKSPRESYONU DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

#### 4.3.1. Fetüs Beyin Dokusu Tanımlayıcı İstatistik Verileri

Tablo 4.3. Fetüs beyin dokusu PCR analiz sonuçları

	GRUPLAR									
	KONTROL		MISIR YAĞI		E VİT.		AKRİLAMİD		AKRİLAMİD + E VİT.	
	Ort.	% (25 – 75)	Ort.	% (25 – 75)	Ort.	% (25 – 75)	Ort.	% (25 – 75)	Ort.	% (25 – 75)
BDNF	0.0998	0.0811-0.285	0.105	0.0786-0.213	0.0998	0.0491-0.150	0.0350	0.0265-0.0439	0.0409	0.0141-0.0534

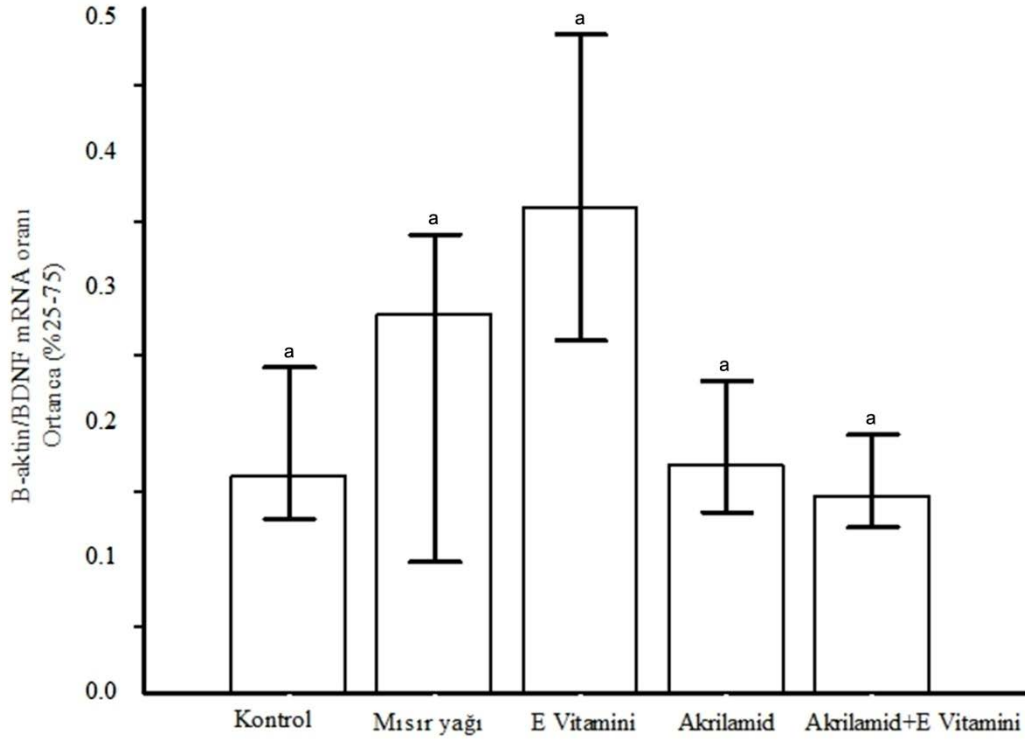


**Şekil 4.12.** Fetüs beyin dokusunda ölçülen *BDNF* mRNA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade eder ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.2. Postnatal Erkek Yavru Beyin Dokusu Tanımlayıcı İstatistik Verileri

**Tablo 4.4.** Postnatal erkek yavru Beyin hipokampus dokusu PCR analiz sonuçları

	Gruplar									
	KONTROL		MISIR YAĞI		E VİTAMİNİ		AKRİLAMİD		AKRİLAMİD+ E VİTAMİNİ	
	Ortanca	%(25 – 75)	Ortanca	%(25 – 75)	Ortanca	%(25 – 75)	Ortanca	%(25 – 75)	Ortanca	%(25 – 75)
BDNF	0,161	0,129-0,241	0,281	0,0979-0,340	0,359	0,261-0,488	0,169	0,134-0,231	0,146	0,123-0,192



**Şekil 4.13.** Postnatal erkek yavru beyin hipokampus dokusunda ölçülen *BDNF* mRNA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. Farklı harfler istatistikî olarak anlamlılığı ifade eder ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Kontrol grubu (Şekil 4.14a, b, c), Mısır yağın grubu (Şekil 4.15a, b, c) ve E Vitamin grubu (Şekil 4.16a, b, c) gruplarına ait fetal beyin dokusu kesitlerinde benzer şekilde beyin sitoarkitektür tabakaları ayırt edilebiliyordu. Pia mater altında stratum molekülare tabakası içerdiği nöron ve glia hücre nükleuslarının sayısal yoğunluğunun az olması nedeniyle açık renkli ve düzgün seyirli izlendi. Stratum granularis ve piramidalis eksterna ve interna tabakalarının sınırları net olarak ayrılmamakla birlikte yoğun nöron ve glia hücre içeriğine sahipti. Özellikle iri ve ökromatik görümlü nöron nükleusları ile piramidal nöronların dağılımı ve histolojik özellikleri normal olarak değerlendirildi. Küçük, heterokromatik nükleusların ağırlıklı olarak glial hücrelere ait olduğu ve nöron/glia hücre oranının bu üç grupta benzer şekilde olduğu görüldü.

Akrilamid grubundaki fetal beyin dokularına ait kesitlerde beyin sitoarkitektür tabakaları ayırt edilebiliyordu. Ancak tüm korteks tabakalarında heterokromatik ve piknotik nükleusların kontrol, mısır yağı ve vitamin E

gruplarındakine göre belirgin şekilde artmış olduğu dikkati çekti. Nöronların büyük kısmında nukleus kromatin yoğunlaşması, nukleus ve hücre boyutlarında küçülme saptandı. Heterokromatik ve piknotik nukleus yoğunluğundaki artış glial hücre infiltrasyonu yönünde değerlendirildi. Glial hücre infiltrasyonu diffüz ve yer yer odaklar şeklinde izlendi. Korteks dokusunun bazı bölgelerinde nöron yoğunluğunda azalma ve hidropik dejenerasyon bulgularına benzer şekilde ağsı görünümde olduğu izlendi. Korteks içerisinde hemorajik odaklar ve vasküler konjesyon dikkati çekti (Şekil 4.17a, b, c)

Akrilamid+Vitamin E grubundaki fetusların beyin kesitlerinde korteks sitoarkitektür tabakalanması diğer gruplardaki ile benzer olup stratum molekülare tabakası sınırları dışındaki tabakaların sınırları ayrılamıyordu. Değişik büyüklükteki nöron nukleuslarının çoğunluğu ökromatik görünümde izlendi. Ancak yer yer heterokromatik ve kromatolitik nukleus yapılarına rastlandı. Piramidal nöronların dağılımı ve histolojik görünümleri normal yapıda değerlendirildi. Kesitlerin çoğunda minimal düzeyde glial hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4.18a, b, c).

Kontrol grubu (Şekil 4.19a, b, c) ve Mısır yağı (Şekil 4.20a, b, c) ve E vitamini (Şekil 4.21a, b, c) gruplarında beyin dokularının hematoksilin-eosin ile boyanmış olan kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde dıştan pia mater bağ dokusu ile örtülü olan beyin korteks sitoarkitektürü normal histolojik görünümde izlendi. Tüm korteks alanlarında nöronal soma yoğunluğu ve glial hücre yoğunluğunun normal olduğu değerlendirildi. Korteks içerisinde farklı şekillerde nöronlar izlemekle birlikte genel olarak piramidal nöronlar dışındaki nöron nukleusları ökromatik ve nukleus konturları düzgün görünümündü. Piramidal nöronlar diğer nöronlara göre daha bazofilik nukleus ve daha eosinofilik sitoplazma boyanma özelliğinde olmakla birlikte normal histolojik yapıda değerlendirildi. Beyin korteks kesitlerinde izlenen kapillar ve diğer vasküler yapıları normal histolojik yapıda izlendi.

Akrilamid grubu yetişkin sıçanların beyin dokusu kesitlerinde dıştan pia mater ile örtülü beyin dokusu sitoarkitektür tabakalanması çoğu alanda normal görünümde izlendi. Ancak bazı korteks alanlarında stratum molekülare tabakasında vakuolizasyon dikkati çekti. Korteks içerisinde farklı dercelerde glial hücre infiltrasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyon odakları saptandı. Tüm korteks tabakalarındaki nöronların nukleuslarında heterokromatik görünüm hakim olup yer yer piknotik nöron nukleusları izlendi. Korteks içerisinde nöron/glia hücresi oranının

glial hücre yönünde değiştiği alanlar tespit edildi. Kesitlerde izlenen kapillar ve diğer vasküler yapılar normal histolojik görünümde olup yer yer kapillar konjesyon dikkati çekti (Şekil 4.22a, b, c).

Akrilamid+Vitamin E grubundaki yetişkin sıçanların beyin dokusu kesitlerinin mikroskopik incelenmesinde dıştan pia mater ile örtülü olan korteks sitoarkitektür tabakalarının normal histolojik görünümde ve düzende izlendi. Nadir olarak küçük fokal alanlar şeklinde glial hücre infiltrasyon odaklarına rastlandı. Nöron nükleusları genel olarak ökromatik görünümlü olup normal histolojik görünümde izlendi ancak yer yer heterokromatik nükleuslu ve düzensiz şekilli, koyu eosinofilik boyanmış nükleuslar görüldü. Kesitlerde izlenen kapillar ve diğer vasküler yapılar normal histolojik yapıda izlendi ve minimal düzeyde kapillar konjesyon dikkati saptandı (Şekil 4.23a, b, c).

İncelenen kesitlerde nöroglial infiltrasyon, konjesyon ve hemoraji bulguları skorlandı (0 = yok, 1 = nadir/minimal düzeyde, 2 = şiddet/yaygınlık orta derecede, 3 = yaygın/şiddetli) ve beyin korteks kalınlıkları ölçüldü. Tablo 4.6. Fetüs Beyin Dokusu histopatolojik skor analiz verileri ve Tablo 4.7. Postnatal Erkek Yavru Beyin dokusu histopatolojik skor analiz verileri



**Tablo 4.5.** Fetüs beyin dokusu histopatolojik verilerin skorlanması

Gruplar	Glial hücre infiltrasyonu	Konjesyon	Hemoraji	Korteks kalınlığı (µm)
Kontrol	0	0	0	817.91
2	0	0	0	817.47
3	0	0	0	821.90
4	0	0	0	799.72
5	0	0	0	649.10
6	0	0	0	790.98
7	1	0	0	625.98
8	0	1	0	634.96
Mısır yağı	0	0	0	692.60
2	0	0	0	661.10
3	1	0	0	712.46
4	0	0	0	609.47
5	0	0	0	727.66
6	0	0	0	665.54
7	1	0	0	639.38
8	0	1	0	723.68
E Vitamini	0	1	0	666.67
2	1	0	0	741.37
3	1	2	0	724.31
4	0	0	0	709.89
5	0	0	0	670.02
6	0	0	0	821.32
7	1	0	0	715.47
8	0	1	0	660.70

Akrilamid	1	0	1	548.04
2	2	1	1	544.78
3	1	2	2	449.38
4	1	1	0	417.59
5	2	2	1	510.65
6	2	1	0	472.16
7	1	1	2	668.21
8	2	1	1	590.41
Akr+E Vitamini	1	1	0	514.24
2	0	0	0	671.07
3	1	0	0	717.21
4	1	2	0	490.75
5	0	0	1	673.40
6	1	1	0	609.71
7	1	0	0	517.39
8	1	1	1	487.57

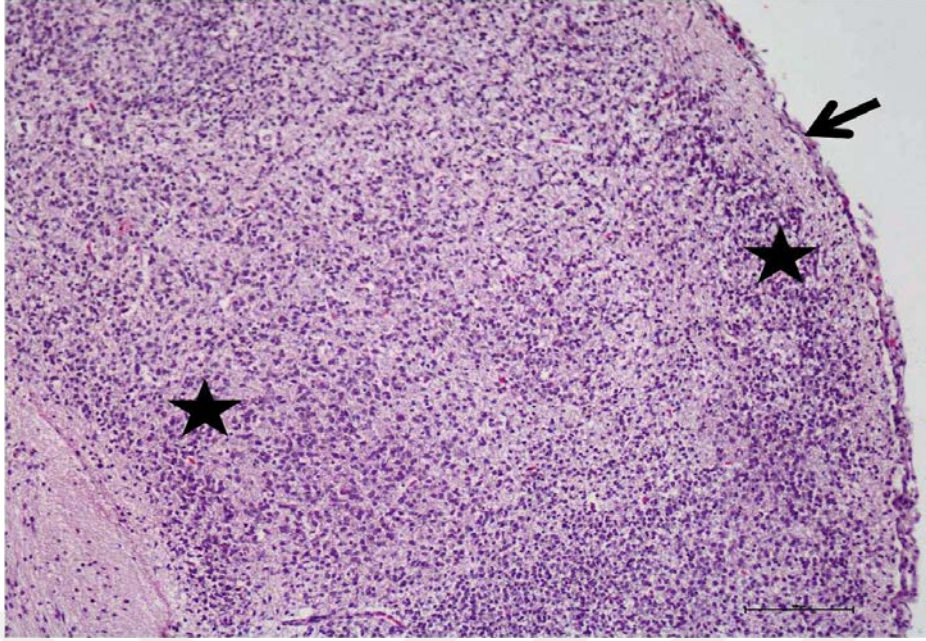
**Tablo 4.6.** Postnatal 8. hafta erkek yavru beyin dokusu histopatolojik verilerin skorlanması

Grup	Nöroglial infiltrasyon	Konjesyon	Hemoraji	Korteks kalınlığı (µm)
Kontrol	0	0	0	2173.83
2	0	0	0	1533.72
3	0	0	0	1710.56
4	0	0	0	1624.22
5	0	0	0	2012.61
6	0	0	0	2015.07
7	0	0	0	1997.38
8	0	0	0	1815.24
Mısır yağı	0	0	0	1084.82
2	0	0	0	1384.89
3	1	0	0	1744.50
4	0	0	0	1792.29
5	0	0	0	1723.43
6	0	0	0	1406.93
7	0	0	0	1667.67
8	0	1	0	1745.03
Vitamin E	0	0	0	1624.03
2	0	0	0	1984.39
3	0	0	0	1827.69
4	0	0	0	1400.62
5	0	0	0	1520.06
6	0	0	0	1631.17
7	1	0	0	2026.16

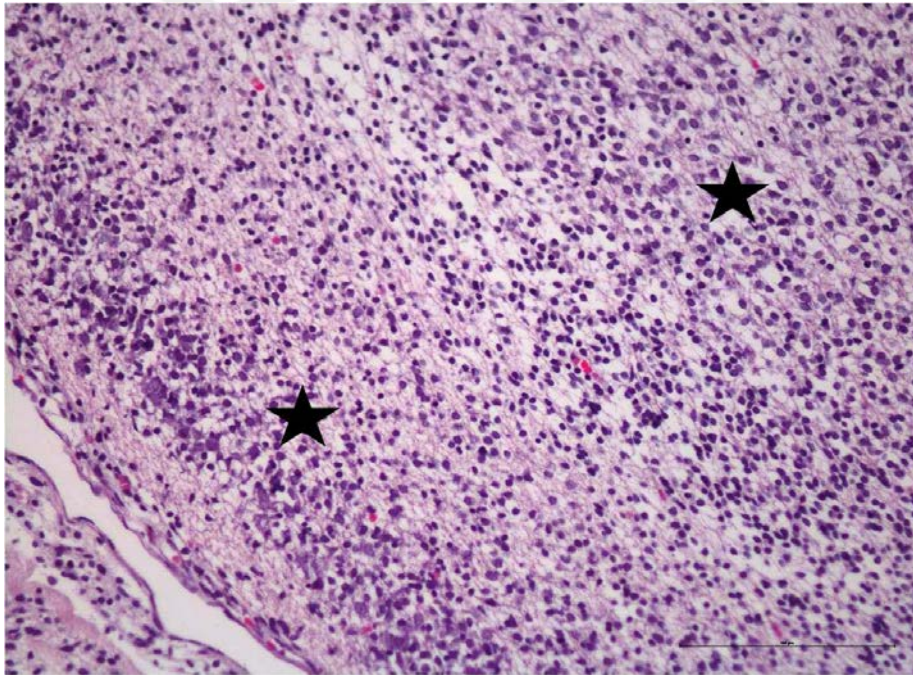
8	0	0	0	1483.52
Akrilamid	2	1	0	1616.82
2	1	1	0	1166.16
3	1	0	1	1614.72
4	2	1	0	1764.66
5	2	1	0	1133.43
6	1	0	0	1148.18
7	2	0	0	1905.84
8	1	1	0	1517.72
Akr+ E Vitamini	1	0	0	1635.08
2	0	1	0	1210.83
3	1	0	0	1680.25
4	0	1	0	1586.03
5	1	0	0	1651.00
6	1	0	0	1655.23
7	0	0	0	1410.48
8	0	0	0	1606.20

#### **4.4.1. Kontrol Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular**

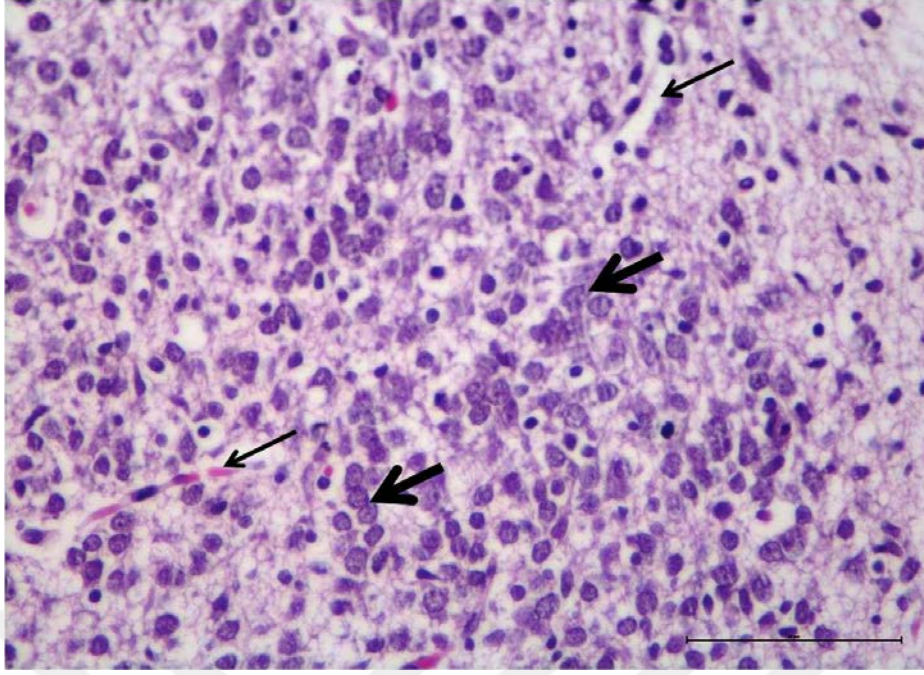
Kontrol grubu fetus beyinlerinin histopatolojik bulguları Şekil 4.14a-c’de verilmiştir.



**Şekil4.14a.**Kontrol grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10



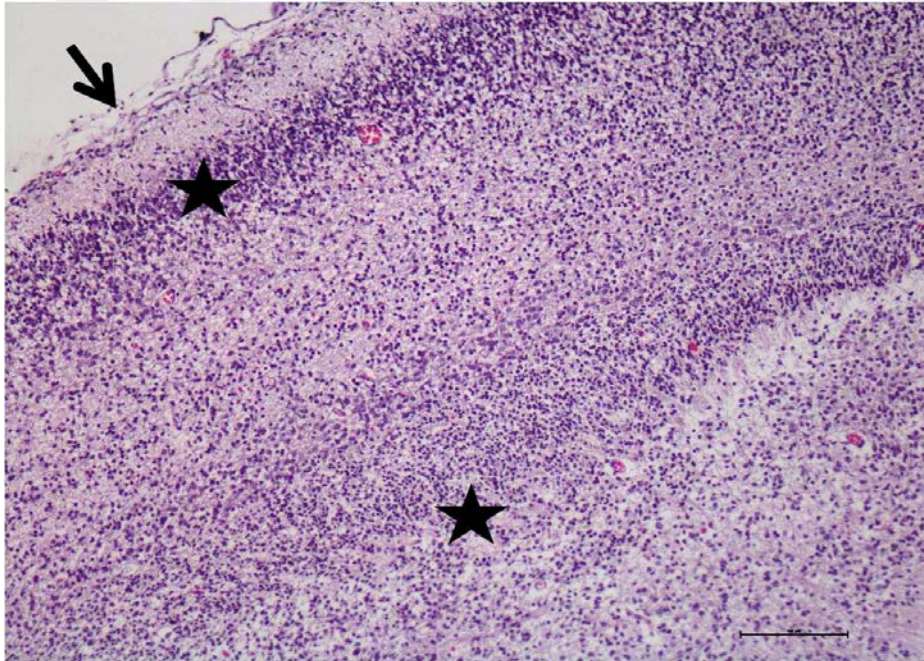
**Şekil4.14b.**Kontrol grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20



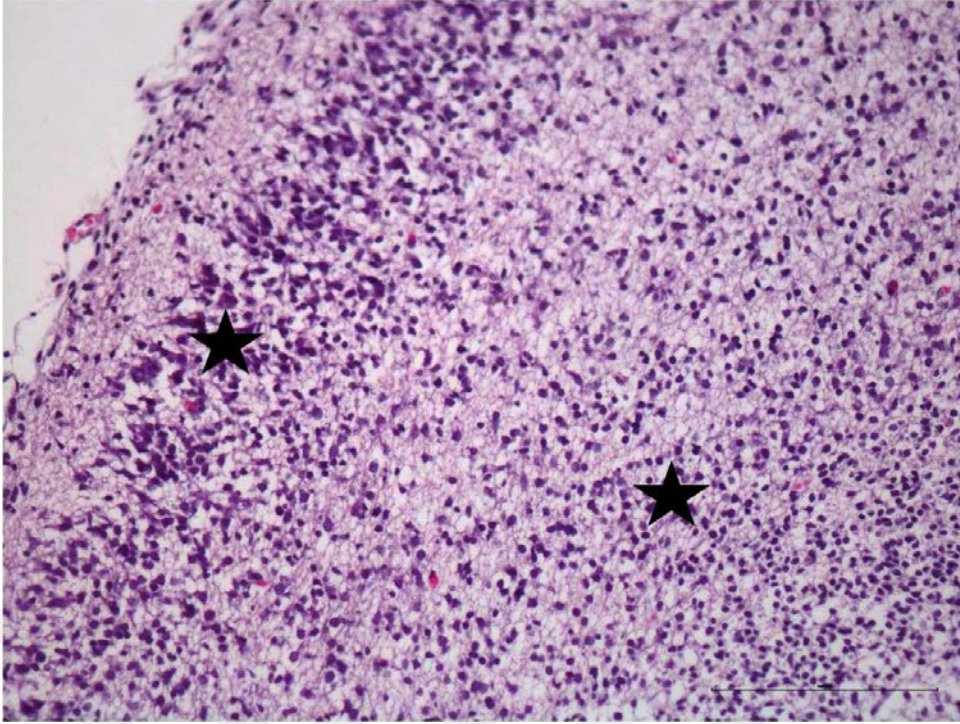
**Şekil4.14c.**Kontrol grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40

#### 4.4.2. Mısır Yağı Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular

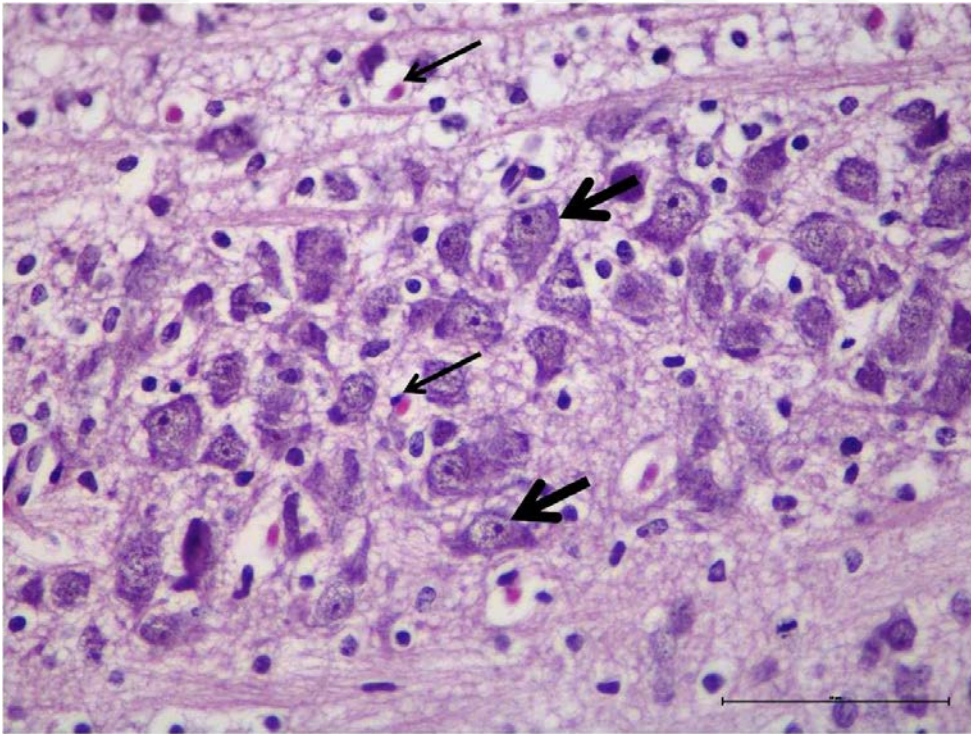
Mısır yağı grubu fetus beyinlerinin histopatolojik bulguları Şekil 4.15a-c’de verilmiştir.



**Şekil4.15a.**Mısır yağı grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10



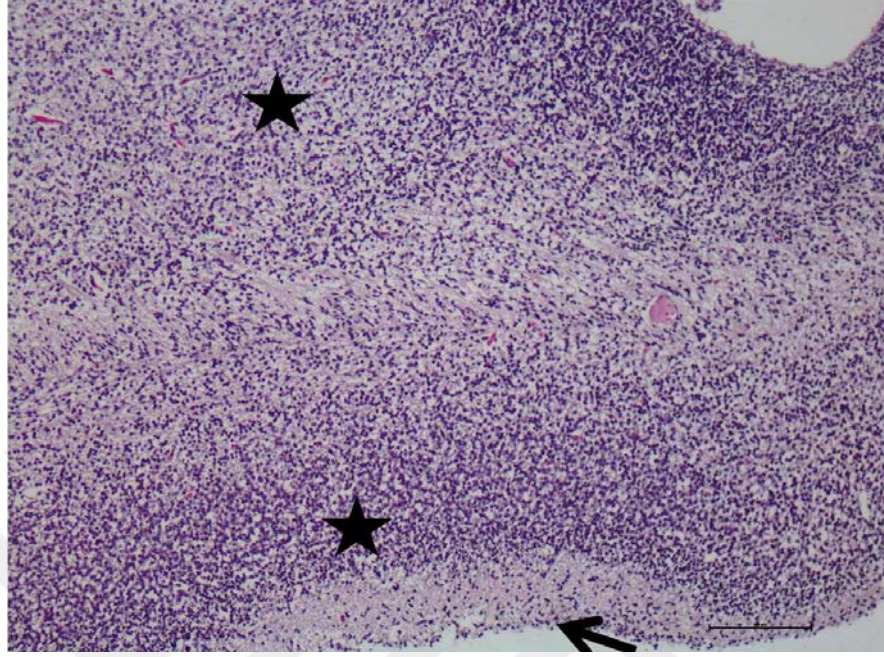
**Şekil4.15b.** Mısır yağı grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız).  
H-E, x20



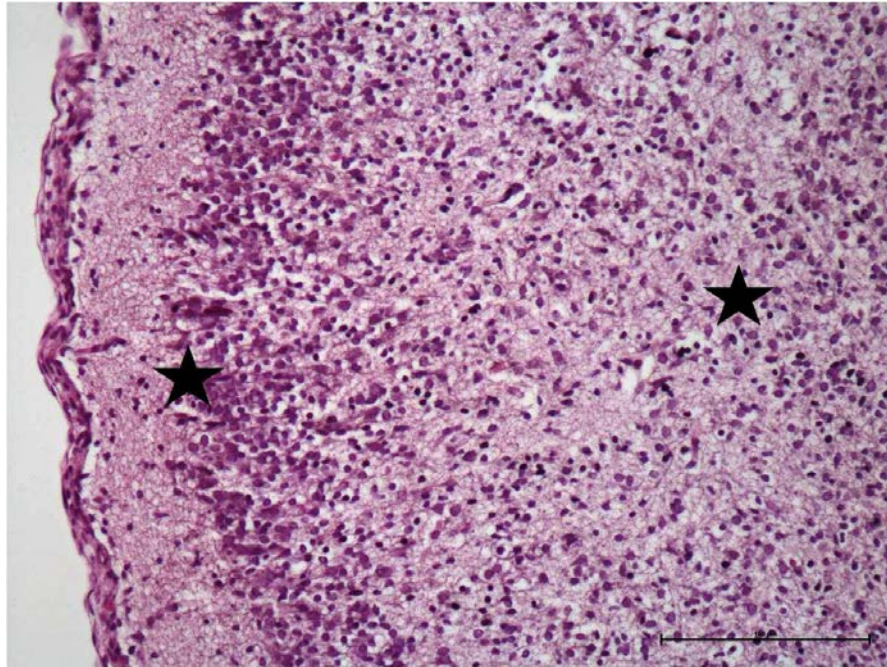
**Şekil4.15c.**Mısır yağı grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40

#### 4.4.3. E Vitamini Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular

E vitamini grubu fetus beyinlerinin histopatolojik bulguları Şekil 4.16a-c’de verilmiştir.

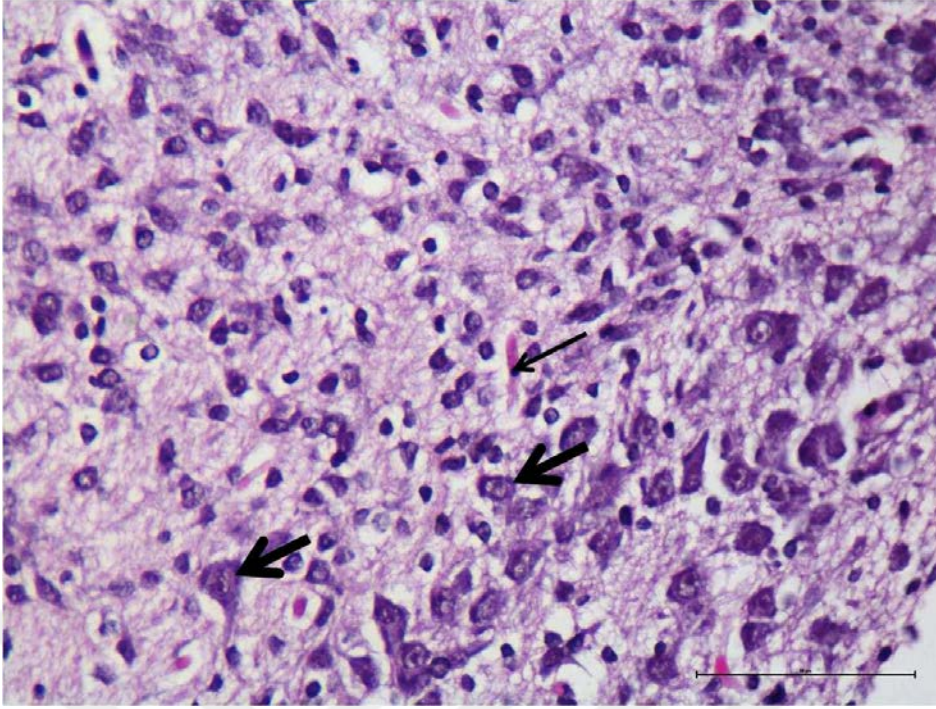


**Şekil4.16a.**E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10



**Şekil4.16b.** E Vitamini grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20

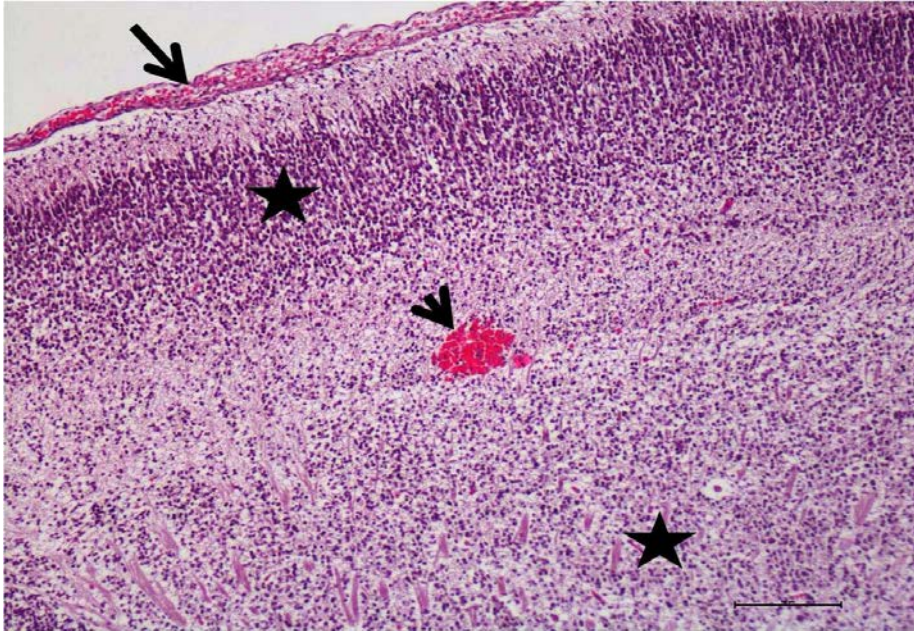




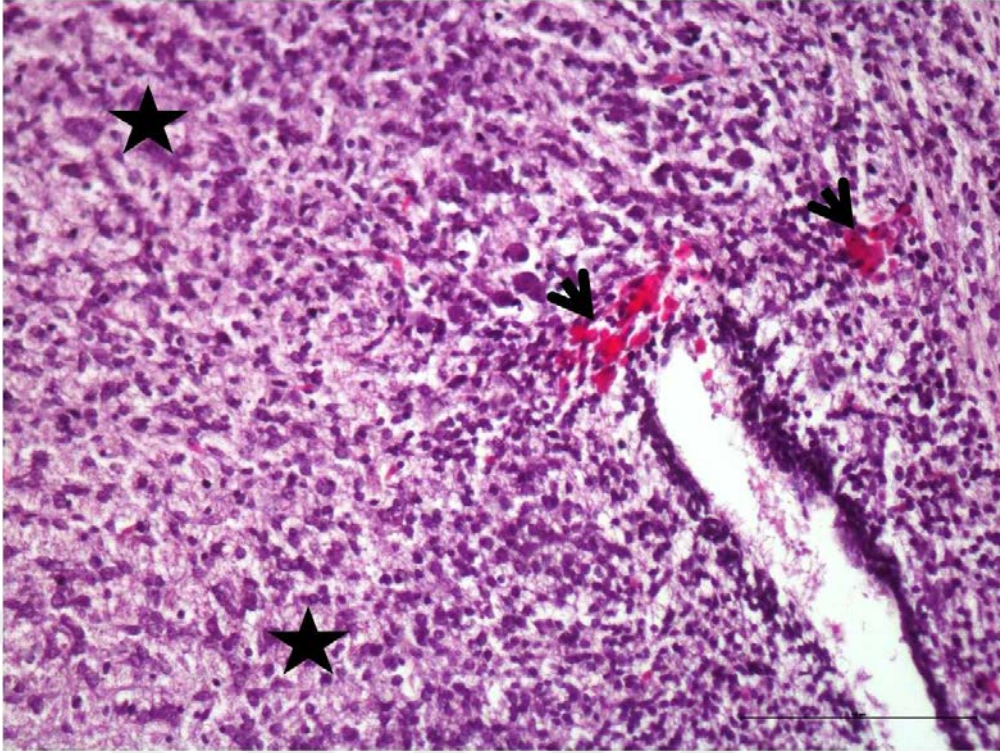
Şekil4.16c.E Vitamini grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40

#### 4.4.4. Akrilamid Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular

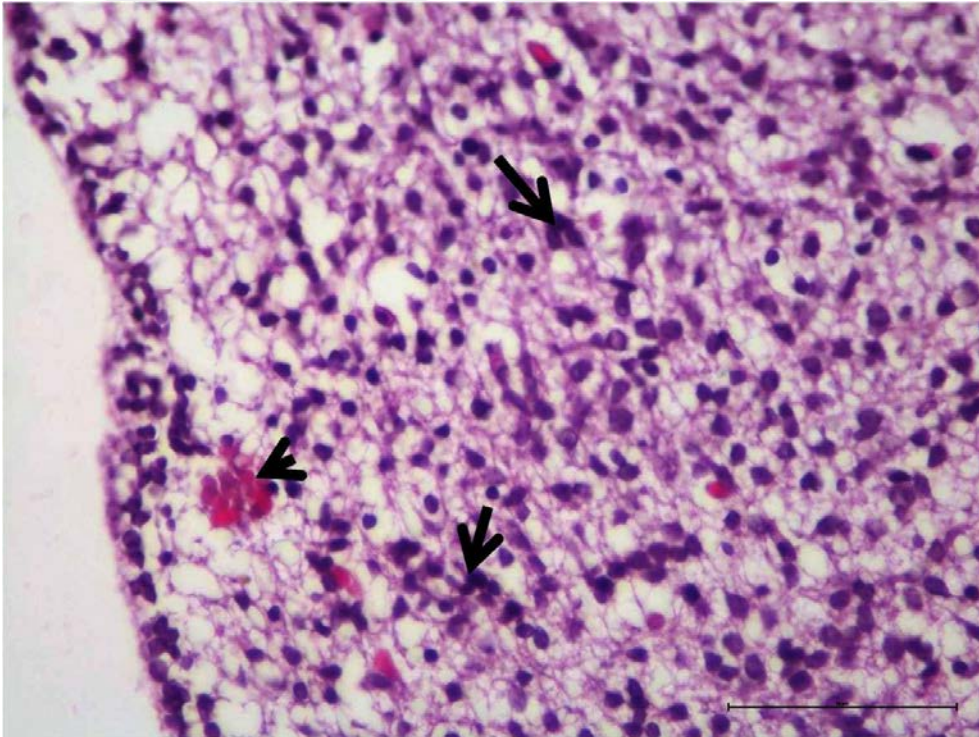
Akrilamid grubu fetus beyinlerinin histopatolojik bulguları Şekil 4.17a-c’de verilmiştir.



Şekil 4.17a.Akrilamid grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız), hemorajik odak (ok başı). H-E, x10



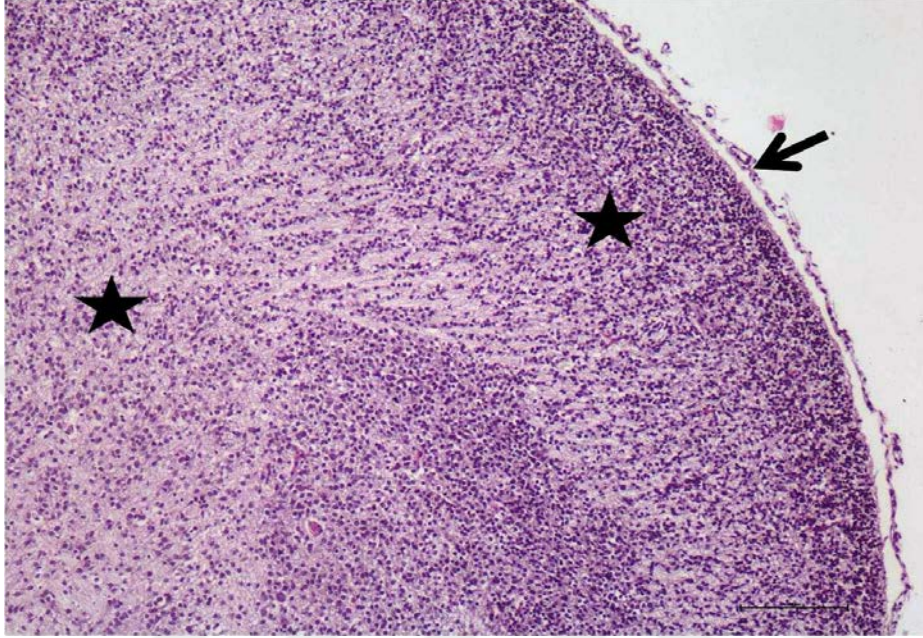
**Şekil 4.17b.**Akrilamid grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız), hemorajik odak (ok başı). H-E, x20



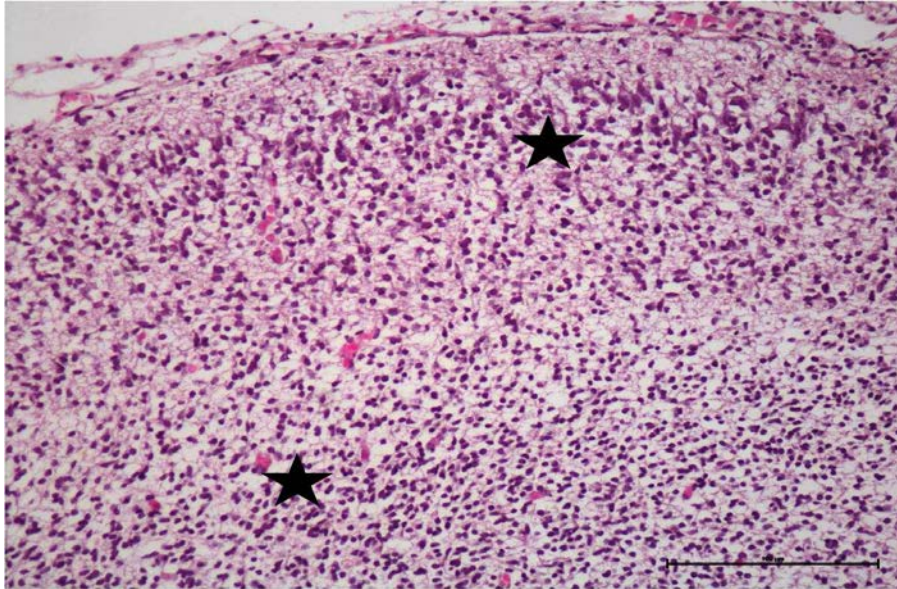
**Şekil 4.17c.**Akrilamid grubu; piknotik görünümlü nöron nukleusları (ok), hemorajik odak (ok başı), hidropik dejenerasyon (ok başı) H-E, x40

#### 4.4.5. Akrlamid + E vitamini Grubu Fetus Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular

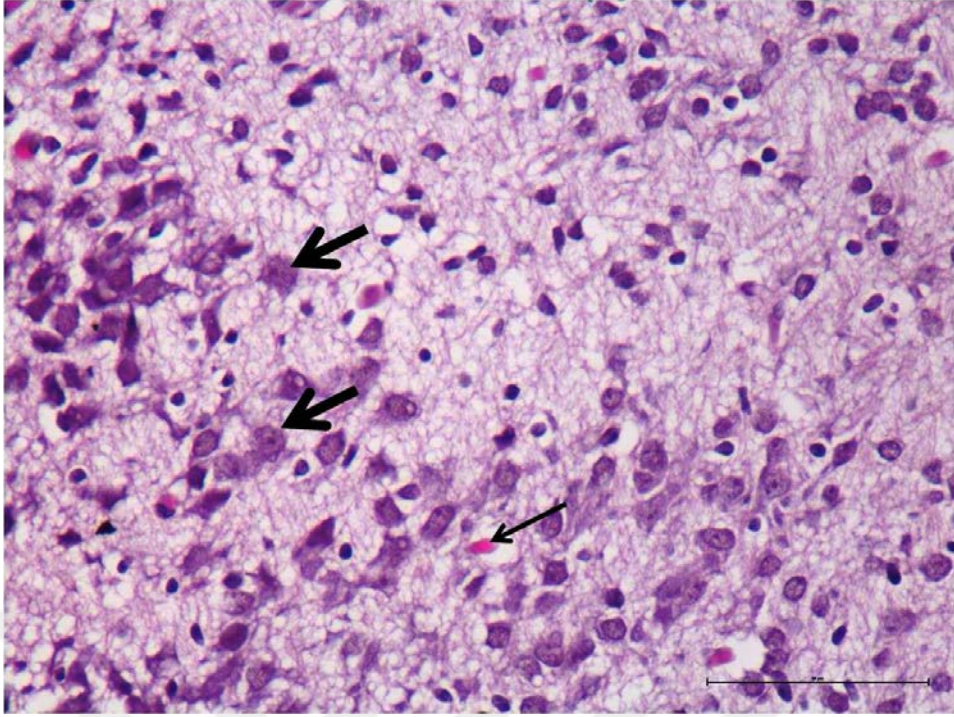
Akrlamid + E vitamini grubu fetus beyinlerinin histopatolojik bulguları Şekil 4.18a-c’de verilmiştir.



Şekil4.18a.Akrlamid+E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x10

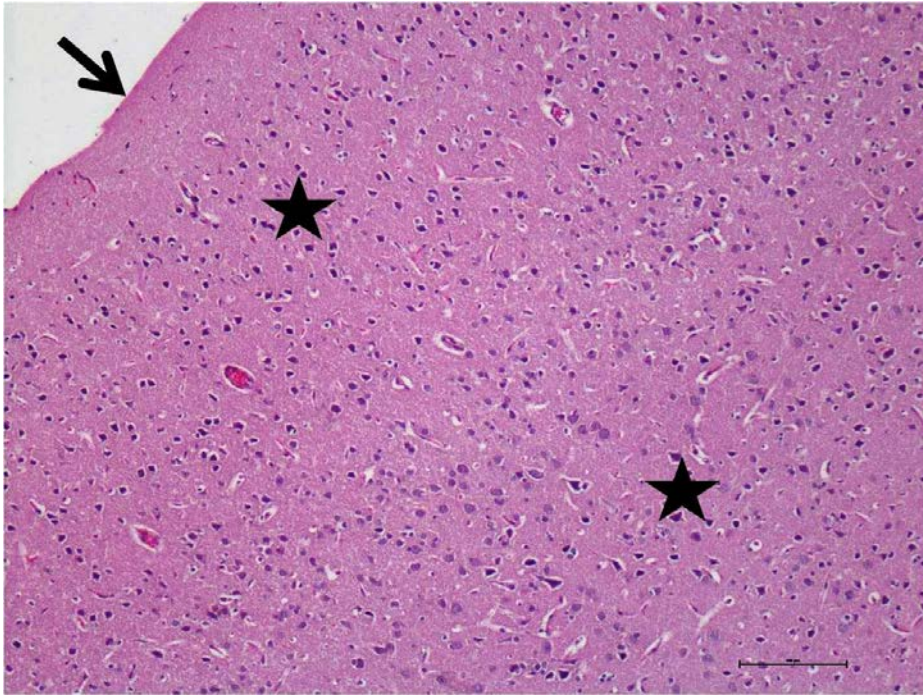


Şekil4.18b.Akrlamid+E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20

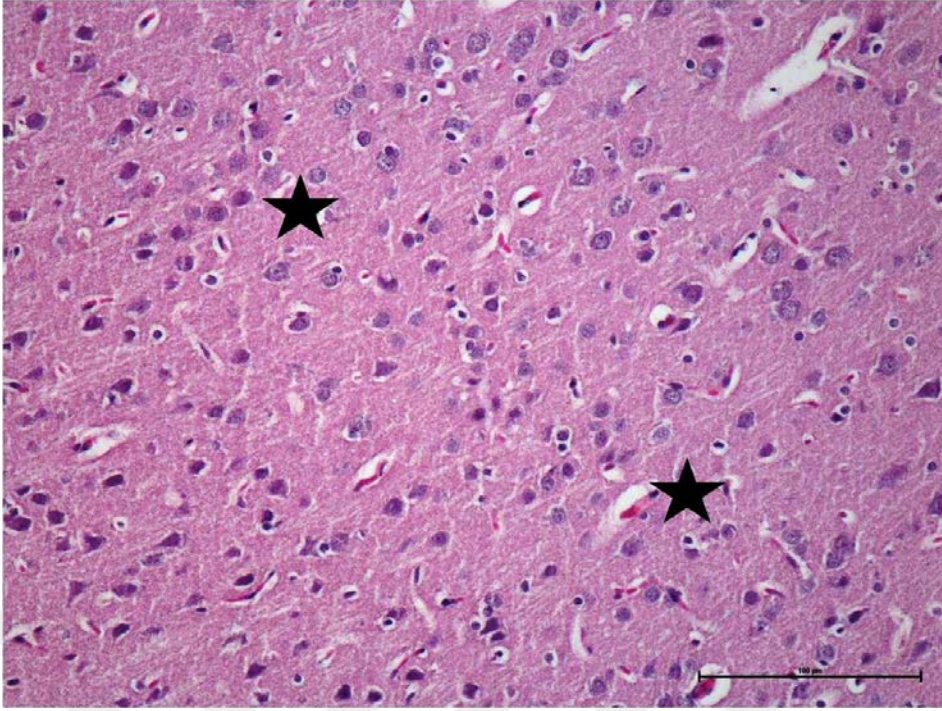


**Şekil4.18c.**Akrylamid+E Vitamini grubu; Nöronlar (kalın ok), kapillar (ince ok). H-E, x40

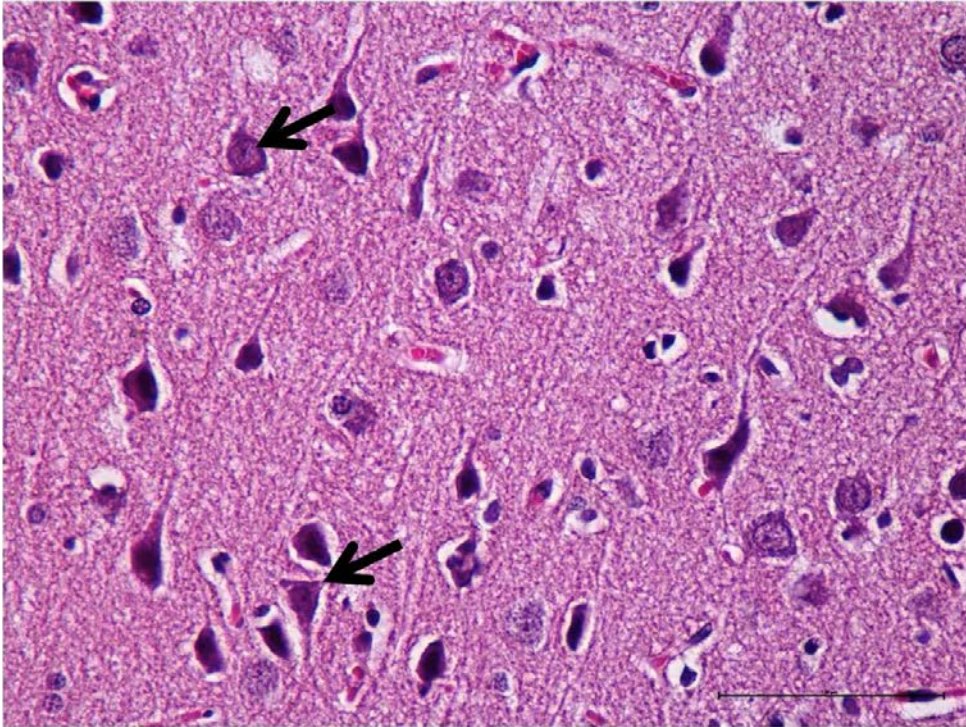
#### **4.4.6.Kontrol Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular**



**Şekil4.19a.**Kontrol grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10

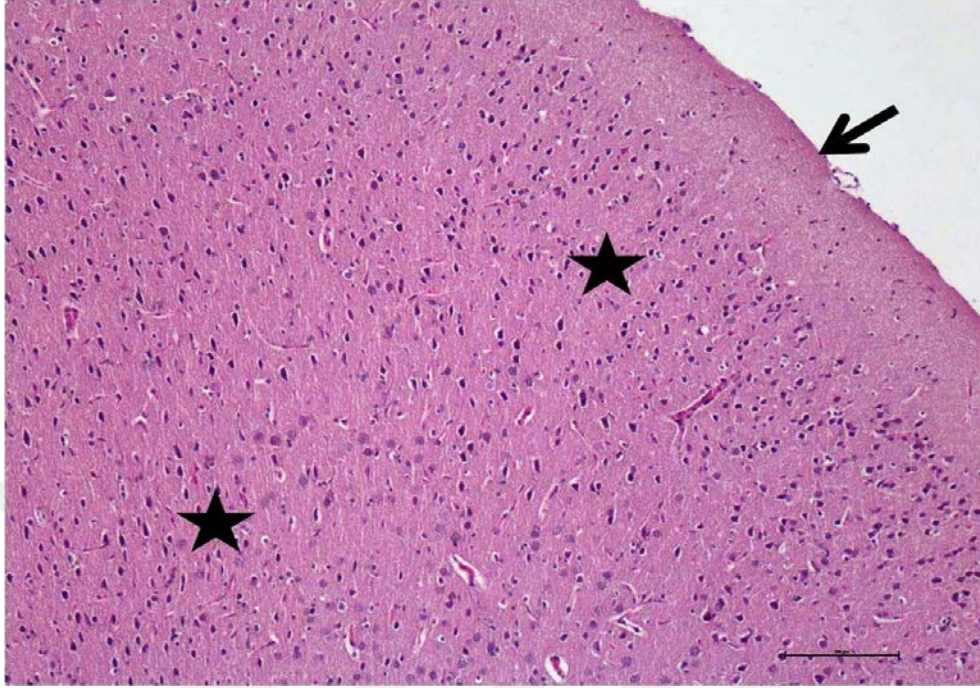


Şekil4.19b.Kontrol grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20

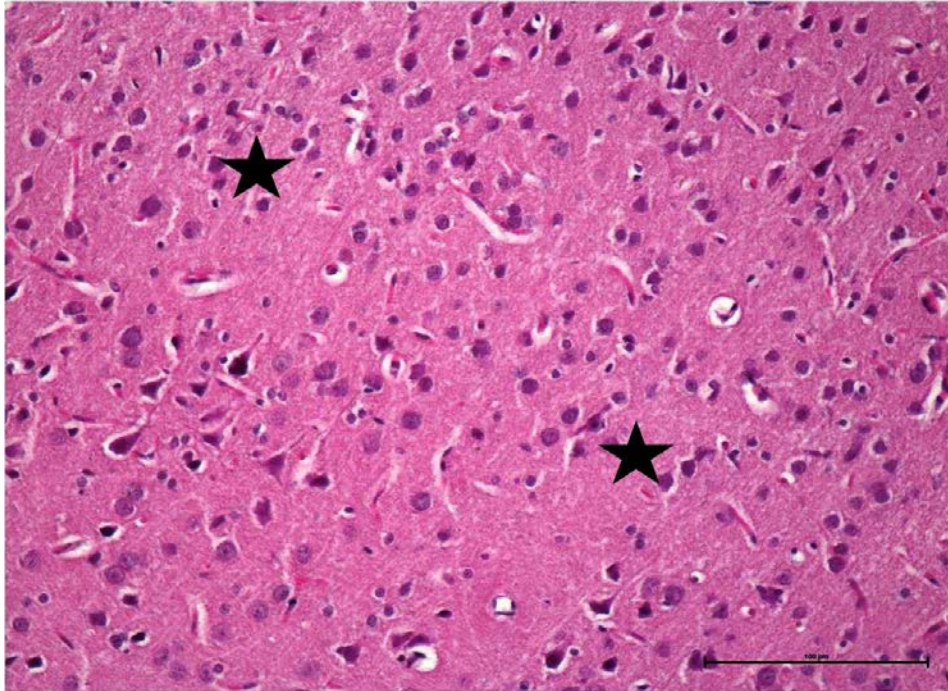


Şekil4.19c.Kontrol grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40

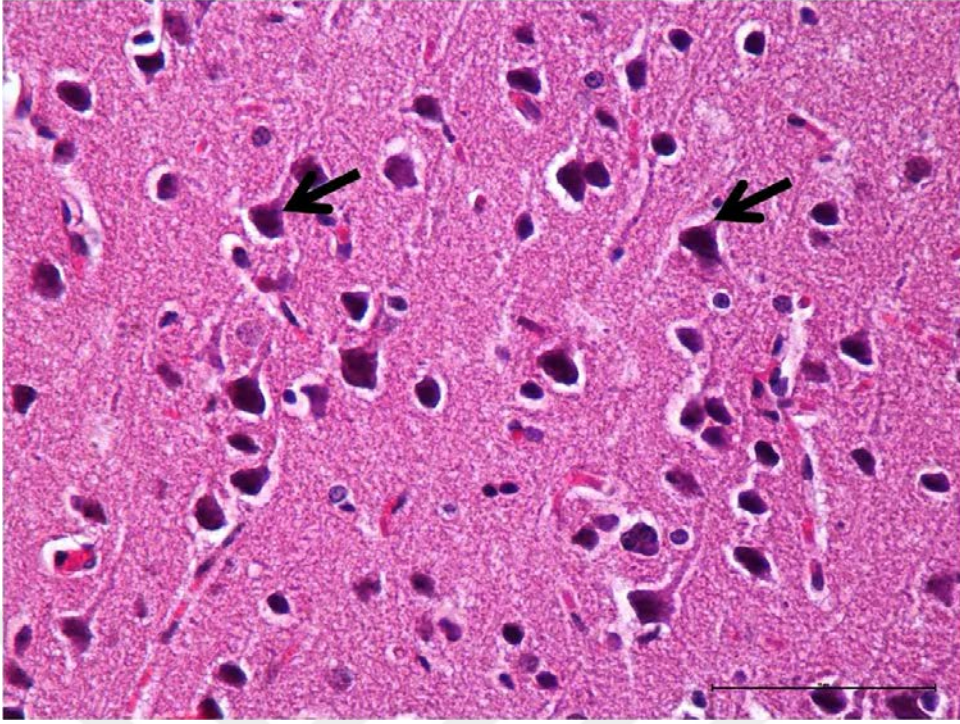
#### 4.4.7. Mısır Yağı Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular



Şekil4.20a.Mısır yağı grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10

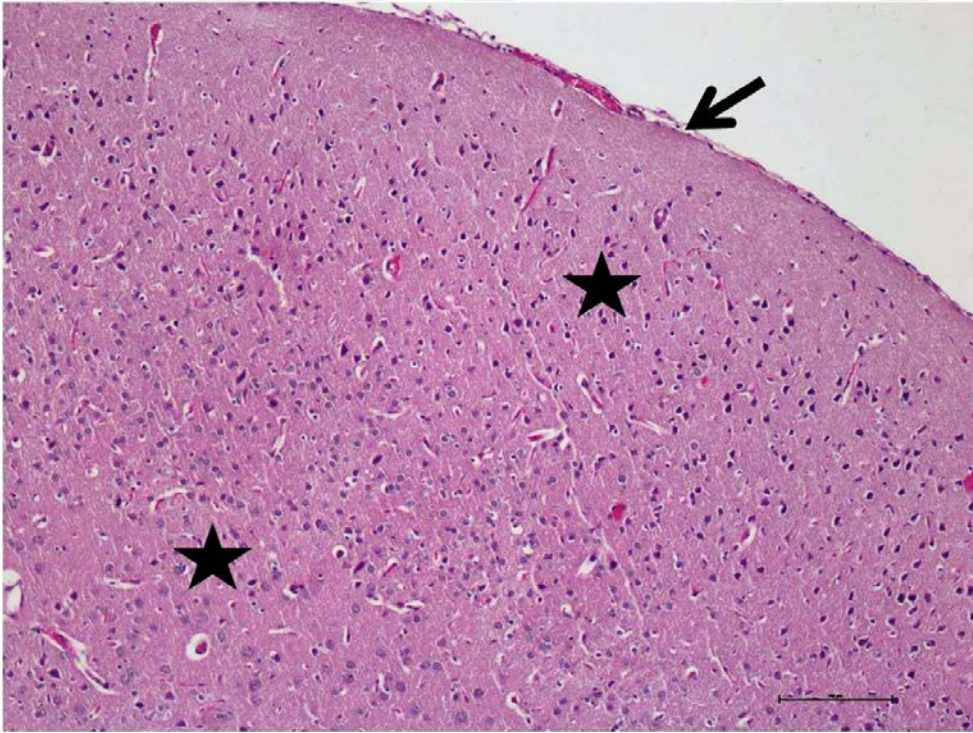


Şekil4.20b.Mısır yağı grubu; beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20

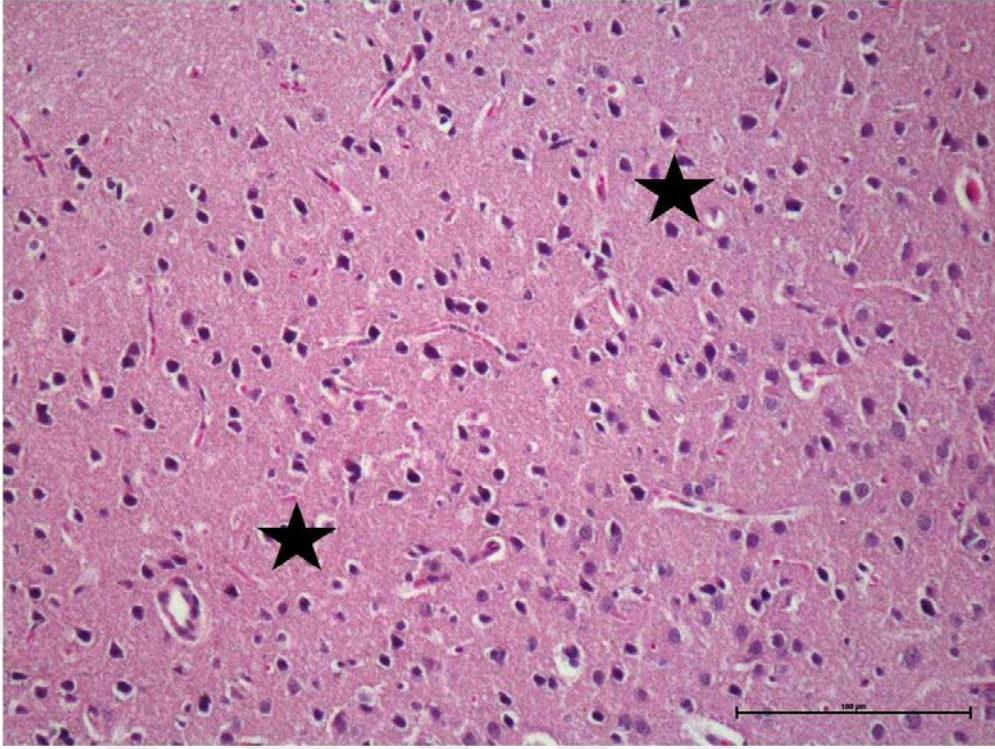


**Şekil 4.20c.** Mısır yağı grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40

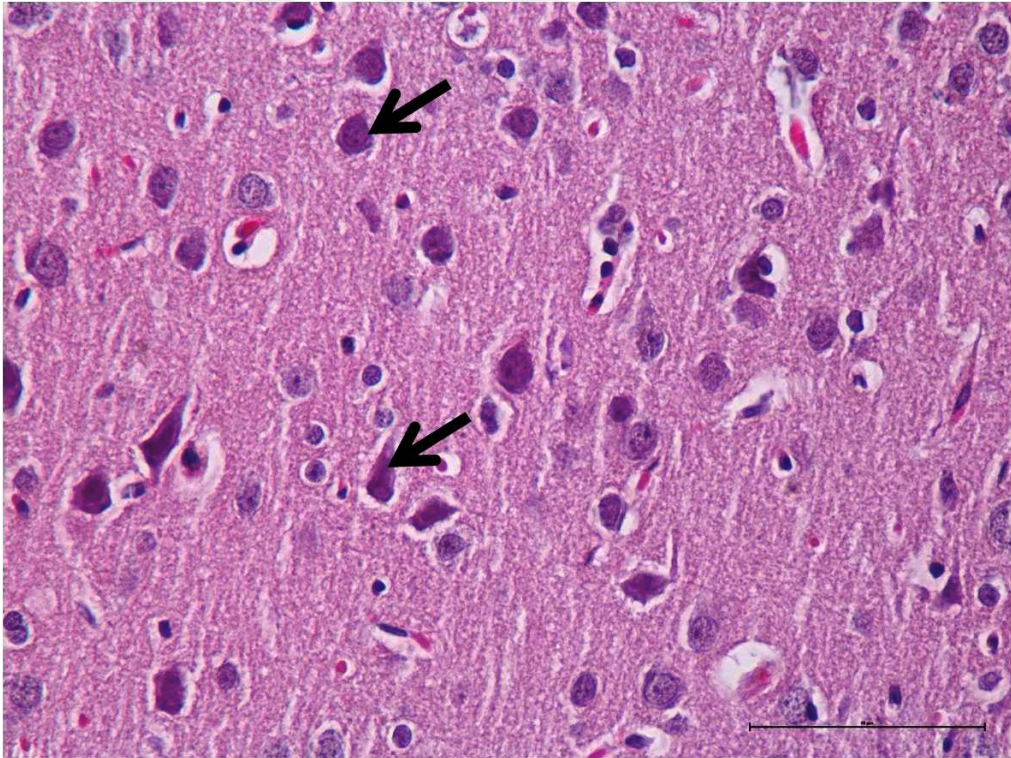
#### **4.4.8. E Vitamini Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular**



**Şekil 4.21a.** E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10



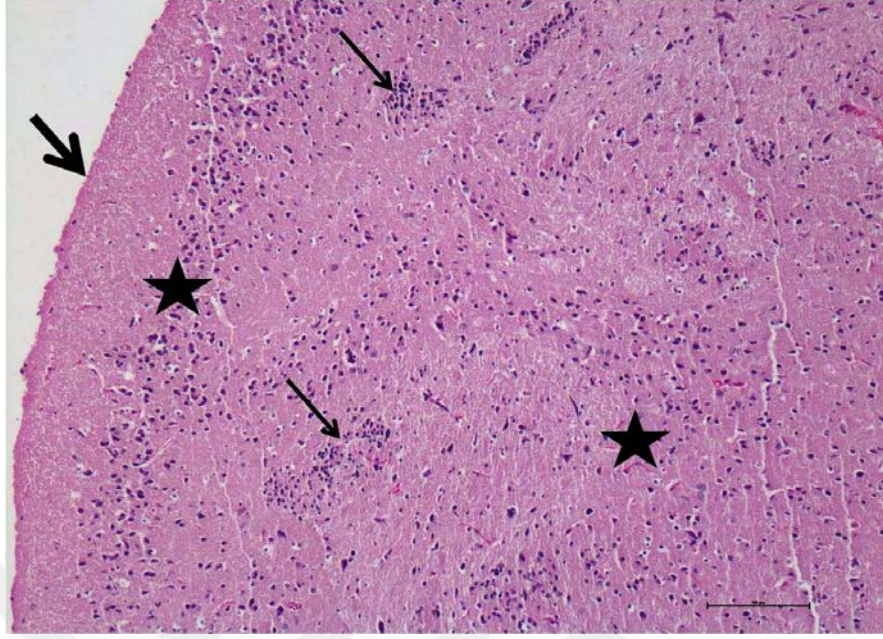
Şekil4.21b.E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız).  
H-E, x20



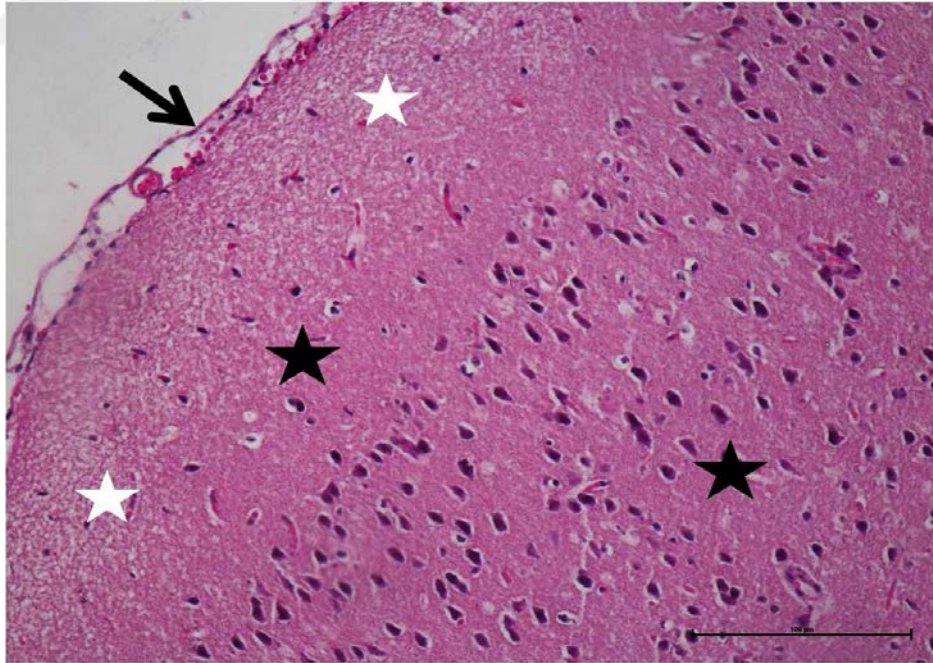
Şekil4.21c.E Vitamini grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40



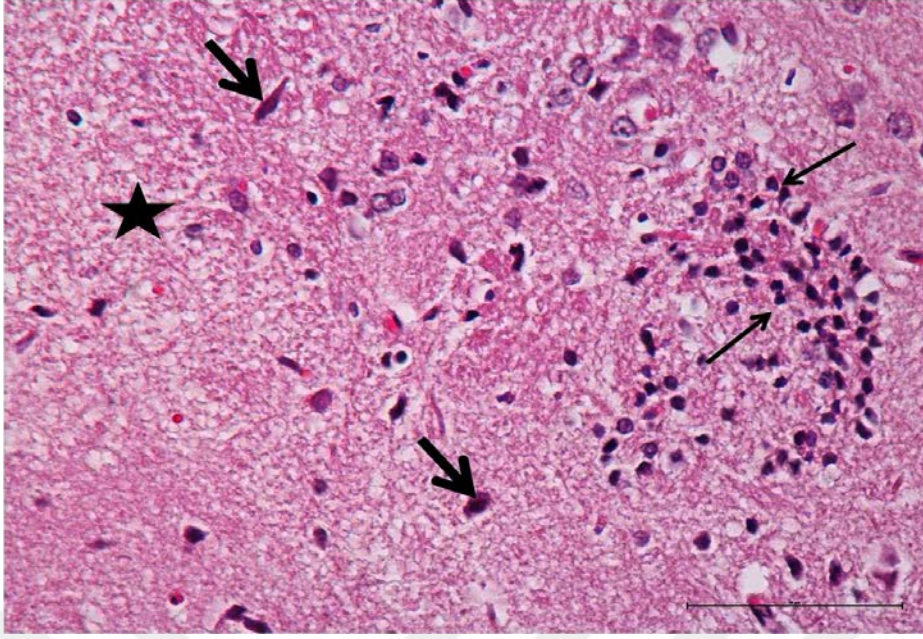
#### 4.4.9. Akrilamid Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular



Şekil4.22a.Akrilamid grubu; Pia mater (kalın ok), beyin korteksi (yıldız), korteks içinde glial hücre infiltrasyonu (ince ok). H-E, x10

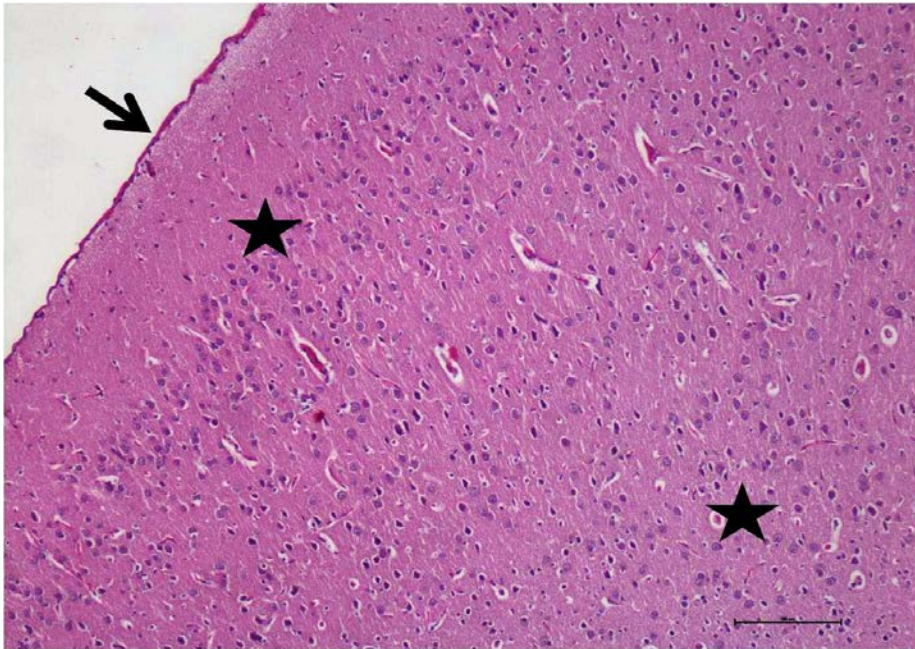


Şekil4.22b.Akrilamid grubu; Pia mater (ok), beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (siyah yıldız), stratum molekulare tabakasında hidropik dejenerasyon (beyaz yıldız) H-E, x20

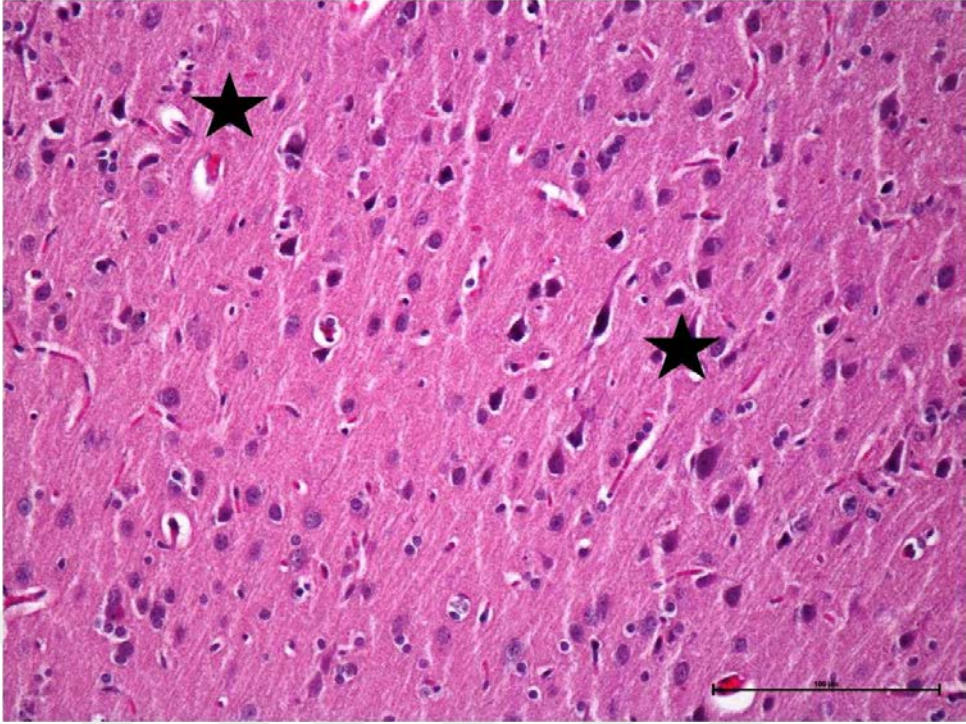


**Şekil4.22c.**Akrilamid grubu; Piknotik görünümlü nöron nukleusları (kalın ok), glial hücre infiltrasyonu (ince ok), hidropik dejenerasyon ve nöron yoğunluğu azalmış korteks alanı (yıldız). H-E, x40

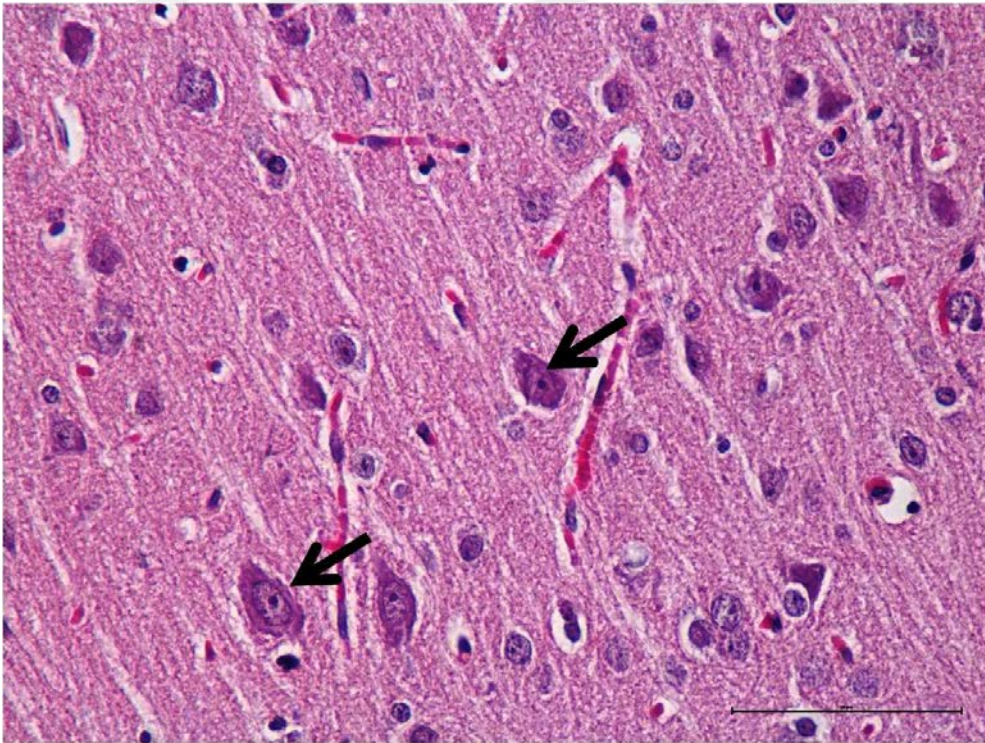
#### **4.4.10. Akrilamid + E Vitamini Grubu 8 Haftalık Postnatal Yavru Beyinlerine Ait Histopatolojik Bulgular**



**Şekil4.23a.**Akrilamid+ E Vitamini grubu; Pia mater (ok), beyin korteksi (yıldız). H-E, x10



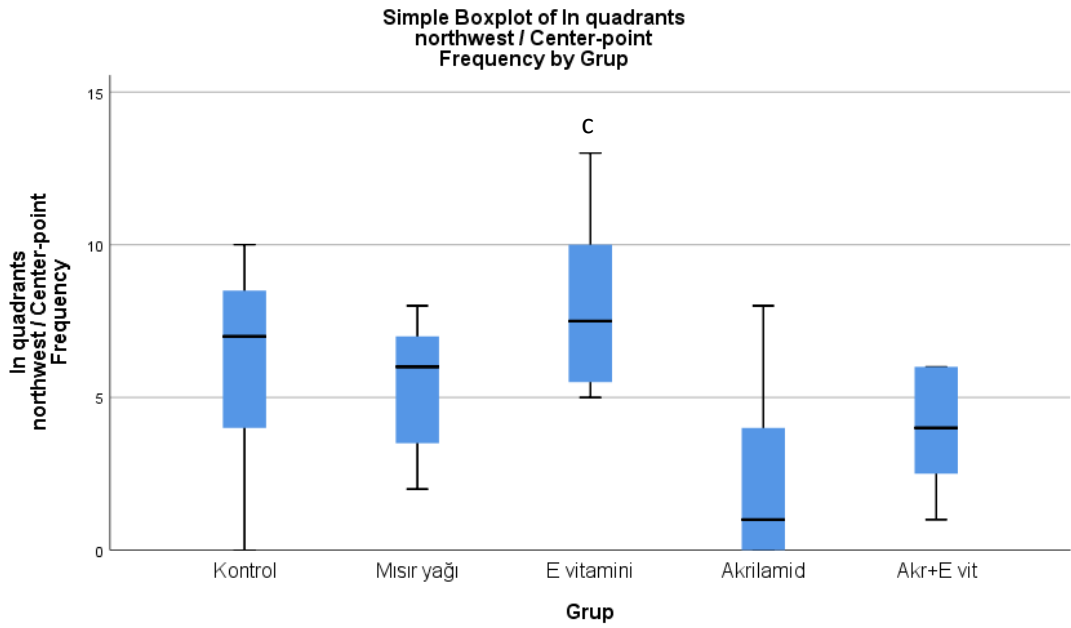
**Şekil 4.23b.**Akrilamid+ E Vitamini grubu; Beyin korteksinde nöronlar ve glial hücreler (yıldız). H-E, x20



**Şekil 4.23c.**Akrilamid+ E Vitamini grubu; Piramidal nöronlar (ok). H-E, x40

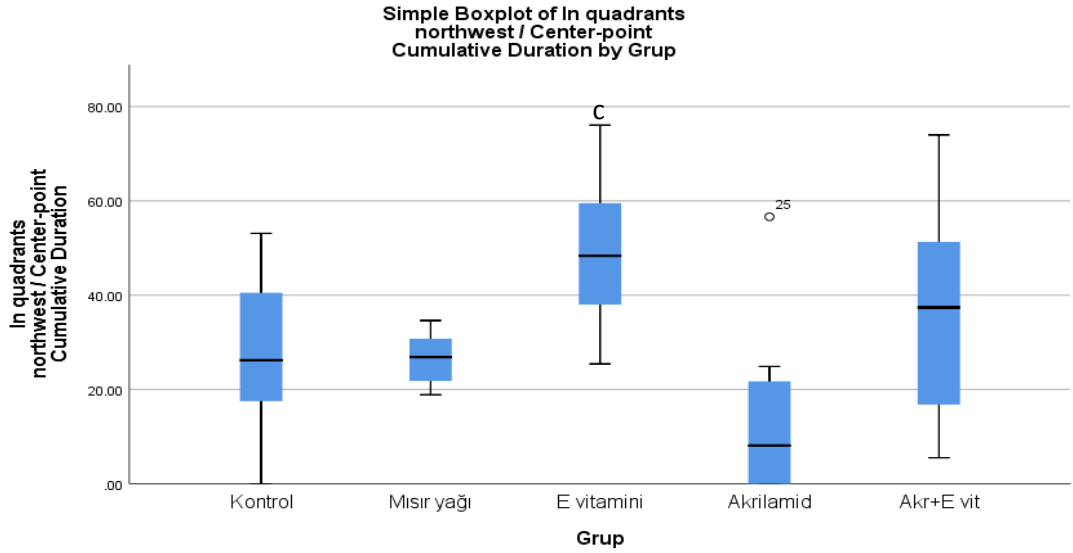
#### 4.5. WATER MAZE TESTİ ANALİZ BULGULARI

Hafızanın pekiştirilmesi için uygulanan probe testinde sıçanların eski platform yerinden geçme frekansları karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. E Vitamini ile Akrilamid grubu kıyaslandığında kadrandan geçme frekansı E vitamini grubunda anlamlı ölçüde artmış bulunurken ( $p < 0,05$ ), E vit+Akr grubunda uygulanan E vitamini kadrandan geçme frekansını kontrol grubu düzeylerine yaklaştırmış olarak tespit edildi (Şekil 4.24).



**Şekil 4.24.** Grupların kadranda kalma sıklıklarının karşılaştırılması: Akrilamid'e göre farklıdır ( $p < 0,05$ ).

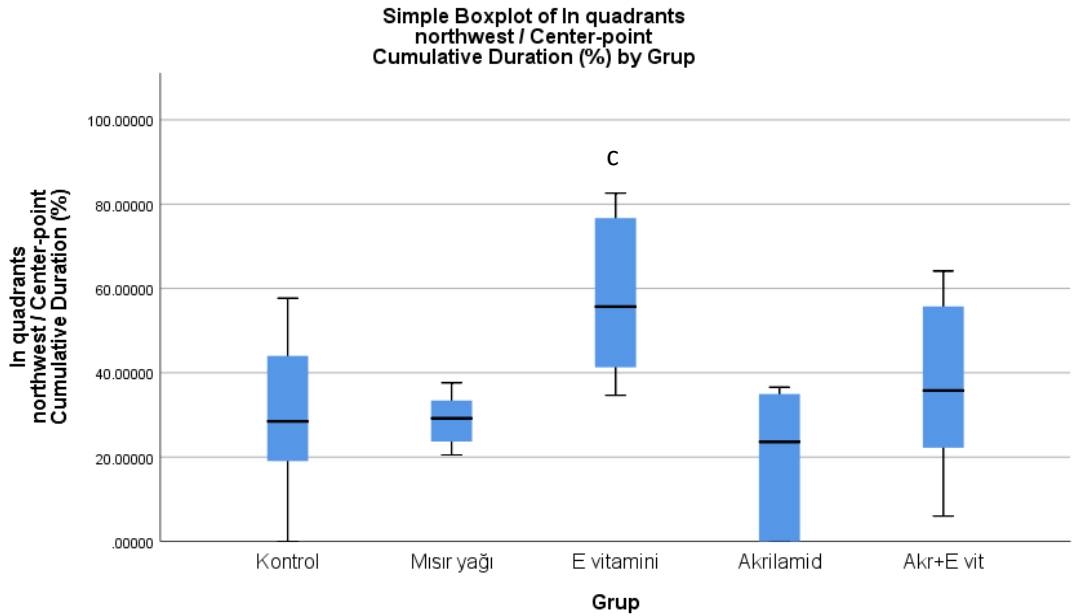
Hafızanın pekiştirilmesi için uygulanan probe testinde sıçanların eski platform yerinde arama yapma süreleri sn olarak karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. E Vitamini ile Akrilamid grubu kıyaslandığında eski platform yerinde arama yapma süreleri E vitamini grubunda istatistiki olarak anlamlı ölçüde artmış bulunurken ( $p < 0,05$ ), E vit+Akr grubunda uygulanan E vitamini kadrandan geçme frekansını kontrol grubu düzeylerine yaklaştırmış olarak tespit edildi (Şekil 4.25).



c: Akrilamid'e göre farklıdır ( $p < 0,05$ ).

#### Şekil 4.25. Grupların kadranda kalış sürelerinin karşılaştırılması

Hafızanın pekiştirilmesi için uygulanan probe testinde sıçanların eski platform yerinde arama yapma süreleri yüzde olarak karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. E Vitamini ile Akrilamid grubu kıyaslandığında eski platform yerinde arama yapma süreleri yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde akrilamid grubunda azalmıştı ( $p < 0,05$ ). E vit+Akr grubunda uygulanan E vitamini eski platform yerinde arama yapma süreleri yüzdesini kontrol grubu değerlerine yakın değerlere artırmıştı (Şekil 4.26).



#### Şekil 4.26. Grupların kadranda kalış sürelerinin yüzdelilerinin karşılaştırılması

**Tablo 4.7.**Water Maze Testi verileri

Değişkenler	Kontrol	Mısır yağı	E vitamini	Akrilamid	Akr+E vit	p
In quadrants northwest / Center-point Frequency (Ortanca (Min-maks))	7 (0-10)	6 (2-8)	7.5 <sup>c</sup> (5-13)	1 (0-8)	4 (1-6)	0.008
In quadrants northwest / Center-point Cumulative Duration (Ortanca (Min-maks))	26.2 (0-53.12)	26.88 (18.88-34.64)	48.36 <sup>c</sup> (25.44-76.08)	8.12 (0-56.64)	37.4 (5.52-74)	0.007
In quadrants northwest / Center-point Cumulative Duration (%) (Ortanca (Min-maks))	28.45 (0-57.69)	29.19 (20.5-37.62)	55.69 <sup>c</sup> (34.67-82.62)	23.59 (0-36.58)	35.79 (5.99-64.12)	0.007

a: Mısır Yağı'na göre farklıdır, b: E Vitamini'ne göre farklıdır, c: Akrilamid'e göre farklıdır, d: Akr+E Vitamini 'ne göre farklıdır.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda akrilamid uygulamasının; fetal ağırlık, plasenta ağırlığı, beyin ağırlığı ve CRL mesafesi gibi fetal gelişimi gösteren parametreleri istatistiki olarak anlamlı ölçüde azalttığı, güçlü bir antioksidan olan E vitamini takviyesi ilebozulan bu morfolojik parametrelerin kontrol grubu düzeyine döndüğü tespit edilmiştir.

Gebelik süresince akrilamid uygulanan annelerin fetuslarının beyin dokusu oksidan ve antioksidan düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grubun malondialdehid (MDA: Lipid peroksidasyonunun son ürünü) ve total oksidan kapasite (TOS) seviyelerinin istatistikî olarak anlamlı şekilde artış gösterdiği, total antioksidan kapasite (TAS) düzeylerinin ise anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, akrilamid uygulanan grubun fetuslarının beyinlerinde akrilamid kaynaklı oksidatif stresin meydana geldiğini göstermektedir. Ancak akrilamidle beraber E vitamini uygulaması, MDA ve TOS düzeylerini kontrol grubu değerlerinin altına indirerek, TAS seviyelerini ise kontrol grubun değerlerinin üstüne çıkartarak akrilamid kaynaklı oksidatif stresi önlemiştir.

Bizim sonuçlarımıza göre akrilamid uygulanan grupta; fetal beyin dokularına ait kesitlerde tüm korteks tabakalarında heterokromatik ve piknotik nukleusların kontrol, mısır yağı ve E vitamini gruplarındakine göre belirgin şekilde artmış olduğu, nöronların büyük kısmında nukleusta kromatin yoğunlaşması, nukleus ve hücre boyutlarında küçülme, heterokromatik ve piknotik nukleus yoğunluğundaki artış ve glial hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Glial hücre infiltrasyonu diffüz ve yer yer odaklar şeklindeydi. Korteks dokusunun bazı bölgelerinde nöron yoğunluğunda azalma ve hidropik dejenerasyona ait bulgular tespit edildi. Korteks içerisinde hemorajik odaklar ve vasküler konjesyon dikkati çekiciydi. Akrilamid + E vitamini grubunda ise akrilamid grubunun tersine, nöron kaybı olan alanlarda ve dejenere nöronlarda azalma, sağlıklı nöron sayısında artış olduğu ortaya konulmuştur.

Tüm grupların oksidan-antioksidan parametrelerinin ve histopatolojik analizlerin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, akrilamidin fetal beyin dokusunda oksidatif strese ve sonrasında da oksidatif doku hasarına yol açtığı sonucuna varabiliriz.

Fetal beyin BDNF mRNA sonuçları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, akrilamid uygulanan grupta BDNF mRNA düzeylerinin ciddi derecede düştüğünü, akrilamidle E vitamininin birlikte uygulandığı grupta, E vitamini uygulamasının,

akrilamidin BDNF mRNA oluşumu üzerinde meydana getirdiği baskılayıcı etkiyi engelleyemediğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, akrilamidin BDNF geni üzerindeki baskılayıcı etkisinin transkripsiyonel aşamada gerçekleşebileceğini işaret etmektedir. Ancak akrilamidin fetal beyin BDNF protein düzeylerine etkisi sınırlı kalmış, E vitamini uygulaması ile fetal beyin BDNF düzeylerini anlamlı derecede artmıştır. Akrilamid uygulaması postnatal yavrularda BDNF mRNA düzeylerini etkilememiş ve serum BDNF düzeylerinde istatistiki olmayan bir düşüşe yol açmıştır. Akrilamidle birlikte E vitamini uygulamasının, akrilamid kaynaklı serbest radikalleri süpürerek ortadan kaldırdığı, bunun sonucunda da oksidatif stresi baskılayarak ve oksidatif doku hasarını azaltarak BDNF düzeylerini normal hale getirdiğini düşünüyoruz. Akrilamid+E vitamini uygulanan grubun fetal beyin ve postnatal yavru serum BDNF düzeylerinin önemli derecede artışının, E vitamininin akrilamid kaynaklı oksidatif stresi baskılaması, transkripsiyon faktörlerinin ve BDNF mRNA'sının oksidatif yıkımını engellemesi ve bunların sonucunda da BDNF mRNA'sının proteine dönüşme (translasyon) oranını artırmasından kaynaklanmış olabileceği kanaatindeyiz.

İnsan ve hayvanlarda beynin hipokampus kısmının, bilişsel fonksiyonların gelişimi ve sürdürülmesinde çok önemli rollerinin bulunduğu rapor edilmiştir (124). Hipokampus, BDNF sentezinin en yüksek olduğu beyin kısımlarından biridir (125). Beyinde sentezlenen BDNF kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçerek kan dolaşımına dahil olur (126). Bu nedenle, serum BDNF düzeylerinin beyin BDNF seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (127). Yapılan çok sayıda araştırmanın sonuçları, serum BDNF düzeyleri ile bilişsel fonksiyonlar arasında korelasyon olduğunu göstermektedir (128-132). Nitekim yetişkin ratlarda hipokampusu BDNF enjeksiyonunun, Morrisin su tankı testinde bilişsel fonksiyonları pozitif yönde etkilediğini ortaya koymuştur (133).

Doğan yavruların postnatal 8. haftasında hipokampusu izole edilerek yapılan BDNF mRNA ve serum BDNF ELISA analizi sonuçları, akrilamid uygulanan grubun BDNF mRNA ve serum BDNF sonuçlarının kontrol grubu değerlerine çok yakın olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, akrilamidin fetal beyin dokusunda BDNF gen ekspresyonu üzerinde meydana getirdiği transkripsiyonel ve translasyonel baskının sınırlı düzeyde kaldığını göstermektedir. Ancak, gebelik sürecince akrilamid uygulanan grubun yavrularının histopatolojik verileri, akrilamid kaynaklı doku hasarının hala devam ettiğini göstermektedir.



Postnatal yavrularda bilişsel fonksiyonları değerlendirmek için uyguladığımız Morris'in su tankı testi sonuçlarında da akrilamid uygulanan grupta bilişsel fonksiyonlarda istatistiki olarak anlamlı ölçüde gerileme tespit edilmiş ve bu durumun E vitamini takviyesi ile anlamlı ölçüde düzeldiği gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular, BDNF'nin öğrenmede etkili olduğunu, bu etkinin BDNF miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiğini ve gebelik süresince akrilamid uygulamasının ratlarda postnatal bilişsel fonksiyonları olumsuz etkilediğini göstermektedir. İnsanlarda diyetel olarak günlük alınan akrilamid miktarı diyetin şekline, besinlerin içeriğine, sosyo-kültürel alışkanlıklara bağlı değişkenlik gösterse de gebelik döneminde fetal beyin gelişiminin akrilamidin olumsuz etkilerinden korunması ve bu etkinin mümkün olduğunca azaltılması için gebe kadınların diyetel akrilamid içeriğine dikkat etmesi gerektiği şiddetle tavsiye edilmektedir.

Akrilamid, plasentayı geçebilen, yaygın diyetel maruziyeti olan, insanlar için 'olası kanserojen' olarak sınıflandırılmıştır. Kemirgenlerde gelişimsel toksisitelere yol açan bir kimyasaldır. Pederson ve ark., gebe kadınların yavrularında doğum ağırlığı ve baş çevresi değerlerini araştırdıkları prospektif anne-çocuk çalışmasında, 2006-2010 yılları arasında Danimarka, İngiltere, Yunanistan, Norveç ve İspanya'da işe alınan 1101 tekil gebe kadında günlük diyetlerle ilgili anket yapılmış ve doğum anında umbilikal kordtan kan alınarak akrilamid ve glisidamid-Hb adükt seviyelerine bakmışlardır. Çalışmanın sonuçlarında hem akrilamid hem glisidamid-Hb adüktlerinin; doğum ağırlığı ve baş çevresi değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe yol açtığını bulmuşlar. En düşük glisidamid-Hb adükt seviyeli bebeklerin dörtte biriyle; en yüksek glisidamid-Hb adükt seviyeli bebeklerin dörtte biri kıyaslandığında doğum ağırlığındaki fark -132 g (95% CI: -207, -56) ve baş çevresindeki fark ise -0,33 cm (95% CI: -0,61, 0,06) bulunmuş. Bu bulgular, akrilamidden zengin diyetle beslenen kadınlarda düşük doğum ağırlığı ve baş çevresinin değerlerinin, diyetin akrilamid düzeyleri ile anlamlı ölçüde korelasyon gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Gebelik sırasında tüketilen bazı gıdaların, prenatal yüksek akrilamid maruziyeti ile ilişkili bulunmuş ve bu bulgular çerçevesinde, bilim insanları gebe kadınlara diyetel akrilamid alımı ve fetusun sağlığı konusunda ciddi uyarılarda bulunmuşlar ve gebelik süresince bu gıdaların tüketiminin azaltılması gerektiğini vurgulamışlar (134).

Yapılan araştırmaların sonuçları, gelişmekte olan beynin çeşitli kimyasallara karşı daha hassas olduğunu göstermiştir. Son yapılan araştırmalarda, enterik

mikrobiya ve beyin fonksiyonu arasında bağlantı olduğu anlaşılmaktadır. Gebelik esnasında non-digestible oligosakkaritlerin takviyesi, faydalı mikrobiyata stimülasyonu yoluyla insan sağlığını olumlu etkilediği gösterilmiştir (135). 2015 yılında Krishna ve ark. ratlarda gebelik sırasında inülin uygulayarak akrilamid kaynaklı maternal ve fetal oksidatif stres ve nörotoksiste üzerinde oluşturacağı muhtemel etkileri araştırdıkları bir çalışmada, gebe ratlara GD0-GD19 günleri arasında içme suyu ile 200 ppm dozunda akr vermiş ve total 2g/kg/gün dozda inülini 2 eşit doza bölerek oral gavajla uygulamışlardır. Sonuçta GD14'te akr'nin 'Açık Alan Araştırması' testindeki araştırma aktivite değerlerini uyardığı, bu uyarının inülin takviyesi ile ortadan kaldırıldığını gözlemlemişler. İnülinin, akrilamide maruz kalmış ratlarda gözlenen plasental ağırlık azalmasını eski haline döndürdüğü, akrilamide bağlı oluşan maternal ve fetal beyindeki oksidatif hasarı azalttığı ve maternal beyindeki protein karbonil düzeylerini düşürerek normale döndürdüğü saptanmıştır. İnülin takviyesi, maternal korteks ve fetal beyinde dopamin düzeylerini normale getirerek nörorestoratif etki göstermiştir. Ayrıca nörorestoratif etki ile iyi korele olan enterik Bifidobakteri sayısındaki belirgin artışı gözlemlemişler. İnülin uygulamasının hem enterik ortamda hem de nöronal sistemde akrilamidin indüklediği mitokondrial disfonksiyona karşı önemli koruma sağladığını tespit edilmiştir. Gebelikte inülin uygulamasının akrilamid kaynaklı nörotoksik etkiyi azaltıcı mekanizması henüz tam açıklığa kavuşturulmuş olmasa da, bu çalışmada enterik mikrobiyatayı artırarak oksidatif stresin ortadan kaldırılmasına aracılık edebileceği yönünde vurgu yapılmıştır. Ayrıca fetal gelişimi bozucu nörotoksik maddelerin olumsuz etkilerini azaltmada gebelik sırasında probiyotik oligosakkaritlerin takviyesinin nöroprotektif rolüne dikkat çekilmiştir (136).

Aydın, argon yağının akrilamid uygulanan ratların beyin dokularında radikal üreten NADP(H) oksidaz enzim sistemine, mitokondrial disfonksiyon ve oksidatif sisteme etkilerini araştırmak amaçlı yürüttüğü çalışmada, erişkin ratlara 50 mg/kg dozda i.p olarak haftada 3 kez olacak şekilde 30 gün süreyle akrilamid uygulamış, koruyucu olarak da 30 gün süreyle oral yolla 6 ml/kg/gün p.o. argon yağı uygulamışlardır. Argon yağı takviyesinin akrilamid kaynaklı sitozolik ve mitokondrial oksidatif stresin her ikisini de NADP(H) oksidaz aktivitesini normalize ederek eski haline döndürdüğünü, mitokondrial fonksiyonları düzelttiğini, mitokondrial ATP sentezini artırdığını tespit edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları, argon yağı uygulamasının, akrilamidin beyin dokusunda meydana getirdiği

mitokondrial disfonksiyonları ve antioksidan sistem bozukluklarını ciddi derecede iyileştirmiştir (137).

Shi ve ark. Tardif Diskinezili (TD) rat modelinde, haloperidolün neden olduğu anlamsız çiğneme hareketleri ve BDNF ekspresyonundaki azalma üzerine ginko biloba (E6b761) ve E vitamininin koruyucu rolünü araştırmayı amaçladıkları çalışmada, 40 erişkin rata 5 hafta süreyle 2 mg/kg/gün dozunda haloperidolü i.p, 50 mg/kg/gün Ginko Biloba ve 20 mg/kg/gün E vitaminini oral gavajla uygulamışlardır. Ginko Biloba ve E vitaminin; haloperidol kaynaklı anlamsız çiğneme hareketleri (VCMs) ve beyin prefrontal korteks (PFC), striatum (ST), Substantia Nigra (SN) ve Globus Pallidus (GP) bölgelerindeki BDNF ekspresyonu üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemiştir. E vitamini/Ginko Biloba uygulamasının, haloperidolden kaynaklanan ve ilerleyici bir seyir gösteren anlamsız çiğneme hareketlerini önemli oranda azalttığı ve haloperidolün beyin dört bölgesinde (PFC, SN, ST, GP) BDNF gen ekspresyonundameydana getirdiği baskıyı önemli ölçüde normalize ettiği tespit edilmiştir. E vitamininin ve Ginko Bilobanın beyindeki etki mekanizmalarının; beyin dokusunda BDNF ekspresyonunu uyararak artırdığı ve/veya serbest radikalleri süpürücü etkileri ile TD semptomlarını iyileştirdikleri şeklinde yorumlanmıştır (138).

Wu ve ark. ratlarda travmatik beyin hasarı (TBI) oluşturarak meydana gelen öğrenme güçlüğü ve oksidatif hasara karşı E vitaminin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu araştırmacılar, diyetle verilen E vitaminin, TBI'nın hipokampustaki kognitif fonksiyonlar ve sinaptik plastisitede rol alan moleküller üzerindeki muhtemel negatif etkilerini önleyebileceği ve bu etkileri tersine döndürebileceği hipotezinden yola çıkmışlardır. Bu amaçla, TBI yapılmadan önce ratlar 500 IU/kg E vitamini içeren bir diyetle 4 hafta süreyle beslenmiştir. TBI grubunda, antioksidan enzimlerden SOD ve Sir2 (Silent information regulator2) seviyelerinde düşüşler ve protein karbonil seviyelerinde artışların görülmesi, TBI'nın oksidatif stresi artırarak protein oksidasyonunu indüklediğini ortaya koymuştur. TBI, BDNF düzeylerinde azalmayol açmıştır. Bu durum, BDNF'nin sinaptik plastisite, sinapsin I, CREB ve CaMkII üzerindeki etkilerini azaltarak öğrenmeyi olumsuz etkilemiştir. TBI grubunda Morris'in su tankı testinde bilişsel fonksiyonlar açısından düşük performans gözlenmiş, ancak diyete E vitamini takviyesi ile bilişsel fonksiyonlarda anlamlı derecede düzeltilmeler tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları, E vitaminin diyetel takviyesinin, BDNF ve Sir2 gibi moleküler sistemleri kullanarak uzun-dönem

plastisitenin korunmasıyla ilişkili proteinleri etkileyip TBI'nın sinaptik plastisite ve kognitif fonksiyonlar üzerindeki olumsuz etkilerine karşı beyni koruyabileceği şeklinde yorumlamışlardır (139).

Diğer bir araştırmada, etanolün apoptotik hücre ölümünün başlatılmasında anahtar rol alan proapoptotik Bax proteininin mitokondrial membrandan translokasyonuna, mitokondrial membran potansiyeline ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi üzerine etkileri ve E vitamini ya da BDNF tarafından bu etkilerin engellenebilirliği incelenmiştir. Bu amaçla postnatal 6. günde beyinden granüler hücreler izole edilerek hücre kültürü yapılmıştır. Hücre kültürü ortamına 400 mg/dL etanol, 500 µM E vitamini, 400 mg/dL etanol+500 µM E vitamini, 50 ng/dL BDNF, 50 ng/dL BDNF+400 mg/dL etanol ayrı ayrı ilave edilerek etkileri denenmiştir. Kısa süreli etanol maruziyetinin granüler hücrelerde Bax translokasyonunu hızlandırdığı ancak hem E vitamini hem de BDNF'nin bu etkiyi kontrol düzeyine indirdiği gözlemlenmiştir. Yine etanolün, Mitokondrial Membran Potansiyelinde (MMP) bozulmaya yol açtığı ama antioksidan E vitamini ve BDNF ile bu bozulmanın önleniği tespit edilmiştir. Etanolün ROT üretimini artırarak oksidatif strese neden olduğu ve E vitamini uygulanmasının oksidatif stresi engellediği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda araştırmacılar, hem antioksidanların hem de nörotrofik faktörlerin, etanolün nörotoksik etkilerini iyileştirme potansiyeli olduğuna dikkat çekmişler ve fetal alkol sendromunda görülen etanol kaynaklı beyin gelişimindeki anormallikleri önemede antioksidanları ve nörotrofik faktörlerin kullanımını önermişlerdir (140).

Ambrogini ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada, maternal diyetteki  $\alpha$ -tokoferolün yetişkin yavrulardaki spasyal öğrenme ve korku koşullarına etkilerini incelemişler. Bu amaçla çiftleşmeden 2 hafta önce başlayarak gebelik boyunca ve laktasyon süresi de dahil olmak üzere ratlara 15g/kg pellet dozunda E vitamini uygulamışlar. Araştırmanın sonuçları,  $\alpha$ -tokoferol takviyesinin gebeliğin normal seyrini, yeni doğanlarda sağ kalım oranını, yavruların doğum ağırlığını, saç gelişimi, göz açılması ve hareket kontrolünün başlaması gibi olgunlaşma işlevlerinin zamanlamasını anlamlı ölçüde etkilemediğini ortaya koymuştur. Ayrıca  $\alpha$ -tokoferol takviyesinin, hipokampus bağımlı öğrenme şekli olan içeriğe dayalı korkuyu şartlandırma (contextual fear conditioning) ve spasyal öğrenme üzerine etkileri incelenmiş ve  $\alpha$ -tokoferol takviyesi, içeriğe dayalı korkuyu şartlandırma performanslarını anlamlı düzeyde iyileştirirken, Morris'in su tankı (MWM) testindeki

spasyal öğrenme performansını ise azalttığı tespit edilmiştir. MWM testindeki performans bozukluğunun, artmış keşif hareketlerine bağlı olduğu, korku tepkisinin düzelmesi ise antioksidan düzeyindeki ya da spontan aktivitedeki farklılardan bağımsız olarak beyin gelişimi sırasında  $\alpha$ -tokoferol takviyesinin spesifik etkisi olduğu yönünde yorumlanmıştır (141).

Yu ve ark. 2016 yılında 1 yaş çocukların beyin gelişimini incelemek amacıyla, düşük doz prenatal manganez (Mn) maruziyeti ile 1 yaş çocukların beyin gelişim parametreleri (motor fonksiyonu, uyarılabilirlik, dil ve sosyal alanlar) arasındaki potansiyel ilişkiyi ve düşük doz Mn kaynaklı kognitif bozukluklarda BDNF'nin rolünü araştırmışlardır. BDNF'nin rolünü açıklamak amacıyla Kuzey Çin'in kırsal kesiminden prospektif olarak toplam 377 anne çalışmaya dahil edilmiş, kord kanı serumunda Mn ve BDNF seviyeleri analiz edilmiş ve çocukların beyin gelişim parametreleri değerlendirilmiştir. BDNF düzeyinin, kişisel-sosyal skor ile pozitif korele olduğu ( $\beta=0.7$ , 95% CI:0-14,  $p < 0,05$ ), Mn ve BDNF arasında anlamlı negatif bir korelasyon bulunduğu ( $r=0.13$ , 95% CI:-0,23 ile -0,03,  $p < 0,01$ ) ve kord serumu Mn ve BDNF düzeyleri arasındaki etkileşimin istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ). Araştırmacılar bu sonuçlar doğrultusunda, uzun süreli düşük-doz prenatal Mn maruziyetinin bebeklerde beyin gelişim sürecini bozduğu ve azalmış BDNF'nin özellikle kişisel-sosyal yetenek olmak üzere bilişsel fonksiyonların bozulmasında önemli rol aldığını vurgulamışlardır (142).

Gebelik süresinde probiyotik etkili oligosakkaridlerin alınmasının geniş fizyolojik yararlar sağladığı bilinmektedir. Epidemiyolojik araştırmalar, prenatal/erken yaşam sırasındaki nörotoksik ajanlara maruziyetin nörogelişimsel fonksiyonları derinden etkileyebileceğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda Krishna ve ark. 2015 yılında probiyotik takviyesinin, maternal ve fetal rat beyinde akrilamid kaynaklı nörotoksisite, mitokondrial disfonksiyon ve oksidatif hasara karşı muhtemel koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla gebe ratlara gebeliğin 0-19. günleri arasında probiyotik etkili oligosakkaritler 3 g/kg/gün total doz 2 eş doza bölünerek yemle kombine edilerek uygulanmış. Gebeliğin 6-19. günlerinde ise 200 ppm dozunda akrilamid içme sularına katılarak akrilamid maruziyeti oluşturulmuştur. Bilişsel fonksiyonların analizi için 'Open Field Testi' uygulamaları ve akrilamid maruz kalmış annelere probiyotik etkili oligosakkarid takviyesinin bu annelerin daha yüksek araştırmacı davranışlar sergiledikleri tespit edilmiştir. Probiyotik oligosakkarid takviyesi ile, akrilamidinyol açtığı fetal ve plasental ağırlıkta

azalma, maternal ve fetal beyinde mitokondrial ve kolinerjik fonksiyon bozuklukları, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve oksidatif stres belirteçlerindeki artışnormal düzeylerine döndürülmüştür. Akrilamid ile eş zamanlı olarak uygulanan probiyotiklerin, akrilamidin maternal kortekste meydana getirdiği C-aminobütirik asit ve Dopamin düzeylerindeki düşüşleriönemli oaranda artırdığı gözlemlenmiştir. Akrilamidemaruz kalan annelerin sekumunda bifidobakteri sayısını anlamlı ölçüde azaltarak florayı bozduğu ve probiyotik takviyesi ile bu azalmanın anlamlı düzeyde normale döndüğü tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak araştırmacılar, nörotoksik etkili maddelerin beyne etkisinin probiyotiklerce engellenme mekanizmasının, oksidatif stresin zayıflatılması ve bağırsak florasının normal hale getirilmesi yoluyla gerçekleştirilebileceği kanısına varmışlardır (143).

1950'li yıllardan beri akrilamidin insanda mesleki maruziyete bağlı nörotoksik etkileri meydana getirdiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra akrilamidin kemirgenlerde gelişimsel ve üreme sistemi üzerindeki toksik etkiler gösterdiğinin, insanların yaygın olarak tükettiği yüksek sıcaklıklarda pişirilen yiyeceklerde bol miktarda akrilamid bulunduğunun ve akrilamidin insan plasentasını kolaylıkla geçebildiğinin tespit edilmesi, insanda diyetel akrilamidmaruziyetinin potansiyel etkileri konusunda ciddi endişelere yol açmıştır. Bu konuyla ilgili olarak Duarte-Salles ve ark. Norveç'te anne-çocuk kohort çalışmasında, gebelikte akrilamid içerikli diyet alımı ve fetal büyümeye etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmaya 50.561 anne dahil edilerek annelerin akrilamidmaruziyet miktarı ve kanda Hb adükt düzeyi ölçümleri yapılmış ve akrilamid içeren gıdaların alım sıklığı anket sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bu araştırmada, gebelikte akrilamid alımının, fetal büyüme ile negatif korelasyon gösterdiği sonucuna varılmıştır. Akrilamid alımının en yüksek olduğu grubun çeyreğindeki gebe kadınlar ile en alt çeyreğindeki kadınlar kıyaslanmış ve gebelikte akrilamid alımını azaltmanın fetal büyümeyi iyileştirebileceği vurgusu yapılmıştır (144).

El-Sayyad ve ark. 2011 yılında gebe ratlarda doğrudan akrilamid uygulaması ile kızarmış patates cipsi yedirilmesi şeklindeki akrilamid maruziyetinin pre/postnatal ve maternal etkilerini karşılaştırmak amacıyla çalışma yapmışlardır. Hem doğrudan hem de kızarmış patates cipsi yoluyla akrilamid maruziyetinin dokularda benzer histopatolojik etkilere açtığını gözlemlemişlerdir. Her iki uygulamanın da düşük oranını, neonatal mortaliteyi artırdığı; total fetus sayısı, vücut ağırlığı, doğum boyu uzunluğu ve baş-popo mesafesini (CRL) anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir.

Ayrıca konjenital malformasyon oranlarının kızarmış patates cipsiverilen grupta daha yüksek oranda olduğunu rapor edilmiştir. Fetal gelişme sırasında bazı kemiklerde eksiklik tespit edilmiş ve eksik kemikleşme sıklığının kızarmış patates cipsiverilen neonatlarda, akrilamid uygulananlardan daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu sonuçları göz önüne alarak araştırmacılar, kızarmış patates cipsinin sağlık üzerine tehlikeli etkilere yol açabileceğini ve genel populasyonda kızarmış patates cipsi ve patates kızartmasını kontrollü olarak tüketilmesi gerektiğini vurgulamışlardır (92).

Allam ve ark. prenatal ve perinatal akrilamid maruziyetinin ratlardabeyin gelişimi üzerindeki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, gebe ratların bir grubunagebeliğin 7. gününden doğuma kadar(prenatal maruziyet) ve diğer bir grubuna da gebeliğin 7. gününden postnatal 28. güne kadar (perinatal maruziyet) 10 mg/kg/gün dozda akrilamid uygulayıp akrilamid kaynaklı beyin gelişim bozukluklarını araştırmışlardır. Akrilamid uygulamasının yavruların doğum ağırlıklarında anlamlı düzeyde azalmaya, beyin dokusundalipid peroksidasyon ürünlerinde (TBARS) ve oksidatif stres parametrelerinin düzeylerinde artışa yol açtığı tespit edilmiştir. Akrilamid uygulaması yavru beyinde redükte glutatyon (GSH) ve süperoksid dismutaz (SOD)seviyelerini anlamlı oranda azaltmıştır. Ayrıca histopatolojik incelemelerde beynin granüler tabakasında proliferasyona, hücresel göç ve hücre farklılaşmasının baskılanmasına, purkinje hücrelerinde kayıplarıneden olduğu rapor edilmiştir.Bu araştırmada, prenatal ve postnatal akrilamidve onun metabolitlerine maruziyetin gelişmekte olan rat beyinde biyokimyasal mekanizmaları bozarak oksidatif strese, oksidatif doku hasarlarına ve yapısal değişikliklere yol açtığı vurgulanmıştır (91). Bizim araştırma sonuçlarımız, bu araştırmada gebeliğin 7. gününden doğuma kadar 10 mg/kg/gün akrilamid uygulanan grubun morfolojik, histopatolojik ve antioksidan/oksidan verileri ile paralellik göstermiştir.

Annola ve ark. 2008 yılında yaptıkları densesel araştırmada, gıdalarda yaygın bulunan karsinojenik ve nörotoksik bileşik olan akrilamid ve onun metaboliti glisidamidin plasentadan geçiş oranını belirlemeyi amaçlamışlardır. Araştırma sonuçları, akrilamid ve glisidamidin maternal dolaşımdan plasenta aracılığıyla fetal dolaşıma geçtiğini tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, eğer anne akrilamidemaruz kalırsa, akrilamidin plasentayı geçerek fetusa ulaşacağını ve fetusun akrilamid kaynaklı toksisiteye maruz kalacağını belirtmişlerdir (145).

Ogawa ve ark. 2012 yılında gebeliğin 10. gününden postnatal 21. güne kadar gebe ratların içme sularına 0, 4, 20 ve 100 ppm dozlarında akrilamidilave ederek yürüttükleri bir çalışmada, yeni doğan yavruların hipokampal dentat girusundanöronların doğru konumlanması ve migrasyonunu sağlayan reelin proteinini üreten internöronların sayısal artışı ve nörogenezi araştırmışlardır. Akrilamidmaruziyeti, yeni doğan yavrularda reelin üretimini ve bununla bağlantılı olarak nörogenezi baskıladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, akrilamid maruziyetinin ratlarda immatür granül hücrelerinde azalmayla sonuçlanan type-3-progenitör hücrelerin proliferasyonunu hedefleyerek hipokampal nörogenezisi reversibl etkilediği kanısına varılmışlar (93).

Yüksek sıcaklıkta pişirilmiş gıdaların uzun süre tüketilmesi ile alınanakrilamidin, beyin gelişim için toksik olduğunun ve öğrenme fonksiyonunun gelişmesinibozabileceğinin rapor edilmesi, insanlar arasındaciddi bir endişeye neden olmuştur. Garey ve ark. yaptığı deneysel bir çalışmada, prenatal akrilamid maruziyetinin Fischer 344 ratlarda öğrenme performansına etkilerini incelemişlerdir. Ratlara gebeliğin 6. günündendoğuma kadar oral gavajla 0, 0.1, 0.3,1 ve 5.0 mg/kg/gün dozunda akrilamidi uygulamışlar ve doğan yavrulara doğumu takip eden 22. günden itibaren aynı dozlarda akrilamidi içme suyu ile uygulamaya devam etmişlerdir. Her bir annenin bir erkek ve bir dişi yavrusunun öğrenme yeteneğini değerlendirmek için 'artımlı tekrarlı edinim'testi uygulanmıştır ve test sonuçları, akrilamidemaruz kalmış ratların 4. aya kadarçok farklı öğrenme performansı sergilediklerini göstermiştir. 1 ile 8.aylarrarasında yapılan yaklaşık olarak 52'nin üzerindeki performans test seansı,akrilamiduygulanan ratlarda 'tamamlanmış görevyüzdesi'de anlamlı azalma olduğunu göstermiştir. Tukey'in post-hoc testinde, 5 mg/kg/gün dozda akrilamide maruz kalan grubun'tamamlanmış görevyüzdesi'nin kontrole kıyasla anlamlı oranda düştüğü tespit edilmiştir( $p<0,05$ ). Araştırmacılar, 5 mg/kg/gün dozda akrilamide maruz kalan ratlarda 'tamamlanmış görev yüzdesi'indeki bu ciddi düşüşün,incemotorik etkilerdenya da muhtemelen psikomotor hızın düşürmesinden ve büyük ihtimalle de motivasyonel etkilerden kaynaklanabileceği şeklinde yorumlamışlardır (146).

BDNF'nin beyin gelişimi ve fonksiyonları üzerinde hayati bir rol oynadığı, aynı zamanda öğrenme, hafıza ve davranışın gelişiminde deçok ciddi pozitif etkilerinin bulunduğu bilinmektedir (147). Literatürde, gebelik süresince uygulanan akrilamidin fetal beyin dokusu BDNF düzeylerine etkilerini inceleyen tek bir



araştırma bulunmaktadır. Erdemli ve ark. 2016 yılında gebelik süresince ratlara 5 mg/kg/gün dozunda akrilamid uygulayarak yaptıkları araştırmada, akrilamid uygulamasının, gebeliğin 20. gününde sezeryanla alınan fetusların beyin dokusunda BDNF düzeylerini ciddi derecede düşürdüğünü ve buna bağlı olarak beyin gelişimini bozduğunu rapor etmişlerdir (148). Bizim araştırmamızda elde edilen fetal beyin BDNF sonuçları, bu grubun yaptığı araştırmanın sonuçları ile paralellik göstermiştir. Ancak bizim araştırmamızın dizaynı, amaç ve hedefleri açısından çok farklı yönleri bulunmaktadır. Bizim araştırmamızda: (1) gebe ratlara 10 mg/kg/gün dozunda akrilamid uygulanmış, (2) akrilamidin beyinde BDNF düzeylerini azaltma mekanizmasının ortaya çıkartılması amaçlanmıştır, (3) gebelik süresince uygulanan akrilamidin, doğan yavruların beyin gelişiminin tamamlandığı postnatal 8. haftadaki bilişsel fonksiyonları üzerindeki muhtemel etkilerini ortaya çıkartmak hedeflenmiştir.

Bununla birlikte, yetişkin ratlara akrilamid uygulanarak yapılan 2 farklı araştırmada, akrilamid uygulamasının beyinde BDNF düzeylerini önemli oranda düşürdüğü tespit edilmiştir. Mansour ve ark. 5,7-dihidroksiflavonun (DHF) ratlarda akrilamid ya da IR ( $\gamma$  radyasyon) kaynaklı nörotoksiteyi sınırlayıp/sınırlayamadığını ve DHF'nin etki mekanizma/mekanizmalarını ortaya çıkartmak ve bilimsel değerlendirmeler yapmak amacı ile bir araştırma yapmışlardır. Bu amaçla, 2017 yılında yaptıkları çalışmada 21 gün süreyle 25 mg/kg/gün dozunda akrilamid ya da tek doz 56y IR maruziyetinin beyindeki etkileri ve bu olumsuz etkilere karşı 50 mg/kg/gün dozunda DHF verilmesinin koruyucu etkileri incelenmişlerdir. Çalışmanın sonucunda akrilamid/IR'nin beyin dokusunda katekolaminlerin ve BDNF düzeylerini anlamlı oranda azaltarak ciddi beyin hasarına yol açtığı ve eş zamanlı bakılan serum beyin tipi Kreatin Kinaz (CK-BB) aktivitesinde de anlamlı düzeyde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca beyin MDA,  $\beta$ -Amiloid düzeylerinde ve serum AchE ve kaspaz 3 düzeylerinde ise anlamlı düzeyde artışlar tespit edilmiş. Bu nörotoksik etkilerin hepsinin DHF uygulaması ile anlamlı derecede tersine döndüğünü gözlemlenmiş ve bu sonuçlar doğrultusunda akrilamid yada IR kaynaklı nörotoksiteye karşı DHF'nin iyi bir nöroprotektif ajan olabileceği sonucuna varılmıştır (149).

He ve ark. 2017 yılında yürüttüğü bir çalışmada, yeşil çayda çok yoğun olarak bulunan polifenollerden Epigallokateşin-3-gallatın (EGCG) akrilamid kaynaklı beyin hasarına karşı nöroprotektif rolü araştırılmıştır. Bu amaçla ratlara,

akrilamid uygulamasına başlamadan 4 gün önce 10 mg/kg/gün veya 40 mg/kg/gün dozunda EGCG verilerek ön koşullama yapılmış ve 5. günden itibaren 14 gün süreyle 50 mg/kg/gün dozda akrilamid uygulayarak beyindeki muhtemel nörotoksik etkileri incelemişlerdir. EGCG uygulamasının; AchE aktivitesini, Nisll-1 pozitif hücre oranını anlamlı düzeyde artırdığı ve akrilamid kaynaklı hücrel hasarı azalttığı gözlemlenmiştir. EGCG'nin, önemli yangı belirteçleri olan TNF- $\alpha$ , iNOS ve COX-2 gen ekspresyonunu önemli oranda azalttığı ve bu bunun sonucunda da akrilamid kaynaklı yangıyı baskıladığı rapor edilmiştir. EGCG, akrilamid uygulanan ratların beyin dokularında BDNF ve Nestin düzeylerinde artışa yol açmış ve rejenerasyonu hızlandırmıştır. Tüm bu sonuçlar, EGCG'nin, ratların serebral korteksinde akrilamid kaynaklı beyin hasarını azalttığı ve rejenerasyonu uyararak nöroprotektif etki gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır (150).

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gebelik süresince ratlara 10 mg/kg/gün akrilamid uygulaması:

1. Fetal ağırlık, fetal beyin ağırlığı ve CRL mesafesi gibi fetal gelişimi gösteren parametrelerin düzeylerini anlamlı derecede bozmuş, E vitamini uygulaması ise bu parametrelerinin düzeylerini önemli oranda normal hale getirmiştir.
2. Gebeliğin 20. gününde fetuslarının beyin dokusunda oksidatif stres ve oksidatif doku hasarına yol açmış, E vitamini uygulaması oksidatif stresi baskılamış ve oksidatif doku hasarını azaltmıştır.
3. Gebeliğin 20. gününde fetuslarının beyin dokusunda BDNF mRNA düzeylerini anlamlı derecede düşürürken, BDNF protein düzeylerinde meydana getirdiği düşüş sınırlı kalmıştır. E vitamini verilmesi fetal beyin BDNF düzeylerini kontrol grubu seviyelerine yükseltmiş, ancak akrilamidin BDNF mRNA sentezi üzerinde meydana getirdiği baskıyı engelleyememiştir.
4. Fetal beyin dokusunda transkripsiyonu baskılamış, ancak translasyonel aşamadaki baskılayıcı etkisi çok sınırlı kalmıştır.
5. Yavruların postnatal 8. haftasında BDNF mRNA üzerinde herhangi bir baskılayıcı etki meydana getirmemiş ve serum BDNF düzeyleri üzerindeki etkisinde sınırlı kalmıştır.
6. Yavruların postnatal 8. haftasında bilişsel fonksiyonları önemli derecede bozmuş, ancak E vitamini uygulaması bilişsel fonksiyonları kontrol grubu seviyelerine getirmiştir.
7. Postnatal 8. haftada serum BDNF düzeylerinde ciddi bir düşüş meydana getirmezken, bilişsel fonksiyonların önemli derecede bozulmuş olması, muhtemelen hipokampusta inaktif olarak sentezlenen proBDNF proteininin aktif BDNF'ye dönüşümünün azalmış olabileceğini düşündürmektedir.
8. Gebe kadınların gebelik süresince akrilamidin fetus üzerinde meydana getirebileceği toksik etkilerden ve postnatal bilişsel fonksiyon bozukluklarından yavrularını korumak için, yoğun akrilamid içeren kızartılmış ve fırınlanmış yiyeceklerden mümkün olduğunca uzak durmalarını ve/veya plasentayı ve kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen E vitamini gibi antioksidanları günlük olarak yeterli düzeyde almalarını öneriyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji (Başaklar C, Çev.). Palme Yayıncılık, Ankara, 1993.
2. Moore KL, Persaud TVN. Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri (7. Baskı). (Müftüoğlu S, Atilla P, Kaymaz F, Çev. ). Güneş Kitabevi, İstanbul, 2009.
3. Madazlı R. Placenta. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2008.
4. Moore KL, Persaud TVN. The developing human: clinically oriented embryology. Saunders, Philadelphia, 1998.
5. Moore K. L, Persaud TVN. Color Atlas of Clinical Embryology. Saunders, Philadelphia, 2000.
6. Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology (4th ed.), Churchill Livingstone, Philadelphia, 2009.
7. Bleyl SB, Braver PR, Francis West PH. Lanson's Human Embryology (4 th ed.), Churchill Livingstone, Philadelphia, 2009.
8. Neural crest: [http://en.wikipedia.org/wiki/Neural\\_crest](http://en.wikipedia.org/wiki/Neural_crest) Erişim Tarihi: 3 Nisan 2017.
9. Embryonic Brain: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:EmbryonicBrain.svg> Erişim 13 Nisan 2017
10. Early Brain Development: <http://mdc06kb.webnode.com/development-of-the-hindbrain> Erişim Tarihi: 13 Nisan 2017.
11. Stahl, S.M. (2003). Temel Psikofarmakoloji (2. Bs.). (Taneli B, Taneli Y, Çev.) İstanbul: FSH Matbaacılık, Yelkovan Yayınevi.
12. Kulak W, Sobaniec W. Molecular mechanisms of brain plasticity: Neurophysiologic and neuroimaging studies in the developing patients. Rocznik Akad Med Białymst 2004; 49: 227–236.
13. Cevher N. Bipolar Tip I Bozukluğu Olan Ergenlerde Serumda Beyinden Köken Alan Nörotrofik Faktör Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, 2009, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
14. Gülpınar D, Erol A, Mete I. Depresyon ve Nöroplastisite. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2007; 17: 100-110.

15. Tongiorgi E. Activity-Dependent expression of brain-derived neurotrophic factor in dendrites: facts and open questions. *Neuroscience Res* 2008; 61: 335–346.
16. Levi-Montalcini R, Hamburger V. Selective growth- stimulating effects of Mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J Exp Zool* 1951; 116: 321–361.
17. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 2004; 22: 123–131.
18. Chao MV, Bothwell M. Neurotrophins: to cleave or not to cleave. *Neuron* 2002; 33: 9–12.
19. Timmusk T, Palm K, Metsis M, Reintam T, Paalme V, Saarma M, Persson H. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* 1993; 10(3): 475-89.
20. Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 2000; 10: 381–391.
21. Aid T, Kazantseva A, Piiroso M, Palm K, and Timmusk T. Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *J Neurosci Res* 2007; 85(3): 525–535.
22. Russo-Neustadt AA, Chen MJ. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant activity. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 1495–1510.
23. Horch, H.W. Local effects of BDNF on dendritic growth. *Rev Neurosci.* 2004; 15: 117–129.
24. Horch HW, Katz LC. BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons. *Nat Neurosci* 2002; 5: 1177- 1184.
25. Horch HW, Kruttgen A, Portbury SD, Katz LC. Destabilization of cortical dendrites and spines by BDNF. *Neuron* 1999; 23: 353–364.
26. Palizvan MR, Sohya K. Brain-derived neurotrophic factor increases inhibitory synapses, revealed in solitary neurons cultured from rat visual cortex. *Neurosci* 2004; 126: 955–966.
27. Frechilla D, Insausti R. Implanted BDNF-producing fibroblasts prevent neurotoxin-induced serotonergic denervation in the rat striatum. *Mol Brain Res* 2000; 76: 306–314.
28. Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25(2): 77-107.

29. Nair A, Vadodaria KC, Banerjee SB, Benekareddy M, Dias BG, Duman RS, Vaidya VA. Stressor-specific regulation of distinct brain-derived neurotrophic factor transcripts and cyclic AMP response element-binding protein expression in the postnatal and adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacol* 2007; 32(7): 1504-19.
30. West AE, Chen WG, Dalva MB, Dolmetsch RE, Kornhauser JM, Shaywitz AJ, Takasu MA, Tao X, Greenberg ME. Calcium regulation of neuronal gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(20): 11024-31.
31. Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca<sup>2+</sup> influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* 1998; 20(4): 709-26.
32. Nottebohm, F. Why are some neurons replaced in adult brain? *J Neurosci* 2002; 22: 624–628.
33. Dermirdaş A. Ratlarda Oluşturulan Depresyonda Venlafaksin Tedavisinin Hipokampus Beyin Kaynaklı Büyüme Faktörü Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, 2006, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
34. Nibuya M, Takahashi M, Russell DS. Chronic stress increases catalytic TrkB mRNA in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1999; 267: 81–84.
35. Bonni A, Brunet A, West AE, Datta SR, Takasu MA, Greenberg ME. Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by transcription-dependent and -independent mechanisms. *Science* 1999; 286: 1358–1362.
36. Yulug B, Ozan E, Gonul AS, Kilic E. Brain-derived neurotrophic factor, stress and depression: A minireview. *Brain Res Bull* 2009; 78: 267–269.
37. Schmidt HD, Duman RS. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive like behavior. *Behav Pharmacol* 2007; 18: 391–418.
38. Morley-Fletcher S, Rea M, Maccari S, Laviola G. Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 3367–74.
39. Branchi I, D'Andrea I, Sietzema J, Fiore M, Di Fausto V, Aloe L, Alleva E. Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BrdU-positive cells while increasing anxiety- and "depression"-like behavior. *J Neurosci Res* 2006; 83: 965–73.

40. Schaaf M J, Jong J, Kloet ER, Vreugdenhil E. Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone. *Brain Res* 1998; 813: 112–20.
41. Bozkurt MM. Değişik çevre koşullarının anne ve yavru sıçanlarda oluşturduğu davranış değişiklikleri ve hipokampus BDNF düzeyi üzerine etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, 2006, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
42. Beck KD, Valverde J, Alexi T, Poulsen K, Moffat B, Vandlen RA, Rosenthal A, Hefti F. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature* 1995; 373: 339-41.
43. Gash DM, Zhang ZM, Ovadia A. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature* 1996; 380: 252-55.
44. Kapczinski F, Frey BN, Andreazza AC, Anna MK, Cunha BM, Post RM. Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Rev Bras Psiquiatr* 2008; 30: 243-45.
45. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 1699–07.
46. Aksu İY. Egzersizin sıçan beyninde oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, 2006, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
47. Tıpta Hayvan Çalışmaları ve Etik.Erişim Tarihi:15.09.2016.<http://thefuar.com/icerik.asp?id=398&Uid=2>
48. Hayvan Deneyleri Etiği: Erişim Tarihi:15.09.2016.<http://uvt.ulakbim.gov.tr/tip/sempozyum7/altug.pdf>
49. Hacıalioğulları M. Interleukin-12'nin Embriyonik Vitellus Kesesi Damarlanması Üzerine Etkiler.Yüksek Lisans Tezi, 2005,Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
50. Skosyreva AM. Comparative evaluation of the embryotoxic effect of various antibiotics. *Antibiot Khimioter* 1989; 34, 779–782.
51. Soysal H. Sıçan fetuslarında fenitoin, folik asit ve vitamin E'nin kemik gelişimi üzerine etkileri. Doktora Tezi, 2010, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
52. Deneklerin Histolojik Özellikleri Bunların Deneysel Çalışmalarda Sınırlayıcı Yönleri. Erişim Tarihi: 15.09.2016.<http://www.jcam.com.tr/files/KATD-366.pdf>

53. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi (1. bs.). İstanbul: Argos. 2005.
54. Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi Araştırma. İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri. 2005.
55. Phylogenetic Expansion of Cortical Surface Area: Erişim Tarihi; 15.09.2016.<http://psyc254.uconn.edu/meds5377/cortexstudents.html>
56. Amaral DG, Insausti R. Hippocampal formation. PaxinosG (ed). The Human Nervous System. Second edition. California: Academic Press Inc.,1990.
57. Barr ML, Klerman JA. The human nervous system. 5th edition. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 1988: 266-269.
58. Isaacson RL. Unsolved mysteries: The hippocampus. BehavCognNeurosciRev2002; 1(2):87-107.
59. Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M. Hipokampus. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2001; 21(5): 427-431.
60. Moser E, Moser MB. Mapping your every move. Cerebrum 2014; 4: 2014.
61. Suzuki M, Hagino H, Nohara S, Zhou SY, Kawasaki Y, Takahashi T, Matsui M, Seto H, Ono T, Kurachi M: Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. Cereb Cortex 2005; 15 (2): 187–193.
62. Collins P. Embryology and development. Williams PL (ed). Gray's Anatomy. 38th edition. London: Churchill Livingstone, 1995:249
63. Tien RD, Felsberg GJ, Crain B. Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo MR images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. AJR Am J Roentgenol 1992; 159(6): 1309-1313.
64. Carpenter MB, Sutin J. Human Neuroanatomy. 8 th ed. Baltimore: Williams &Wilkins Press 1983: 237-42.
65. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principles of Neural Science 4 thed. New York: Mc Graww-Hill Comp. 2000; 1233
66. Trimble MR. Anticonvulsant drugs and cognitive functions: A review of the literature. Epilepsia 1987; 28: 37-45.
67. Noback CR, Demarest RJ. The Nervous System. 3th Edition. New York:Mc Graw-Hill Book Comp, 1986: 265-266.
68. Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and themechanizm of the alzheimer's disease. Trends Neurosci 1993; 16: 403-9.



69. Halgren E, Squires NK, Wilson CL, Rohrbaugh JW, Babb TL, Crandall PH. Endogenous potentials generated in the human hippocampal formation and amygdala by infrequent events. *Science* 1980; 210: 803-5.
70. Besag F, O'Neill C, Ross E. A comparison between children with epilepsy in an inner-city region and those within a special centre, using measures of educational difficulty, behavioral problems and quality of life. *Epilepsia* 1999; 40: 243-7.
71. Dearfield KL, Abernathy CO, Ottley MS, Brantner JH, Hayes PF. Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutat Res* 1988; 195: 45-77.
72. Ghanayem BI, McDaniel LP, Churswell MI, Twaddle NC, Snyder R, Fennel RT. Role of CYP2E1 in the epoxidation of acrylamide to glycidamide and formation of DNA and hemoglobin adducts. *Toxicol Sci* 2005; 88 (2): 311-18.
73. Gloc BJ, Wozniak E, Czechowska AK. Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes. *Chemico-Biological Interac* 2004; 149: 137-149.
74. Overview of acrylamide toxicity and metabolism. JIFSAN/NCFST Workshop on acrylamide in Food and Toxicology and Metabolic Consequences Working Group, 2002.
75. Lingnert H, Grivas S, Jagerstad M, Skog K, Törnqvist M, Aman P. Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandi Nutr* 2002; 46(4): 159-72.
76. Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Robert MC, Riediker S. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* 2002; 419: 449-50.
77. Biederman M, Grob K. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen für Lebensmittel Hygiene* 2003; 94: 406-22.
78. Gertz C, Klostermann S. Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Eur J Lipid Sci Technol* 2002; 104: 762-71.
79. Rosen J, Hellenas KE. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst* 2002; 127: 880-882
80. Becalski A, Lau BP, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods: occurrence, sources and modelling. *J Agric Food Chem* 2003; 51(3): 802-8.

81. JECFA-Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting, JECFA/64/SC, World Health Organization WHO. Rome Italy 2005, 7–17.
82. U.S. Food and Drug Administration. The Action Plans for Acrylamide in Food. 2002–05.
83. Ölmez H, Tuncay F, Özcan N, Demirel S. 2008. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *J Food Comp Anal*, 21: 564- 568.
84. Margaretha J, Kertsin A, Skog B. Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutat Res* 2005; 574: 156–72.
85. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Health Implications of Acrylamide in Food, Report of a Joint FAO/WHO consultation. Health Organization, Geneva 2002. Available at <http://www.who.int/fsf/acrylamide/summaryreportfinal.pdt>, 15.09.2015
86. EU. Information on Ways to Lower the levels of Acrylamide Formed in Food (note of the meeting of experts on industrial contaminants in food: acrylamide workshop) 2003: 20–21.
87. Yang HJ, Lee SH, Jin Y, Choi JH, Han DU, Chae C, Lee MH and Han HC. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reprod Toxicol* 2005; 19: 527- 34.
88. Friedman MA, Dulak LH, Stedham MA. Lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 1995; 27: 95–105.
89. Collins JJ, Swaen GM, Marsh GM, Utidjian HM, Caporossi JC, Lucas LJ. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J Occup Med* 1989; 31: 614–17.
90. Olesen PT, Olsen A, Frandsen H, Frederiksen K, Overvad K, Tjønneland A. Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health Study. *Int J Cancer* 2008; 122: 2094–100.
91. Allam A, El-Ghareeb AA, Abdul-Hamid M, Baikry A and Sabri MI. Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies. *Toxicol Industrial Health* 2011; 27(4): 291–06.

92. El-Sayyad HI, Abou-Egla MH, El-Sayyad FI, El-Ghawet HA, Gaur RL, Fernando A, Raj MH, Ouhtit A. Effects of fried potato chip supplementation on mouse pregnancy and fetal development. *Nutr* 2011; 27: 343–50.
93. Ogawa B, Wang L, Taniai TOE, Akane H, Suzuki K, Mitsumori K, Shibutani M. Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch Toxicol* 2012; 86: 779–790.
94. Evans HM. The Pioneer history of vitamin E. *Vitam Horm* 1976; 20: 379.
95. Aras K, Erşen G, Karahan S. *Tıbbi Biyokimya*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1976
96. Horwitt MK. Vitamin E: A reexamination. *Am J Clin Nutr* 1976; 29: 569.
97. Zintzen H. *Vitamin E/selenium in ruminants. News and reviews* Basel: La Roche: 1972.
98. Hawk PB. *Hawk's Physiological chemistry, Fourteenth Edition*; Mc Graw-Hill; 1965.
99. Korner FW, Voom J. *Vitamins*. Basel: La Roche, 1978.
100. Combs GF, Noguchi T, Scott ML. Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membranes. *Federation Proc* 1975, 34: 11.
101. Jialal I, Fuller CJ. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol* 1993; 16: 16-9.
102. Van-Der-Meulen JH, McArdle A, Jackson MJ, Faulkner JA. Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: The role of vitamin E. *J Appl Physiol* 1997; 83: 917-23.
103. Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1050-5.
104. Evelson P, Ordonez CP, Liesuy S, Boveris A. Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. *J Photochem Photobiol B* 1997; 38: 215-9.
105. Stratton SP, Liebler DC. Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: Effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochem* 1997; 36: 12911-20.
106. Won SJ, Kim DY, Gwag BJ. Cellular and molecular pathways of ischemic neuronal death. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35: 67–86.

107. Sung S, Yao Y, Uryu K. Early vitamin E supplementation in young but not aged mice reduces beta levels and amyloid deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 2004; 18: 323–25.
108. Behl C, Davis J, Cole GM, Schubert D. Vitamin E protects nerve cells from amyloid beta protein toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186: 944–50.
109. Hidiröglu N, Madere R, McDowell LR. Maternal transfer of vitamin E to fetal and Neonatal guinea pigs utilizing a stable isotopic technique. *Nutr Res* 2001; 21: 771-83.
110. Rota C, Rimbach G, Minihane AM, Stoecklin E, Barella L. Dietary vitamin E modulates differential gene expression in the rat hippocampus: potential implications for its neuroprotective properties. *Nutr Neurosci* 2005; 8: 21–9.
111. Gohil K, Schock BC, Chakraborty AA, Terasawa Y, Raber J, Farese RV, Packer L, Cross CE, Traber MG. Gene expression profile of oxidant stress and neurodegeneration in transgenicmicedeficient in alpha-tocopherol transfer protein. *Free Radi Biol Med* 2003; 35: 1343–54.
112. Betti M, Mineli A, Ambrogini P, Ciuffoli S, Viola V, Gali F, Canonico B, Lattanzi D, Colombo E, Sestili P, Cuppini R. Dietary supplementation with  $\alpha$  - tocopherol reduces neuroinflammation and neuronal degeneration in the rat brain after kainic acid-induced status epilepticus. *Free Radi Res* 2011; 45(10): 1136–42.
113. Galal MK, Khalaf AAA, Ogaly HA, Ibrahim MA. Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC Complemen Alternat Medi* 2014; 14: 458.
114. Kosta P. Effect of piracetam and vitamin E on phosphamidon-induced impairment of memory and oxidative stress in rats. *Drug Chem Toxicol* 2013, 36(1): 48–54.
115. <http://tr.mydearbody.com/vitaminler/e-vitamini.html>, Erişim Tarihi: 15.09.2015
116. [http://tr.wikipedia.org/wiki/E\\_vitamini](http://tr.wikipedia.org/wiki/E_vitamini), Erişim Tarihi: 15.09.2015
117. Ogawa B, Ohishi T, Wang L, Takahashi M, Taniai E, Hayashi H, Mitsumori K, Shibutani M. Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Arch Toxicol* 2011; 85: 987–94.

118. Alzoubi KH, Khabour OF, Rashid BA, Damaj IM, Salah HA. The neuroprotective effect of vitamin E on chronic sleep deprivation-induced memory impairment: The role of oxidative stress. *Behav Brain Res* 2012; 226: 205–10.
119. Elman GL. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1979; 95: 351–58.
120. Uchiyama M, Mihara M. Determination of MDA precursor in tissue by TBA test. *Anal Biochem* 1978; 36: 271-78.
121. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1103-11.
122. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37(4): 277-85.
123. Sharma VK. Morris water maze- A versatile cognitive tool. *J Biosci Tech*, 2009; 1(1): 15-19.
124. Yamada K, Mizuno M, Nabeshima T. Role for brain derived neurotrophic factor in learning and memory. *Life Sci* 2002; 70: 735–44.
125. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain derived neurotrophic factor across the blood–brain barrier. *Neuropharmacol* 1998; 37: 553–61.
126. Yan Q, Rosenfeld RD, Matheson CR, Hawkins N, Lopez OT, Bennett L, Welcher AA. Expression of brain derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*. 1997; 78: 431–48.
127. Klein AB, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, Knudsen GM, Aznar S. Blood BDNF concentrations reflect brain tissue BDNF levels across species. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011; 14: 347–53
128. Yeom CW, Park YJ, Choi SW, Bhang SY. Association of peripheral BDNF level with cognition, attention and behavior in preschool children. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health* 2016; 10: 10.
129. Hori H, Yoshimura R, Katsuki A, Atake K, Igata R, Konishi Y, and Nakamura J. Relationships between serum brain-derived neurotrophic factor, plasma catecholamine metabolites, cytokines, cognitive function and clinical symptoms in Japanese patients with chronic schizophrenia treated with atypical

- antipsychotic monotherapy, *The World Journal of Biological Psychiatry* 2017; 18(5): 401-408.
130. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci.* 2010; 3: 1.
  131. Yu H, Zhang Z, Shi Y, Bai F, Xie C, Qian Y, Yuan Y, Deng L. Association study of the decreased serum BDNF concentrations in amnesic mild cognitive impairment and the Val66Met polymorphism in Chinese Han. *J Clin Psychiatry* 2008; 69(7): 1104–11.
  132. Corominas Roso M, Ramos Quiroga JA, Ribases M, Sanchez Mora C, Palomar G, Valero S, Bosch R, Casas M. Decreased serum levels of brain derived neurotrophic factor in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013; 16: 1267–75
  133. Cirulli FBA, Chiarotti F, Alleva E. Intrahippocampal administration of BDNF in adult rats affects short term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plus Maze. *Hippocampus* 2004; 14: 802–7
  134. Pedersen M, Stedingk H, Botsivali M, Agramunt S, Alexander J, Brunborg G, Chatzi L, et al. Birth weight, head circumference, and prenatal exposure to Acrylamide from Maternal Diet: The European Prospective Mother–Child Study (NewGeneris). *Environ Health Perspect* 2012; 120:1739–1745.
  135. Marques TM, Cryan JF, Shanahan F, Fitzgerald GF, Ross RP, Dinan TG, et al. Gutmicrobiotamodulation and implications for host health: dietary strategies to influence the gut–brain axis. *Innovative Food Sci Emerg Technol* 2014; 22: 239–47.
  136. Krishna G, Muralidhara. Inulin supplementation during gestation mitigates acrylamide-induced maternal and fetal brain oxidative dysfunctions and neurotoxicity in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2015; 49: 49–58.
  137. Aydın B. Effects of argan oil on the mitochondrial function, antioxidant system and the activity of NADPH- generating enzymes in acrylamide treated rat brain. *Biomed Pharmacother* 2017; 87: 476–481.
  138. Shi J, Tan YL, Wang ZR, An HM, Li J, Wang YC, Lv MH, Yan SX, Wu JQ, Soares JC, Yang FD, Zhang XY. Ginkgo biloba and vitamin E ameliorate haloperidol-induced vacuous chewing movement and brain-derived neurotrophic factor expression in a rat tardive dyskinesia model. *Pharmacol Biochem Behav* 2016; 148: 53-8.

139. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Vitamin E protects against oxidative damage and learning disability after mild traumatic brain injury in rats. *Neurorehabil Neural Repair* 2010; 24(3): 290-8.
140. Heaton MB, Paiva M, Siler-Marsiglio K. Ethanol influences on Bax translocation, mitochondrial membrane potential, and reactive oxygen species generation are modulated by vitamin E and brain-derived neurotrophic factor. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35(6): 1122-33.
141. Ambrogini P, Ciuffoli S, Lattanzi D, Minelli A, Bucherelli C, Baldi E, Betti M, Cuppini R. Maternal dietary loads of  $\alpha$ -tocopherol differentially influence fear conditioning and spatial learning in adult offspring. *Physiol Behav* 2011; 104(5): 809-15.
142. Yu X, Chen L, Wang C, Yang X, Gao Y, Tian Y. The role of cord blood BDNF in infant cognitive impairment induced by low-level prenatal manganese exposure: LW birth cohort, China. *Chemosphere* 2016; 163: 446-451.
143. Krishna G, Divyashri G, Prapulla SG, Muralidhara. A combination supplement of fructo- and xylo-Oligosaccharides significantly abrogates oxidative impairments and neurotoxicity in maternal/fetal Milieu following gestational exposure to Acrylamide in rat. *Neurochem Res* 2015; 40: 1904–1918
144. Duarte-Salles T, von Stedingk H, Granum B, Gützkow KB, Rydberg P, Törnqvist M, Mendez MA, Brunborg G, Brantsæter AL, Meltzer HM, Alexander J, Haugen M. Dietary acrylamide intake during pregnancy and fetal growth—results from the Norwegian mother and child cohort study (MoBa). *Environ Health Perspect* 2013; 121(3): 374-9.
145. Annola K, Karttunen V, Keski-Rahkonen P, Myllynen P, Segerbäck D, Heinonen S, Vähäkangas K. Transplacental transfer of acrylamide and glycidamide are comparable to that of antipyrine in perfused human placenta. *Toxicol Lett* 2008; 182(1-3): 50-6.
146. Garey J, Paule MG. Effects of chronic oral acrylamide exposure on incremental repeated acquisition (learning) task performance in Fischer 344 rats. *Neurotoxicol Teratol* 2010; 32(2): 220-5.
147. Sahay AS, Sundrani DP, Joshi SR. Chapter Ten - Neurotrophins: Role in placental growth and development. In: Gerald L, editor. *Vitamins and Hormones*. Volume 104: Academic Press; 2017. p. 243-61.

148. Erdemli ME, Turkoz Y, Altinoz E, Elibol E, Dogan Z. Investigation of the effects of acrylamide applied during pregnancy on fetal brain development in rats and protective role of the vitamin E. *Hum Exp Toxicol*. 2016; 35(12): 1337-1344.
149. Mansour SZ, Moawed FSM, Elmarkaby SM. Protective effect of 5, 7-dihydroxyflavone on brain of rats exposed to acrylamide or  $\gamma$ -radiation. *J Photochem Photobiol B* 2017; 175: 149–155.
150. He Y, Tan D, Mi Y, Zhou Q, Ji S. Epigallocatechin-3-gallate attenuates cerebral cortex damage and promotes brain regeneration in acrylamide-treated rats. *Food Funct* 2017; 8(6): 2275-2282





## EKLER

### EK 1: Özgeçmiş ve Yayın Listesi

26.01.1988 tarihinde Malatya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Malatya'da tamamladı. 2013 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. 2013 yılında aynı üniversitenin Tıbbi Biyokimya A.D'da Tıpta Uzmanlık eğitimine başladı.

1) Erdemli ME, Altinoz E, Aksungur Z, Turkoz Y, Dogan Z, Gozukara Bag, H. Biochemical investigation of the toxic effects of acrylamide administration during pregnancy on the liver of mother and fetus and the protective role of vitamin E. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2017; 30(7): 844-848.

2) Gedik S, Erdemli ME, Gul M, Yigitcan B, Bag HG, Aksungur Z, Altinoz E. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017; 95: 764-770.

3) Suzen A, Tekin L, Erdemli ME, Erturk N, Aksungur Z, Aktas, S. Protective Effects of Hypericum perforatum and Quercetin in a Rat Model of Ischemia/Reperfusion Injury of Testes. *European Journal of Pediatric Surgery* 2018; 28(01): 096-100.

4) Seckin Y, Yigit A, Yesilada , Gulbay G, Cagin YF, Gozukara H, Aksungur Z. Association of eNOS gene polymorphisms G894T and T-786C with risk of hepatorenal syndrome. *Gastroenterol Res Pract.* 2016;2016:2579626. doi: 10.1155/2016/2579626. Epub 2016 Aug 10.5)

5) Erdemli ME, Altınöz E, Aksungur Z, Doğan Z, Bağ HG, Türköz, Y. Research on Possible Effects of Acrylamide and Vitamin E Administered to Pregnant Rats on Placenta Tissue. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 2017; 5(4): 349-352.

6) Erdemli ME, Gul M, Altinoz E, Zayman E, Aksungur Z, Bag HG. The protective role of crocin in tartrazine induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017; 96: 930-935.

7) Erdemli ME, Akgul H, Ege B, Aksungur Z, Bag HG, Selamoglu Z. The effects of grapeseed extract and low level laser therapy administration on the liver in experimentally fractured mandible", *J Turgut Ozal Med Cent* 2017; 24: 127-133,

- 8) Gurunluoglu K, Bayrakci E, Kocbiyik A, Gokce H, Taskapan C, Tasci A, Demircan M. The effects of total parenteral nutrition on telomerase expression and in rabbit. *Annals of Medical Research* 2018; 25(2): 193-8
- 9) Erdemli ME, Ekhteiari Salmas R, Durdagi S, Akgul H, Demirkol M, Aksungur Z, Selamoglu Z. Biochemical changes induced by grape seed extract and low level laser therapy administration during intraoral wound healing in rat liver: an experimental and in silico study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2018; 36(4): 993-1008.
- 10) Erdemli ME, Akgul H, Ege B, Aksungur Z, Bag HG, Selamoglu Z. The effects of grapeseed extract and low level laser therapy administration on the liver in experimentally fractured mandible. *Journal of Turgut Ozal Medical Center* 2017; 24(2): 127-133.
- 11) Erdemli ME, Gul M, Altinoz E, Aksungur Z, Gul S, Bag HG. Can crocin play a preventive role in Wistar rats with carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity?. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018; 21(4): 382-387.
- 12) Erturk N, Elbe H, Erdemli ME, Aktas S, Yigitturk G, Aksungur Z, Ozturk F. Protective effects of sildenafil and resveratrol on ovarian ischemiareperfusion injury in rats. *Biomedical Research* 2017; 28(20): 8973.



### EK 3: Etik kurul onay sayfası



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 23-02-2016  
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2016/A-24  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Sprague Dawley  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 70 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 200-250 gr ağırlığında genç erişkin

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. M. Arif Aladağ'ın yürütücüsü olduğu "Gebelik Süresince Uygulanan Akrilamidin, Fetal Beyin Gelişimine ve Postnatal Bilişsel Fonksiyonlara Etkisinin İncelenmesi ve E Vitamininin Koruyucu Rolünün Araştırılması" isimli 2016/A-24 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

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

 Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	 Prof. Dr: Nigar VARDI Üye	 Prof. Dr: Yılmaz ÇİĞDEMİR Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
Salih AVCI Sivil Üye		Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye