T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL AKRİLAMİD TOKSİKASYONU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ÇÖREK OTU'NUN HİPOKAMPUS ÜZERİNE KORUYUCU ETKİNLİĞİ

İlknur ÜNDAĞ

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (Vet) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

KONYA-2023

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL AKRİLAMİD TOKSİKASYONU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ÇÖREK OTU'NUN HİPOKAMPUS ÜZERİNE KORUYUCU ETKİNLİĞİ

İlknur ÜNDAĞ

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (Vet) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Bu araştırma Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı Koordinatörlüğü tarafından 2018-ÖYP-013 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2023

Onay sayfası

ÖNSÖZ

Bu çalışma ile akrilamidin hipokampus üzerinde olası toksik etkilerinin açığa çıkarılması, çörek otu yağının hipokampus üzerine olumlu veya olumsuz etkilerinin gösterilmesi ve akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının akrilamidin hipokampus üzerinde oluşturabileceği muhtemel olumsuz etkileri engelleyip engellemediği araştırılmıştır. Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 30.11.2020 tarih ve 2020-53 sayılı etik kurul onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilerin daha sonra yapılacak olan çalışmalara hem yöntem hem de bulgu açısından temel veri sağlaması ve ayrıca mevcut literatüre katkı sağlaması da hedeflenmiştir.

Lisansüstü eğitimim süresince akademik bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmalarımın yürütülmesi sırasında fikirleri ile bana yol gösteren değerli Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam olan Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ'e çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim süresince akademik bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Emrah SUR, Prof. Dr. Yasemin ÖZNURLU, Prof. Dr. Murat BOYDAK, Prof. Dr. Tuğba ÖZAYDIN'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Arş. Gör. Tansu KUŞAT'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında bana destek ve yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nurcan DÖNMEZ ve Dr. Öğr. Üye. Durmuş HATİPOĞLU'na teşekkür ederim

Bütün eğitim hayatım süresince beni hep destekleyen canım annem Kudret KABAKULAK ve kardeşim Hüseyin TEKDEMİR'e teşekkür ederim. Lisansüstü eğitim hayatım boyunca desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Ersin ÜNDAĞ'a teşekkür ederim. Ayrıca varlıkları ile bana güç veren oğullarım Aras Güney ÜNDAĞ ve Çınar ÜNDAĞ'a teşekkür ederim

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde ekonomik katkı sağlayan Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İlknur ÜNDAĞ
Mayıs/2023

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR v

ÖZET vi

1. GİRİŞ 1

1.1. Hipokampus 1

1.1.1. Embriyonik Gelişim 1

1.1.2. Anatomik Yapı 3

1.1.3. Histolojik yapı 4

1.1.4. Hipokampal Yollar 5

1.1.5. Fonksiyonları 6

1.1.6. Hipokampusun Hasarlanması 8

1.2. Akrilamid 9

1.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri 10

1.2.2. Akrilamid maruziyeti 10

1.2.3. Gıdalarda akrilamid oluşumu 13

1.2.4. Gıdalarda akrilamid oluşumunu etkileyen sebepler 14

1.2.5. Akrilamid oluşumunu azaltma yöntemleri 15

1.2.6. Akrilamidin toksikokinetiği 18

1.2.7. Akrilamidin sağlık üzerine etkileri 19

1.3. Çörek Otu 25

1.3.1. Çörek otunun kimyasal bileşenleri 26

1.3.2. Çörek otunun sağlık üzerine etkisi 26

1.3.3. Çörek otunun antioksidan etkisi 27

2. GEREÇ VE YÖNTEM 30

2.1. Işık Mikroskobik Doku Takibi 31

2.2. AgNOR Boyaması 34

2.3. İstatistiksel Analiz 35

3. BULGULAR 36

3.1. Makroskopik Bulgular 37

3.2. Mikroskopik Bulgular 37

4. TARTIŞMA 60

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 68

6. KAYNAKLAR 69

7. EKLER 78

EK-A: Etik Kurul Kararı 78

EK-B: Turnitin Raporu 79

8. ÖZGEÇMİŞ ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Aβ	**:** β-amiloid
°C	**:** Santigrat derece
CA1	**:** Kornu ammonis
Dg	**:** Dentat girus
gr	**:** Gram
HM	**:** Henry Gustav Molaison
IARC	**:** Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu
kg	**:** Kilogram
LOEL	**:** En düşük gözlenen yan etki seviyesi
µg	**:** Mikrogram
µl	**:** Mikrolitre
µm	**:** Mikrometre
NOEL	**:** Gözlenmeyen yan etki seviyesi
SNFA	**:** İsveç Ulusal Gıda Kurumu
TÜBİTAK-MAM	**:** Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu Marmara Araştırma Merkezi
U.S.	**:** Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
WHO	**:** Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Deneysel Akrilamid Toksikasyonu Oluşturulan Sıçanlarda Çörek Otu'nun Hipokampus Üzerine Koruyucu Etkinliği

İlknur ÜNDAĞ

Histoloji ve Embriyoloji (Vet) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ/KONYA-2023

Akrilamid genotoksik, kanserojenik ve nörotoksik etkileri bulunan kimyasal bir maddedir. Akrilamid reaktif oksijen türlerinin artışına neden olarak oksidan-antioksidan sistemini bozmakta ve oksidatif strese neden olmaktadır. Çörek otu anti-oksidatif, anti-apoptotik, anti-enflamatuar, nöroprotektif, hepatoprotektif, anti-astmatik, gastroprotektif ve anti-kanser dâhil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip doğal bir bitki tohumudur. Bu çalışmada akrilamidin hipokampus üzerinde olası toksik etkilerinin açığa çıkarılması, çörek otu yağının hipokampus üzerine olumlu veya olumsuz etkilerinin gösterilmesi ve akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının akrilamidin hipokampus üzerinde oluşturabileceği muhtemel olumsuz etkileri engelleyip engellemediğinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

Bu amaçla toplamda 32 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, akrilamid, çörek otu yağı ve akrilamid+çörek otu yağı olmak üzere dört gruba ayrıldı. 15 gün boyunca her bir gruptaki sıçanlara gavaj yöntemi ile uygulamalar yapıldı. Sıçanların, deney başlangıcında 5. günde 10. günde ve deneyin son gününde ağırlık ölçümleri yapıldı. Deney sonunda servikal dislokasyon ile sakrifiye edilen sıçanların beyinleri çıkarılıp ağırlıkları ölçüldü. Beyinler %10'luk formol solüsyonunda fikse edildi. Alınan doku örnekleri rutin doku takip işlemi sonrasında parafinde bloklandı. Elde edilen bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Parafin kesitlere Kluver Barrera, Cresyl violet, May-Grünwald Giemsa ve AgNOR boyamaları ile boyandı. Boyama işlemleri sonrasında hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve dentat girus alanlarında hücre sayımları gerçekleştirildi ve AgNOR parametreleri değerlendirildi.

Akrilamid uygulanan grupta sıçanlarda halsizlik, yürüme anormalliklerinin yanı sıra canlı ağırlığında ve beyin ağırlığında azalma görüldü. Çörek otu yağının yürüme anormalliklerini düzelttiği fakat canlı ağırlığı ve beyin ağırlığındaki düşüşler üzerinde etkili olmadığı gözlendi. Akrilamidin hipokampusta nöron sayılarında azalmaya neden olduğu belirlendi. Çörek otu yağının ise bu durumu iyileştirdiği görüldü. Nisbi AgNOR alanının akrilamid grubunda CA1 ve dentat girus bölgelerinde istatistiksel olarak azaldığı akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağı grubunda ise akrilamid grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Akrilamid; Çörek Otu; Hipokampus

SUMMARY

REPUCLIC OF TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Protective Efficacy of Nigella Sativa on Hippocampus in Rats with Experimental Acrylamide Toxicity

İlknur ÜNDAĞ

Department of Histology and Embryology (Vet)

PhD THESIS/KONYA-2023

Acrylamide is a chemical substance with genotoxic, carcinogenic and neurotoxic effects. Acrylamide causes an increase in reactive oxygen species, disrupts the oxidant-antioxidant system and causes oxidative stress. Nigella sativa is a natural plant seed with various pharmacological activities, including anti-oxidative, anti-apoptotic, anti-inflammatory, neuroprotective, hepatoprotective, anti-asthmatic, gastroprotective and anti-cancer. In this study, it is aimed to reveal the possible toxic effects of acrylamide on the hippocampus, to show the positive or negative effects of nigella sativa oil on the hippocampus, and to reveal whether nigella sativa oil given together with acrylamide prevents the possible negative effects of acrylamide on the hippocampus.

For this purpose, a total of 32 Wistar Albino rats were used. The rats were divided into four groups as control, acrylamide, nigella sativa oil and acrylamide + nigella sativa oil. For 15 days, rats in each group were treated by gavage method. The weights of the rats were measured on the 5th day at the beginning of the experiment, on the 10th day and on the last day of the experiment. At the end of the experiment, the rats were sacrificed by cervical dislocation, their brains were removed and their weights were measured. The brains were fixed in %10 formaldehyde. After the routine histological process, tissue samples were embedded in paraffin. section of 6 µm thickness were taken from all paraffin blocks. Paraffin sections were stained with Kluver Barrera, Cresyl violet, May-Grünwald Giemsa, and AgNOR. After staining, cell counts were performed in the CA1, CA2, CA3 and dentate gyrus areas of the hippocampus and AgNOR parameters were evaluated.

In the acrylamide-administered group, rats showed a decrease in body weight and brain weight, as well as fatigue and gait abnormalities. It was observed that nigella sativa oil regulated gait abnormalities but did not affect body weight and brain weight. It was determined that acrylamide caused a decrease in the number of neurons in the hippocampus. Nigella sativa oil was found to improve this condition. It was determined that the relative AgNOR area decreased statistically in the CA1 and dentate gyrus regions in the acrylamide group, and increased in the nigella sativa oil group given with acrylamide compared to the acrylamide group.

Key Words: Acrylamide; Nigella Sativa; Hippocampus

1. GİRİŞ

Sinir sistemi periferal uyarıları alan, aldığı uyarıları değerlendiren, cevap oluşturabilen veya depolayabilen kompleks bir sistemdir. Sinir sistemi anatomik olarak merkezi sinir sistemi ve periferal sinir sistemi olarak ikiye ayrılır. Periferal sinir sistemini gangliyonlar, periferal sinirler ve periferal sinir sonlanmaları oluşturur. Merkezi sinir sistemini ise beyin, beyincik, medulla sipinalis ve beyin kökü oluşturur. Hipokampus, merkezi sinir sisteminin bir parçası olan beyinde ventrikulus lateralisin tabanında, thalamusun üzerinde yer alan C şeklindeki bir yapıdır. Temporal lobda bulunan hipokampus filogenetik olarak beynin en eski bölümlerinden biridir ve limbik sistemin bir parçasını oluşturur (Cherubini ve Miles 2015). Limbik sistem çevreden alınan uyarılar doğrultusunda endokrin ve otonom sinir sistemi üzerindeki etkisi ile iç organları ve içgüdülerimiz ile duygusal davranışlarımızı yöneten beynin en eski kısmıdır. Hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli rolü bulunmaktadır (Dere 2000, Songur ve ark 2001).

1.1. Hipokampus

Hipokampus sinir sisteminin en çok çalışılan bölgeleri arasında yer almaktadır. Bunun iki sebebi bulunmaktadır; ilki hipokampusun denizatına benzeyen eşsiz yapısıyla hem anatomik seviyede hem de histolojik seviyede kolaylıkla ayırt edilebilir olması, ikincisi ise öğrenme ve hafızada temel rol oynamasıdır. Hipokampus adı şeklinin denizatına benzemesi sebebi ile (hippo: at, kampos: deniz canavarı) denizatı anlamında hipokampus olarak anılmıştır. Denizatına benzeyen hipokampus aynı zamanda koçboynuzunu da anımsatmaktadır. Ayrıca Mısır tanrısı olan Ammonisin koçboynuzuna benzer boynuzları bulunmaktaydı ve hipokampus şeklinin Ammonisin koçboynuzlarına benzetilmesinden dolayı "kornu ammonis" olarak da isimlendirilmektedir (Shepherd 2004).

1.1.1. Embriyonik Gelişim

Embriyonik gelişimin 3. haftasında epiblast üzerinde primitif çizgi meydana gelir (gastrulasyon başlangıcı). Gelişimin ilerlemesi ile birlikte primitif çizginin kenarlarının kalınlaşmasıyla sulcus primitivus şekillenir. Sulcus primitivus kaudo-kranial olarak uzarken embriyonik diskin orta kısımlarında bir bölgede bir çukurluk

ile sonlanır. Bu çukurluk fossa primitivus olarak adlandırılır. Fossa primitivusun ön kısmında ektodermal hücrelerin çoğalması ile nodus primituvus oluşur. Nodus primituvusun önünde de kraniale doğru yeniden bir oluk, sulcus nöralis şekillenir ve bu oluk sinir sisteminin temelini oluşturur. Sulcus nöralisin kapanması ile birlikte iki ucu açık boru biçiminde kanalis nöralis izlenir. Kanalis nöralisin kranial kısmındaki açıklığa nöroporus kranialis denir. Bu kısım kısa sürede kapanarak bir şişkinlik oluşur ve bu şişkinlik "encephalon" olarak isimlendirilir. Encephalon zaman içinde prosencephalon, mesensephalon ve rhombencephalon kısımlarını şekillendirir. Prosencephalon gelişimin ilerlemesiyle telensephalon ve diencephalon kısımlarını oluşturur (Hassa ve Aştı 2003, McGeady ve ark 2006, Sadler 2019).

Prosencephalonun lateral duvarının bilateral olarak evaginasyonları ile serebral hemisferler gelişimin 5. haftasında ortaya çıkar. Serebral hemisfer duvarının diensephalon çatısına bağlı olduğu bölgede nöroblast gelişmez ve buna bağlı olarak da çok ince kalır. Bu bölge hemisfer duvarı vasküler mezenşim ile kaplı tek bir ependimal hücre tabakasından oluşur ve birlikte lateral ventriküllerde koroid pleksusları oluştururlar. Her bir serebral hemisferde koroid pleksuslar oluşur, ancak hemisferlerin çeşitli bölümlerinin orantısız büyümesinin bir sonucu olarak, her pleksus koroid fissürü boyunca lateral ventriküle doğru çıkıntı yapar. Koroidal fissürün hemen üzerinde, hemisfer duvarının kalınlaşması sonucu hipokampus oluşur (İzci ve Erbaş 2015, Sadler 2019).

Telensefalondan şekillenmeye başlayan hipokampus insanlarda gelişimin 13-14. haftasında temporal lobun medial yüzeyi boyunca henüz katlanmamış olarak izlenir. 15. ve 16. haftalara gelindiğinde ise dentat girus ve kornu ammonisin katlanmaya başladığı görülür fakat CA1, CA2 ve CA3 alanları doğrusal olup dentat girus U biçiminde yapısıyla dikkat çeker. Gelişimin 18-20. haftalarına gelindiğinde hipokampus şeklinin ortaya çıkmaya başladığı dikkati çeker. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada embriyonik gelişimin 17. gününde hipokampusun talamus üzerinde korteksin dil benzeri uzantısı olduğunu belirtmişlerdir (Bayer ve Altman 1974, Kier ve ark 1997).

1.1.2. Anatomik Yapı

Hipokampus ventrikulus lateralis'in tabanında talamus'un üstünde yer alan C şeklinde yapısı ile dikkat çeken beynin gri cevher bölümüdür. Limbik sistemin bir parçası olan hipokampus kornu ammonis ve dentat girus olarak iki bölümden oluşur. Bu bölümler birbirinden hipokampal sulkus ile ayrılır ve birbirine doğru kıvrılır. Sulkusun altında subikulum bulunur. Nöroanatomistler hipokampusun yanında hipokampal oluşumdan bahsederler ki hipokampal oluşum kornu ammonis, dentat girus, subikulum ve entorinal korteksten oluşur. Hipokampusun ventrikulus lateralise baktığı kısım konveks iken hemisferin alt bölgesine baktığı kısım ise konkav yapıdadır. Dar ve düz olan ön bölge pes hipokampi veya kornu ammonis olarak isimlendirilir. Pes hipokampi bölgesinde iki-üç adet yüzeyel kabartı yer alır ve bu kabartılara digitationes hipokampi denir. Ventrikulus lateralise bakan kısım ak madde ile sarılıdır ve bu bölgeye alveus hipokampi adı verilir. İç bükey kısımda önden arkaya doğru uzanan beyaz ince şerit şeklinde fimbriya hipokampi bulunur. Fimbriya hipokampinin ön ucu unkustan başlayıp girus hipokampus boyunca uzanır ve arka ucu alveusla beraber krus forniks'i oluşturur. Fimbriya hipokampi ve girus dentatus arasında sulkus fimbriya dentatus yer alır. Fimbriya hipokampi ve kornu ammonis arasında ise sulkus fimbriya ammonis bulunur. Girus dentatus ve kornu ammonis arasında da sulkus dentat ammonis vardır (Dursun 2000, Songur ve ark 2001, Andersen ve ark 2006, Anand ve Dhikav 2012, İzci ve Erbaş 2015).

Literatürde kornu ammonis bölgesinin anatomik ve fonksiyonel olarak farklı sınıflandırmaları söz konusudur. Sıçanlarda kornu ammonis CA1, CA2 ve CA3 olarak isimlendirilen üç ayrı bölgeden oluşur. İnsanlarda ise Lorente de Nó'nun terminolojisine göre kornu ammonis bölgesi CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak dört bölümden oluşmaktadır. CA1 bölgesi subikuluma CA4 bölgesi ise dentat girusa yakın olan kısımdır (Lorente de Nó 1934). Insausti ve Amaral (2004) ise CA4 bölgesinin dentat hilus bölgesi olduğunu bildirir ve kornu ammonisin CA1, CA2 ve CA3 olarak üç bölgeden oluştuğunu söyler (Insausti ve Amaral 2004, Schultz ve Engelhardt 2014). CA1 bölgesinde bulunan piramidal hücreler üçgen şeklinde küçük ve fazla sayıda sıkı paketlenmiş şekilde gözlenirken CA2 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar ise ovoid şeklindedir. CA3 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar CA2 bölgesinde bulunan nöronlara benzer yapıda fakat daha az sayıdadır. CA1

subikulama yakın olan kısım, CA3 hilusa yakın olan hipokampus eğrisi üzerinde yer alan kısımken CA2 bölgesi ise CA1 ve CA3 bölgelerinin arasında kalan geçiş bölgesidir. Bu bölgeler arasında keskin sınırlar bulunmamaktadır. Dentat girus bölgesi de fasya dentat ve dentat hilus olarak iki kısımdan oluşmaktadır (Knowles 1992, Insausti ve Amaral 2004, Schultz ve Engelhardt 2014).

1.1.3. Histolojik yapı

Ventrikulus lateralisten itibaren hipokampus alveus, stratum oriens, stratum piramidale, stratum lusidum, stratum radiatum, stratum lakunozum ve stratum molekülare olarak 7 katmandan oluşur.

1. Stratum alveus: Hipokampusun en dıştaki katmanıdır. Ventrikulusa komşu olan bu katman subikulum ve stratum piramidalede yer alan nöronların akson uzantılarının bulunduğu bölgedir.

2. Stratum oriens: Stratum piramidale katmanında bulunan nöronların bazal dendritlerinin ve internöronların bulunduğu tabakadır. Bu bölgede yer alan nöronların birçoğunun akson uzantıları alveus katmanında bulunan liflere katılırken geri kalan nöronların akson uzantıları ise daha derinde bulunan stratum molekülare katmanına uzanır.

3. Stratum piramidale: Hipokampusun C şeklini almasını sağlayan bu tabakada büyük piramidal hücreler ve golgi tip II hücreleri yer alır. Piramidal nöronların hücre gövdeleri stratum piramidale tabakasını oluştururken bu hücrelerden çıkan aksonlar stratum oriens katmanını geçerek alveus katmanına ulaşır. Nöron dendritleri ise komşu olan stratum lusidum tabakasına uzanır. Stratum piramidale tabakasında piramidal hücreler ile dentat girus tabakasında bulunan granüler hücreler arasında iletişimin kurulmasında rol oynayan yosunsu liflerin (mossy lifleri) sinapsları gözlenmektedir.

4. Strarum lusidum: Hipokampusun sadece CA3 bölgesinde gözlenen bu tabaka oldukça incedir ve yosunsu lifler ile motor tip piramidal hücreleri içerir. CA1 ve CA2 bölgesinde gözlenmez.

5. Stratum radiatum: Septal ve komisural liflerin yer aldığı bu tabaka ayrıca hipokampusun CA3 bölgesinden CA1 bölgesine uzanan projeksiyon lifleri olan Schaffer kollateral liflerini de bulundurmaktadır.

6. Stratum lakunozum: Schaffer kollateral lifleri ve perforan lifleri içeren oldukça ince bir tabaka olarak gözlenmektedir. Perforan lifler stratum süperfisiyalisten entorinal kortekse doğru uzanmaktadır.

7. Stratum molekülare: Bu tabakada hücre sayısı az olup perforan lifler ve piramidal hücre dendritleri bulunur. Stratum molekülare tabakası bazı kaynaklarda stratum lakunozum ve stratum radiatum ile birlikte tek bir tabaka olarak anılırken bazı kaynaklarda da sadece stratum lakunozum ile birlikte stratum lakunozum-molekülare olarak adlandırılmaktadır (Songur ve ark 2001, İzci ve Erbaş 2015).

Dentat girusun stratum molekülare, stratum granulozum ve stratum polimorfikum olarak üç katmanı vardır. Stratum molekülare sıçanlarda yaklaşık 250 μm kalınlığında olan ve granüler hücrelerin dendritleri tarafından işgal edilen nispeten hücresiz bir katmandır. Moleküler tabakanın da ayrıca entorinal korteksten kaynaklanan perforan yolak lifleri bulunur. Moleküler katmanda az sayıda ara nöron da vardır ve çeşitli ekstrinsik girdilerden gelen lifler burada son bulur. Dentat girusun ana tabakası stratum granulozum, büyük ölçüde yoğun bir şekilde paketlenmiş granül hücrelerden oluşur. Granül hücre tabakasının kalınlığı yaklaşık 4-8 nöron veya ~60 μm arasında değişir. Granül hücre tabakası, dentat girusun üçüncü tabakasını oluşturan polimorfik hücre tabakası olan hücresel bir bölgeyi çevreler. Polimorfik katmanda bir dizi hücre tipi bulunur, ancak en belirgin olanı yosunsu hücredir (Amaral ve ark 2007).

1.1.4. Hipokampal Yollar

Hipokampus çeşitli aferent ve eferent yollar içermektedir. Hipokampusta yer alan aferent yollar fizyolojik olarak üçe ayrılır. Bunlar; monoaminerjik, kolinerjik ve GABAerjik aferentlerdir. Aferent yollar entorinal korteksten gelir ve tüm duyuları içerir. Duyuların hipokampusa gelmesi perforan yollar, yosunsu lifler, Schaffer kollateral lifler ve alveolar lifler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Perforan yollar entorinal korteksten çıkarak subikuluma oradan dentat girusa uzanır. Bu uzantılar

CA4 bölgesi dışındaki bütün hipokampus alanına yayılır. Yosunsu lifler dentat girus bölgesinden çıkarak CA3 bölgesine doğru uzanır. Schaffer kollateralleri ise CA3 ve CA2 bölgesinde bulunan piramidal hücrelerin CA1 bölgesine doğru giden uzantılarıdır. Alveolar liflerde subkortikal bölgeden çıkarak alveus üzerinden CA1 bölgesine ve subikulumun iç tabakasına yayılır. Entorinal korteksten gelen uyarılar dışında hipokampusa parahipokampal girus korteksinden de uyarılar gelir. Bu uyarılar forniks yolu aracılığıyla corpus mamillare, area septalis ve bazı hipotalamik nukleuslara iletilir. Ayrıca hipokampus forniks yolu ile anterior talamik nükleus, area hypothalamica posterior, corpus mamillare, area septalis, substantia innominata, ventral tegmental area, Raphe nükleusu ve parabrakial nükleustan da lifler alır. Forniks, hipokampusun en büyük eferent yoludur. Hipokampustan çıkan bu miyelinli lifler alveus üzerinden fimbria hipokampiye uzanır (Songur ve ark 2001, İzci ve Erbaş 2015).

Hipokamusun dış bağlantıları Papez devresi ile sağlamaktadır. 1937 yılında James Papez tarafından sunulan ve hala geçerliliğini sürdüren teoriye göre singulat girustan çıkan duyusal uyarılar hipokampus üzerinden hipotalamusa geçmesiyle serebral korteks emosyonel duyuları kontrol edilebilmektedir. Bu devreye göre hipokampustaki bilgi forniks aracılığıyla korpus mamillare'ye buradan traktus mamillothalamicus yoluyla anterior talamik nükleusa, talamokortikal lifler ile singulat girusa buradan da cingulum aracılıyla tekrar hipokampusa döner. Bu şekilde tüm bir Papez devresinin tamamlanmasıyla kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçiş sağlanır (Papez 1937, İzci ve Erbaş 2015).

1.1.5. Fonksiyonları

Hipokampus uzunca dönem sadece koku ile ilgili bir merkez olarak kabul edilirken, koku duyusu gelişmeyen kişilerde hipokampus gelişiminde sıkıntı olmaması ve bulbus olfaktorius ile hipokampusun benzer zamanlarda gelişmediğinin ortaya konulmasıyla bu bölgenin sadece koku ilgili bir merkez olmadığı kabul edildi. Daha sonralarda hipokampusun kokunun yanı sıra görme, dokunma vb. duyusal uyaranlarla da ilgili bir bölge olduğu ve bu duyuların hipokampusu aktive ettiği ve hatta bu aktivasyon sonucunda hipokampusun çeşitli sinyaller göndererek limbik sistemi etkilediği ve davranışların şekillenmesinde rol aldığı kabul edildi (Songur ve ark 2001, İzci ve Erbaş 2015). Hipokampus ayrıca hipotalamusu etkileyerek

kortizolün belli bir seviyede tutulmasında da rol alır. Adrenden salınan kortizol hipokampusta reseptörlere bağlanır ve fazla salınması durumunda hipokampus hipotalamusu etkiler ve kortizolün belli bir seviyede tutulmasını sağlar. Stres reaksiyonunun durdurulmasında görev alan hipokampus uzayan stres durumunda ise zarar görebilir, hücre ölümü meydana gelebilir. İç organların aktivitelerinin düzenlenmesinde de görev alan hipokampusun başka birçok fonksiyonu da bulunmaktadır. Fakat hipokampusun esas fonksiyonu, en çok bilinen belki de en çok çalışılan fonksiyonu hafızadır (İzci ve Erbaş 2015).

Hipokamsunun hafızadaki rolü ile ilgili ilk veriler 1953 yılında elde edilmiştir. Epilepsi hastası olan Henry Gustav Molaison (HM) tedavi amacıyla beyin cerrahı Dr. William Beecher Scoville tarafından çift taraflı medial temporal lobotomi operasyonu ile hipokampus, parahipokampal korteks, entorhinal korteks, piriform korteks ve amigdala bölümleri çıkarılmıştır. Ameliyat sonrasında Dr. Scoville epilepsinin kontrol altına alındığını fakat aynı zamanda hastanın kalıcı hafıza oluşturamadığını, olayları olduğu hızda unuttuğunu gözlemiştir. Daha sonra hasta üzerinde Brenda Milner tarafında da yapılan incelemeler sonrasında Scoville ve Milner 1957 yılında hipokampus ve hafıza kaybı üzerine ilk yayınlarını yapmışlardır. HM 2008 yılında solunum yetmezliği sebebi ile ölene dek bir denek olarak birçok çalışmanın konusu olmuş ve yapılan çalışmalar ile nöroloji alanına çok önemli katkılar sağlanmıştır (Scoville 1953, Scoville ve Milner 1957, Shepherd 2004, Squire 2009).

Hipokampusun kısa süreli hafızanın oluşumunda görevli olduğu artık kabul edilmiştir ve epizodik hafızada özellikle CA3 bölgesinin rol aldığı gösterilmiştir. Kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüşmesinin ve bilginin kalıcı olarak depolanmasının hipokampusta gerçekleşmediği, bilgilerin aktarıldığı yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Hipokampusun zarar gördüğü durumlarda kişilerin yeni bilgiyi kaydedemediği kısa süreli hafızanın etkilendiği fakat daha eski bilgilerin hatırlandıkları yani uzun süreli hafızanın etkilenmediği bildirilmiştir. Hafızadaki bu olgu konum belirleme için de geçerlidir. Hipokampusta bulunan ve 1970'li yıllarda O'Keefe tarafından keşfedilen ve konum hücreleri olarak adlandırılan hücreler özellikle CA3 ve CA1 bölgelerinde yer alır. Hipokampustaki konum hücreleri bölgenin haritalandırılması ve yönün bulunmasında görev alır. Daha sonra bulunan

grid hücreleri navigasyon tarzında yön bulmayı, bulunan yerin neresi olduğu ile ilgili roller üstlendiği gösterilmiştir. Çalışmaların ilerlemesiyle bir başka hücre olan sınır hücreleri keşfedilmiş ve bu hücrelerin de bir sınıra (duvar, uçurum vb.) gelindiğinde aktive olduğu gösterilmiştir. Hafızada depolanan bilgilerin zamanlamasının öğrenilmesinde 2008 yılında keşfedilen zaman hücrelerinin görev aldığı gösterilmiştir (O'Keefe ve Conway 1978, Moser ve ark 2008, Rowland ve Moser 2013, Moser ve Moser 2014, İzci ve Erbaş 2015).

1.1.6. Hipokampusun Hasarlanması

Hipokampusun hasarlanması sonucu ortaya çıkacak durumlar ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. 1939 yılında rhesus maymunu üstünde yapılan bir çalışmada temporal lob bileteral olarak çıkarılmış bunun sonucunda hafıza kaybının şekillendiği gösterilmiştir (Klüver ve Bucy 1939). Benzer şekilde bir çalışma 1957 yılında insanlar üzerinde yapılmış, yine aynı şekilde hafıza kaybı gözlenmiştir (Scoville ve Milner 1957). Hafıza kaybının yanı sıra iki çalışmada da korku ve kızgınlığın yok olması, uysallık durumunun açığa çıkması; yiyecekleri uzun süre kontrol etme, yiyecek dışı cisimleri yemeye çalışma, gösterilen cisimlere anlam verememe, ayrım yapmadan (canlı, cansız, tür farkı) ortaya çıkan cinsel aktivite, hipermetamorfoz şekillenmesi, yeni bilgi depolayamama ve beceri kazanamama gibi bir tablo ile karşılaşılmıştır. Bu durum Klüver-Bucy sendromu olarak isimlendirilmiştir (Pilleri 1966, Park ve ark 2012, İzci ve Erbaş 2015). Başlangıçta yaşlanma ile birlikte hipokampusta nöron sayısında azalma olduğu düşünülürken daha sonraki çalışmalarda bunun yaş ile ilişkisinin olmadığı ortaya konulmuştur. Nörodejenaratif bir hastalık olan Alzheimerda hipokampusta nöron yoğunluğunda bir azalma meydana geldiği ve bu süreçte kısa süreli hafıza kayıpları görüldüğü keşfedilmiştir (Padurariu ve ark 2012, İzci ve Erbaş 2015). Alzheimer hastalığı beynin çeşitli bölgelerinde özellikle hipokampusta nörofibriler yumakların hücre içi birikimi ve ek olarak da senil plakların hücre dışı birikimi olarak tanımlanmaktadır. Alzheimer hastalığında beyinde iki anormal protein olan beta amiloid ve tau proteinlerinin birikmesi nedeniyle nöronal dejenerasyon meydana gelir. Hipokampal dejenerasyon diğer nörodejenaratif hastalıklarda görülse de Alzheimer hastalığında bozulma derecesi belirgin şekilde daha fazladır. Alzheimer hastalığındaki nöropatolojik anormallik, hipokampusta nöronal kayıp ve gliyozu içerir. Özellikle bu hastalıkta

stratum radiatum, stratum lacunosum, stratum moleküllare ve subikulum, stratum piramidale gibi tabakaların hacimleri bilateral olarak azalır. Alzheimer hastalığının etiyolojisi net olarak anlaşılmasa da, Alzheimer hastalığının patofizyolojisi nöroinflamasyon, β-amiloid (Aβ) peptitlerinin birikimi, fosforile tau ve oksidatif stresi gösterir. Alzheimer hastalığında nörofibriler yumaklar önce hipokampusun CA1 bölgesinde, ardından kademeli olarak subikulum, CA2, CA3 ve dentat girusta birikir. Hastalığın ileri evrelerinde dentat girus ile hipokampusun alt bölgeleri arasında kopukluk olacak ve bilişsel bozukluklara yol açacaktır. (Ball ve ark 1985, Reddy ve ark 2012, Boutet ve ark 2014, Reddy ve ark 2017, Rao ve ark 2022). Oksidatif stres, Alzheimer hastalığının etiyolojisi üzerinde önemli etkisi olan yaygın bir durumdur. Oksidatif stres, Alzheimer hastalığında nükleer ve mitokondriyal DNA'da oksidatif modifikasyonlara neden olur. Artan reaktif oksijen türlerinin oluşumu, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, bozulmuş bir antioksidan aktivite veya bu elementlerin bir kombinasyonu en yaygın nedenlerdir. Artan reaktif oksijen türleri bilişsel işlev bozukluğuna neden olan sinaptik aktivitenin ve nörotransmisyonun moleküler mekanizmasını etkileyebilir. Oksidatif stres ayrıca Aβ plak birikimiyle de ilişkilidir, Aβ plak ise serbest radikal oluşumuna ve oksidatif strese yol açar. Oksidatif strese karşı vücut antioksidanlar aracılığıyla kendi savunma mekanizmasını kullanır (Ünaltuna 2021). Çevresel toksinler oksidatif stres nedeni olabilirler. Çeveresel bir toksin olan akrilamid deoksidatif stres kaynaklarındandır.

1.2. Akrilamid

Akrilamid ilk kez 1893 yılında Christian Moureau tarafından ortaya konulmuş kimyasal bir bileşiktir (Karagöz 2009). İsveç'in güneybatısında yer alan Hallandsas'da 1997 yılında yapımına başlanan demiryolu tüneli inşaatı sırasında tünelin duvarlarını sıkılaştırmak için Rhoca Gil isimli bir kimyasal kullanılmıştır. Kullanılan bu kimyasalın içeriğinde yer alan akrilamid inşaat sırasında kazara sulara karışmıştır. Bölgede balık ölümlerinde artış olması, dereden su içen ineklerin ayakta duramaması ve tünelde çalışan işçilerin el ve ayaklarında uyuşmaların oluşması araştırmacıları bu kimyasalın zararlı etkilerini incelemeye yöneltmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda mesleki olarak veya içme suyu ile akrilamide maruz kalmayan işçilerin de kanlarında yüksek seviyede akrilamid tespit edilmiş ve dolayısıyla araştırmaların kişilerin beslenme düzenlerinin incelenmesi üzerine kaymasına neden

olmuştur (Akgün ve Arici 2018). Yapılan incelemeler sonucunda kişilerin gıdalar yoluyla akrilamide maruz kaldıkları, ısıl işlem ile bu kimyasal maddenin gıdalarda oluştuğu gözlenmiştir. Nisan 2002'de, İsveç Ulusal Gıda Kurumu (SNFA) ve Stockholm Üniversitesi, ısıl işlem görmüş karbonhidrat zengini gıdalarda kayda değer miktarda akrilamid belirlendiğine dair bulguları birlikte açıklamışlardır (Claus ve ark 2008). 1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunca (IARC) akrilamid "insanlar için olası kanserojen" olarak sınıflandırılmıştır (IARC 1994, Claus ve ark 2008).

1.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Akrilamid C_3H_5NO kimyasal formülüne sahip bir bileşiktir. Monomerik ve polimerik olarak iki formu bulunan akrilamidin molekül ağırlığı 71,08 g/mol'dür. Poliakrilamidin monomerlerinden olan akrilamidin yapısında vinil bulunur. Akrilamid erime noktası 84,5 °C, kaynama noktası ise 125 °C olan renksiz ve kokusuz bir kristal katıdır. Akrilamidin 84,5 °C' de veya ultraviyole ışığa maruz kaldığı durumlarda polimerize olduğu bilinmektedir. Hem zayıf asidik hem de bazik özellik göstermektedir. Su, aseton ve etanol içinde çözünen bu bileşik heptan ve benzende çözünmez. Toprak ve yeraltı sularında yüksek hareket kabiliyetine sahiptir ve biyolojik olarak parçalanabilir. Bileşiminde %50,69 karbon, %7,09 hidrojen, %19,71 azot ve %22,51 oksijen elementlerini içerir. Akrilamid yakıcı ya da tahriş edici değildir (Friedman 2003, Tamer ve Karaman 2006, Arusoğlu 2015, Nizamlıoğlu ve Nas 2019).

1.2.2. Akrilamid maruziyeti

Akrilamid maruziyetinin sebeplerinin başında sanayi ürünleri ve gıda kaynakları gelir. Sanayi ürünleri ve gıda kaynakları aracılığıyla dermal olarak, oral yoldan veya inhalasyon yoluyla akrilamide maruz kalınabilir. İki türü bulunan akrilamidin (monomerik ve polimerik), monomerik formu besinlerde oluşurken polimerik formu ticari amaçla monomerik formdan üretilir.

Polimerik formda olan poliakrilamid içme sularının temizlenmesinde, endüstriyel atıksu arıtımında topaklaştırıcılar olarak, çimento bağlayıcı olarak, toprak düzenleyiciler olarak, plastik üretiminde, jel elektroforezinde, kâğıt ve tekstil

endüstrilerinde, boya sanayisinde, kozmetik ve madencilik gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Polikrilamid ayrıca tütün dumanının da bir bileşenidir. Bu nedenle hem sigara içenler hem de sigara içmeyenler (pasif sigara içiciliği) akrilamide maruz kalırlar. Sigara içenler gıda ile maruz kaldıkları akrilamid miktarından daha fazlasına sigara dolayısıyla maruz kalırlar. Polimerik formunun su geçirmez bir jel oluşu sebebiyle de ticari kullanımları önemli olmaktadır.

Akrilamidin monomerik formu karbonhidrat bakımından zengin ve protein bakımından düşük olan hammaddeden elde edilen gıda ürünlerinde oluşur. Patates kızartması, cips, bisküvi, kraker ve tost, ekmek, kahvaltılık tahıllar ve kahve akrilamidin en fazla bulunduğu gıdalardır. Bunlardan başka kavrulmuş olmak kaydıyle badem, kuşkonmaz, ayçiçeği çekirdeği, soya fasulyesi, fındık ile fındık ezmesi, bebek ve küçük çocuklar için üretilen kekler ve tahıl içerikli ürünlerin de akrilamid içerdiği gösterilmiştir. Günlük olarak alınan pirinç pilavı, helva, ızgara, döner gibi gıdalarda düşük seviyede (4 µg/kg) bulunan akrilamidin, patates kızartmasında ise yüksek seviyelerde (3600 µg/kg) olduğu gösterilmiştir (Friedman 2003, Burdurlu ve Karadeniz 2006, Tamer ve Karaman 2006, Karagöz 2009, Arusoğlu 2015, Nizamlıoğlu ve Nas 2019, Rifai ve Saleh 2020).

Tüketiciler tarafından ortalama akrilamid alımı tahminleri ülkeler arasında ve beslenme alışkanlıklarına göre değişmektedir. Ortalama bir alım günde 0,4 µg/kg, üst düzey bir alım ise yaklaşık 1 µg/kg olmaktadır (Stadler ve Lineback 2008). Bazı araştırmacılar, kabul edilebilir günlük alım miktarının 1 µg olduğunu ileri sürerlerken; söz konusu bu miktarın birçok gıda ürününde bulunan miktarın üzerinde bir miktar olduğu dikkati çekmektedir (Chuang ve ark 2006). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), akrilamidin tanımlanabilir güvenilir bir etki eşiğine sahip olmadığını, yani düşük dozlara maruz kalmanın, zararlı etkilerinin klinik olarak semptom göstermeden morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin olabileceğini belirtmektedir. Nörotoksisite için tolere edilebilir günlük alım miktarının 40 µg/kg olduğu tahmin ediliyor. Kanser için tolere edilebilir günlük alımın ise akrilamid ve glisidamid için sırasıyla 2,6 ve 16 µg/kg olduğu tahmin edilmektedir (Tardiff ve ark 2010, Rifai ve Saleh 2020). Akrilamidin kanserojenik etkisi ile ilgili olarak, artan maruziyet ile riskin arttığı düşünülmektedir (Erkekoglu ve Baydar 2014). SNFA ve Stockholm Üniversitesi araştırmacıları yaptıkları çalışmalar ile protein ve karbonhidrat açısından

zengin gıdalarda sırasıyla orta seviyelerde (5-50 µg/kg) ve yüksek seviyelerde (150-4000 µg/kg) akrilamid bulunduğunu göstermişlerdir. WHO içme suyunda bulunabilecek akrilamid miktarını 0,5 µg/L olarak bildirmesine rağmen, gıdalarda bulunabilecek maksimum akrilamid miktarını belirlememişdir (WHO 1993, Rifai ve Saleh 2020).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. FDA) gıda numunelerindeki akrilamid değerlerini ölçmek için dönem dönem çeşitli gıda örneklerini toplayarak çalışmalar gerçekleştirmektedir. Amerikada sık tüketilen bazı gıdalardaki akrilamid değerleri Tablo 1.1'de verilmiştir (FDA 2002). Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu Marmara Araştırma Merkezi (TÜBİTAK-MAM) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada da birçok gıda ürünü toplanarak akrilamid değerleri ölçülmüştür. Bu çalışmanın verileri Tablo 1.2.'de verilmiştir (Ölmez ve ark 2008).

Tablo 1.1. Amerikada sıklıkla tüketilen bazı besinlerin akrilamid içeriği.

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

Tablo 1.2. Türkiyede tüketilen bazı besinlerin akrilamid içerikleri.

Gıda maddesi	**Akrilamid(µg/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

1.2.3. Gıdalarda akrilamid oluşumu

Akrilamidin zararlı etkileri ilk kez Hallandsas'ta akrilamidin kazara suya karışmasıyla ortaya çıkmıştır. Akrilamide maruziyetin sadece bu sebeple gerçekleştiği düşünülürken Tareke ve ark (2000)'nın yaptıkları çalışmaya göre akrilamid maruziyetinin gıda kaynaklı da olabileceği bulunmuştur. Yapılan araştırmalarda özellikle karbonhidrattan zengin besinlerde yüksek ısı ile birlikte akrilamid oluşumu gözlenmiştir. Sonuç olarak çiğ gıdalarda bulunmayan akrilamidin sıcaklık 120 ^{0}C veya daha yüksek bir sıcaklığa ulaştığında oluştuğu dikkat çekmektedir (Tareke ve ark 2000, Tareke ve ark 2002, Karagöz 2009).

Akrilamid oluşumu üç şekilde meydana gelmektedir.

1. Lipitlerin transformasyonu, karbonhidratlar ve aminoasitlerin ayrışması yoluyla ortaya çıkan akrolein ya da akrilik asit reaksiyonu,

2. Malik asit, laktik asit ve sitrik asit içeren temel bazı organik asitlerin dehidrasyon-dekarboksilasyonu,

3. Karbonhidratlar ve proteinler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonu sonucunda olmak üzere üç şekilde oluşmaktadır (Karagöz 2009).

Nişastalı gıdalarda ısıtma işlemi sırasında doğal olarak bulunan şeker ve asparajinin azaldığı bildirildikten sonra akrilamid oluşumunda Maillard reaksiyonuna yoğunlaşılmıştır (Rifai ve Saleh 2020). Maillard Reaksiyonu, karamelizasyon gibi enzimatik olmayan esmerleşmenin bir çeşididir. Isıl işlem görmüş gıdalarda Maillard Reaksiyonu lezzet ve renk oluşumu belirli koşullarda da akrilamid oluşumu ile ilişkili olabilir (Arusoğlu 2015).

Louis Camille Maillard'dan ismini alan Maillard reaksiyonu aminoasit ve karbonhidrat arasında gerçekleşen kondenzasyon ile başlar. Basit olmayan bu reaksiyon 3 aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada aminoasit ve karbonhidratların kondenzasyonu gerçekleşir, Schiff bazı oluşur ve su açığa çıkar. Asit-baz katalizli ve dönüşümlü olan bu reaksiyondan sonra Schiff bazı aldozilamine döner. Aldozlar için Amadori düzenleme reaksiyonları ile Aldozaminin izomerizasyonu sonucu ketozamin (1-amino-1-dezoksiketoz) oluşur. Ketozlar içinde Heyns yeniden

düzenleme reaksiyonları sonucunda 2-amino-2-deoksialdoz oluşur. Renk değişiminin de gözlendiği ikinci aşamada 3 yol bulunmaktadır. Birinci yolda 1-amino-1-dezoksiketozun başka bir aldoz molekülü ile reaksiyonu sonucunda diketozamin ortaya çıkar. Bu da monofruktozamine ve 3-deoksiosuloz benzeri çoğu bileşiğe ayrışır. İkinci yolda Amadori ürünlerinin enolizasyonu gerçekleşir. Pentoz şekerleri pH'nın 7'den düşük olduğu durumlarda furfurala; heksoz şekerleri de hidroksimetilfurfurala dönüşür, pH 7'den fazla olduğunda ise oldukça reaktif ürünlere enolize olurlar. Üçüncü yolda Strecker bozulması olarak bilinir. Karbonil gruplarının amino grupları ile kondense olduğu ve CO_2 oluşumu ile karakterize edilebilen bu basamak, aynı zamanda aroma oluşumunun da başlangıcıdır. Aromanın kaynağı aldehit ve aldehit türevi bileşiklerdir. Üçüncü aşamada daha önce gerçekleşen aşamalarda meydana gelen bileşikler aminler ile birleşir, aldoller kondense olur, aldehit ve aminler polimerize olur sonuç olarak da koyu renkli bileşikler açığa çıkar. Maillard reaksiyonu sonucu akrilamidin açığa çıkması için reaksiyona giren aminoasidin asparajin olması gerekmektedir (Yıldız ve ark 2010). Gıdalardaki yüksek sıcaklıklar ve düşük nem içeriği, Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumunu destekler. Mailard reaksiyonu tek bir reaksiyon değil, gıdanın termal işlenmesi sırasında ortaya çıkan karmaşık bir reaksiyon serisidir (Rifai ve Saleh 2020). Asparajin ve indirgen şekerler reaksiyona girdikten sonra Schiff bazı ile dengede olan N-glukozilasparajin oluşur. Yüksek sıcaklıklarda bu kompleks akrilamidi oluşturmaktadır. Ayrıca indirgen şeker olmadan da dekarboksile olan asparajin (3-aminopropionamide) ısıtıldığında akrilamid oluşturabilmektedir. Asparajin ve indirgen şeker arasında oluşan reaksiyon sonucu Schiff bazının dekarboksilasyonu ile dekarboksile Amadori ürünü, bunun da Strecker bozulması ile akrilamid açığa çıkar (Nizamlıoğlu ve Nas 2019).

1.2.4. Gıdalarda akrilamid oluşumunu etkileyen sebepler

Gıdalarda akrilamid oluşumunu etkileyen birçok etken bulunur. Bunlar gıdanın kompozisyonu, fizikokimyasal özellikleri ile gıdanın işlenme koşulları, agronomik ve genetik faktörleri olarak sıralanabilir.

Gıdalarda akrilamid oluşumu sadece asparajin aminoasidi varlığında gerçekleşebilmektedir. Asparajin oranı patateste %40 iken, unda %14, çavdarda ise %18'dir. Akrilamid oluşumu için ideal durum asparajin ve glikozun eşit molarda

gıdada bulunmasıdır. Gıdalarda bulunan sükroz, maltoz, laktoz ve nişasta yüksek sıcaklıkta ve düşük pH değerlerinde monosakkaritlerine ayrılır. Bu monosakkaritler asparajin ile kimyasal reaksiyona girerek akrilamidi oluştururlar. Şeker zincirlerinin kısalması bu akrilamid oluşumunu arttırmaktadır. Yine gıdalarda bulunan yağlar, karbonhidratlardan kimyasal yapıları açısından farklı olsalar bile lipitlerin okside olmaları ile karbonil bileşikler açığa çıkmakta ve bu bileşiklerin asparajin ile birleşmeleri sonucunda akrilamid oluşabilmektedir. Doymuş yağlar termal olarak okside olmaya daha az yatkın olmaları nedeniyle oluşan akrilamid miktarının da daha az olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada sardalya yağının 642 µg/gr, morina karaciğeri yağının 435,4 µg/gr, soya fasulyesi yağının 135,8 µg/gr, mısır yağının 80,7 µg/gr, zeytinyağının 73,6 µg/gr, kanola yağının 70,7 µg/gr, mısır yağının 62,1 µg/gr, sığır yağının 59,3 µg/gr, domuz yağının 36 µg/gr akrilamid oluşturduğu bildirilmiştir. Patateslerin kızartma işlemleri sırasındaki kullanılan yağın çeşidi de oluşan akrilamid miktarını etkilemektedir. Palm yağında kızartılan patateslerde yüksek miktarda akrilamid oluşurken ayçiçek yağı veya susam yağında daha az akrilamid oluşumu olduğu gösterilmiştir (Gertz ve Klostermann 2002, Claeys ve ark 2005, Ehling ve ark 2005, Capuano ve ark 2010, Bakhtiary ve ark 2013).

Nem ve pH değerleri akrilamid oluşumunu etkileyen etmenlerdir. Düşük pH değerlerinde akrilamid oluşumu azalırken, pH 7-8 aralığında akrilamid oluşumu maksimum seviyeye çıkmaktadır. Gıdada akrilamidin oluşumu için nemin de etkisi önemli olmaktadır. Maillard reaksiyonu gerçekleşirken nemin %12-18 aralığında olması akrilamid oluşumunu üst düzeye çıkarmaktadır. Nem oranı düştükçe akrilamid oluşumu belli bir yerden sonra sabit kalmaktadır. Unlu mamüllerde akrilamid oluşumunu etkileyen bir diğer unsur da tahılın yetiştiği toprağın sülfat içeriğidir. Sülfat eksikliği olan topraklarda yetişen buğdaylarda asparajin miktarı fazla olmakta, bu da oluşan akrilamid miktarının artmasına neden olmaktadır (Eichner ve Karel 1972, Jung ve ark 2003, Muttucumaru ve ark 2006, Friedman ve Levin 2008).

1.2.5. Akrilamid oluşumunu azaltma yöntemleri

Akrilamid oluşumunun Maillard reaksiyonu ile gerçekleştiği ve bu reaksiyon için öncü maddelerin gıdalarda doğal olarak bulunduğu bilinmektedir. Gıdalarda oluşan akrilamid seviyesinin azaltılması için oluşturulan stratejilerin başında

Maillard reaksiyon öncü maddelerinin çıkarılması veya düşük seviyede tutulması sağlanarak bu reaksiyona müdahale edilmesi gelir. Yapılan çalışmalarda akrilamid seviyesinin azaltılması ile ilgili üç yöntem ortaya çıkmaktadır. İlk yöntem uygun hammaddenin seçilmesi, ikincisi ürünün formülasyon veya kompozisyonunun değiştirilmesi, üçüncü yöntem de ön işlem uygulamak veya proses parametrelerini değiştirmektir.

1.2.5.1. Uygun hammaddenin seçilmesi

Akrilamid oluşumunda en önemli iki madde asparajin ve indirgen şekerdir. Bunların az olduğu ürünler seçilerek oluşabilecek akrilamid seviyesi azaltılabilir. Örneğin sante ve savalan çeşidi patateslerden cips hazırlanırken daha az miktarda indirgen şeker içeren savalan çeşidi patates tercih edilerek oluşacak akrilamid miktarı azaltılabilir (Shojaee-Aliabadi ve ark 2013).

Ürün yetiştirilmesi sırasında kullanılan gübre veya ürünün yetiştiği toprak çeşidi akrilamid oluşumunu etkileyen etmenlerdendir. Ürünün yüksek sülfür içeriğine ve düşük azot içeriğine sahip toprakta yetişmesi üründe asparajin miktarını azaltmaktadır. Asparajin miktarının azalması dolayısıyla da akrilamid oluşumu azalmaktadır (Curtis ve ark 2009). Buğday yetiştirilmesi sırasında nitrojen (azot) yönünden zengin gübre kullanımı üründe yüksek asparajin oluşumuna neden olmaktadır (Lerner ve ark 2006). Bitkilerde azot depolanması ve taşınmasında asparajin merkezi bir rol oynar. Bitkide normal bir protein sentezinin desteklenemediği durumlar da dâhil olmak üzere stres koşulları altında asparajin birikimi gerçekleşir (Lea ve ark 2007).

Gıdadaki indirgen şeker miktarını etkileyen etmenlerden biri yetiştirilen ürünlerin hasat zamanlarıdır. Olgunlaşma ile birlikte indirgen şeker miktarı azalmakta ve aynı şekilde bu da akrilamid oluşumunu azaltmaktadır. Erken hasat edilen ürünlerin tercih edilmemesi gerekmektedir. Yumrulu bitkilerin +8 ^{o}C dereceden daha düşük sıcaklıkta depolanması indirgen şeker birikimini arttırdığı için bunların ortalama +15 ^{o}C derecede depolanması gerekmektedir (Seal ve ark 2008, Viklund ve ark 2010).

1.2.5.2. Ürünün formülasyon veya kompozisyonunun değiştirilmesi

Ürün formülasyonunun değiştirilmesi veya kompozisyonunun değiştirilmesi oluşacak olan akrilamid seviyesini etkilemektedir. Üründe doğal olarak bulunan asparajin ve indirgenmiş şeker miktarını azaltmak oluşacak akrilamid miktarının da azalmasını sağlar. Yapılan bir çalışmada kurabiye hazırlama işlemi sırasında indirgen özelliği olmayan sükroz kullanıldığında oluşan akrilamid miktarının azaldığı bildirilmiştir (Gökmen ve ark 2007). Baharatların serbest radikalleri temizleme özelliği olduğunu savunan bir çalışmada ise zencefilli keke hindistan cevizi, rezene, anason veya karanfil eklenmesinin akrilamid oluşumunu azalttığı, yapısında akrilamid oluşumuna katkıda bulunabileceği düşünülen sinamik asit ve türevleri gibi bileşiklerin bulunduğu tarçın ve kişniş eklendiğinde ise akrilamid oluşumunun arttığı gösterilmiştir (Marková ve ark 2012). Gökmen ve Şenyuva (2007) patates kızartması sırasında oluşan akrilamid miktarı üzerine kalsiyum klorür etkisini inceledikleri çalışmada, patateslerin kalsiyum klorür çözeltisinde bekletilmesinin, kızartma işlemi sırasında akrilamid oluşumunu %95'e kadar inhibe ettiğini göstermiştir. Akrilamid miktarındaki azalmanın nedenini tuzun asparajin ve indirgen şeker arasında Schiff bazı oluşmasını inhibe etmesiyle açıklamışlardır.

Akrilamid ürünün sadece yüzeyinde oluşmaktadır. Bu nedenle patateslerin doğranma şekillleri de oluşan akrilamid miktarını etkilemektedir. Pal Murugan ve ark (2016) ince dilimlenmiş patateslerde istenen nem oranına ulaşması için aynı kızartma süresinde daha az sıcaklığa ihtiyaç duyulduğunu ve dolayısıyla daha az miktarda akrilamid oluştuğunu bildirmişlerdir.

1.2.5.3. Ön İşlem Uygulamak veya Proses Parametrelerini Değiştirmek

Akrilamid miktarını azaltmak için gıdaların bazı ön işlemlerden geçirilmesinin esas nedeni Maillard reaksiyonunu gerçekleşmesini minumum seviyede tutmaktır. Suda bekletme, haşlama, antioksidan ve doğal ekstrakt eklemek bu uygulamalardan bazılarıdır. Patateslerin suda bırakılması ile indirgen şeker miktarı azalmaktadır. Kita ve ark (2004)'nın yaptıkları çalışmada patateslerin kızartılmadan önce 60 dk su, sitrik asit ve asetik asitte bekletilmesi ile oluşan akrilamid miktarında sırasıyla %10, %31 ve %43 seviyesinde azalma olduğu bildirilmiştir. Patateslerin kızartılmadan önce 3 dk haşlanmasının da akrilamid

seviyesini %51-73 oranında azalttığı gösterilmiştir. Haşlamanın asparajin ve indirgen şeker miktarını azalttığı belirtilmiştir. Kızartma sırasında sıcaklığın düşürülmesi de akrilamid oluşumunu azaltan etmenler arasındadır. Gökmen ve ark (2006) yaptıkları bir çalışmada patates kızartma işlemini 150 °C'de 9 dk ve 190 °C'de 3 dk gerçekleştirmişler ve yüksek sıcaklıkta 40 kat daha fazla akrilamid oluştuğunu bildirmişlerdir. Fırınlama işlemlerinde de benzer şekilde sıcaklığın düşürülmesi akrilamid oluşumunu azaltmaktadır. Gıdalarda oluşan akrilamid miktarının düşürülmesine yönelik yapılan işlemlerden biri de asparajinaz enziminin kullanılmasıdır. Asparajinaz enzimi asparajin aminoasidinin aspartik asit ve amonyağa ayrışmasını sağlamaktadır. Böylelikle üründe asparajin miktarı azalır buna bağlı olarak akrilamid oluşumu da azalmaktadır. Asparajinaz enzimi akrilamid oluşumunu azaltmakla birlikte duyusal muayenede bir farklılık oluşturmamaktadır (Arima ve ark 1972, Viklund ve ark 2010, Stojanovska ve Tomovska 2015).

1.2.6. Akrilamidin toksikokinetiği

İnsanlarda akrilamid toksikokinetiği ile ilgili veriler az olsa da, akrilamid emiliminin dermal, solunum veya sindirim sistemi yoluyla gerçekleştiği bilinmektedir (Calleman 1996). Oral alımdan sonra, akrilamid çeşitli dokulara yayılmaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışma ile akrilamidin dokularda bulunma yüzdelerinin beyin ve omurilikte % 1'den az, kas (% 48), cilt (% 15), kan (% 12) ve karaciğerde (% 7) daha fazla olduğu gösterilmiştir (Miller ve ark 1982). Akrilamidin insanlarda plasenta bariyerini geçebildiği ve anne sütünde bulunabildiği de yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Sörgel ve ark 2002).

Akrilamid, sitokrom P450 CYP2E1 enziminin etkisi ile yüksek derecede reaktif bir epoksit olan glisidamide metabolize edilmektedir (Kadry ve ark 1999). Glisidamid oluşumunun akrilamid ve metabolitlerinin genotoksik etkileri için kritik bir adım olduğu düşünülmektedir. Akrilamid ve glisidamid, çok daha yüksek bir oranda, hemoglobin ve enzimler gibi makro moleküller ile reaksiyona girebilir. Ayrıca glisidamid DNA ile reaksiyona girerek nokta mutasyonlarına ve kansere yol açabilir (Claus ve ark 2008). Alternatif olarak akrilamid, glutatyon-S-transferaz enzimi ile glutatyona konjüge edilebilir ve metabolit idrar yoluyla merkapturik asit olarak atılır. Akrilamid dışkıda ve solunan havada da küçük miktarlarda bulunabilmektedir (Fennell ve Friedman 2005). Kemirgenler 0,1 µg/kg akrilamide

maruz bırakıldığında biyoyararlanımın % 23-48 arasında değiştiği ve vücuttan yok olmasının yaklaşık 2 saat sonra gerçekleştiği gösterilmiştir (Miller ve ark 1982, Kadry ve ark 1999). Akrilamidin insanlarda yarılanma ömrü yaklaşık 4-6 saattir (Calleman 1996). Akrilamidin vücutta dönüştüğü glisidamid DNA molekülleri ile reaksiyona girmektedir (Hagmar ve ark 2001, WHO ve FAO 2005). Akrilamidin oral dozu 100 mg/kg'dan yüksek olduğunda akut toksik etkilere neden olurken 150 mg/kg'dan yüksek olduğunda genellikle ölümcül sonuçlar doğurmaktadır (Matoso ve ark 2019).

1.2.7. Akrilamidin sağlık üzerine etkileri

Akrilamidin sağlık üzerine olan etkilerini inceleyen birçok çalışma yapılmış ve çalışmalarda akrilamidin genotoksik, kanserojenik, nörotoksik, üreme ve gelişim toksisitesi etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Nörotoksik etki insan ve hayvanlar üzerinde, genotoksik, kanserojenik ve üreme sistemi üzerine olan toksik etki ise hayvanlar üzerinde gösterilmiştir (Shipp ve ark 2006, Arusoğlu 2015). Nöropati ve nörotoksik etkilere yüksek miktarlarda akrilamid maruziyeti neden olmaktadır. Düşük dozda kronik maruziyet ise tiroid, testis ve meme tümörleri ile ilişki endokrin hasara yol açmaktadır (Khan ve ark 1999).

1.2.7.1. Akrilamidin Kanserojenik ve Genotoksik etkisi

Akrilamidin zararlı etkilerinin belirlenmeye başlanmasından sonra kanserle olan ilişkisi ile ilgili de çok sayıda çalışma yapılmıştır. Fare ve sıçanlara akrilamid uygulanması birden fazla organda tümör oluşumuna neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Farelerde akrilamidin, akciğer tümörlerinin insidansını artırdığı ve dermal maruziyetten sonra cilt tümörlerini başlattığı bildirilmektedir. Sıçanlarda yapılan biyotahlilde içme suyu ile verilen akrilamidin peritestikülar mezotelyomalar, tiroid foliküler hücre tümörleri ve meme bezi tümörlerinin yanı sıra birincil beyin tümörlerini indüklediği gösterilmiştir. Kemirgenlerde akrilamid ile ilişkili tümör oluşumları gösterilmiş olmasına rağmen insanlarda pankreas, prostat, meme, yumurtalık ve endometriyal kanserlerle akrilamid arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda mesleki olarak akrilamide maruz kalan işçilerde veya gıda yoluyla akrilamide maruz kalan insan popülasyonlarında artmış kanser riskine dair tutarlı

sonuçlar ortaya konulamamıştır. Endüstriyel kohort çalışmalarında akrilamide maruz kalan çalışanlarda pankreas kanseri riskinin iki katına çıktığı gözlenmiştir fakat tutarlı maruziyet-tepki ilişkileri tespit edilmemiştir. Birkaç Avrupa popülasyonunda kanser insidansı ile ilgili daha önce yapılmış vaka kontrol çalışmalarının retrospektif olarak yeniden analizi sonrasında akrilamid içeren yiyecek veya içeceklerin tüketimi ile böbrek, kalın barsak, mesane, farinks, larinks, özofagus, meme ve yumurtalık dahil olmak üzere çeşitli bölgelerde kanser insidansı arasında nedensel bir ilişki tespit edilememiştir. Yapılan çalışmalar sonrasında insanlar üzerinde kanserojenik etkinin direk gösterilememesi sebebiyle akrilamid IARC tarafından 1994 yılında insanlar için olası kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Kanser değerlendirmelerinde genotoksik etki dikkat edilen parametrelerden biridir. Akrilamidin genotoksik etkisinin bulunduğu ve bu etkinin sebebinin ise genotoksisiteye neden olan glisidamide dönüşmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Glisidamid DNA ile reaksiyona girerek nokta mutasyonlarına neden olmakta ve DNA'ya zarar vermektedir (WHO 1993, IARC 1994, Rice 2005, Boyacı ve Cengiz 2012, Akgün ve Arici 2018).

1.2.7.2. Akrilamidin üreme sistemi üzerine etkisi

Duan ve ark (2015) 6 hafta boyunca akrilamid içerikli diyet ile besledikleri dişi farelerin ovaryum ağırlıklarının azaldığını, oosit gelişiminin gerilediğini ve oosit gelişiminin erken evrelerinde apoptozda artış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yaptıkları bu çalışmada oositlerde reaktif oksijen türlerinde artış olduğu, DNA ve histon metilasyon seviyelerinde ise azalma olduğunu bildirilmişlerdir. Aras ve ark (2017) akrilamide maruz bırakılan dişi farelerde mayoz II'ye giren oositleride iğ ipliği oluşumunda azalma olduğunu ve bunun metafaz evresinde gerçekleşen kromozom diziliminin bozulmasına neden olduğunu buna bağlı olarak da bozulmuş mayoz bölünme gözlendiğini bildirmişlerdir.

Akrilamidin toksisitesi üzerine oksidatif stresin etkisi Leydig ve Sertoli hücrelerinde de tanımlanmıştır. Bu hücrelerde reaktif oksijen seviyesinde ve apoptoziste artış, hücre canlılığında ise azalma gösterilmiştir (Yilmaz ve ark 2017). Glisidamid içeren ortamda kültürlenen Leydig hücreleri, reaktif oksijen türleri tarafından uyarılan apoptoza bağlı olarak progesteron sentezinde bir azalma göstermiştir (Li ve ark 2017). Sekiz hafta boyunca oral yoldan 0,5 ve 10 mg/kg

akrilamid uygulanan erkek sıçanlarda büyümede gerileme, epididimisdeki sperm rezervlerinde azalma ve testiste histopatolojik lezyonların oluştuğu bildirilmiştir (Wang ve ark 2010). Akrilamidin altı ay süreyle erkek farelere uygulanmasının genel doğurganlığı etkilemeden spermde DNA hasarına yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca 6 ay boyunca 1 μg/ml akrilamide maruz kalan erkek fareler ile çiftleştirilen dişi farelerden doğan erkek yavruların doğrudan akrilamide maruz kalmamalarına rağmen, ilerleyen dönemde DNA hasarlı sperm sayılarında ve germ hücrelerindeki CYP2E1 enzim seviyelerinde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir (Katen ve ark 2016).

Ghanayem ve ark (2005)'nın yaptıkları bir çalışmada dişi sıçanlar CYP2E1 nakavt erkek sıçanlarla ve yabani tip sıçanlar ile çiftleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan erkek sıçanlar çiftleşmeden önce 5 gün boyunca günlük 12,5 mg/kg, 25 mg/kg ve 50 mg/kg akrilamide maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda Yabani tip erkeklerle çiftleşen dişilerde canlı ve yaşayabilir fetüslerin sayısı azalırken, nakavt fareler ile çiftleşen dişilerde fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar akrilamide bağlı germ hücre mutasyonlarının CYP2E1 aracılı epoksit metabolitinin oluşumuna neden olduğunu göstermiştir.

1.2.7.3. Akrilamidin hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseni üzerine etkisi

Akrilamidin hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseni üzerinde etkisine yönelik yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Yapılan bir çalışmada, gençlerde ve erişkinlerde idrardaki akrilamid metabolitinin düzeyleri ile serum tiroid hormonu ölçümleri arasındaki ilişkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda üriner metabolit düzeylerindeki artışın, özellikle 20 ila 30 yaş arası kadınlarda tiroksinde (T4) bir azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Lin ve ark 2015). Khan ve ark (1999)'nın yaptıkları bir çalışmada akut akrilamid maruziyetinin dişi fareler üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda canlı ağırlıklarında anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca önemli histopatolojik değişikliklerin olmadığını da bildirmişlerdir. Plazma tiroksin (T4), tiroid uyarıcı hormon (TSH) ve prolaktinin serum seviyelerinde de benzer şekilde önemli bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Bununla birlikte, 7 günlük maruziyetten sonra plazma T4 seviyesinde hafif bir artış ve TSH serum konsantrasyonunda ise küçük bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Tiroid bezinin morfometrik analizleri sonucunda da koloid

alanında önemli bir azalmanın olduğunu ve akrilamid uygulanan farelerin tiroid folikül epitel hücrelerinin yüksekliğinde kontrole kıyasla bir artış olduğunu gözlemişlerdir.

Akrilamid ve glisidamid proteinlerin nükleofilik bölgelerine bağlanabilir, onların yapı ve işlevlerini değiştirebilir. Hemoglobinde bulunan valin ile akrilamid veya glisidamid kovalent olarak bağlanabilmektedir (Hagmar ve ark 2001). Akrilamid ayrıca bazı proteinlerde sülfhidril gruplarına da bağlanabilmektedir. TSH molekülünün üçüncül yapısı, hem α hem de β alt birimlerinin, TSH molekülünü akrilamid ile etkileşime duyarlı hale getirebilecek disülfür bağlarıyla bağlanmaktadır. TSH ve akrilamid arasındaki etkileşim, translasyon sonrası işlemeyi ve dolayısıyla TSH aktivitesini değiştirebilir. Akrilamid TSH'ın olgunlaşmasını ve tiroid hücrelerinin plazma zarındaki reseptörüne bağlanabilmesini engelleyebilmektedir (Szkudlinski ve ark 2002, Ortiga-Carvalho ve ark 2016). Akrilamid monokarboksilat taşıyıcı 8'e de bağlanabilir ve bu bağlanma sonucunca T3'e olan afinitesi azalmaktadır. Ayrıca tiroid hücrelerinde orta derecede eksprese edilen sitokrom P450 enzimi akrilamidin reaktif bir metabolit olan glisidamide dönüşümünü gerçekleştirmektedir (Bieche ve ark 2007).

1.2.7.4. Akrilamidin nörotoksik etkisi

Akrilamid, hem merkezi sinir sistemini hem de periferik sinir sistemini etkileyen nörotoksik özelliği olan bir maddedir. Toksik etkinin büyüklüğü, maruz kalma süresine ve toplam maruz kalma dozuna bağlıdır (Fullerton ve Barnes 1966, Smith ve Oehme 1991). Akrilamidin nörotoksik özellikleri çok çalışılmıştır, çünkü bunlar hem mesleki maruziyetle ilgili insanlarda hem de deneysel hayvan çalışmalarında gösterilen tek toksik etkidir (Erkekoglu ve Baydar 2014). Akrilamid tip-2 alkenlere dâhil olan toksik bir maddedir. Çalışmalarda akrilamid maruziyetinin net sonucu olarak nörotoksisite bulunmasına rağmen, akrolein veya metil vinil keton gibi diğer tip-2 alkenlere maruz kalma esas olarak solunum, karaciğer veya böbrek toksisitesi ile ilişkilidir. Bu toksikolojik çeşitlilik elektrofilik reaktivitedeki nispi farklılıklarla ve bunun sonucunda doku dağılımı üzerindeki etkiyle ilgilidir (Gillette 1974, Spencer ve Schaumburg 1974, Erkekoglu ve Baydar 2014).

Çeşitli hayvan modellerinde akrilamidin doz-tepki ve doz-etki ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu raporlara göre, incelenen memeli türleri arasında önemli farklılıklar görülmemektedir. Sıçanlarda oral ölümcül doz akrilamid seviyeleri 107-251 mg/kg ve kobaylarda 150-180 mg/kg iken, farede 107-170 mg/kg olarak ifade edilmiştir. Tavşanlarda akrilamid ölümcül doz değeri 50 mg/kg olarak verilmiştir. Bununla birlikte, sıçanlar için dermal ölümcül doz 400 mg/kg iken tavşanlarda 1680 mg/kg olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda hayvanlarda akrilamid maruziyetine dayanan nörotoksisite için en sık kullanılan gözlenmeyen yan etki seviyesi (NOAEL) 0,5 mg/kg/gün ve en düşük gözlenebilir yan etki seviyesi (LOAEL) 2 mg/kg/gündür. Fertilite değişiklikleri için NOAEL, nörotoksisiteye neden olan miktardan dört kat daha yüksektir (Erkekoglu ve Baydar 2014).

Akrilamide tekrar tekrar maruz kalma sonrasında bellek, öğrenme ve bilişsel işlevlere bağlı bazı beyin bölgelerinde (serebral korteks, hipotalamus ve hipokampus) periferik sinirlerde ve sinir sonlanmalarında dejenerasyon oluştuğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanlara (21 veya 50 mg/kg/gün) iki farklı dozda akrilamid uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda merkezi sinir sisteminin tüm bölgelerinde sinir sonlanmalarında progresif bir dejenerasyon ile ataksi ve kas paralizi gibi nörotoksik semptomlar gösterilmiştir (LoPachin ve ark 2003). Akrilamid, sinaptik disfonksiyona ve dejenerasyona neden olarak doğrudan sinir uç bölgelerinde etki gösterir. Periferik ve merkezi sinir sisteminde hasarların oluşması motor, duyusal ve otonomik bozukluklara neden olur (LoPachin 2004). Ayrıca Erdemli ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, gebe sıçanlara akrilamid uygulaması yapılmış ve fetal beyin dokusunda nöronlarda dejenerasyon, hemorajik hasar ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör düzeylerinde azalma gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar, akrilamidin, progenitör sinir hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını ayrıca nöral ve astrosit biyobelirteçlerinin ekspresyonunu azalttığına işaret etmiştir (Attoff ve ark 2016). Ayrıntılı yol henüz açık olmasa da, akrilamid tarafından tetiklenen nörotoksisite mekanizması ile ilgili üç ana hipotez vardır. Bunlardan ilki kinesin temelli hızlı aksonal taşınmanın inhibisyonu, ikincisi nörotransmitter seviyelerinin değiştirilmesi ve üçüncüsü ise nörotransmisyonun doğrudan inhibisyonudur (Erkekoglu ve Baydar 2014).

Akrilamid toksisitesi, kinesinin inhibisyonu yoluyla anterograd ve retrograd hızlı aksonal taşınmanın bozulmasına neden olmaktadır. Sickles ve ark (1996) yaptıkları bir çalışmada akrilamidin kinesin ve dynein motor proteinleri üzerinde doğrudan toksik bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar akrilamidin, mikrotübüllerin ve kinesinin kovalent modifikasyonlar yoluyla birbirlerine olan afinitesinin azalmasına neden olduğu sonucuna da varmışlardır. Nörotoksisitenin akrilamidin nörofilaman üzerindeki etkilerinin yanı sıra bu kimyasalın neden olduğu nörotransmisyon inhibisyonundan kaynaklandığı da ileri sürülmektedir. Akrilamid de dâhil olmak üzere elektrofilik nörotoksinler, proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler oluşmasına neden olabilir. Bu da nörotransmisyon inhibisyonuna ve nihayetinde sinir hücre hasarına yol açabilir. DNA'ya bağlanan glisdamid ve akrilamid aksonal fonksiyon için gerekli olan yapısal proteinlerin hatalı üretimine neden olmaktadır. Akrilamidin, pinositoz ile nöromüsküler kavşakta nörona girdiği ve daha sonra aksondaki tubulin sülfhidril gruplarına bağlandığı ve mikrotübüllerin sökülmesine ve sonuçta retrograd taşınmanın bozulmasına neden olduğu varsayılmaktadır. Hızlı aksonal taşıma nörotransmitter vezikül transferi ile ilişkilidir ve teorik olarak, aksonal taşıma bozulursa, vezikül taşıma etkilenebilir. Akrilamid nörotransmitter seviyelerini ve fonksiyonlarını değiştirerek merkezi sinir sistemini etkileyebilir. Fakat literatürde aksonal transportun bozulması ile nörotransmitter seviyelerindeki değişiklikler arasında doğrudan bir ilişki olduğunu kanıtlamak için yeterli veri yoktur. Son çalışmalar, nörotoksisite mekanizmasının sinir sonlarında sinaptik veziküllerin hedef zarlarıyla kaynaşmamasından kaynaklandığını göstermiştir. Bu da nörotransmitter salınımının azalmasına ve nihayetinde sinir terminal dejenerasyonuna neden olmaktadır. Bu etki, akrilamidin, membran füzyon işleminde önemli rolleri olan proteinlerin sistein kalıntıları üzerinde sülfhidril gruplarına bağlanmasından kaynaklanabilmektedir. Akrilamid yumuşak bir elektrofilik nörotoksik olduğundan, tiol protein grupları (sistein, homosistein) ve GSH ile protein-bağlı-SH grupları (kinesin, dynein) üzerinde kolayca reaksiyona girer (Erkekoglu ve Baydar 2014).

Bazı çalışmalar, akrilamide bağlı nörotoksisite ve dopaminerjik sistemin işlev bozuklukları arasında bir korelasyon bulunduğuna dikkat çekmiştir. Pan ve ark (2015) akrilamid uygulamasının dopamin düzeylerinde bir artışa ve ayrıca dopamin taşınmasında değişikliklere ve dopaminerjik nöronlarda akrilamid metabolizmasına

bağlı genlerin ekspresyonunda azalmaya yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada 50 mg/kg/gün akrilamid uygulaması sonrasında sıçan beynindeki serotoninde azalma gösterilirken dopamin, interferon-y ve 8-hidroksiguanozinde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir (Zargar ve ark 2016). Srivastava ve ark (1986) ise akrilamidin glutatyon seviyelerini düşürdüğünü ve dopamin reseptörlerini konsantrasyona bağlı bir şekilde arttırdığını bildirmişlerdir.

Oksidatif stres, hem in vitro hem de in vivo modellerde akrilamid kaynaklı nörotoksisitede kritik bir role sahiptir. Akrilamid reaktif oksijen türlerinin artışına neden olarak oksidan-antioksidan sistemini bozmakta ve oksidatif strese neden olmaktadır. Akrilamidin neden olduğu olumsuz etkileri azaltmak için yapılan çalışmalarda antioksidanlar üzerinde durulmuştur (Mehri ve ark 2012, 2014a, 2014b).

1.3. Çörek Otu

Bitkilerin ilaç olarak kullanılması insanlık tarihinin ilk yıllarına dayanmaktadır. Geleneksel tıbbın yan etkileri konusundaki endişeler alternatif tıpa olan ilginin artmasına neden olmuştur. Alternatif tıbba olan ilginin artışı birçok hastalığın tedavisinde yüzyıllardır kullanılan çörek otuna karşı da ilgiyi arttırmıştır.

Ülkemizde çörek otu olarak bilinen *Nigella Sativa L*. İngilizler tarafından siyah kimyon, Araplar tarafından ise kara çekirdek olarak isimlendirilmektedir (Aslan ve Borazan 2019). *Ranunculaceae* familyasından olan Çörek otu 20-90 cm kadar uzayabilen, ince bölünmüş yapraklara sahip yıllık çiçekli bir bitkidir. Çiçekler narindir ve genellikle 5-10 yapraklı, beyaz, sarı, pembe, soluk mavi veya soluk mor renklidir. Çörek otu meyvesi, her biri çok sayıda tohum içeren 3-7 adet birleşik folikülden oluşan büyük ve şişirilmiş bir kapsüldür (Ahmad ve ark 2013). Çörek otu tohumu keskin acı bir tada ve aromaya sahiptir. Çörek otu Hint ve Ortadoğu ülkelerinde baharat olarak tüketilmesinin yanı sıra gıda katkı maddesi ve gıda koruyucu olarak da kullanılmaktadır. Ekmek ve turşularda da tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Dünyanın birçok ülkesinde yetiştirilmesine karşın çörek otu Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya'ya özgüdür (Gilani ve ark 2004, Ahmad ve ark 2013, Srinivasan 2018).

Çörek otu gıda maddesi olarak tüketilmesinin yanı sıra yaygın farmakolojik özellikleri dolayısıyla birçok hastalığın tedavisinde tıbbi bir bitki olarak da kullanılmaktadır. Tıbbi bitkiler arasından çörek otu geniş farmakolojik özellikleri, zengin tarihsel geçmişiyle mucizevi bir bitki olarak ortaya çıkmaktadır. Çörek otu bronşit, astım, ishal, romatizma ve cilt rahatsızlıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Antidiyabetik, antihipertansif, antikanser, immünomodülatör, analjezik, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiinflamatuar, spazmolitik, bronkodilatör gibi farmakolojik etkileri bulunmaktadır. Ayrıca karaciğer, böbrek ve sindirim sistemi üzerindeki koruyucu etkinlikleri ile antioksidan etkisi, iştah açıcı özelliği ve emziren annelerde süt arttırıcı etkilerinden yararlanılmak üzere de çokça kullanılmaktadır. Çörek otunun bu etkileri aktif kimyasal bileşenlerinden kaynaklanmaktadır (Çakmakçı ve Çakır 2011).

1.3.1. Çörek otunun kimyasal bileşenleri

Çörek otunun kimyasal içeriğinin oranı toplandığı mevsime ve yetiştiği bölgeye göre çeşitlilik göstermektedir. Bu sebeple farklı bölgelerde yetişmiş çörek otlarında bulunan kimyasal bileşenlerin oranlarında değişiklik olabilmektedir (Kaya ve ark 2003). Protein (%26,7), yağ (%28,5), karbonhidrat (%24,9), ham lif (%8,4) ve toplam kül (% 4,8) içeren çörek otu ayrıca iyi miktarda vitamin ve mineral de (bakır, fosfor, çinko, demir v.b.) içermektedir. Çörek otunun en önemli aktif bileşenleri timokinon (%30-48), timohidrokinon, ditimokinon, p-simen (%7-15), karvakrol (%6-12), 4-terpinol (%2-7), trans-anethol (%1-4) seskiterpen longifolen (%1-8) alfa pinen ve timoldür. Ayrıca eser miktarda karvon, limonen, sitronellol gibi bileşikler de içermektedir. Çörek otu; linoleik asit, oleik asit, eikosadienoik asit ve dihomolinoleik asit gibi doymamış yağ asitleri ve palmitik asit, stearik asit gibi doymuş yağ asitlerinden zengin sabit yağ içeriğine de sahiptir (Srinivasan 2018).

1.3.2. Çörek otunun sağlık üzerine etkisi

İlaç olarak kullanılan çörek otunun tarihi çok eski zamanlara dayanmaktadır. Ölümden başka her hastalığa derman olacağına inanılan çörek otuna dair bir hadis-i şerif bile bulunmaktadır. Çörek otunun çok çeşitli kimyasal bileşene sahip olması onun birçok hastalığın tedavisinde kullanılmasını sağlamaktadır. İslam âlimlerinden El-Biruni çörek otu üzerine çalışmalar yapmıştır. Ayrıca İbn-i Sina da çörek otunun

yorgunluğa, halsizliğe iyi geldiği üzerinde durmuştur. Çörek otu tıbbi nebevi kitabında geçtiği için de İslam ülkelerinde kutsanmış tohum olarak kabul edilmektedir (Çakmakçı ve Çakır 2011). Çörek otunun hipotansif, anti-nosiseptif, ürikosurik, koleretik, anti-infertilite, anti-diyabetik ve anti-histaminik dâhil olmak üzere çeşitli farmakolojik özellikleri bulunmaktadır (Ali ve Blunden 2003). Çörek otunun ayrıca antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal, antitümör ve immünomodülatör özellikleri de bulunmaktadır (Salem 2005). Çörek otunun yardımcı T hücrelerinin ve NK hücrelerinin artmasına neden olduğu bağışıklık sistemini destekleyici ve güçlendirici etkisi bulunduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kaya ve ark 2003, Çakmakçı ve Çakır 2011). Kanser hücreleri üzerinde de etkili olduğu ve kanserli hücreleri öldürdüğüne dair çalışmalar da yapılmıştır (Salem 2005). Çörekotu ekstraktının bağışıklık sistemi hücrelerinin sayılarında artışa neden olduğu ve myelopoezi uyardığı gösterilmiştir (Çakmakçı ve Çakır 2011). Antiinflamatuar etki göstererek nefes darlığına iyi gelebileceği de bildirilmiştir (Al-Ghamdi 2001, Çakmakçı ve Çakır 2011). Eski Mısırlı ve Yunan hekimler tarafından baş ağrısı, burun tıkanıklığı, diş ağrısı, bağırsak solucanı tedavisinde kullanılmış, aynı zamanda menstrual siklusu düzenlemek, idrar söktürücü olarak ve süt üretimini arttırmak için de kullanıldığı bildirilmiştir (Salem 2005).

1.3.3. Çörek otunun antioksidan etkisi

Normal koşullarda vücutta antioksidanlar ve serbest oksijen radikalleri denge halinde bulunurken denge serbest oksijen radikalleri tarafına doğru değiştiği zaman oksidatif stres oluşur ve buna bağlı hastalıklar gelişir. Antioksidanlar reaktif oksijen türleriyle etkileşerek onları etkisizleştirir, detoksifikasyonu ve hücrelerin korunmasını sağlar, hastalıkların engellenmesine yardımcı olur (Karabulut ve Gülay 2016). O_2, OH ve NO dâhil olmak üzere serbest oksijen radikalleri, hücrelere saldıran, hücre zarlarını parçalayan, vücutta bulunan nükleik asitler, proteinler ve enzimlerde tahribat yaratan elektrik yüklü moleküllerdir (Salem 2005).

Antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz 6-fosfat dehidrojenaz gibi enzimatikler ve mineral, vitamin, karotenoitler, organosülfür bileşikler, kofaktörler, polifenoller gibi nonenzimatikler olarak iki sınıfta incelenir. Ayrıca eksojen, endojen, protein, vitamin, iz element,

komleks bileşik, hidrofilik, hidrofobik, direkt etkili, indirekt etkili olanlar şeklinde gruplandırılabildiği gibi, membran, dolaşım, sitosol ve sistem antioksidanları şeklinde de sınıflandırılmaktadır (Yılmaz 2010).

Reaktif oksijen türlerinin birçok hastalıkta patolojiye aracılık etmedeki merkezi rolü, doğal antioksidan ajanlarının bu hastalıkların gelişimini önlemedeki olası rolüne olan ilgiyi artırmıştır. Eski bir Hint sistemi olan Ayurveda'da şifalı bitkilerin kullanımına dayalı sağlığı geliştirici, hastalıkları önleyici ve gençleştirici yaklaşımın, bu bitkilerin antioksidan etkilerinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Çörek otu tohumlarının potansiyel özelliklerinden biri, bileşenlerinden bir veya daha fazlasının, antioksidan aktivitelerinden dolayı toksisiteyi azaltma yeteneğidir (Salem 2005).

Doğal antioksidan olan çörek otu anti-oksidatif, anti-apoptotik, anti-enflamatuar, nöroprotektif, hepatoprotektif, anti-astımatik, gastroprotektif, renoprotektif ve anti-kanser dâhil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olması nedeniyle birçok araştırmanın konusu olmuştur (Ashraf ve ark 2011, Mehri ve ark 2014a, Abdel-Daim ve ark 2020). Ayrıca çörek otunun dokuları sisplatin, siklofosfamid, ifosfamid, karbon tetraklorür gibi çeşitli ksenobiyotiklerin toksik etkilerine karşı koruyabildiğine dair çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (Badary ve ark 1997, Badary 1999, Alenzi ve ark 2010, Khither ve ark 2018, Abdel-Daim ve ark 2020). Çörek otunun ana bileşeni olan timokinonun sağlıklı hipokampusta hücrenin hayatta kalması ve nörogenez üzerinde artırıcı bir etkiye sahip olduğu, apoptotik proteinleri azaltarak hipokampal nöronların sayısını artırdığı gösterilmiştir (Beker ve ark 2018). Ayrıca timokinonun Alzheimer oluşturulmuş sıçanların hafıza performansını artırdığı ve aynı zamanda da kornu ammonisteki (CA1) nöronal kaybı iyileştirdiği bildirilmiştir (Elibol ve ark 2020). Timokinonun nöral doku üzerindeki iyileştirici etkisinin, antioksidan aktiviteleri nedeniyle nöronal dejenerasyonu önlemenin yanı sıra nörogenez ve sinir rejenerasyonunu teşvik etmesiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Sıçanlara 15 gün boyunca verilen 20 mg/kg timokinonun hipokampusta hücre canlılığı ve nörogenez üzerinde artırıcı bir etkiye sahip olduğu ve hasarlı nöronlarda apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Beker ve ark 2018).

Yapılan literatür taramalarında akrilamidin sıçanlarda hipokampus üzerine olan toksik etkisinin engellenebilmesi için çörek otu yağının kullanıldığı bir

çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile akrilamidin sıçan hipokampusu üzerinde olası toksik etkilerinin açığa çıkarılması, çörek otu yağının hipokampus üzerine olumlu veya olumsuz etkilerinin gösterilmesi ve akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının akrilamidin hipokampus üzerinde oluşturabileceği muhtemel olumsuz etkileri engelleyip engellemediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 30.11.2020 tarih ve 2020-53 sayılı kararı ile onaylandı.

Bu çalışmada 32 adet 8 haftalık erkek Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deneme başlamadan önce çalışmaya dâhil edilecek olan hayvanların genel sağlık durumları değerlendirildi. Daha sonra canlı ağırlıkları belirlenen sıçanlar ortalama canlı ağırlıkları (358±8.10) birbirine yakın ve her gurupta toplamda 8 adet olacak şekilde kontrol grubu, akrilamid grubu, çörek otu yağı grubu ve akrilamid+çörek otu yağı grubu olarak rastgele dört eşit gruba ayrıldı. Sıçanlar plastik sıçan kafeslerinde her bir kafeste dört sıçan olacak şekilde barındırıldı (Şekil 2.1, Şekil 2.2.). Araştırma süresi boyunca tüm sıçanlar 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık döngüde 23±2^{o}C oda sıcaklığında, %50±10 nispi nem ortamında tutuldu. Tüm sıçanlara standart sıçan yemi ve su ad libitum olarak verildi. 15 gün boyunca her bir gruptaki sıçanlara aşağıda belirtildiği şekilde uygulamalar yapıldı.



Şekil 2.1. Sıçanların barınma ortamı.



Şekil 2.2. Sıçanların gruplandırılması.

1. Kontrol grubu: 15 gün boyunca standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verildi.

2. Akrilamid grubu: Deneme süresince standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Her bir sıçana 15 gün boyunca günde bir kez 1 cc distile suda çözdürülmüş 40 mg/kg akrilamid (Sigma) gavaj yolu ile verildi. (Yener ve ark 2013, Erdemli ve ark 2019, Tabeshpour ve ark 2019).

3. Çörek otu yağı grubu: Deneme süresince standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Deneme boyunca her bir sıçana 15 gün süreyle 0,35 ml çörek otu yağı (botalife) gavaj yolu ile verildi. (Mehri ve ark 2014a, Karimi ve ark 2019).

4. Akrilamid+Çörek Otu yağı grubu: Deneme süresince standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Ayrıca her bir sıçana 15 gün boyunca günde bir kez 1 cc distile suda çözdürülmüş 40 mg/kg akrilamid (Sigma) ve 0,35 ml çörek otu yağı (botalife) gavaj yolu ile verildi.

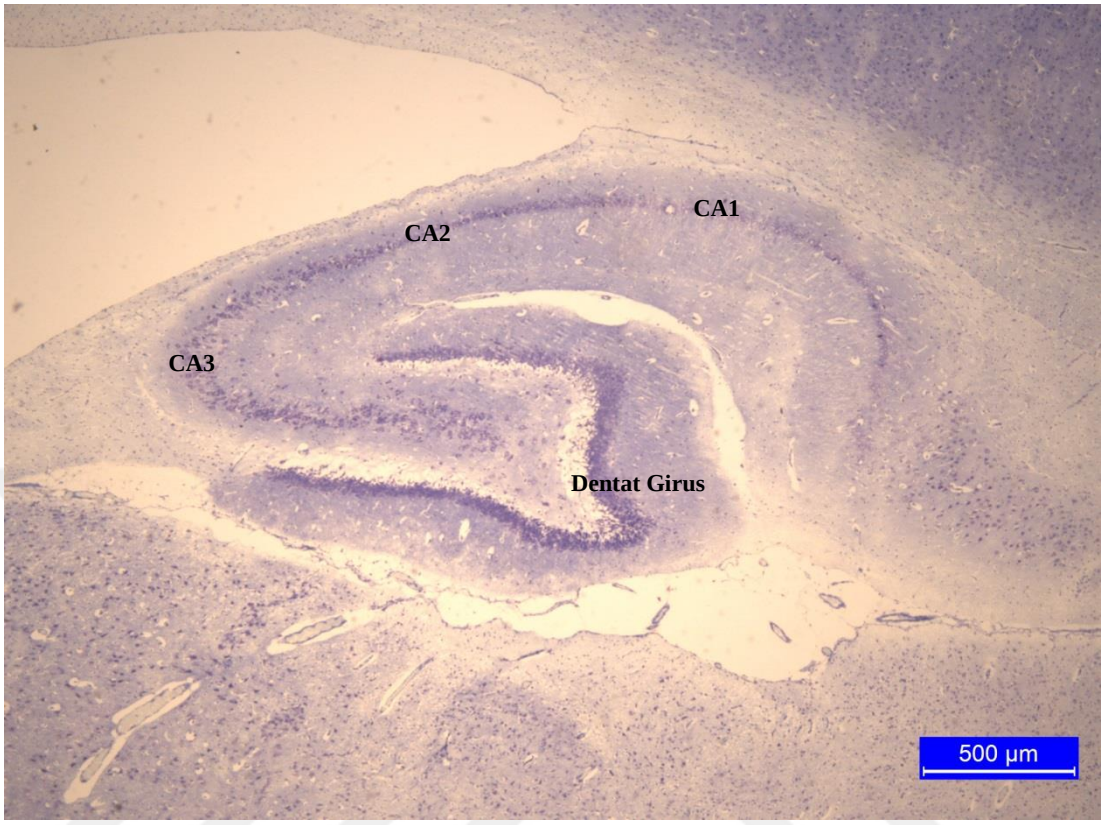
Sıçanların, deney başlangıcında, 5. günde, 10. günde ve deneyin son gününde ağırlık ölçümleri yapıldı. Deney sonunda sıçanlar genel anestezi altında (thiopental anestezisi, 40 mg/kg) servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanların beyinleri çıkarılıp ağırlıkları ölçüldü.

2.1. Işık Mikroskobik Doku Takibi

Beyinlerin ağırlık ölçümleri alındıktan sonra sağ ve sol hemisferleri ayrıldı. Sağ hemisfer %10'luk formol solüsyonunda 24-48 saat tespit edildi. Tespit işleminden sonra rutin doku takip işlemi uygulanıp, parafin bloklar oluşturuldu. Elde edilen bloklardan 5-6µm kalınlığında sagital kesitler alındı. Kesitlere Kluver Barrera, Krezil Viyole, May-Grünwald Giemsa (Culling ve ark 1985), ve AgNOR (Akar ve Sur 2010) boyamaları uygulandı.

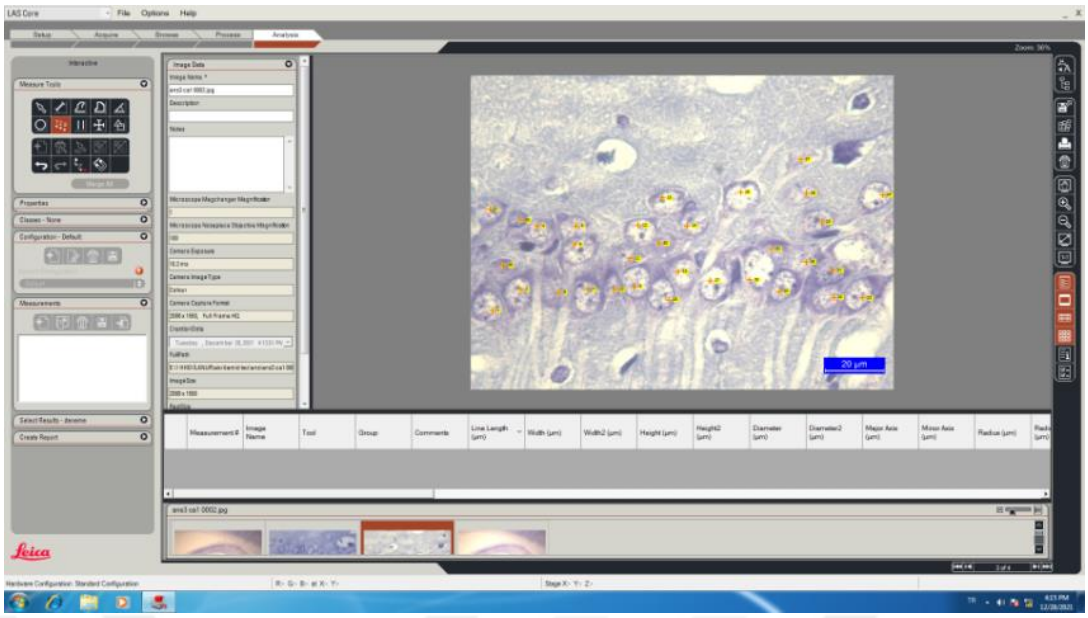
Hipokampusun kornu ammonis bölgelerinin sınırlarını ayırt etmek amacıyla Paxinos ve Watson (2006) sıçan beyni atlasından yararlanıldı. Kornu ammonisin

bölgelerinin ayrımında ayrıca hücre yoğunlukları ve büyüklükleri de dikkate alındı ve CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinin sınırları belirlenmiştir (Şekil 2.3).



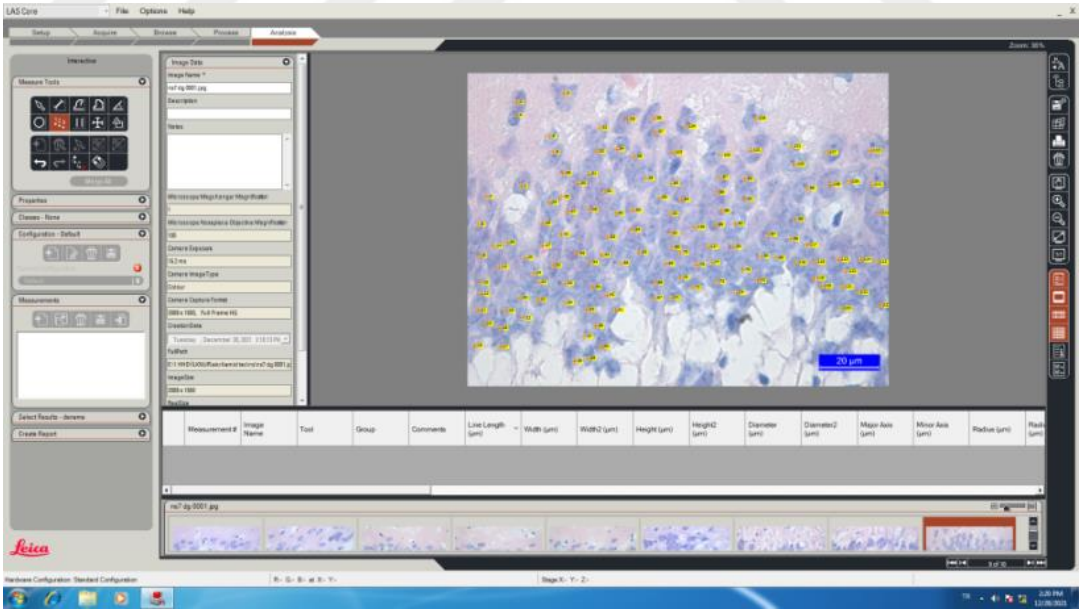
Şekil 2.3. Hipokampus genel görünüm. Kluver barrera boyama.

Kluver barrera boyaması yapılan her bir kesitte X100'lük büyütmede hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde ve her bir bölgede üç farklı alandan olmak üzere piramidal nöron sayımları gerçekleştirildi (Şekil 2.4). Ölçümler 15000 μm^2 (0.015 mm^2) alandaki piramidal nöronların sayılması ile gerçekleştirildi.



Şekil 2.4. Kornu ammonis. Hücre sayımı.

May-Grünwald Giemsa boyama işleminin ardından hipokampusun dentat girus alanından X100'lük büyütmede üç farklı bölgede granüler nöron sayımları gerçekleştirildi (Şekil 2.5). Ölçümler 15000 μm^2 (0.015 mm^2) alandaki granüler nöronların sayılması ile gerçekleştirildi.



Şekil 2.5. Dentat girus. Hücre sayımı.

Preparatlar Leica DFC-320 model kamera ataçmanı olan Leica DM2500 (Switzerland) model ışık mikroskobu ile incelendi. Ölçümler LAS (Leica

Application Suite, Switzerland) görüntü analiz programı kullanılarak gerçekleştirildi ve gerekli bölgelerin görüntüleri kaydedildi.

2.2. AgNOR Boyaması

Hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerindeki nöronların çekirdeklerindeki nükleolus organizatör bölgelerin (Nucleolar Organizer Region-NOR) alanlarının belirlenmesi için AgNOR boyama yöntemi kullanıldı. Boyama solüsyonunu hazırlanması için 2 farklı solüsyon hazırlandı: 1) 1 gr jelatin, 50 ml %1'lik formik asit içinde çözdürülüp A solüsyonu oluşturuldu. 2) Daha sonra 50 gr gümüş nitrat 100 ml distile suda çözdürülerek B solüsyonu elde edildi. Ardından A solüsyonundan 1 hacim, B solüsyonundan ise 2 hacim alınarak karıştırılıp çalışma solüsyonu oluşturuldu. Kesitler taze hazırlanmış ve süzülmüş çalışma solüsyonu içinde 37^{o}C'de 30 dk bekletildikten sonra distile suda yıkanıp artan dereceli alkol serilerinden geçirildi. Ardından ksilol ile şeffaflandırılıp entellan ile kapatıldı. Boyama işlemi sonrasında her bir preparatta hipokampusta CA1, CA2, CA3 bölgelerinde 25 adet piramidal nöron ve Dentat girus bölgesinde 25 adet granüler nöron değerlendirmeye alındı. Her bir hücrede çekirdek alanı, AgNOR sayısı ve AgNOR alan ölçümleri gerçekleştirildi ve nispi (%) AgNOR alanı belirlendi (Şekil 2.6). Preparatlar DFC-320 model kamera ataçmanı olan Leica DM2500 (Leica Microsystems, Switzerland) model ışık mikroskobu ile 40'lık büyütmede incelenip LAS görüntü analiz programı kullanılarak ölçümler gerçekleştirildi ve gerekli bölgelerin görüntüleri kaydedildi.



Şekil 2.6. AgNOR parametrelerinin ölçümü.

2.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA) ve ardından Duncan'ın post hoc testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analizler IBM SPSS v22.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

Deney süresince akrilamid verilen grupta yer alan sıçanlarda akrilamidin canlı ağırlığı olumsuz etkilediği görüldü. Deney boyunca beş günde bir yapılan ağırlık ölçümlerine bakıldığında kontrol grubundaki sıçanların ağırlıklarının arttığı, buna karşın akrilamid verilen gruptaki sıçanların ağırlıklarının azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Çörek otu yağı grubunda yer alan sıçanlarda ise ağırlıkların kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi. Akrimid+çörek otu yağı grubunda yer alan sıçanların ağırlıklarının akrilamid grubu ile benzer şekilde azalma gösterdiği ve bu azalmanın kontrol grubu ve çörek otu yağı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Sıçan canlı ağırlıkları.

	Kontrol	**Akrilamid**	**Çörek Otu Yağı**	**Akrilamid+Çörek Otu Yağı**
Canlı Ağırlığı 1. Gün	364,00±7,48	361,00±7,37	349,00±9,92	358,66±8,51
Canlı Ağırlığı 5. Gün	380,33±8,28^{a}	325,33±8,35^{b}	358,66±10,91^{ac}	333,66±10,71^{bc}
Canlı Ağırlığı 10. Gün	401,33±8,55^{a}	303,00±13,41^{b}	376,00±9,98^{a}	295,66±12,10^{b}
Canlı Ağırlığı 15. Gün	414,33±8,05^{a}	241,00±12,94^{b}	392,66±10,04^{a}	246,66±11,43^{b}

a,b,c: aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$).

Deney boyunca kontrol ve çörek otu yağı gruplarında yer alan hayvanların genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlendi. Akrilamid grubunda yer alan sıçanlarda ise yürüme güçlüğü, halsizlik ve arka ayak paralizi şekillendiği belirlendi (Şekil 3.1). Akrilamid+çörek otu yağı grubunda ise sıçanların halsiz oldukları fakat yürüme problemlerinin olmadığı belirlendi.



Şekil 3.1: Sıçanlarda deneysel uygulama sonrası halsizlik ve arka ayakta paraliz.

3.1. Makroskopik Bulgular

Yapılan incelemelerde sıçan beyinlerinin makroskopik olarak renk ve yapısal açıdan gruplar arasında fark göstermediği, fakat akrilamid grubundaki sıçanların beyinlerinin kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha küçük olduğu görüldü. Beyin ağırlıkları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akrilamid grubunda azaldığı, bu ağırlıktaki azalmanın benzer şekilde akrilamid+çörek otu yağı grubunda da gözlendiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Çörek otu yağı grubunda ise kontrol grubuna kıyasla sıçan beyin ağırlığında artış izlendi fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$) (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Sıçan beyin ağırlıkları.

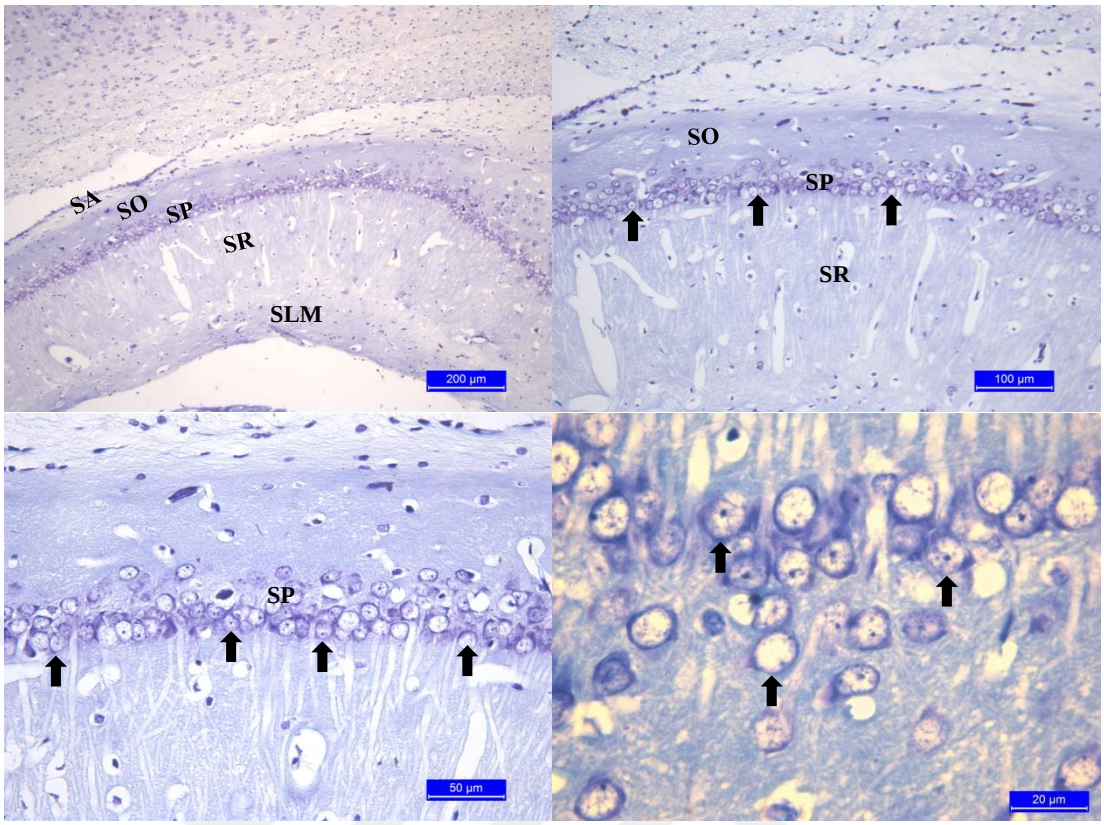
	Kontrol	**Akrilamid**	**Çörek otu yağı**	**Akrilamid+Çörek otu yağı**
Beyin Ağırlığı	$2,87\pm0,03^{a}$	$2,60\pm0,06^{b}$	$2,91\pm0,03^{a}$	$2,58\pm0,18^{b}$

a,b: aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$).

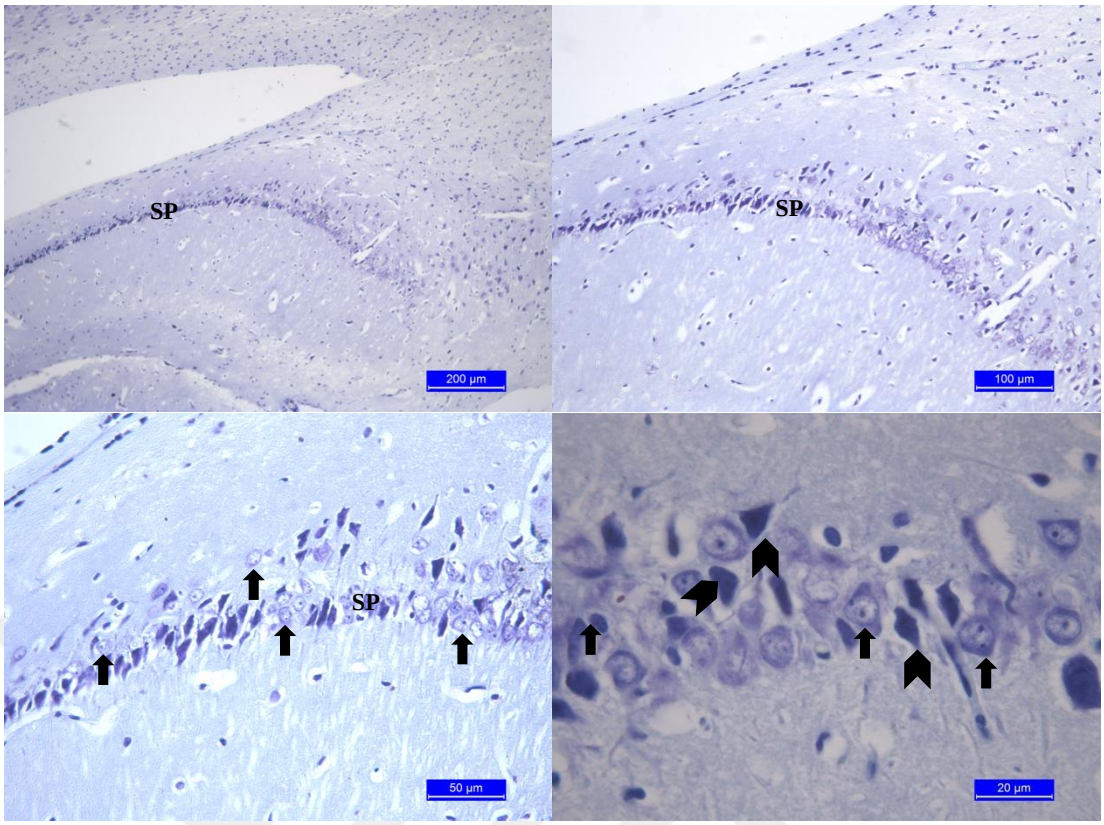
3.2. Mikroskopik Bulgular

Hipokampusun iç içe girmiş iki gri madde yapısından oluştuğu gözlendi. Bunlar; hipokampusun esas bölgesi kornu ammonis ve hipokampal sulkus ile ayrılan

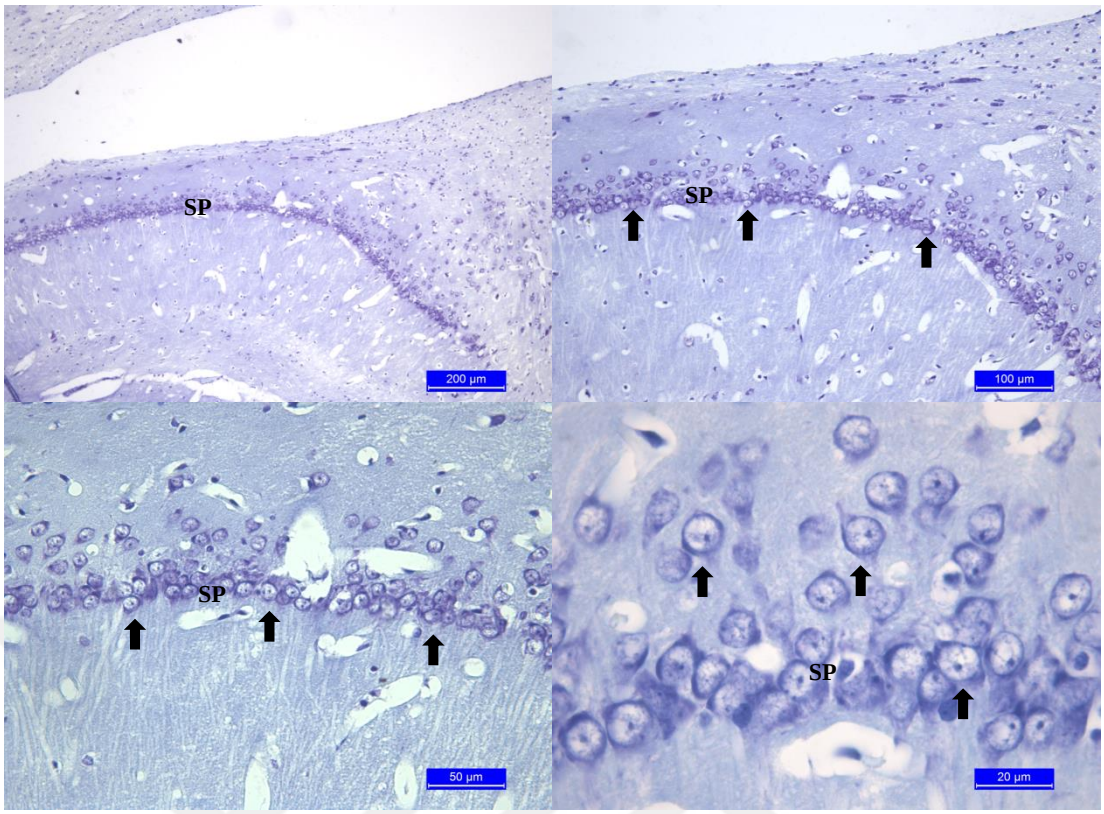
dentat girus bölgeleridir. Kornu ammonis ayrıca CA1, CA2 ve CA3 olmak üzere üç bölgeye ayrılan karakteristik bir C şekline sahipti. Dentat girus ise V şeklinde yapısı ile ayırt edildi. Detaylı incelemede kornu ammonisin beş katmandan oluştuğu görüldü; Ventrikulusa komşu olan stratum alveus, onun altında stratum oriens, hipokampuse şeklini veren ana katman stratum piramidale, stratum piramidale tabakasının altında stratum radiatum tabakası ve stratum lakunozum-molekülare tabakaları gözlendi. Stratum piramidale tabakasını oluşturan sağlıklı nöronların ökromatik çekirdeğe sahip olduğu gözlenirken belirgin çekirdekçikleri ve az miktarda sitoplazmaları dikkat çekti. CA1 bölgelesinde stratum piramidalede küçük yuvarlak ve sıkı paketlenmiş şekilde piramidal nöronlar dikkati çekerken, CA2 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar ise CA1 bölgesine kıyasla dağınık şekilde, daha küçük ve daha az sayıda olduğu gözlendi. CA3 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar ise daha büyük ve daha seyrek yerleşimli olduğu belirlendi. CA3 bölgesinde ayrıca stratum lusidum tabakasının varlığı da belirlendi. Dentat girus bölgesinin üç katmandan oluştuğu görüldü; stratum molekülare, ana hücre tabakası olarak kabul edilen stratum granülozum ve stratum polimorfikum. Yapılan genel histolojik değerlendirme sonrasında hipokampusta kontrol grubu ile çörek otu yağı grubunun benzer morfolojide olduğu gözlendi. Akrilamid grubunda hücre sayısının azaldığı koyu boyanmış ve dejenere olmuş nöronların varlığı dikkati çekti. Akrilamid+çörek otu yağı grubunda ise koyu boyanmış ve dejenere olmuş nöron sayısının azaldığı ve kontrole benzer morfolojinin ortaya çıktığı görüldü (Şekil 3.2-3.22).



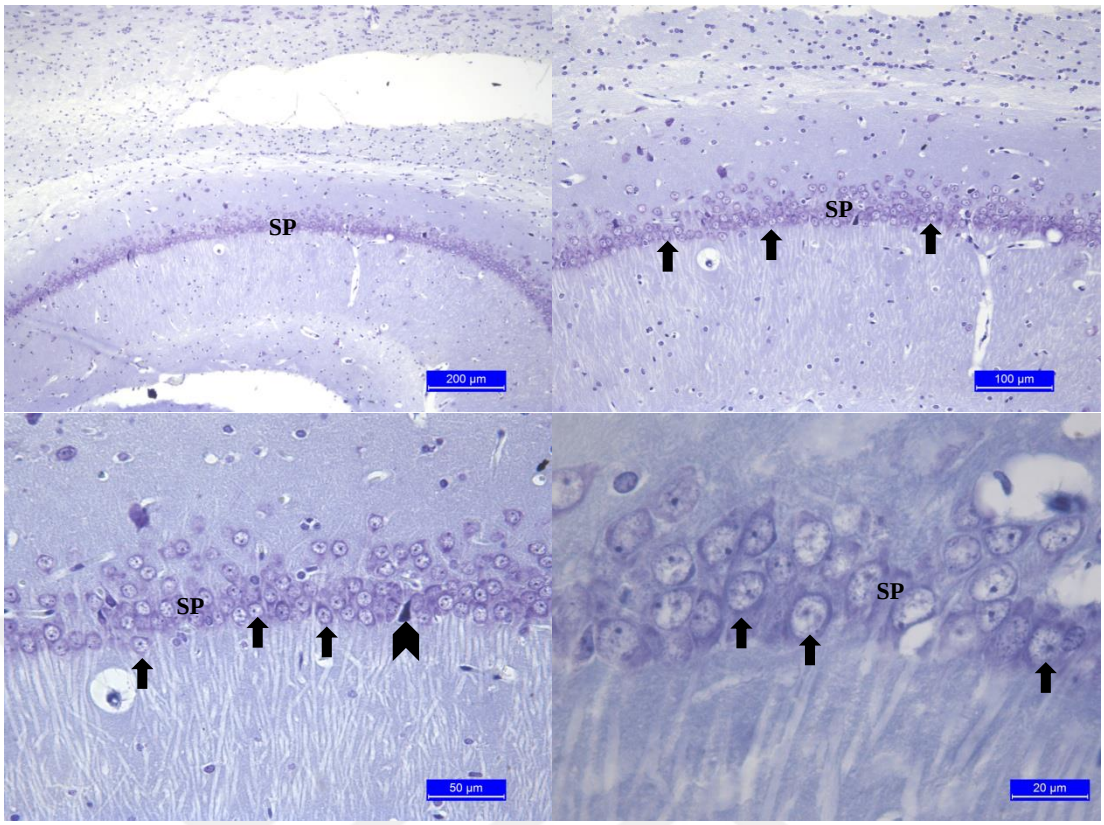
Şekil 3.2. Kontrol grubuna ait hipokampus kesitinin CA1 bölgesi. Stratum alveus (SA), Stratum oriens (SO), Stratum piramidale (SP), Stratum radiatum (SR), Stratum lakünozum-molekülare (SLM). Nöronlarda ökromatik çekirdek yapısı, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma gözlenmektedir. Oklar: sağlıklı nöronlar. Kluver barrera boyaması.



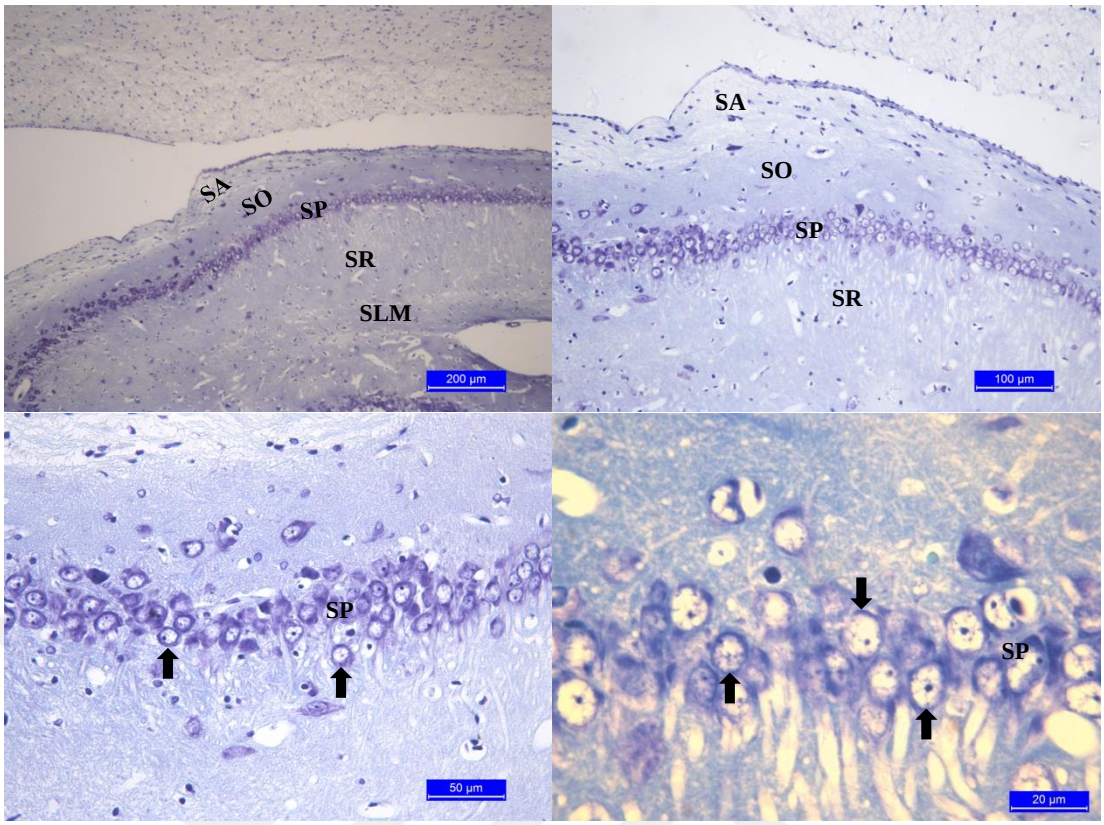
Şekil 3.3. Akrilamid grubuna ait hipokampus kesitinin CA1 bölgesi. Stratum piramidale (SP). Sağlıklı nöron yapısının (oklar) yanı sıra çok sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöronlar (ok başları) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



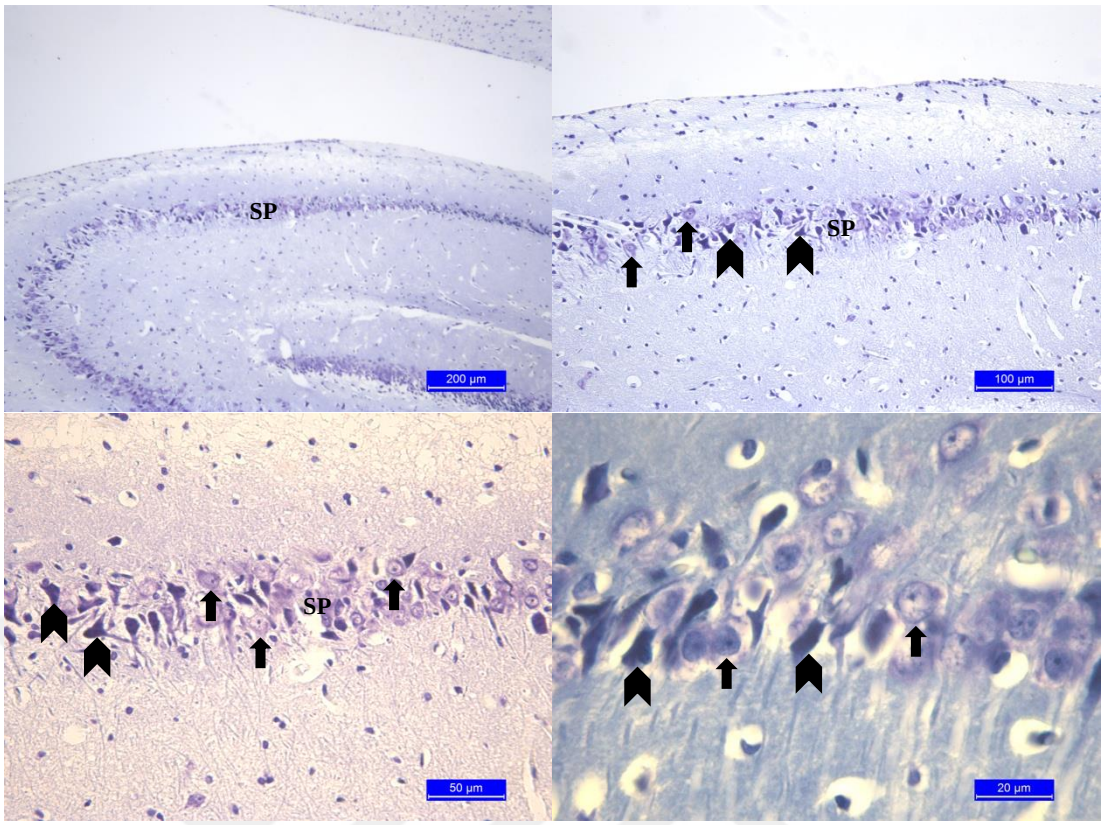
Şekil 3.4. Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA1 bölgesi. Stratum piramidale (SP). Kontrol grubu ile benzer şekilde ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma içeren yapısı ile sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



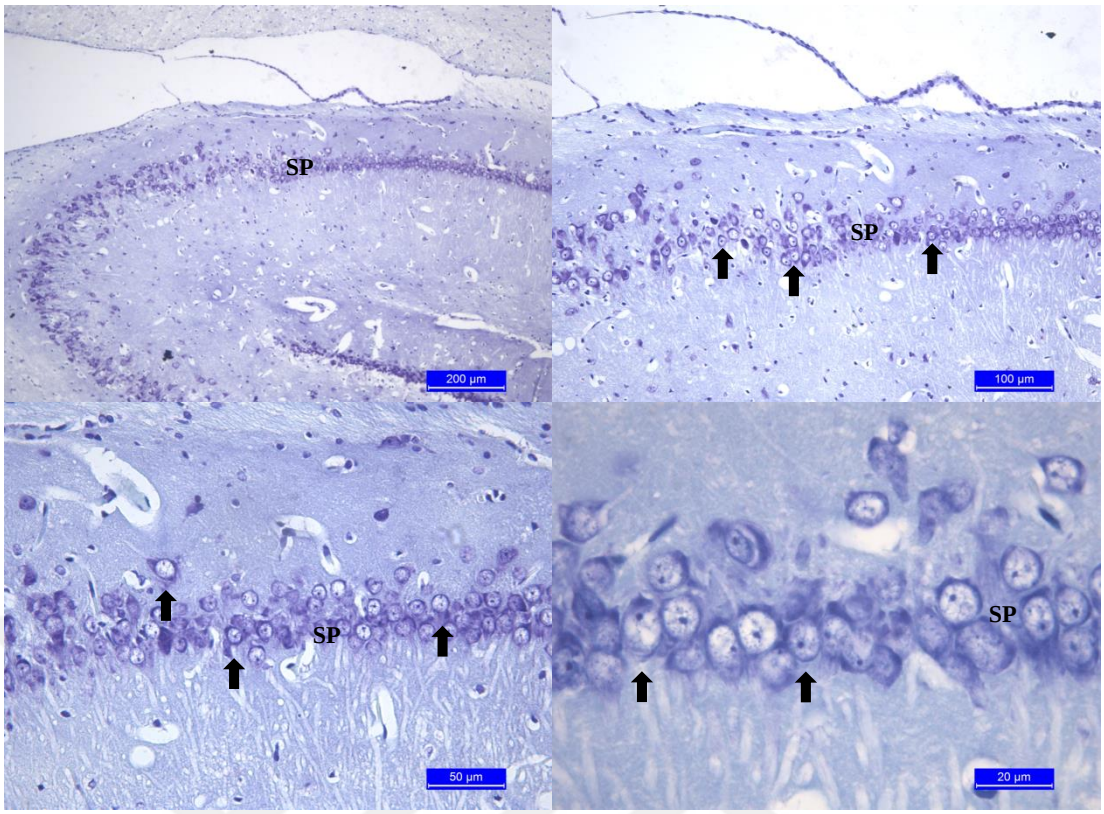
Şekil 3.5. Akrilamid+Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA1 bölgesi. Stratum piramidale (SP). Ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikleri ve az miktarda sitoplazmaları ile sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Çok az sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöronlar (ok başları) dikkati çekmektedir. Kluver barrera boyaması.



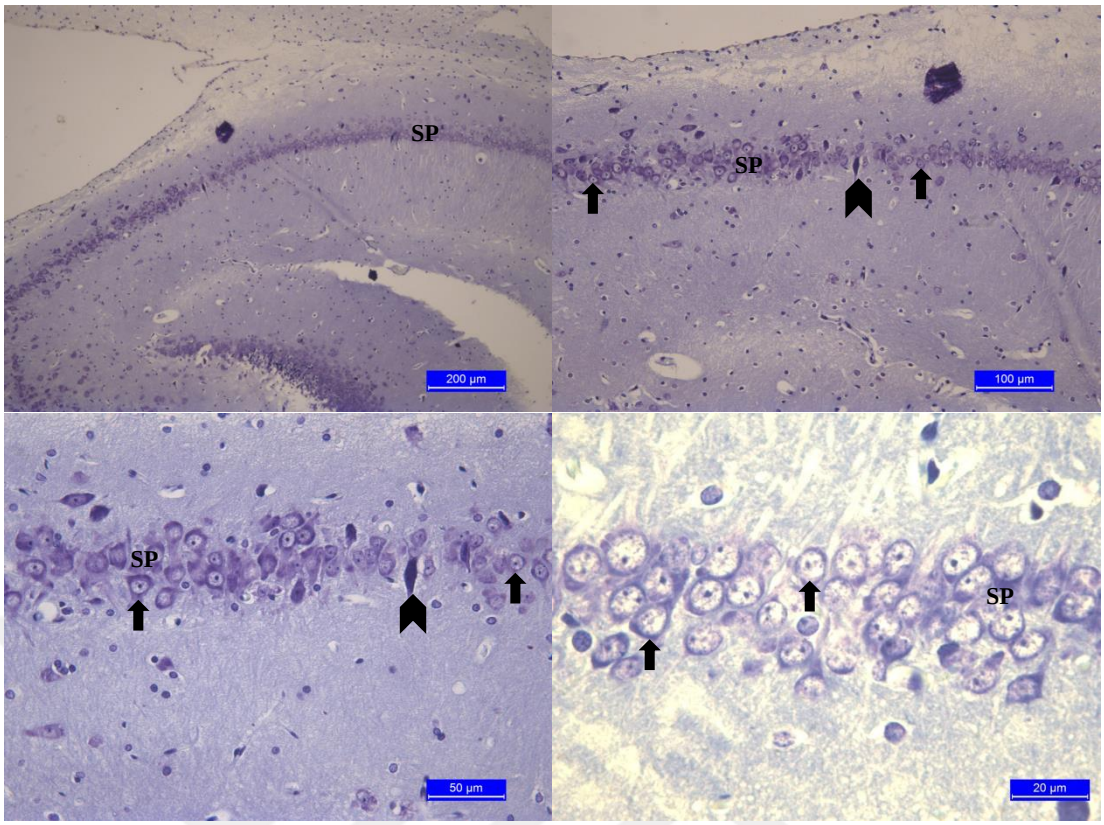
Şekil 3.6. Kontrol grubuna ait hipokampus kesitinin CA2 bölgesi. Stratum alveus (SA), Stratum oriens (SO), Stratum piramidale (SP), Stratum radiatum (SR), Stratum lakünozum-molekülare (SLM). Nöronlarda ökromatik bir çekirdek, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma gözlenmektedir. Oklar: sağlıklı nöronlar. Kluver barrera boyaması.



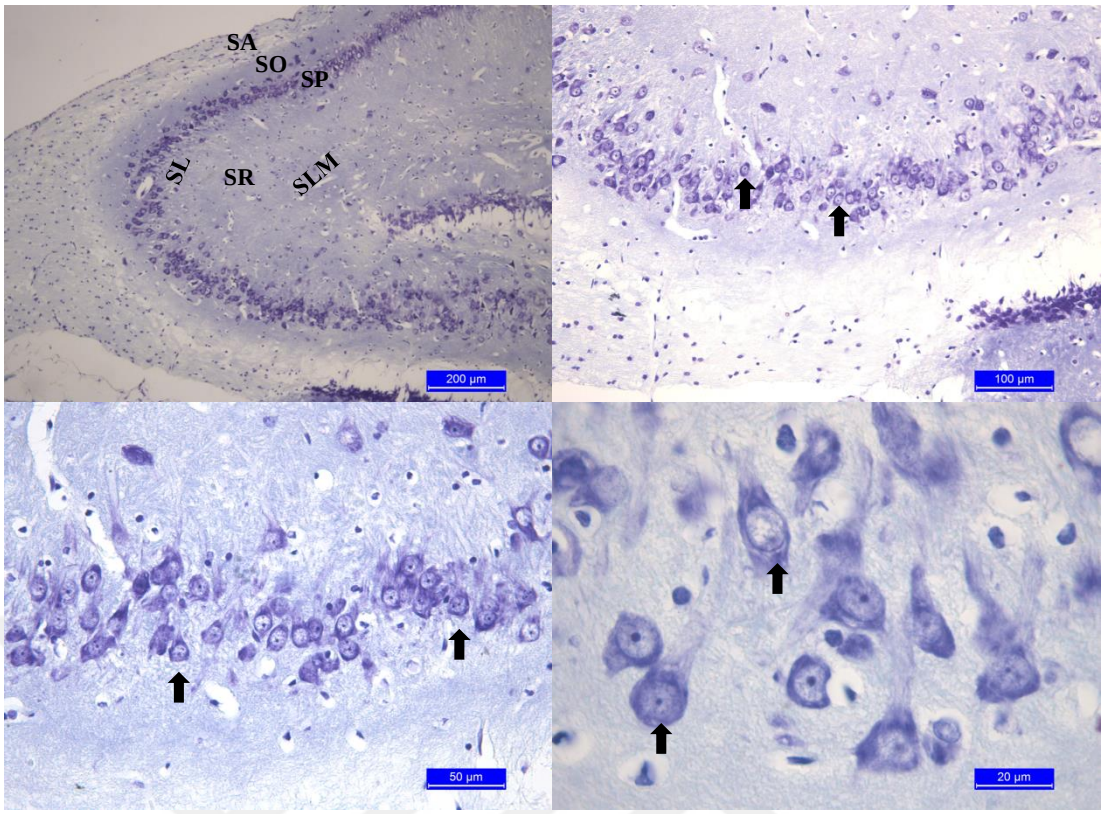
Şekil 3.7. Akrilamid grubuna ait hipokampus kesitinin CA2 bölgesi. Ortada organa C şeklini veren stratum piramidale (SP). Sağlıklı nöronların (oklar) yanı sıra çok sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöronlar (ok başları) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



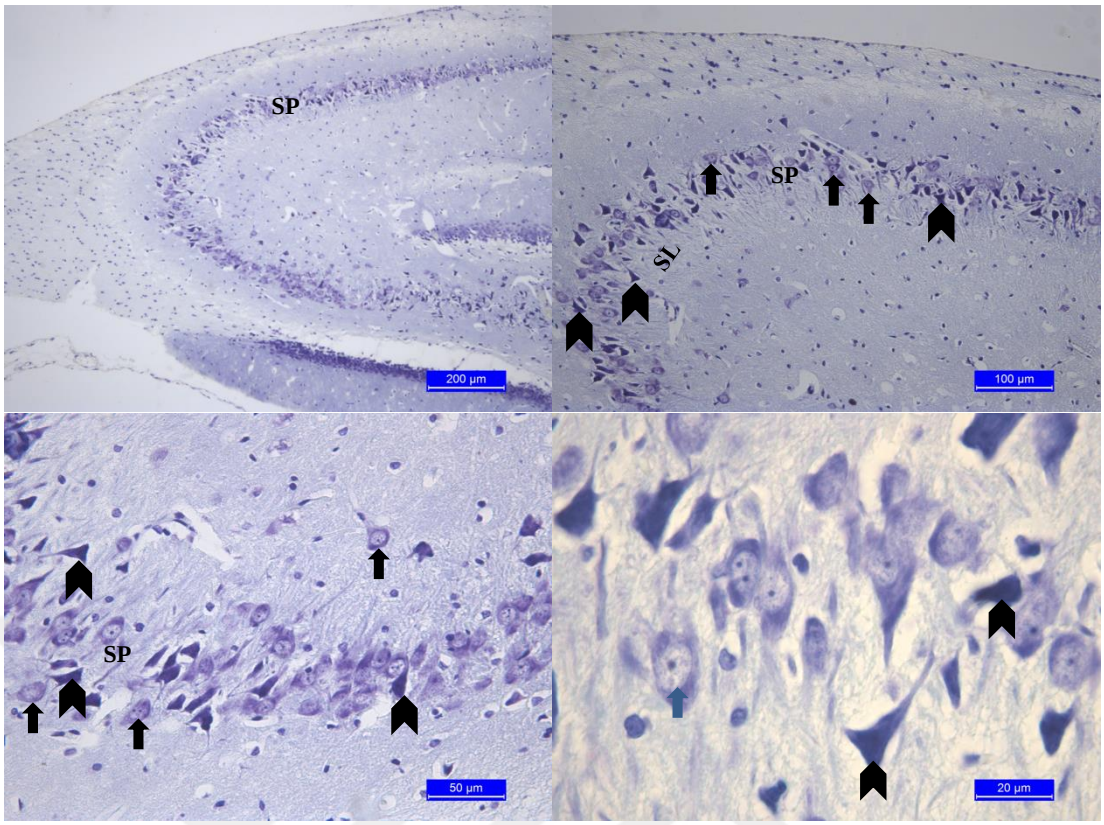
Şekil 3.8. Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA2 bölgesi. Ortada stratum piramidale tabakası izlenmektedir (SP). Kontrol grubu ile benzer şekilde ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma içeren sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



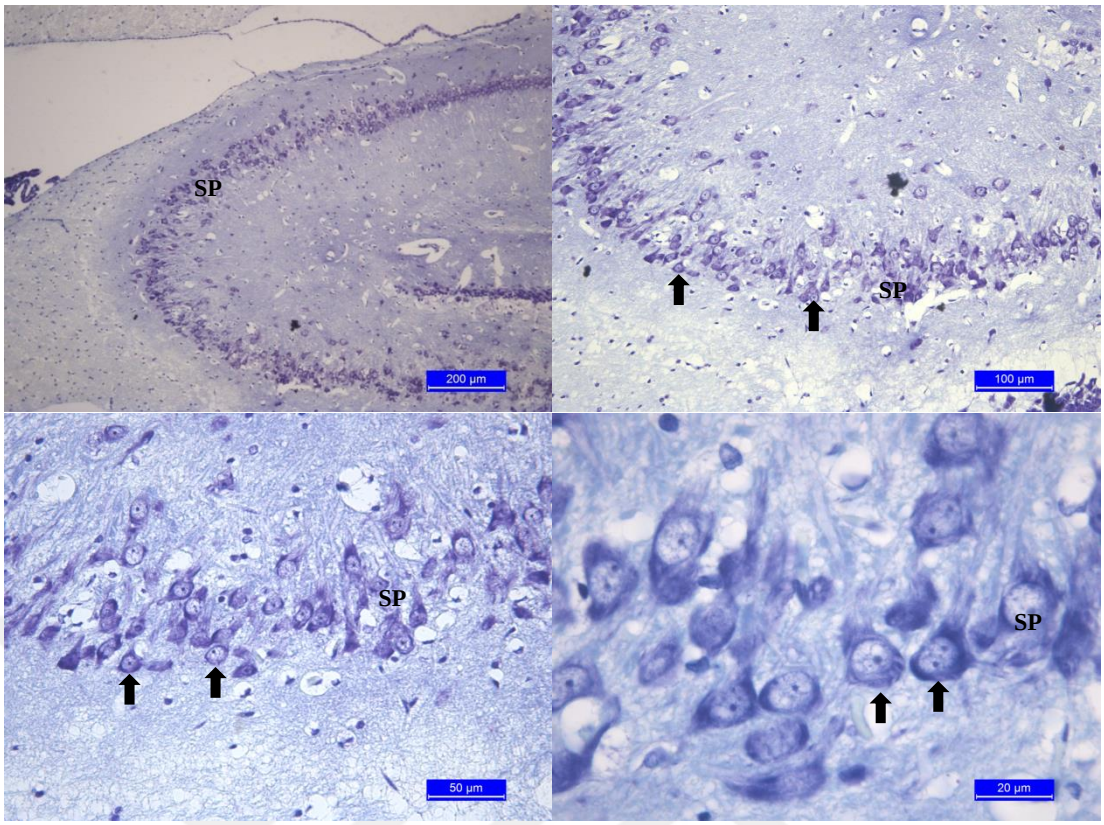
Şekil 3.9. Akrilamid+Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA2 bölgesi. Ortada stratum piramidale (SP). Ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikği ve az miktarda sitoplazması ile sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Çok az sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöronlar (ok başları) dikkati çekmektedir. Kluver barrera boyaması.



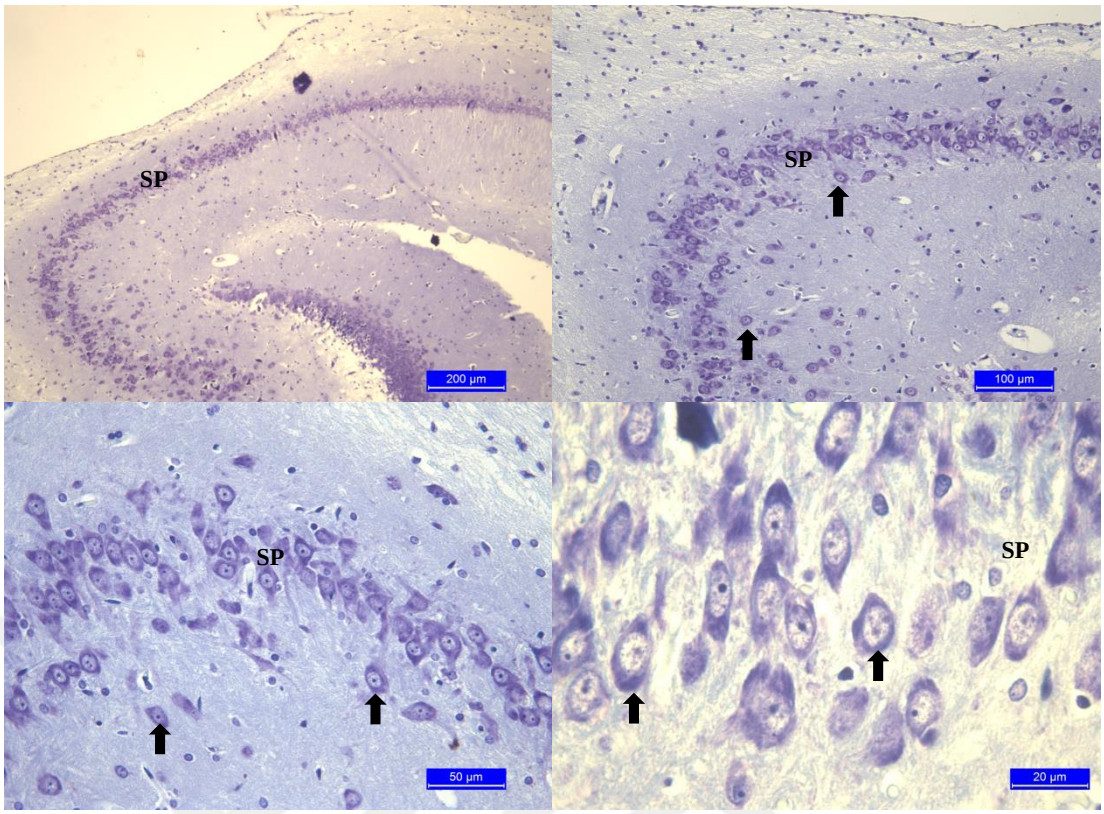
Şekil 3.10. Kontrol grubuna ait hipokampus kesitinin CA3 bölgesi. Hipokampusun altı tabakadan oluştuğu belirlendi. Ventrikulusun altında gözlenen stratum alveus (SA), Stratum oriens (SO), Stratum piramidale (SP), Stratum lusidum (SL), Stratum radiatum (SR), Stratum lakünozum-moleküläre (SLM). Nöronlarda ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma gözlenmektedir. Oklar: sağlıklı nöron yapısı. Kluver barrera boyaması.



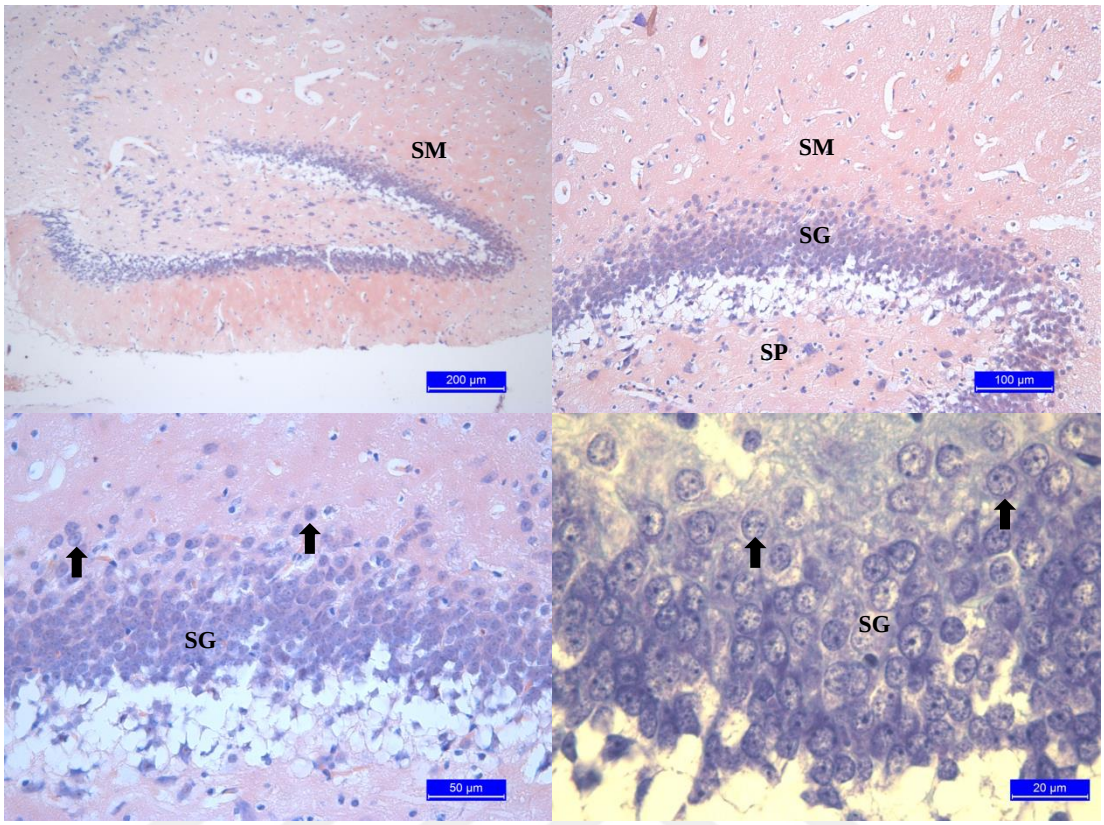
Şekil 3.11. Akrilamid grubuna ait hipokampus kesitinin CA3 bölgesi. Ortada organa C şeklini veren stratum piramidale (SP). Stratum lusidum (SL) Sağlıklı nöronların (oklar) yanı sıra çok sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöron yapısı (ok başları) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



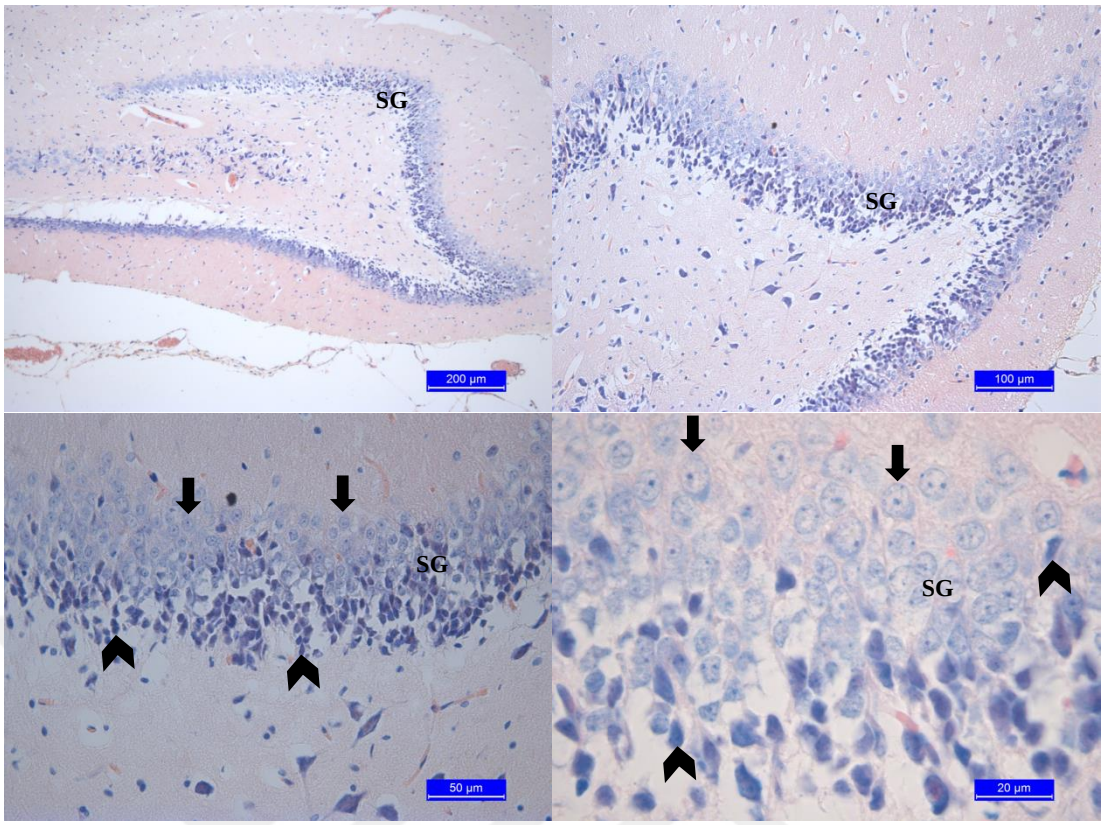
Şekil 3.12. Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA3 bölgesi. Ortada stratum piramidale izlenmektedir (SP). Kontrol grubu ile benzer şekilde ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikleri ve az miktarda sitoplazmalarıyla sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



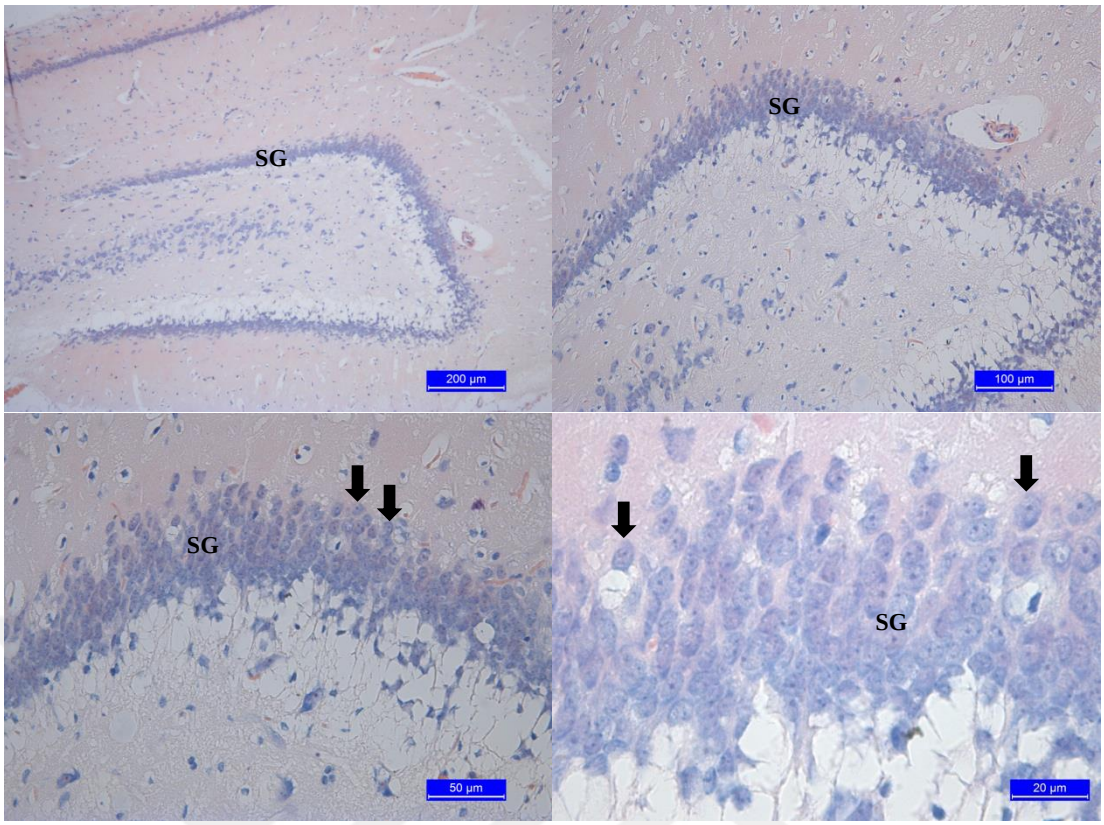
Şekil 3.13. Akrilamid+Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin CA3 bölgesi. Stratum piramidalede (SP) ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikleri ve az miktarda sitoplazmaları ile sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. Kluver barrera boyaması.



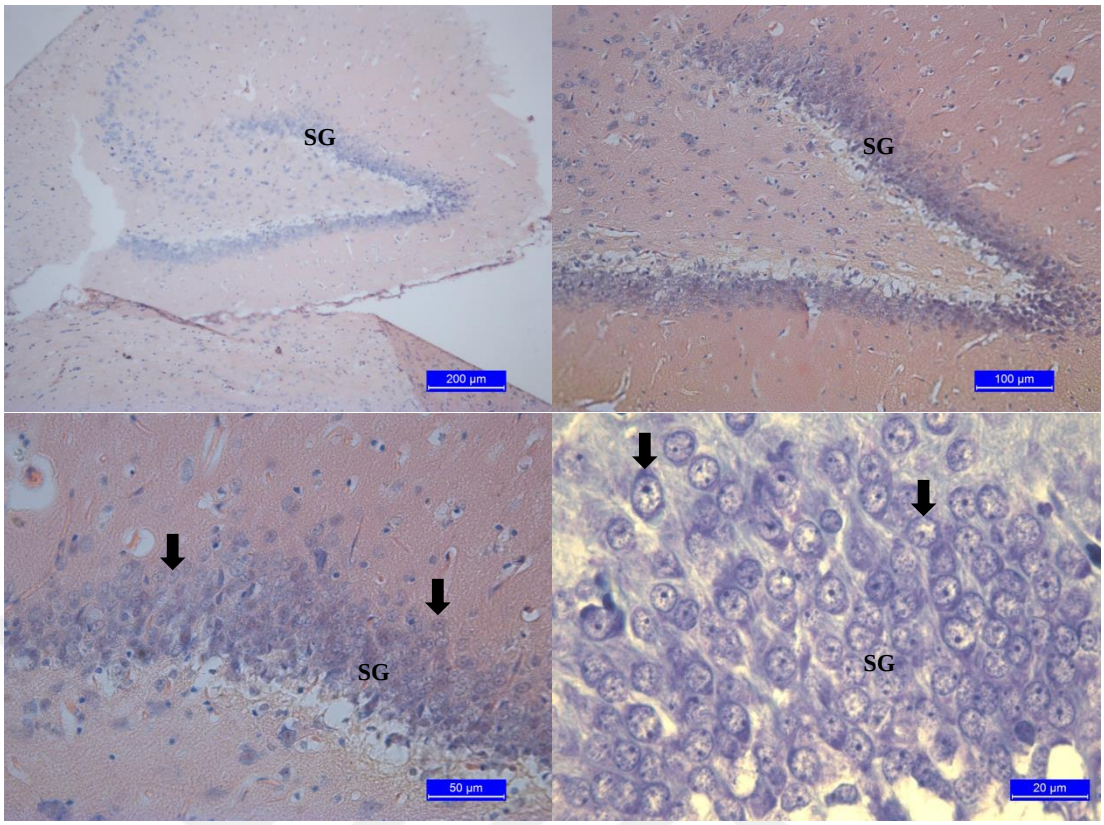
Şekil 3.14. Kontrol grubuna ait hipokampus kesitinin dentat girus bölgesi. Dentat girusun üç tabakadan oluştuğu belirlendi; Stratum molekülare (SM), Stratum granülozum (SG) ve Stratum polimorfikum (SP). Çok sayıda yuvarlak şekilli ökromatik çekirdeğe sahip granüler hücreler (oklar) gözlendi. May-Grünwald Giemsa boyaması.



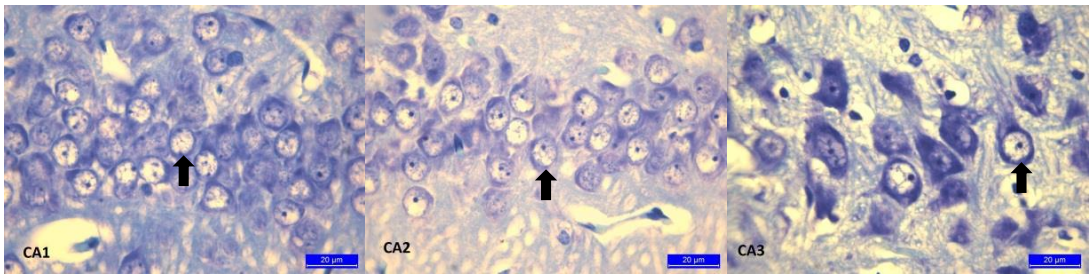
Şekil 3.15. Akrilamid grubuna ait hipokampus kesitinin dentat girus bölgesi. Straum granülozum (SG) bölgesinde sağlıklı nöronların (oklar) yanı sıra çok sayıda piknotik çekirdekli koyu boyanmış dejenere nöronlar (ok başları) gözlenmektedir. May-Grünwald Giemsa boyaması.



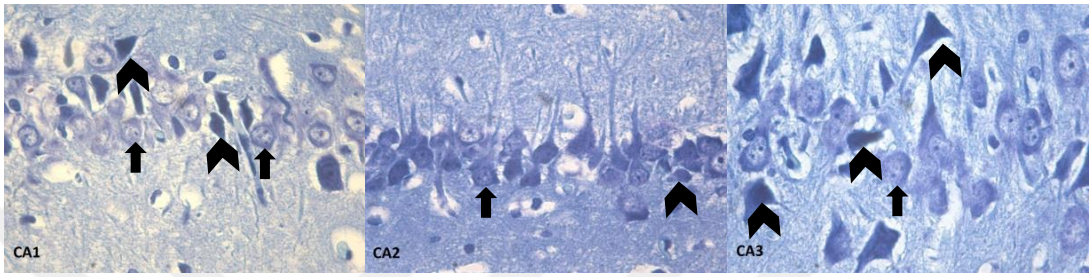
Şekil 3.16. Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin dentat girus bölgesi. Ortada stratum granülozum izlenmektedir (SG). Kontrol grubuna benzer şekilde ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik ve az miktarda sitoplazma içeren çok sayıda sağlıklı küçük nöronlar (oklar) gözlenmektedir. May-Grünwald Giemsa boyaması.



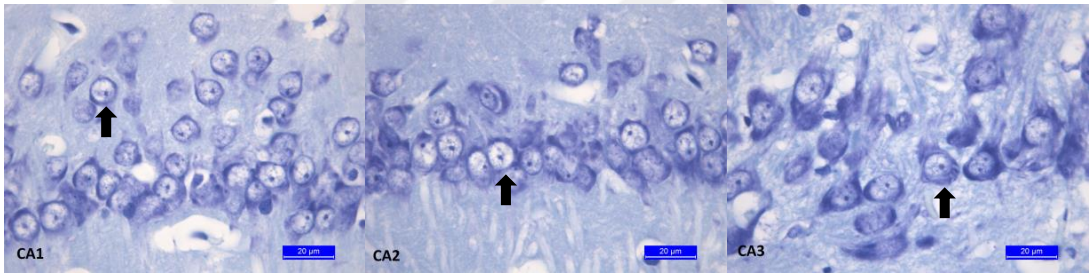
Şekil 3.17. Akrilamid+Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinin dentat girus bölgesi. Kontrol grubuna benzer şekilde stratum granülozumda (SG) ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikleri ve az miktarda sitoplazmaları ile tanınan çok sayıda küçük sağlıklı nöronlar (oklar) gözlenmektedir. May-Grünwald Giemsa boyaması.



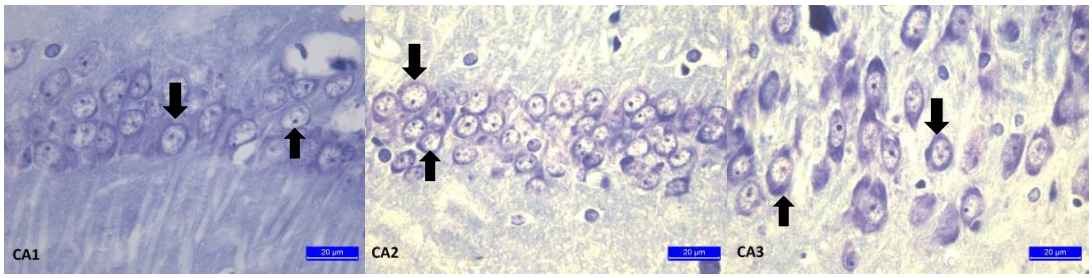
Şekil 3.18. Kontrol grubuna ait hipokampus kesitinde CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri. Oklar: Sağlıklı nöronlar. Kluver barrera boyaması.



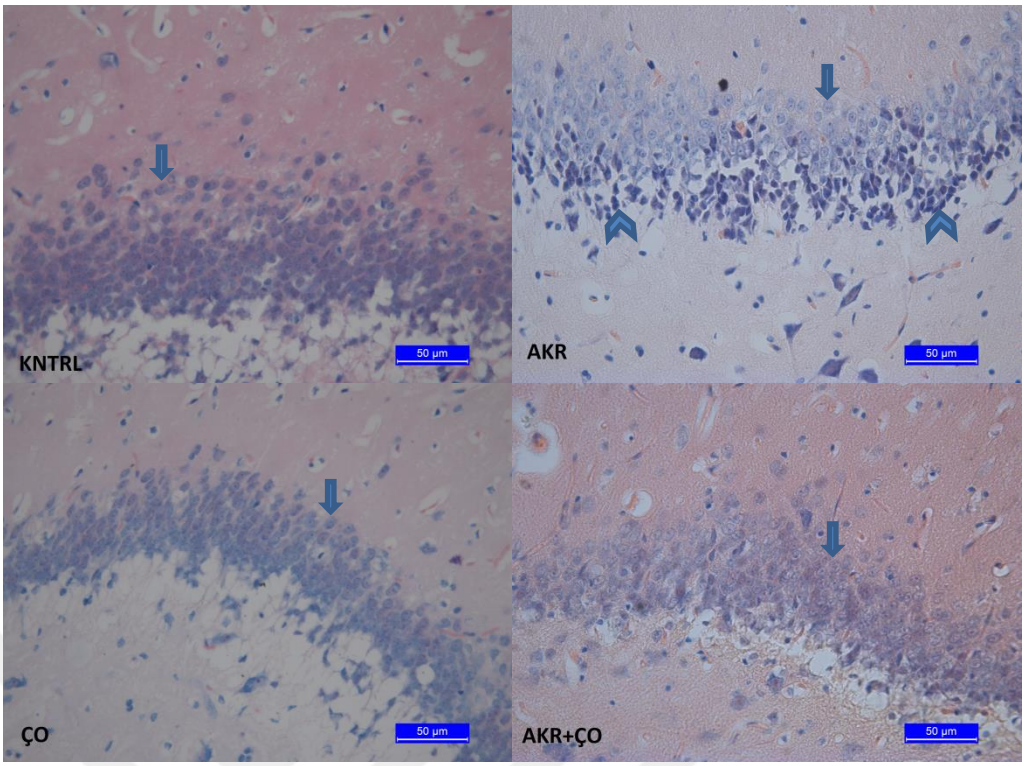
Şekil 3.19. Akrilamid grubuna ait hipokampus kesitinde CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri. Oklar: Sağlıklı nöronlar. Ok başları: Dejenere nöronlar. Kluver barrera boyaması.



Şekil 3.20. Çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinde CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri. Oklar: Sağlıklı nöronlar. Kluver barrera boyaması.



Şekil 3.21. Akrilamid+çörek otu yağı grubuna ait hipokampus kesitinde CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri. Oklar: Sağlıklı nöronlar. Kluver barrera boyaması.



Şekil 3.22. Hipokampus kesitine ait dentat girus bölgesi. Kontol (KNTRL). Akrilamid (AKR). Çörek otu yağı (ÇO). Akrilamid+çörek otu yağı (AKR+ÇO). Oklar: Sağlıklı nöronlar. Ok başları: Dejenere nöronlar. May-Grünwald Giemsa boyaması.

Hipokampusun CA1, CA2. CA3 ve dentat girus bölgelerinde yapılan hücre sayımları sonrasında kontrol grubu ile kıyaslandığında akrilamid grubunda hücre sayılarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Çörek otu yağı grubuna ait kesitlerde yapılan sayımlarda elde edilen sonuçların tüm bölgelerde kontrol grubuna yakın olduğu ve istatistiksel açıdan bir fark bulunmadığı gözlendi ($p>0,05$). Akrilamid+çörek otu yağı grubunda tüm bölgelerde hücre sayıları akrilamid grubuna kıyasla arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) ve kontrol gurubu ile benzer olduğu ($p>0,05$) dikkati çekti (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde piramidal nöron sayısı.

	CA1	CA2	CA3	Dentat Girus
Kontrol	39,11±1,53^{a}	27,55±1,12^{a}	18,94±1,26^{a}	77,94±2,38^{a}
Akrilamid	25,05±1,19^{b}	21,22±0,68^{b}	13,61±0,78^{b}	63,50±1,58^{b}
Çörek otu yağı	36,55±0,63^{a}	26,66±1,00^{a}	18,72±0,85^{a}	76,77±2,86^{a}
Akrilamid+Çörek otu yağı	35,55±1,31^{a}	24,77±0,94^{a}	17,88±0,85^{a}	74,22±3,12^{a}

^{a,b,}: aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$).

AgNOR parametreleri ile ilgili elde edilen veriler aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 3.4).

Hipokampusun CA1 bölgesi göz önüne alındığında AgNOR sayısı, AgNOR alanı ve nispi AgNOR alanı açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akrilamid grubunda önemli şekilde bir azalma olduğu ($p<0,05$); çekirdek alanında ise istatistiksel bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Çörek otu yağı ve akrilamid+çörek otu yağı gruplarının kontrol grubu ile benzer olduğu dikkati çekti.

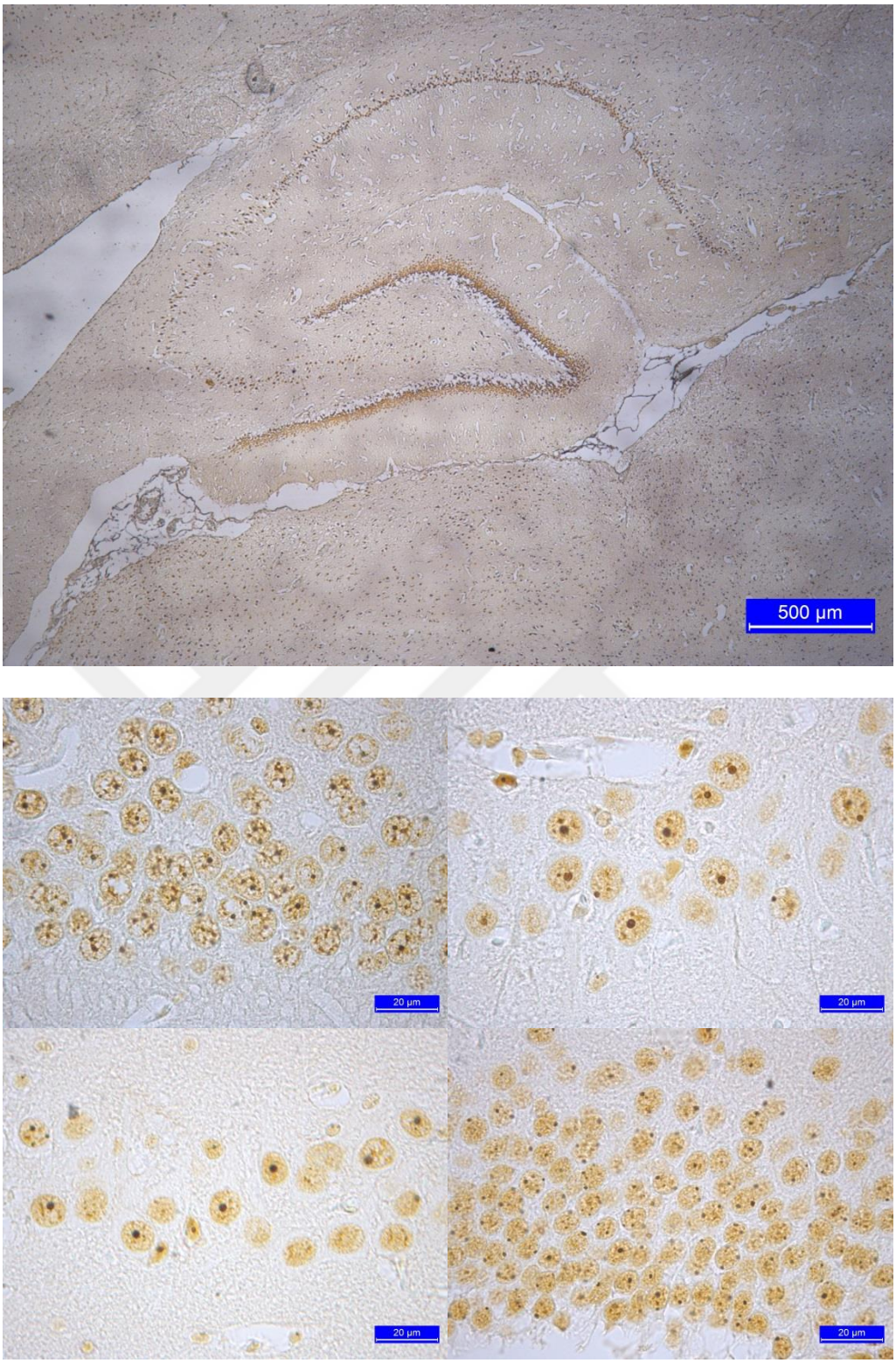
Hipokampusun CA2 bölgesinde AgNOR sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akrilamid grubunda ve akrilamid+çörek otu yağı grubunda azaldığı ve bu azalmanın anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Kontrol grubu ile çörek otu yağı grubu karşılaştırıldığında ise AgNOR sayısı açısında istatistiksel bir fark olmadığı ($p>0,05$) görüldü. AgNOR alanının akrilamid grubunda azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) fakat nispi AgNOR açısından gruplar arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

Hipokampusun CA3 bölgesinde AgNOR alanı açısından kontrol grubuna kıyasla akrilamid grubunda istatistiksel bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlendi. Ayrıca çörek otu yağı grubu ve akrilamid grubu karşılaştırıldığında kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği belirlendi. Nispi (%) AgNOR alanı değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($p>0,05$) gözlendi. Dentat girus bölgesinde AgNOR sayısının, AgNOR alanının ve nispi AgNOR alanının akrilamid grubunda kontrol grubuna kıyasla azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$), çörek otu yağı ve akrilamid+çörek otu yağı gruplarının kontrol grubu ile benzer olduğu ($p>0,05$) dikkati çekti. Çekirdek alanında ise istatistiksel bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlendi (Tablo 3.4) (Şekil 3.6).

Tablo 3.4. Hipokampusun CA1,CA2, CA3 ve Dentat girus bölgelerinde AgNOR ölçüm parametreleri.

		Kontrol	Akrilamid	Çörek otu yağı	Akrilamid+Çörek otu yağı
CA1	**AgNOR Sayısı**	2,53±0,10[a]	1,94 ±0,08[b]	2,54±0,11[a]	2,52±0,11[a]
	AgNOR Alanı	5,33±0,13[a]	3,71±0,09[b]	5,38±0,23[a]	4,93±0,21[a]
	Çekirdek Alanı	64,30±1,70	63,72±1,46	64,53±1,45	64,26±1,29
	Nispi (%) AgNOR alanı	9,11±0,54[a]	6,46±0,26[b]	9,10±0,47[a]	8,57±0,52[a]
CA2	**AgNOR Sayısı**	2,75±0,11[a]	2,18±0,11[b]	2,62±0,12[a]	2,10±0,10[b]
	AgNOR Alanı	5,48±0,15[a]	3,76±0,13[b]	5,52±0,17[a]	5,14±0,16[a]
	Çekirdek Alanı	69,81±1,63	67,15±2,27	70,18±1,29	69,44±1,30
	Nispi (%) AgNOR alanı	8,25±0,24	7,53±0,58	8,48±0,38	7,90±0,36
CA3	**AgNOR Sayısı**	3,00±0,11[a]	2,28±0,08[b]	2,46±0,12[b]	2,09±0,10[b]
	AgNOR Alanı	7,86±0,32[ab]	7,46±0,24[b]	7,65±0,12[ab]	8,25±0,23[a]
	Çekirdek Alanı	78,84±2,56	76,05±1,88	79,26±2,92	76,66±1,06
	Nispi (%) AgNOR alanı	12,32±0,79	10,72±0,44	12,32±0,72	11,05±0,35
Dentat girus	**AgNOR Sayısı**	2,32±0,09[a]	1,75±0,07[b]	2,34±0,10[a]	2,03±0,10[c]
	AgNOR Alanı	4,20±0,15[a]	2,89±0,07[b]	4,37±0,18[a]	4,06±0,21[a]
	Çekirdek Alanı	35,65±0,89	35,51±0,81	35,95±0,58	35,56±0,72
	Nispi (%) AgNOR alanı	12,50±0,48[a]	8,76±0,29[b]	12,57±0,57[a]	12,16±0,72[a]

a,b,c: aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$).



Şekil 3.23. Hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerinde AgNOR boyaması.

4. TARTIŞMA

Metaller, organofosfor ve kalıcı organik kirleticiler gibi çevresel toksinler, artan endüstriyel faaliyetlerin bir sonucu olarak su, hava ve gıdaların çevresel toksik maddelerle kirlenmesine yol açar. Artan sanayileşme nedeniyle insanların bu maddelere sürekli maruz kalması, önemli halk sağlığı sorunlarını ortaya çıkarmaktadır. Toksik maddelere doğrudan ya da dolaylı olarak uzun süre maruz kalmak, bunların MSS'de birikmesine ve ardından nörotoksisitelere yol açar (Ijomone ve ark 2021). Akrilamid güçlü nörotoksik etkiye sahip kimyasal bir maddedir. Gıda kaynaklı olarak veya sanayi ürünleri yoluyla dermal, oral yoldan veya solunum yoluyla akrilamide maruz kalınabilmektedir. Bu maruziyetler sonrasında akrilamidin olası etkilerinin ortaya konulması ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ve yapılan çalışmalarda nörotoksik etkinin hem hayvanlar hem de insanlar üzerinde gözlendiği bildirilmiştir. Epidemiyolojik ve toksikolojik çalışmalar sonucunda, akrilamid maruziyetinin erkeklerde ve deney hayvanlarında hafif bilişsel değişiklik ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte, akrilamide maruz kalmanın bellek kayıplarına yol açma mekanizmaları hakkında bilgiler sınırlıdır.

Akrilamidin olası toksik etkisinin oksidatif stres kaynaklı olabileceği düşünüldüğünden çeşitli çalışmalarda antioksidan maddeler kullanılarak akrilamidin negatif etkilerinin geri döndürülmesi amaçlanmıştır. Ayrıca akrilamidin toksisitesini hafifletecek özel bir ilaç bulunmamasından dolayı da çalışmalarda terapötik bitkiler üzerine özellikle odaklanılmıştır. Çörek otu birçok farmakolojik etkiye sahip olması sebebi ile çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Çakmakçı ve Çakır 2011). Hipokampusun eşsiz yapısı ve fonksiyonu bakımından nörolojik çalışmalarda özellikle ilgilenilmiş ve üzerinde çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışma ile nörotoksik etkisi olan akrilamidin ve nöroprotektif etkisi olduğu bildirilen çörek otu yağının hipokampus üzerindeki etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Yürüyüş anormalliği, akrilamidin neden olduğu nörotoksisitenin klasik bir bulgusu olarak kabul edilir ve nörolojik değişikliklerin başlangıcı ve ilerlemesinin nispeten hassas bir ölçüsü olarak değerlendirilir (Zhao ve ark 2022). Chauhan ve ark (1993) 15 mg/kg akrilamid uygulamasının 2 hafta sonunda sıçanlarda arka bacak

kaslarında zayıflığa neden olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek dozda akrilamid (50 mg/kg) uygulamasının akrilamid aracılı nörotoksisitenin tipik özellikleri olan arka bacak felci ve yürüme güçlüğü ile sonuçlandığı gösterilmiştir (LoPachin 2004, Park ve ark 2010). Huang ve ark (2017) 4 hafta boyunca 20 mg/kg akrilamide maruz bırakılan farelerin, canlı ağırlıklarını destekleyemediği, yürüme sırasında titreme ve arka bacak kaslarında zayıflık veya felç şekillendiği, hareket kapasitelerinde azalma olduğu bildirilmiştir. Subkronik akrilamid maruziyetinin araştırıldığı bir çalışmada 14 hafta boyunca gavaj yoluyla 5 ve 10 mg/kg/gün dozlarında akrilamide maruz bırakılan sıçanlarda yürüme anormalliği tespit edildiği bildirilmiştir (Yan ve ark 2022). Yüksek doz (50 mg/kg) akrilamid maruziyetinde farelerde 10 gün sonra titreme, yürüme güçlükleri ve halsizlik gözlenmeye başladığı gösterilmiştir (Zhao ve ark 2022). Mehri ve ark (2014a) yaptıkları bir çalışmada çörek otunun etken maddesi olan timokinon uygulamasının 11 gün boyunca 50 mg/kg akrilamide maruz kalan sıçanlarda ortaya çıkan yürüme anormalliklerini iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da literatür verileri ile uyumlu olarak akrilamid uygulaması sonrasında sıçanlarda 1. hafta sonunda yürüme güçlüğü, halsizlik ve arka ayak paralizi şekillendiği, akrilamid ile birlikte çörek otu yağı verilen grupta ise yürüme anormalliklerinin şekillenmediği belirlenmiştir.

Akrilamid uygulaması sağlıklı bir gelişimin en önemli göstergelerinden biri olan normal kilo alımını değiştirebilmektedir. Lai ve ark (2017) gebe sıçanlara 15 gün boyunca 20 mg/kg akrilamidin uygulanması sonrasında ortalama canlı ağırlığının önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Nagashima ve ark (2019)'nın yaptıkları bir çalışmada ise sıçanlar 5 hafta boyunca günde 20 mg/kg akrilamide maruz bırakılmıştır. Çalışma süresince kontrol grubundaki, sıçanların canlı ağırlıkları düzenli bir artış gösterirken akrilamid uygulaması yapılan gurupta çalışmanın 30. gününden itibaren sıçan canlı ağırlıklarının azaldığını bildirmişlerdir. Chauhan ve ark (1993) 2 hafta boyunca günlük 15 mg/kg akrilamidin sıçanlara içme suyu ile verilmesinin ardından kontrol grubuna kıyasla akrilamid grubunda canlı ağırlık artışının daha az olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Zhao ve ark (2022) da akrilamidin farelerin büyümesini olumsuz etkilediği; orta ve yüksek doz akrilamid uygulaması ile farelerin ortalama canlı ağırlıklarının düştüğü gösterilmiştir. Oral yoldan uygulama yapılan bu çalışmalardan farklı şekilde Park ve ark (2010) sıçanlara 2 hafta boyunca intraperitoneal olarak 10 mg/kg ve 50 mg/kg akrilamid uygulamışlar

ve akrilamid uygulanan farelerin günlük canlı ağırlık artışlarının normal olduğu, 2 haftalık süre içinde canlı ağırlıklarının arttığını ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama canlı ağırlıkları arasında önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Canlı ağırlığına çörek otunun etkisi ile ilgili Asiaei ve ark (2017)'nın yaptıkları çalışmada çörek otunun canlı ağırlığa bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Zaoui ve ark (2002) yaptıkları bir çalışmada sıçanlara 12 hafta boyunca günde 1 ml/kg çörek otu yağı vermenin canlı ağırlık artışında azalmaya neden olduğunu; bu etkinin 6 haftalık uygulama sonrasında istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da literatür verilerine uygun olarak 2 hafta boyunca gavaj yoluyla 40 mg/kg akrilamid uygulamasının sıçanların canlı ağırlığında belirgin bir azalmaya neden olduğu; Akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının ise akrilamid grubu ile karşılaştırıldığında sıçanların canlı ağırlığında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Tablo 3.1).

Wise ve ark (1995) yaptıkları bir çalışmada sıçanlara uyguladıkları akrilamid sonrasında beyin ağırlıklarında azalma gözlemişlerdir. Benzer şekilde Nagashima ve ark (2019)'da 35 gün boyunca 20 mg/kg akrilamid uygulamasının ardından beyin ağırlığının önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada Erdemli ve ark (2021) gebe sıçanlara 20 gün boyunca 10 mg/kg akrilamid uygulamışlar ve gebeliğin 20. gününde alınan fetüs beyinlerinin ağırlıklarında önemli derecede azalma tespit etmişlerdir. Sharma ve ark (2020) da benzer şekilde 30 mg/kg akrilamid uygulamasının sıçanlarda beyin ağırlığında önemli bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Çörek otunun beyin ağırlıkları üzerine etkisinin araştırıldığı literatür verileri incelendiğinde farklı doz ve yöntemlerin kullanıldığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Aminu ve ark 2019) sıçanlara 15 gün boyunca 1 ml/kg çörek otu yağı oral olarak uygulanmış ve çalışma sonunda beyin ağırlıkları ölçülmüştür. Yapılan tartımlar sonrasında çörek otu yağının beyin ağırlığını arttırdığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde oral olarak verilen 1 ml/kg çörek otu yağının nispi beyin ağırlığını da arttırdığı gösterilmiştir (Folarin ve ark 2020). Sunulan bu çalışmada da literatür verilerine benzer olarak akrilamid uygulaması sonrası beyin ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı belirlendi. Çörek otu yağının beyin ağırlığında artışa neden olduğu ama bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Ayrıca akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının beyin ağırlığı üzerine akrilamidin neden olduğu azalmayı geri çeviremediği de dikkati

çekti. Literatür verilerinden farklı olarak çörek otu yağının beyin ağırlığında anlamlı şekilde artışa neden olmamasının kullanılan doza bağlı olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Farouk ve ark (2021)'nın yaptıkları bir çalışmada 21 gün boyunca 25 mg/kg akrilamid uygulamasının hipokampusta piknotik çekirdekli, koyu boyanmış, küçülmüş nöronlarda artışa neden olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada (Mansour ve ark 2017) da benzer şekilde akrilamid uygulaması sonrasında nükleer piknoz gözlendiği bildirilmiştir. Nassar ve ark (2022) yaptıkları bir çalışmada sıçanlara sekiz hafta boyunca 50 mg/kg akrilamid uygulamışlar ve hipokampusta piramidal hücre katmanı kalınlığında azalma ile nöronlarda dejenerasyon gözlemişlerdir. Bu çalışmada da literatür verilerine benzer olarak akrilamid grubunda piknotik çekirdekli, koyu boyanmış küçülmüş ve dejenere olmuş nöronlar gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, akrilamid uygulaması sonucu ortaya çıkan bu doku hasarının, akrilamid kaynaklı serbest radikal artışından kaynaklanabileceği bildirilmektedir. (Kunnel ve ark 2019, Elblehi ve ark 2020, Farag ve ark 2021, Nassar ve ark 2022, Zhao ve ark 2022). Sunulan bu çalışmanın sonuçları da bu verileri desteklemektedir.

Toluen uygulamasının frontal korteks nöronlarında nükleer piknoz, nöron boyutunun küçülmesi gibi ciddi dejeneratif değişikliklere neden olduğu koyu boyanmış çekirdek ve patolojik değişiklikler gösteren sinir hücrelerinin çörek otunun etken maddesi olan timokinon uygulaması ile azaldığı ve nörodejenerasyon üzerinde morfolojik iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Kanter 2011). Başka bir çalışmada Kanter (2008) toluen uygulaması yapılan grupta hipokampustaki nöronlarda ileri derecede piknotik çekirdekler gözlendiğini bildirmiştir. Toluen ile birlikte timokinon uygulanan grup ve toluen ile birlikte çörek otu uygulanan her iki grupta da bu nöronal değişikliklerin yoğunluğu daha az olduğu da belirtilmiştir. Bu çalışmada da literatür verilerine uygun olarak akrilamid grubunda hipokampusta nöronlarda dejenerasyon gözlenirken akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağı grubunda ise dejenere nöron sayısının azaldığı ve kontrole benzer morfolojinin ortaya çıktığı ve çörek otu yağının akrilamidin neden olduğu olumsuz etkiyi azalttığı görülmüştür.

Akrilamidin neden olduğu nörotoksik etkilerden biri de nöron kayıplarıdır. Akrilamid uygulanması sonrasında hipokampusta nöronların dejenerasyonu sonucu sağlıklı, normal morfoloji gösteren nöron sayısında azalmanın olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Yapılan bir çalışmada farelere oral olarak verilen akrilamidin nöron sayısınında azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (Zhao ve ark 2022). Guo ve ark (2020) 4 hafta boyunca 40 mg/kg akrilamid uyguladıkları bir çalışmada hipokampusta nöron sayısında azalma olduğunu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu nöronal kayıplar Alzheimer hastalığında da gözlenmektedir. Padurariu ve ark (2012) yaptıkları bir çalışmada Alzheimer hastalarında nöronal kaybı değerlendirmiş ve CA1 ile CA3 bölgesinde nöron kaybının gözlendiğini, en fazla nöron kaybının ise CA1 bölgesinde olduğunu bildirmişlerdir. Hipokampus üzerine toluen ve çörek otunun etkisinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada da, çörek otu uygulamasının, sıçanlarda kronik toluen maruziyeti sonrasında ortaya çıkan nörodejenerasyon üzerinde morfolojik iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Kanter 2008). Çörek otunun etken maddesi olan timokinon uygulamasının hipokampusta iskemi ile ortaya çıkan hücre sayısının azalmasını geriye çevirdiğini ve hücre sayısını arttırdığı yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştur (Al-Majed ve ark 2006). Yapılan başka bir çalışmada da çörek otunun nörodejenaratif etkiyi azalttığı ve nöron sayısını arttırdığı ortaya konmuştur (Hobbenaghi ve ark 2014). Çörek otu ve timokinonun, nöronal yoğunluğu arttırdığı, apoptozu azalttığı ve enflamatuar süreçleri önleyerek nöronal bütünlüğü ve işlevleri geri kazandırdığı rapor edilmiştir (Gülşen ve ark 2016). Hipokampusun, kimyasallara ve toksik maddelere maruz kaldığında oluşan oksidatif stresin apoptoz yoluyla nöronal ölüme neden olduğu ve nöronal hasarın hafıza bozukluğu ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (Wang ve ark 2006). Birçok deneysel ve klinik araştırma, oksidatif hasarın nöron hasarında önemli bir rol oynadığını ve Alzheimer hastalığında olduğu gibi kısmen hafıza kaybına yol açtığını ortaya koymuştur. Hartman ve ark (2005) iskeminin sıçan hipokampusunun CA1 bölgesinde nöron sayılarında azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca iskemi modeline tabi tutulan farelerin hem referans hem de çalışma belleği gerektiren uzamsal navigasyon görevlerinde öğrenme hızlarının tipik olarak kontrol farelerininkinden daha yavaş olduğunu ve bunun öğrenme yeteneğinde bozulmaya kanıt olduğunu bildirmişlerdir.

Hafıza göstergelerinde gözlenen hasarların hafıza veya bilişsel işlevler için çok önemli devreleri içeren hipokampustaki nörojenik hücrelerdeki kaybın boyutuyla ilişkilendirilebileceği, dahası, düzensiz nörogenez ile nörobilişsel hastalıklar arasında yerleşik bir bağlantı olduğu ileri sürülmektedir. Aminu ve ark (2019) çörek otu yağının sıçanlarda diklorvos kaynaklı oksidatif hasarı ve nörobilişsel bozukluğu hafifletmedeki koruyucu etkisini araştırmış ve çörek otu yağının hipokampustaki nörojenik hücrelerin hayatta kalmasını arttırdığı, bunun da sıçanların hafıza ile ilgili aktivitelerinde gelişmiş davranışsal performanslarına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca çörek otu yağının ve timokinonun, nöronal yoğunluğu artırarak, apoptozu azaltarak ve inflamatuar süreçleri önleyerek nöronal bütünlüğü ve işlevleri geri kazandırdığı da rapor edilmiştir Bu çalışmada da literatür verilerine benzer şekilde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akrilamid grubunda hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 alanlarında nöron sayısında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gözlenmiştir. Çörek otu yağı grubunda ve akrilamid+çörek otu yağı grubunda ise nöron sayısının kontrol grubu ile benzer olduğu; çörek otu yağının akrilamidin neden olduğu nörotoksik etkiyi azalttığı ve nöron sayısını arttırdığı görülmüştür. Çörek otu yağının hipokampusta nörojenik hücrelerin hayatta kalmasını arttırarak sıçanların hafıza ile ilgili aktivitelerinde gelişmiş davranışsal performanslarına katkıda bulunduğu ayrıca azalmış nöron fonksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülen yürüme güçlüğü ile ilişkili nörodejeneratif değişikliklerin de iyileşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Eskiden sinir hücrelerinin sadece prenatal dönemde üretildiğine inanılırken günümüzde nörogenezin beyinin iki farklı bölgesinde devam ettiği bilinmektedir. Yetişkin memelilerde yaşam boyunca yeni nöronların oluşumu genel olarak lateral ventriküllere bitişik subventriküler bölgede ve hipokampal dentat girus bölgesinde gerçekleştiği kabul edilmiştir. Nörogenez, yaşlanma ile azalabilirken fiziksel egzersiz, zenginleştirilmiş bir çevre ve diyet dâhil olmak üzere çevresel ve metabolik uyaranlar yoluyla artırılabilir. Dentat girusun değerlendirildiği bir çalışmada akrilamid uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla daha az sayıda yeni üretilmiş hücre olduğu bildirilmiştir (Park ve ark 2010). Akrilamidin, dentat girusta yeni üretilen nöral hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği, bu nedenle akrilamid uygulamasının yetişkin hipokampal nörogenezi bozduğu sonucuna varmışlar ve hipokampal nörogenezdeki bozulmanın azalan proliferasyona atfedilebileceğini

düşünmüşlerdir. Sütten kesilen sıçanlar üzerine akrilamidin toksik etksinin incelendiği bir çalışmada akrilamid uygulamasının ardından dentat girusta katman sayısının ve hücre sayısının azaldığı bildirilmiştir (Lai ve ark 2017). Nöronlarda, dejenerasyon, soluk boyanma ve Nissl cisimciklerinin bir kısmının kaybıyla birlikte 'bulanık' bir görünüm gösterdiği ve bu değişikliklerin şiddetinin artan akrilamid konsantrasyonu ile birlikte arttığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada da farelerde iki hafta süresince yüksek doz (50 mg/kg) akrilamid uygulamasının nörogenezi etkilediği, dentat girusta hücre sayısını azalttığı gösterilmiştir (Lee ve ark 2018) Akrilamidin nörotoksik etkisine karşı tedavi amaçlı kullanılan çörek otunun nörotoksisiteye karşı antioksidan savunma sistemini güçlendirerek nöronlarda hücre ölümü uyarısını inhibe edebileceği ve çörek otunun nöroprotektif etkinliğinin nörotoksisiteye karşı yeterli olabileceği iddia edilmiştir (AbdulAzeez ve ark 2020). Yapılan başka bir çalışmada da çörek otunun dentat girusta nörogenezi arttırdığı bildirilmiştir (Brito ve ark 2015). Bu çalışmada da literatür verileri ile benzer şekilde akrilamid uygulanan sıçanlarda dentat girus tabakasında hücre sayısının azaldığı görülmüştür. Çörek otu yağı verilen grupta ise hücre sayısının kontrol grubuna yakın olduğu dikkati çekmiştir. Akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının ise akrilamid grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde hücre sayısını arttırdığı gözlenmiştir.

Çekirdekte ribozomların alt ünitelerinin sentezlendiği bölgeler çekirdekçiklerdir. DNA üzerinde ribozomal RNA'nın sentezlendiği gen bölgeleri çekirdekte çekirdekçikte toplanırlar ve koyu bölgeleri oluştururlar. Ribozomal RNA'nın sentezlendiği ve çekirdekçiği oluşturan DNA üzerindeki bu gen bölgeleri nucleolus organizer regions (NOR) olarak isimlendirilir. Bu bölgeler arjirofilik oldukları için gümüş boyaları ile hücre çekirdeğinde siyah noktalar AgNOR olarak görünecek şekilde kolayca boyanabilirler. AgNOR'ların boyutu, sayısı ve dağılımı, hücrenin transkripsiyonel aktivitesinin bir göstergesi olarak kabul edilir ve nükleolar aktiviteyi yansıttığı öne sürülür (Sur ve ark 2011). Her ne kadar söz konusu histokimyasal ve morfometrik teknik, kanser hücrelerinde ve eşeysel olarak dimorfik hücrelerde transkripsiyonel aktivite çalışmasında başarılı bir şekilde uygulanmış olsa da öğrenme ve hafıza süreçleriyle ilgili olarak hücresel transkripsiyonel aktiviteyi incelemek için nadiren kullanılmıştır (Fushiki ve ark 1995, González-González ve ark 1996, Mohanty ve Padhy 2020, Darkwah ve ark 2021). AgNOR'lar uzun süredir proliferatif aktivitenin bir göstergesi olarak kullanılmasına rağmen, PCNA ve Ki-67

gibi immünohistokimyasal belirteçlerin ortaya çıkışının bir sonucu olarak, AgNOR'ların proliferatif bir belirteç olarak kullanımı azalmıştır. İmmünohistokimyasal belirteçlerin aksine fiksasyondan daha az etkilenmesi, düşük maliyeti ve kullanım kolaylığı nedeniyle bu teknik zaman zaman tercih edilebilmektedir (Sorkun ve ark 2009). Hipokampusta iskeminin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada hipokampusun tüm alanlarında AgNOR sayısının ve alanlarının daha az olduğu bildirilmiştir (Mennel ve Müller 1994). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada kronik alkol uygulamasının hipokampusta AgNOR aktivitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve CA3 bölgesinde AgNOR alanının alkol uygulamasının kesildiği grupta kontrole kıyasla daha az olduğu ve dentat girusta ve CA1 bölgesinde AgNOR parametrelerinden sadece AgNOR sayısı açısından anlamlı bir fark olduğunu gözlemişlerdir (García-Moreno ve ark 2001). Ogawa ve ark (2012) yaptıkları bir çalışmada gebe sıçanlara ve doğum sonrasında yeni doğan sıçanlara akrilamid uygulaması yaptıkları iki deney düzeneği oluşturmuşlardır. Yapılan çalışma sonunda akrilamidin dentat girusta PCNA pozitif hücre sayısında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada da akrilamidin proliferasyon belirteci olan Ki-67 seviyesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Yu ve ark 2019). Ki-67'nin değerlendirildiği çalışmalarda çörek otu yağının hücre proliferasyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir (Imam ve ark 2018, Aminu ve ark 2019, AbdulAzeez ve ark 2020). Yapılan bu çalışmada da proliferasyonu belirlemek amacı ile AgNOR parametreleri değerlendirilmiş ve nisbi AgNOR alanının akrilamid grubunda CA1 ve dentat girus bölgelerindeki hücrelerde istatistiksel olarak azaldığı; akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağı grubunda ise akrilamid grubuna kıyasla bu parametrelerin arttığı ve kontrol grubu ile benzer olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler akrilamidin hücre proliferasyonunu azalttığını, çörek otu yağının ise bu durumu kısmen iyileştirdiğini düşündürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma akrilamidin sıçanlarda hipokampus üzerinde olası toksik etkilerinin açığa çıkarılması, çörek otu yağının hipokampus üzerine olası etkilerinin gösterilmesi ve akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının akrilamidin hipokampus üzerinde oluşturabileceği muhtemel olumsuz etkileri engelleyip engellemediğinin ortaya konulması amacı ile gerçekleştirildi.

Araştırmada akrilamidin nörotoksik etkiye sahip olduğu, ratlarda yürüme güçlüğü şekillendiği ve arka ayaklarda paraliz ortaya çıktığı gözlendi. Akrilamidin ratlarda canlı ağırlık artışını bozduğu ve deney süresi içinde ratların hem canlı ağırlığında azalmaya hem de beyin ağırlığında azalmaya neden olduğu belirlendi. Yapılan ışık mikroskopik incelemelerde akrilamidin hipokampusta CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerinde nöron sayılarında azalmaya neden olduğu gözlendi. Proliferasyonu belirlemek amacı ile değerlendirilen AgNOR parametreleri sonucunda nisbi AgNOR alanının akrilamid grubunda CA1 ve dentat girus bölgelerinde azaldığı belirlendi.

Yapılan çalışmada çörek otu yağının ratlarda yürüme güçlüğünü iyileştirdiği gözlendi. Çörek otu yağı verilen ratların canlı ağırlık artışlarının normal olduğu ve canlı ağırlıklarının kontrol grubu ile benzer şekilde arttığı, aynı zamanda beyin ağırlığının da kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği belirlendi. Akrilamid ile birlikte verilen çörek otu yağının canlı ağırlık artışına ve beyin ağırlığına bir etkisinin olmadığı gözlendi. Yapılan ışık mikroskopik inceleme sonrasında çörek otu yağının nöroprotektif etki göstererek akrilamid grubuna kıyasla CA1, CA2, CA3 ve dentat girus bölgelerinde nöron kaybının önüne geçtiği belirlendi. Çörek otu yağının CA1 ve dentat girus bölgelerinde nisbi AgNOR alanında akrilamid grubuna kıyasla artışa neden olduğu belirlendi.

Bu çalışma ile elde edilen veriler doğrultusunda akrilamidin nörotoksik etkiye sahip olduğu ve akrilamide maruziyetin olabildiğince azaltılması gerekliliği dikkati çekmiştir. Çörek otu yağının ortaya çıkan nörotoksik etkinin azaltılmasına etki edebileceği kanaatine varılmıştır. Sunulan bu tez çalışmasının yapılacak yeni çalışmalara katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abdel-Daim MM, El-Ela FIA, Alshahrani FK, Bin-Jumah M, Al-Zharani M, Almutairi B, Alyousif MS, Bungau S, Aleya L, Alkahtani S, 2020. Protective effects of thymoquinone against acrylamide-induced liver, kidney and brain oxidative damage in rats. Environ Sci Pollut Res, 27, 37709-37717.

AbdulAzeez T, Aminu I, Abdussalam B, Samson C, Abdul-musawwir A, Asma'u S, Rukayat J, Shittu S, Abdulmumin I, Salihu A, 2020. Nigella sativa oil attenuates aluminum-induced behavioral changes, oxidative stress and cortico-hippocampal neuronal degeneration in rats. J Afr Assos Physiol Sci, 8, 23-33.

Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, Damanhouri ZA, Anwar F, 2013. A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle herb. Asian Pac J Trop Biomed, 3, 337-352.

Akar S, Sur E, 2010. The development of chicken cerebellar cortex and the determination of AgNOR activity of the Purkinje cell nuclei. Belg J Zool, 140, 216-224.

Akgün B, Arici M, 2018. Akrilamid; Toksisitesi, Azaltma Teknikleri ve Analiz Yöntemleri. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, 20, 12-21.

Al-Ghamdi M, 2001. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of Nigella sativa. J Ethnopharmacol, 76, 45-48.

Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN, 2006. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. Eur J Pharmacol, 543, 40-47.

Alenzi F, El-Bolkiny YE-S, Salem M, 2010. Protective effects of Nigella sativa oil and thymoquinone against toxicity induced by the anticancer drug cyclophosphamide. Br J Biomed Sci, 67, 20-28.

Ali B, Blunden G, 2003. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res, 17, 299-305.

Amaral DG, Scharfman HE, Lavenex P, 2007. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). Prog Brain Res, 163, 3-22.

Aminu I, Teslimat AJ, Victoria W, Samson C, Aboyeji OL, Olatunbosun O, Sheu-Tijani ST, Saliu AM, 2019. Nigella sativa oil protected the hippocampus against Acetyl cholinesterase and oxidative dysfunctions-driven impaired working memory in rats. Bull Fac Pharm Cairo Univ, 57, 25-34.

Anand KS, Dhikav V, 2012. Hippocampus in health and disease: An overview. Ann Indian Acad Neurol, 15, 239-246.

Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J, 2006. The hippocampus book, First ed.,Oxford university press.

Aras D, Cakar Z, Ozkavukcu S, Can A, Cinar O, 2017. In vivo acrylamide exposure may cause severe toxicity to mouse oocytes through its metabolite glycidamide. PloS one, 12.

Arima K, Sakamoto T, Araki C, Tamura G, 1972. Production of extracellular L-asparaginases by microorganisms. Agricultural and Biological Chemistry, 36, 356-361.

Arusoğlu G, 2015. Akrilamid oluşumu ve insan sağlığına etkileri. Akademik Gıda, 13, 61-71.

Ashraf SS, Rao MV, Kaneez FS, Qadri S, Al-Marzouqi AH, Chandranath IS, Adem A, 2011. Nigella sativa extract as a potent antioxidant for petrochemical-induced oxidative stress. J Chromatogr Sci, 49, 321-326.

Asiaei F, Fazel A, Rajabzadeh AA, Hosseini M, Beheshti F, Seghatoleslam M, 2017. Neuroprotective effects of Nigella sativa extract upon the hippocampus in PTU-induced hypothyroidism juvenile rats: A stereological study. Metab Brain Dis, 32, 1755-1765.

Aslan R, Borazan S, 2019. Siyah reçete çörek otu. Göller Bölgesi Ekonomi ve Kültür Dergisi, 7, 41-47.

Attoff K, Kertika D, Lundqvist J, Oredsson S, Forsby A, 2016. Acrylamide affects proliferation and differentiation of the neural progenitor cell line C17. 2 and the neuroblastoma cell line SH-SY5Y. Toxicol In Vitro, 35, 100-111.

Badary OA, 1999. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. J Ethnopharmacol, 67, 135-142.

Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibani MO, Al-Bekairi AM, 1997. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. Can J Physiol Pharmacol, 75, 1356-1361.

Bakhtiary D, Asadollahi S, Ardakani SAY, 2013. Determination of the amount of Acrylamide Formation during Frying of Potato in Sesame Oil, Palm Olein and the blend of them. Int J Eng Res, 3, 210-214.

Ball M, Hachinski V, Fox A, Kirshen A, Fisman M, Blume W, Kral V, Fox H, Merskey H, 1985. A new definition of Alzheimer's disease: a hippocampal dementia. Lancet, 325, 14-16.

Bayer SA, Altman J, 1974. Hippocampal development in the rat: Cytogenesis and morphogenesis examined with autoradiography and low-level X-irradiation. J Comp Neurol, 158, 55-79.

Beker M, Dallı T, Elibol B, 2018. Thymoquinone can improve neuronal survival and promote neurogenesis in rat hippocampal neurons. Mol Nutr Food Res, 62.

Bieche I, Narjoz C, Asselah T, Vacher S, Marcellin P, Lidereau R, Beaune P, de Waziers I, 2007. Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP) 1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. Pharmacogenet Genomics, 17, 731-742.

Boutet C, Chupin M, Lehéricy S, Marrakchi-Kacem L, Epelbaum S, Poupon C, Wiggins C, Vignaud A, Hasboun D, Defontaines B, 2014. Detection of volume loss in hippocampal layers in Alzheimer's disease using 7 T MRI: a feasibility study. NeuroImage Clin, 5, 341-348.

Boyacı CP, Cengiz MF, 2012. Gıdalarda akrilamid risk değerlendirme çalışmaları. Gıda, 37, 287-294.

Brito S, Kilarkaje N, Rao M, 2015. Thymoquinone inhibits neurodegeneration and enhances neurogenesis in kainic acid-induced middle-aged wistar rat rodel of temporal lobe epilepsy. FASEB J, 29, 705-713.

Burdurlu HS, Karadeniz F, 2006. Gıdalarda akrilamid oluşumu ve önemi. Türkiye, 9, 24-26.

Calleman CJ, 1996. The metabolism and pharmacokinetics of acrylamide: implications for mechanisms of toxicity and human risk estimation. Drug Metab Rev, 28, 527-590.

Capuano E, Oliviero T, Açar ÖÇ, Gökmen V, Fogliano V, 2010. Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. Int Food Res J, 43, 1021-1026.

Chauhan NB, Spencer PS, Sabri MI, 1993. Effect of acrylamide on the distribution of microtubule-associated proteins (MAP1 and MAP2) in selected regions of rat brain. Mol Chem Neuropathol, 18, 225-245.

Cherubini E, Miles RM, 2015. The CA3 region of the hippocampus: how is it? What is it for? How does it do it?. Front Cell Neurosci, 9.

Chuang W, Chiu C, Chen B, 2006. Analysis and formation of acrylamide in French fries and chicken legs during frying. J Food Biochem, 30, 497-507.

Claeys WL, De Vleeschouwer K, Hendrickx ME, 2005. Quantifying the formation of carcinogens during food processing: acrylamide. Trends Food Sci Technol, 16, 181-193.

Claus A, Carle R, Schieber A, 2008. Acrylamide in cereal products: A review. J Cereal Sci, 47, 118-33.

Culling C, Allison R, Barr W, 1985. Cellular pathology techniques, Forth ed., London.

Curtis TY, Muttucumaru N, Shewry PR, Parry MA, Powers SJ, Elmore JS, Mottram DS, Hook S, Halford NG, 2009. Effects of genotype and environment on free amino acid levels in wheat grain: implications for acrylamide formation during processing. J Agric Food Chem, 57, 1013-1021.

Çakmakçı S, Çakır Y, 2011. Çörekotu (Nigella sativa L.): Bileşimi, Gıda Sanayinde Kullanımı ve Sağlık Üzerine Etkileri. Akademik Gıda, 9, 61-69.

Darkwah WK, Aidoo G, Akoto D, Alhassan K, Adormaa BB, Puplampu JB, 2021. Proliferative activity of various grades and types of breast carcinoma using AgNOR (Argyrophilic Nuclear Organizer Region) expression and its prognostic significance. All Life, 14, 375-391.

Dere F, 2000. Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji Atlası ve Ders Kitabı, Adana, Nobel Tıp Kitapevleri.

Duan X, Wang Q-C, Chen K-L, Zhu C-C, Liu J, Sun S-C, 2015. Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. Sci Rep, 5, 1-11.

Dursun N, 2000. Veteriner Anatomi III, Ankara, Medisan, p. 55-56.

Ehling S, Hengel M, Shibamoto T, 2005. Formation of acrylamide from lipids. In: Chemistry and safety of acrylamide in food. Springer, p. 223-233.

Eichner K, Karel M, 1972. Influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. J Agric Food Chem, 20, 218-223.

Elblehi SS, El Euony OI, El-Sayed YS, 2020. Apoptosis and astrogliosis perturbations and expression of regulatory inflammatory factors and neurotransmitters in acrylamide-induced neurotoxicity under ω3 fatty acids protection in rats. Neurotoxicology, 76, 44-57.

Elibol B, Beker M, Terzioglu-Usak S, Dalli T, Kilic U, 2020. Thymoquinone administration ameliorates Alzheimer's disease-like phenotype by promoting cell survival in the hippocampus of amyloid beta1–42 infused rat model. Phytomedicine, 79.

Erdemli M, Turkoz Y, Altinoz E, Elibol E, Dogan Z, 2016. 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, 35, 1337-1344.

Erdemli ME, Erdemli Z, Bag HGG, Altinoz E, 2019. The role of Crocin in an acrylamide-induced neurotoxicity model in Wistar rats. Annals of Medical Research, 26, 11, 2540-4.

Erdemli Z, Erdemli ME, Turkoz Y, Yigitcan B, Aladag MA, Cigremis Y, Cırık RH, Altinoz E, Bag HG, 2021. Vitamin E effects on developmental disorders in fetuses and cognitive dysfunction in adults following acrylamide treatment during pregnancy. Biotech Histochem, 96, 11-19.

Erkekoglu P, Baydar T, 2014. Acrylamide neurotoxicity. Nutr Neurosci, 17, 49-57.

Farag OM, Abd-Elsalam RM, Ogaly HA, Ali SE, El Badawy SA, Alsherbiny MA, Li CG, Ahmed KA, 2021. Metabolomic profiling and neuroprotective effects of purslane seeds extract against acrylamide toxicity in rat's brain. Neurochem Res, 46, 819-842.

Farouk SM, Gad FA, Almeer R, Abdel-Daim MM, Emam MA, 2021. Exploring the possible neuroprotective and antioxidant potency of lycopene against acrylamide-induced neurotoxicity in rats' brain. Biomed Pharmacother, 138.

FDA, 2002. U.S. Food and Drug AdministrationThe Action Plans for Acrylamide in Food.

Fennell TR, Friedman MA, 2005. Comparison of acrylamide metabolism in humans and rodents. In: Chemistry and Safety of Acrylamide in food. Springer, p. 109-16.

Folarin R, John S, Oyenuga O, Tijani N, Otulana O, Mbonu E, 2020. Olfacto-protective roles of Nigella sativa oil in Harmaline-induced essential tremor modelling. Ann Health Sci, 6, 218-229.

Friedman M, 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. J Agric Food Chem, 51, 4504-4526.

Friedman M, Levin CE, 2008. Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. J Agric Food Chem, 56, 6113-6140.

Fullerton PM, Barnes J, 1966. Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. Occup Environ Med, 23, 210-221.

Fushiki S, Kinoshita C, Tsutsumi Y, Nishizawa Y, 1995. Age-related changes of the argyrophilic nucleolar organizer regions in mouse neocortical neurons. Acta Histochem Cytoc, 28, 533-538.

García-Moreno L, Conejo N, Pardo H, Gomez M, Martín F, Alonso M, Arias J, 2001. Hippocampal AgNOR activity after chronic alcohol consumption and alcohol deprivation in rats. Physiol Behav, 72, 115-121.

Gertz C, Klostermann S, 2002. Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. Eur J Lipid Sci Technol, 104, 762-771.

Ghanayem B, Witt K, El-Hadri L, Hoffler U, Kissling G, Shelby M, Bishop J, 2005. Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide: evidence supporting a glycidamide-mediated effect. Biol Reprod, 72, 157-163.

Gilani A-uH, Jabeen Q, Khan MAU, 2004. A review of medicinal uses and pharmacological activities of Nigella sativa. Pak J Biol Sci, 7, 441-451.

Gillette JR, 1974. Commentary. A perspective on the role of chemically reactive metabolites of foreign compounds in toxicity. I. Correlation of changes in covalent binding of reactivity metabolites with changes in the incidence and severity of toxicity. Biochem Pharmacol, 23, 2785-2794.

González-González S, Diaz F, Vallejo G, Arias JL, 1996. Functional sexual dimorphism of the nucleolar organizer regions in the tuberomamillary nucleus. Brain res, 736, 1-6.

Gökmen V, Açar ÖÇ, Köksel H, Acar J, 2007. Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. Food Chem, 104, 1136-1142.

Gökmen V, Palazoğlu TK, Şenyuva HZ, 2006. Relation between the acrylamide formation and time–temperature history of surface and core regions of French fries. J Food Eng, 77, 972-976.

Gökmen V, Şenyuva HZ, 2007. Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. Food chem, 103, 196-203.

Guo J, Cao X, Hu X, Li S, Wang J, 2020. The anti-apoptotic, antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin on acrylamide-induced neurotoxicity in rats. BMC pharmacol amp toxicol, 21, 1-10.

Gülşen İ, Ak H, Çölçimen N, Alp HH, Akyol ME, Demir I, Atalay T, Balahroğlu R, Rağbetli MÇ, 2016. Neuroprotective effects of thymoquinone on the hippocampus in a rat model of traumatic brain injury. World Neurosurg, 86, 243-249.

Hagmar L, Törnqvist M, Nordander C, Rosén I, Bruze M, Kautiainen A, Magnusson A-L, Malmberg B, Aprea P, Granath F, 2001. Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. Scand J Work Environ Health, 219-226.

Hartman RE, Lee JM, Zipfel GJ, Wozniak DF, 2005. Characterizing learning deficits and hippocampal neuron loss following transient global cerebral ischemia in rats. Brain res, 1043, 48-56.

Hassa O, Aştı RN, 2003. Embriyoloji, Ankara.

Hobbenaghi R, Javanbakht J, Sadeghzadeh S, Kheradmand D, Abdi F, Jaberi M, Mohammadiyan M, Khadivar F, Mollaei Y, 2014. Neuroprotective effects of Nigella sativa extract on cell death in hippocampal neurons following experimental global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. J Neurol Sci, 337, 74-79.

Huang W-l, Ma Y-x, Fan Y-b, Lai S-m, Liu H-q, Liu J, Luo L, Li G-y, Tian S-m, 2017. Extract of Ginkgo biloba promotes neuronal regeneration in the hippocampus after exposure to acrylamide. Neural Regen Res, 12, 1287-1293.

IARC, 1994. Acrylamide in some industrial/chemicals; IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. International Agency for research on cancer, 60, Lyon, France, 389–433.

Ijomone OM, Iroegbu JD, Aschner M, Bornhorst J, 2021. Impact of environmental toxicants on p38- and ERK-MAPK signaling pathways in the central nervous system. Neurotoxicology, 86, 166-171.

Imam A, Lawal A, Oyewole LA, Ajibola MI, Williams V, Chengetanai S, Shittu TS-T, Ajao MS, 2018. Nigella sativa conserved hippocampal oxidative and neurogenic activities to salvage neuro-cognitive integrities in chlorpyrifos insult. Sci Afr, 1.

Insausti R, Amaral DG, 2004. Hippocampal formation. The human nervous system, 2, 871-914.

İzci Y, Erbaş YC, 2015. Hipokampus: yapısı ve fonksiyonları. Türk Nöroşir Derg, 25, 287-295.

Jung M, Choi D, Ju J, 2003. A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries. J Food Sci, 68, 1287-1290.

Kadry AM, Friedman MA, Abdel-Rahman MS, 1999. Pharmacokinetics of acrylamide after oral administration in male rats. Environ Toxicol Pharmacol, 7, 127-133.

Kanter M, 2008. Nigella sativa and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. Neurochem res, 33, 579-588.

Kanter M, 2011. Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure. J Mol Histol, 42, 39-46.

Karabulut H, Gülay MŞ, 2016. Antioksidanlar. MAEU Vet Fak Derg, 1, 65-76.

Karagöz A, 2009. Akrilamid ve Gıdalarda Bulunuşu. TAF Prev Med Bull, 8, 187-192.

Karimi Z, Alizadeh AM, Dolatabadi JEN, Dehghan P, 2019. Nigella sativaand its derivatives as food toxicity protectant agents. Advanced pharmaceutical bulletin, 9, 1, 22.

Katen AL, Chambers CG, Nixon B, Roman SD, 2016. Chronic acrylamide exposure in male mice results in elevated DNA damage in the germline and heritable induction of CYP2E1 in the testes. Biol Reprod, 95, 1-15.

Kaya MS, Kara M, Özbek H, 2003. Çörek otu (Nigella sativa) tohumunun insan hücresel bağışıklık sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. Genel Tıp Dergisi, 13, 109-112.

Khan M, Davis C, Foley G, Friedman M, Hansen L, 1999. Changes in thyroid gland morphology after acute acrylamide exposure. Toxicol sci, 47, 151-157.

Khither H, Sobhi W, Mosbah A, Benboubetra M, 2018. Prophylactic and curative effects of thymoquinone against CCL4-induced hepatotoxicity in rats. European J Med Plants, 22, 1-8.

Kier EL, Kim JH, Fulbright RK, Bronen RA, 1997. Embryology of the human fetal hippocampus: MR imaging, anatomy, and histology. Am J Neuroradiol, 18, 525-532.

Kita A, Bråthen E, Knutsen SH, Wicklund T, 2004. Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. J Agric Food Chem, 52, 7011-7016.

Klüver H, Bucy PC, 1939. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. Arch Neurol Psychiatry, 42, 979-1000.

Knowles WD, 1992. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. J Clin

Neurophysiol, 9, 253-263.

Kunnel SG, Subramanya S, Satapathy P, Sahoo I, Zameer F, 2019. Acrylamide induced toxicity and the propensity of phytochemicals in amelioration: a review. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 19, 100-113.

Lai S-m, Gu Z-t, Zhao M-m, Li X-x, Ma Y-x, Luo L, Liu J, 2017. Toxic effect of acrylamide on the development of hippocampal neurons of weaning rats. Neural Regen Res, 12, 10, 1648-1654.

Lea PJ, Sodek L, Parry MA, Shewry PR, Halford NG, 2007. Asparagine in plants. Ann Appl Biol, 150, 1-26.

Lee S, Park HR, Lee JY, Cho J-H, Song HM, Kim AH, Lee W, Lee Y, Chang S-C, Kim HS, 2018. Learning, memory deficits, and impaired neuronal maturation attributed to acrylamide. J Toxicol Environ Health Part A, 81, 254-265.

Lerner S, Seghezzo M, Molfese E, Ponzio N, Cogliatti M, Rogers W, 2006. N-and S-fertiliser effects on grain composition, industrial quality and end-use in durum wheat. J Cereal Sci, 44, 2-11.

Li M, Sun J, Zou F, Bai S, Jiang X, Jiao R, Ou S, Zhang H, Su Z, Huang Y, 2017. Glycidamide inhibits progesterone production through reactive oxygen species-induced apoptosis in R2C Rat Leydig Cells. Food Chem Toxicol, 108, 563-570.

Lin C-Y, Lin L-Y, Chen Y-C, Wen L-L, Chien K-L, Sung F-C, Chen P-C, Su T-C, 2015. Association between measurements of thyroid function and the acrylamide metabolite N-Acetyl-S-(propionamide)-cysteine in adolescents and young adults. Environ Res, 136, 246-252.

LoPachin RM, 2004. The changing view of acrylamide neurotoxicity. Neurotoxicology, 25, 617-630.

LoPachin RM, Balaban C, Ross J, 2003. Acrylamide axonopathy revisited. Toxicol Appl Pharmacol, 188, 135-153.

Lorente de Nó R, 1934. Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. J für Psychol Neurol, 46, 113–77.

Mansour SZ, Moawed FS, Elmarkaby SM, 2017. Protective effect of 5, 7-dihydroxyflavone on brain of rats exposed to acrylamide or γ-radiation. J Photochem Photobiol B Biol, 175, 149-155.

Marková L, Ciesarová Z, Kukurová K, Zieliński H, Przygodzka M, Bednáriková A, Šimko P, 2012. Influence of various spices on acrylamide content in buckwheat ginger cakes. Chem Pap, 66, 949-954.

Matoso V, Bargi-Souza P, Ivanski F, Romano MA, Romano RM, 2019. Acrylamide: A review about its toxic effects in the light of developmental origin of health and disease (dohad) concept. Food chem, 283, 422-430.

McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT, 2006. Veteriner Embriyoloji, medipres yayıncılık.

Mehri S, Abnous K, Mousavi S H, Shariaty V M, Hosseinzadeh H, 2012. Neuroprotective effect of crocin on acrylamide-induced cytotoxicity in PC12 cells. Cell Mol Neurobiol, 32, 227-235.

Mehri S, Shahi M, Razavi BM, Hassani FV, Hosseinzadeh H, 2014a. Neuroprotective effect of thymoquinone in acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats. Iran J Basic Med Sci, 17, 1007-1011.

Mehri S, Karami H V, Hassani F V, Hosseinzadeh H, 2014b. Chrysin reduced acrylamide-induced neurotoxicity in both in vitro and in vivo assessments. Iran Biomed J, 18, 101-106.

Mennel H, Müller I, 1994. Morphometric investigation on nuclear and nucleolar arrangement and AgNOR content in the rat hippocampus under normal and ischemic conditions. Exp Toxicol Pathol, 46, 491-501.

Miller M, Carter D, Sipes I, 1982. Pharmacokinetics of acrylamide in Fisher-334 rats. Toxicol Appl Pharmacol, 63, 36-44.

Mohanty G, Padhy AK, 2020. Diagnostic and prognostic importance of AgNOR pleomorphism in cervical carcinoma. Indian J Gynecol Oncol, 18, 1-4.

Moser E, Moser MB, 2014. Mapping your every move. Cerebrum: the Dana forum on brain science, 4.

Moser EI, Kropff E, Moser M-B, 2008. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. Annu Rev Neurosci, 31, 69-89.

Muttucumaru N, Halford NG, Elmore JS, Dodson AT, Parry M, Shewry PR, Mottram DS, 2006. Formation of high levels of acrylamide during the processing of flour derived from sulfate-deprived wheat. J Agric Food Chem, 54, 8951-8955.

Nagashima D, Zhang L, Kitamura Y, Ichihara S, Watanabe E, Zong C, Yamano Y, Sakurai T, Oikawa S, Ichihara G, 2019. Proteomic analysis of hippocampal proteins in acrylamide-exposed Wistar rats. Arch Toxicol, 93, 1993-2006.

Nassar SAEA, Mohammed AS, Algazeery AA, 2022. Histological criteria of hippocampus as affected by acrylamide and the possible protective potential of saffron. Bulletin of Faculty of Science, Zagazig University, 2022, 37-46.

Nizamlıoğlu NM, Nas S, 2019. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları, Gıdaların Akrilamid İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri. Akademik Gıda, 17, 232-242.

O'Keefe J, Conway DH, 1978. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. Exp Brain Res, 31, 573-590.

Ogawa B, Wang L, Ohishi T, Taniai E, Akane H, Suzuki K, Mitsumori K, Shibutani M, 2012. Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. Arch toxicol 86, 779-790.

Ortiga-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE, 2016. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. Compr Physiol, 6, 1387-1428.

Ölmez H, Tuncay F, Özcan N, Demirel S, 2008. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. J Food Compost Anal, 21, 564-568.

Padurariu M, Ciobica A, Mavroudis I, Fotiou D, Baloyannis S, 2012. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. Psychiatr Danub, 24, 152-158.

Pal Murugan M, Agathian G, Semwal AD, Sharma GK, 2016. A Review on Acrylamide Mitigation Strategies in Various Processed Foods. Int J Adv Res, 4, 1025-1040.

Pan X, Guo X, Xiong F, Cheng G, Lu Q, Yan H, 2015. Acrylamide increases dopamine levels by affecting dopamine transport and metabolism related genes in the striatal dopaminergic system. Toxicol lett, 236, 60-68.

Papez JW, 1937. A proposed mechanism of emotion. Arch Neurol Psychiatry, 38, 725-743.

Park H-K, Kim K-J, Moon H-J, Kim S-J, Yun C-H, Park S-H, 2012. Klüver-Bucy syndrome with isolated bilateral hippocampal atrophy following status epilepticus. J Epilepsy Res, 2, 10-12.

Park HR, Kim M-S, Kim SJ, Park M, Kong KH, Kim HS, Kwack SJ, Kang TS, Kim SH, Kim HS, 2010. Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. Toxicol lett, 193, 86-93.

Paxinos G ve Watson C, 2006. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. Elsevier.

Pilleri G, 1966. The Klüver-Bucy Syndrome in Man. Eur Neurol, 152, 65-83.

Rao YL, Ganaraja B, Murlimanju B, Joy T, Krishnamurthy A, Agrawal A, 2022. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review. 3 Biotech, 12, 1-10.

Reddy PH, Tonk S, Kumar S, Vijayan M, Kandimalla R, Kuruva CS, Reddy AP, 2017. A critical evaluation of neuroprotective and neurodegenerative MicroRNAs in Alzheimer's disease. Biochem Biophys Res Commun, 483, 1156-1165.

Reddy PH, Tripathi R, Troung Q, Tirumala K, Reddy TP, Anekonda V, Shirendeb UP, Calkins MJ, Reddy AP, Mao P, 2012. Abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration as early events in Alzheimer's disease: implications to mitochondria-targeted antioxidant therapeutics. Biochim Biophys Acta-Mol Basis Dis, 1822, 639-649.

Rice JM, 2005. The carcinogenicity of acrylamide. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 580, 3-20.

Rifai L, Saleh FA, 2020. A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies. Int J Toxicol, 39, 93-102.

Rowland DC, Moser M-B, 2013. Time finds its place in the hippocampus. Neuron, 78, 953-954.

Sadler TW, 2019. Langman's Medical Embryology. wolters kluwer.

Salem ML, 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol, 5, 1749-1770.

Schultz C, Engelhardt M, 2014. Anatomy of the hippocampal formation. The Hippocampus in Clinical Neuroscience, 34, 6-17.

Scoville W, 1953. The limbic lobe in man. J Neurosurg, 11, 64-66.

Scoville WB, Milner B, 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 20, 11-21.

Seal CJ, De Mul A, Eisenbrand G, Haverkort A, Franke K, Lalljie S, Mykkänen H, Reimerdes E, Scholz G, Somoza V, 2008. Risk-benefit considerations of mitigation measures on acrylamide content of foods–a case study on potatoes, cereals and coffee. Br J Nutr, 99, 1-46.

Sharma P, Yadav S, Kumar A, Singh V, Singh R, Swain D, 2020. Amelioration of Acrylamide Induced Neurotoxicity in Wistar Rats. J Anim Res Sci, 10, 237-246.

Shepherd GM, 2004. The synaptic organization of the brain, Oxford university press.

Shipp A, Lawrence G, Gentry R, McDonald T, Bartow H, Bounds J, Macdonald N, Clewell H, Allen B, Van Landingham C, 2006. Acrylamide: review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects. Crit Rev Toxicol, 36, 481-608.

Shojaee-Aliabadi S, Nikoopour H, Kobarfard F, Parsapour M, Moslehishad M, Hassanabadi H, Frias JM, Hashemi M, Dahaghin E, 2013. Acrylamide reduction in potato chips by selection of potato variety grown in Iran and processing conditions. J Sci Food Agric, 93, 2556-2561.

Sickles DW, Brady ST, Testino A, Friedman MA, Wrenn RW, 1996. Direct effect of the neurotoxicant acrylamide on kinesin-based microtubule motility. J Neurosci Res , 46, 7-17.

Smith EA, Oehme FW, 1991. Acrylamide and polyacrylamide: a review of production, use, environmental fate and neurotoxicity, Rev Environ Health, 9, 215-228.

Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M, 2001. Hipokampus. T Klin J Med Sci, 21, 427-431.

Sorkun HÇ, Yalcin N, Erken G, Erken HA, Genç O, 2009. Assessment of Proliferative Activity in Rat Brain With AgNOR Following Exposure to Magnetic Field. J Neurol Sci, 26, 198-205.

Sörgel F, Weissenbacher R, Kinzig-Schippers M, Hofmann A, Illauer M, Skott A, Landersdorfer C, 2002. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans. Chemo, 48, 267-274.

Spencer PS, Schaumburg HH, 1974. A review of acrylamide neurotoxicity Part II. Experimental animal neurotoxicity and pathologic mechanisms. Can J Neurol Sci, 1, 152-169.

Squire LR, 2009. The legacy of patient HM for neuroscience. Neuron, 61, 6-9.

Srinivasan K, 2018. Cumin (Cuminum cyminum) and black cumin (Nigella sativa) seeds: traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. Food Qual Saf, 2, 1-16.

Srivastava S, Sabri MI, Agrawal AK, Seth PK, 1986. Effect of single and repeated doses of acrylamide and bis-acrylamide on glutathione-S-transferase and dopamine receptors in rat brain. Brain res, 371, 319-323.

Stadler RH, Lineback DR, 2008. Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks. John Wiley & Sons.

Stojanovska S, Tomovska J, 2015. Factors influence to formation of acrylamide in food. J Hyg Eng Des, 13, 10-15.

Sur E, Öznurlu Y, Özaydın T, Çolakoğlu F, Ünsal S, Yener Y, 2011. Comparative histometrical study of the cerebellum and the determination of some Agnor parameters in different avian species. Bull Vet Inst Pulawy, 55, 261-265.

Szkudlinski MW, Fremont V, Ronin C, Weintraub BD, 2002. Thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor structure-function relationships. Physiol rev, 82, 473-502.

Tabeshpour J, Mehri S, Abnous K, Hosseinzadeh H, 2019. Neuroprotective effects of thymoquinone in acrylamide-induced peripheral nervous system toxicity through MAPKinase and apoptosis pathways in rat. Neurochemical research, 44, 5, 1101-12.

Tamer CE, Karaman B, 2006. Gıdalarda akrilamid oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkileri. Gıda, 31, 195-199.

Tardiff RG, Gargas ML, Kirman CR, Carson ML, Sweeney LM, 2010. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. Food Chem Toxicol, 48, 658-667.

Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M, 2000. Acrylamide: a cooking carcinogen?. Chem Res Toxicol, 13, 517-522.

Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M, 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. J Agric Food Chem, 50, 4998-5006.

Ünaltuna N, 2021. Alzheimer Hastalığında Oksidatif Stres ile İlişkili Seçilmiş Genlerin Periferik Kandaki Anlatım Düzeyi. Experimed, 11, 143-148.

Viklund GÅ, Olsson KM, Sjöholm IM, Skog KI, 2010. Acrylamide in crisps: Effect of blanching studied on long-term stored potato clones. J Food Compost Anal, 23, 194-198.

Wang H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K, Shi F, 2010. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. Reproductive Toxicol, 29, 225-230.

Wang Q, Tompkins KD, Simonyi A, Korthuis RJ, Sun AY, Sun GY, 2006. Apocynin protects against global cerebral ischemia–reperfusion-induced oxidative stress and injury in the gerbil hippocampus. Brain res, 1090,182-189.

WHO, 1993. Guidelines for drinking-water quality. World Health Organization.

WHO, FAO, 2005. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Sixty-first meeting. Summary and conclusions. Rome.

Wise LD, Gordon LR, Soper KA, Duchai DM, Morrissey RE, 1995. Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats. Neurotoxicol Teratol, 17, 189-198.

Yan D, Dai L, Zhang X, Wang Y, Yan H, 2022. Subchronic Acrylamide Exposure Activates PERK-eIF2α Signaling Pathway and Induces Synaptic Impairment in Rat Hippocampus. ACS Chem Neurosci, 13, 1370-1381.

Yener Y, Sur E, Telatar T, Oznurlu Y, 2013. The effect of acrylamide on alpha-naphthyl acetate esterase enzyme in blood circulating lymphocytes and gut associated lymphoid tissues in rats. Experimental and toxicologic pathology, 65, 1-2, 143-6.

Yıldız O, Şahin H, Kara M, Aliyazıcıoğlu R, Tarhan Ö, Kolaylı S, 2010. Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. Akademik Gıda, 8, 44-51.

Yilmaz B, Yildizbayrak N, Aydin Y, Erkan M, 2017. Evidence of acrylamide-and glycidamide-induced oxidative stress and apoptosis in Leydig and Sertoli cells. Hum Exp Toxicol, 36, 1225-1235.

Yılmaz İ, 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. J Turgut Ozal Med Cent, 17, 143-154.

Yu D, Xie X, Qiao B, Ge W, Gong L, Luo D, Zhang D, Li Y, Yang B, Kuang H, 2019. Gestational exposure to acrylamide inhibits mouse placental development in vivo. J Hazard Mater, 367, 160-170.

Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M, 2002. Effects of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat. J Ethnopharmacol, 79, 23-26.

Zargar S, Siddiqi NJ, Ansar S, Alsulaimani MS, El Ansary AK, 2016. Therapeutic role of quercetin on oxidative damage induced by acrylamide in rat brain. Pharm Biol, 54, 1763-1767.

Zhao M, Deng L, Lu X, Fan L, Zhu Y, Zhao L, 2022. The involvement of oxidative stress, neuronal lesions, neurotransmission impairment, and neuroinflammation in acrylamide-induced neurotoxicity in C57/BL6 mice. Environ Sci Pollut Res, 29, 41151-41167.

7. EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı

EK-B: Turnitin Raporu

Sıçanlarda deneysel akrilamid toksikasyonu ve çörek otunun hipokampus üzerine etkileri

ORİJİNALLİK RAPORU

%13	%12	%3	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%4
2	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%3
3	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	%1
4	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%1
5	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
6	9lib.net İnternet Kaynağı	<%1
7	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1
8	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
9	www.diniradyo.net İnternet Kaynağı	<%1