

**SUBKRONİK TİNER İNHALASYONUNA MARUZ KALAN
RATLARIN BAZI DOKULARINDA OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİM VE BUNLARA
SAFRANALIN ETKİSİ**

**Mürüvvet DÜZ
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. A. Fatih FİDAN
Tez No: 2017-004**

2017-Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SUBKRONİK TİNER İNHALASYONUNA MARUZ KALAN
RATLARIN BAZI DOKULARINDA OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİM VE BUNLARA
SAFRANALIN ETKİSİ

Mürüvvet DÜZ

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. A. Fatih FİDAN

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 15.SAĞ.BİL.13 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2017-004

2017- AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 10/07/2017



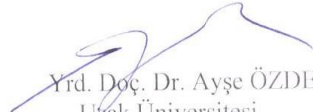
Prof. Dr. Recep ASLAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı




Doç. Dr. A. Fatih FİDAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Raportör



Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye



Yrd. Doç. Dr. Ayşe ÖZDEMİR
Uşak Üniversitesi
Üye



Yrd. Doç. Dr. Seycan SEVİMLİ
Uşak Üniversitesi
Üye

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Programı öğrencisi Mürüvvet DÜZ'ün
" Subkronik Tiner İnhalasyonuna Maruz Kalan Ratların Bazı Dokularında Oksidatif
Stres Parametrelerindeki Değişim ve Bunlara Safranal'ın Etkisi" başlıklı tezi
.../.../..... günü saatda Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin
ilgili maddelere uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. A. Fatih FİDAN yönetiminde hazırlanarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne Doktora Tezi olarak sunulmuştur.

Lisansüstü eğitimim için Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalının kapılarını bana açan ve bu yolda bana yardımcı olan ayrıca desteğini her zaman arkamda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR'e ve Doç. Dr. A. Fatih FİDAN'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Verilerin istatistiksel analizi için yardım aldığım ve değerli bilgilerini benimle paylaşan Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı üyelerinden sayın Prof. Dr. İsmet DOĞAN'a ilgilerinden dolayı teşekkür ederim.

Doktora eğitimim sürecinde ders aldığım ve bu süreçte benden bilgilerini esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine destek ve ilgilerinden dolayı teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bu noktaya gelmemde büyük emekleri olan babam Kurtuluş ve annem Zübeyde KURT'a, verdiğim her türlü kararda beni destekleyen sevgili eşim Tolga DÜZ'e gösterdikleri özveri için çok teşekkür ederim. Destek ve motivasyonları için ayrıca değerli arkadaşlarım Arş. Grv. Dr. Yağmur Nil DEMİREL ve Arş. Grv. Barış DENK'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 15.SAĞ.BİL.13 nolu proje tarafından desteklenmektedir. Projeye destek sağlayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
İçindekiler	ii
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	vii
Grafikler Dizini	viii
Çizelgeler Dizini	ix
Resimler Dizini	x
1.GİRİŞ	1
1.1.GENEL BİLGİLER	4
1.1.1. Tiner	7
1.1.2. Tinerin Vücutta Metabolizasyonu.....	8
1.1.3. Toluen Düzeyleri ve Dokularda Tiner İlişkili Değişikler	10
1.1.4. Tiner Toksikasyonu ve Oksidatif Stres	12
1.1.5.Safran	19
1.1.6. Safranın Bileşimi.....	20
1.1.7. Fitoterapi ve Safran	23
1.1.8.Antioksidatif etkileri	25
1.1.9.Antiinflamatuvar Etkileri	26
1.1.10. Antikanserojenik Etkileri	27
1.1.11.Antinosiseptif Etkileri	28
1.1.12. Safran'ın Kullanılma Alanları.....	30
2.1. MATERYAL	32
2.1.1.Deney Gruplarının Oluşturulması	32
2.1.2.Safranalin Hazırlanması	33
2.1.3.Canlı Ağırlık Ölçümleri	33
2.1.4.Çalışmanın Sonlandırılması	33
2.1.5. Doku homojenatı.....	33
2.1.6.Tiner İnhalasyon Edilen Gruplarda Toluol Düzeyi Ölçümü	34
2.1.7.Biyokimyasal Analizler.....	34
2.2. METOD	34
2.2.1. Araç ve Gereçler	34
2.2.2. Kullanılan Cihazlar	34
2.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
2.2.3.1.Lipid peroksidasyonu (MDA tayini) için:.....	35
2.2.3.2. Glutasyon (GSH) Tayini İçin;	35
2.2.3.3.Nitrik Oksit (NOx) Tayini İçin;	36
2.2.3.4. Total Antioksidan Kapasite İçin:	36
2.2.3.5. Total Oksidan Kapasite İçin.....	36
2.3.Dokuda MDA Tayini	36
2.3.1.Deneyin Prensipleri	36

2.3.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler	37
2.3.3. Deneyin Yapılışı.....	37
2.4. Dokuda GSH Tayini.....	37
2.4.1. Deneyin Prensibi:	37
2.4.1. Dokuda GSH Tayininde Kullanılan Çözeltiler	38
2.4.2. Deneyin Yapılışı.....	38
2.5. Dokuda NOx Tayini	38
2.5.1. Deneyin Prensibi:	38
2.5.2. Dokuda NO Tayininde Kullanılan Çözeltiler	39
2.5.3. Deneyin Yapılışı.....	39
2.6. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü	40
2.6.1. Deneyin Prensibi	40
2.6.2. Deneyin Yapılışı.....	40
2.7. Total Oksidan Kapasite Analizi	41
2.7.1. Deneyin Prensibi	41
2.7.2. Deneyin Yapılışı.....	42
2.8. İstatistiksel Analiz Yöntemi	42
2.8.1. Kovaryans analizi (ANCOVA).....	42
3. BULGULAR	44
3.1. Canlı Ağırlık Profilleri	44
3.2. Tiner İnhale Edilen Gruplarda Toluol Düzeyi Ölçümü	45
3.3. Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler	45
3.3.1 Dokularda MDA Düzeyi	46
3.3.2. Dokularda GSH Düzeyi	48
3.3.3. Dokularda NOx Düzeyi	50
3.3.4. Dokularda TAS Düzeyi.....	51
3.3.5. Dokularda TOS Düzeyi.....	53
4. TARTIŞMA	56
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKÇA	76
ÖZET	95
SUMMARY	96

SİMGELER ve KISALTMALAR

1. Simgeler

$\mu\text{g/ml}$:	Mikrogram/mililitre
$\mu\text{g/dL}$:	Mikrogram/desilitre
$\mu\text{g/L}$:	Mikrogram /litre
g/cm^3	:	Gram /santimetreküp.
mg	:	Miligram
mg/dm^2	:	Miligram/desimetrekare
mg/L	:	Miligram/litre
mL	:	Mililitre
ppb	:	$\mu\text{g/L}$
ppm	:	mg/L
Fe	:	Demir
Cu	:	Bakır

2. Kısaltmalar

LP	Lipid peroksidasyonu
LOO	Lipid Peroksil Radikali
LOOH	Lipid Hidroperoksitler
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutasyon
NO _x	Nitrik Oksit Metabolitleri
TAS	Total Antioksidan Atatü
TOS	Total Oksidan Statü
HTTC	4-hidroksi-2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-karboksaldehit
GABA	Gama Aminobütirik Asit
SHEEP	Stockholm Heart Epidemiology Program
UOÇ	Uçucu Organik Çözücü
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
SR	Serbest Radikal
MSS	Merkezi Sinir Sitemi
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
BALF	Bronkoalveoler Lavaj Sıvısı
QA	Kinolinik Asit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ILO	Uluslararası Çalışma Örgütü
İSİG	İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği
UMATEM	Uçucu Madde Bağımlıları Merkezi
MRI	Magnetik Rezonans Görüntüleme
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
DPPH	2,2-Difenil-1-Picrylhidrazil
NEDD	N-(1-Naftil)etilendiamine dihidroklorür
ABTS	(2,2' -Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)
IR	İskemi Reperfüzyon
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
BUN	Üre Azotu
CREA	Kreatinin
TNF- α	Tümör Nekrozu Faktörü
1L-1 β	İnterlökin-1 beta
1L-18	İnterlökin-18
IFN- γ	Interferon gamma
TBARS	Tiobarbitürik Asit Reaktif Madde
NSAID	Non Steroidal Antienflamatuar İlaçlar

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Vücutta Toluenin Metabolizması Sonucu Dönüştüğü Bileşikler.....	9
Şekil 1.2. Safranın Ana Bileşenleri	21
Şekil 2.3. Nitrit'ten Renki Diazonyum Ürününün Oluşumu	39

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Organik Çözücüler ve Kullanım Alanları.	4
Tablo 1.2. Çözücülere Mesleksel Maruziyet Sonucu Sıklıkla Gözlenen Spesifik Etkiler	5
Tablo 1.3. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizması.....	13
Tablo 1.4. Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen ve Endojen Faktörler.	14
Tablo 1.5. Safran (Crocus sativus L.)	19
Tablo 3.1. Guruplarda Gözlenen Beden Ağırlığı Değişimi	44
Tablo 3.2. Tiner İnhale Edilen Guruplarda Toluol Düzeyi	45
Tablo 3.3. Dokularda Ölçülen MDA Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	46
Tablo 3.4. Dokularda Ölçülen GSH Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	48
Tablo 3.5. Dokularda Ölçülen NOx Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	50
Tablo 3.6. Dokularda Ölçülen TAS Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	52
Tablo 3.7. Dokularda Ölçülen TOS Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	54

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 3.1. Canlı Ağırlık Profilleri.....	45
Grafik 3.2. Dokuda MDA Düzeyleri.....	47
Grafik 3.3. Dokulardaki GSH Düzeyleri.....	49
Grafik 3.4. Dokularda NO _x Düzeyleri.....	51
Grafik 3.5. Dokularda TAS Düzeyleri	53
Grafik 3.6. Dokularda TOS Düzeyleri	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Kullanılan Reaktif ve Standartlar.....	40
Çizelge 2.2. Total Antioksidan Kapasite Analizi.....	41
Çizelge 2.3. Kullanılan Reaktif ve Standartlar.....	41
Çizelge 2.4. Total Oksidan Kapasite Analizi	42

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1.1. Oksidatif Denge.	15
Resim 1.2. Safran Çiçeği Morfolojisi ve Stigması.....	20
Resim 1.3. Pikrokrosinin Kimyasal Yapısı	22
Resim 1.4. Pikrokrosinin HTCC ve Safranala Kimyasal Dönüşümü	22

1.GİRİŞ

Meslek hastalıkları ve iş ortamından kaynaklanan sorunlar, günümüzde önemli bir konu haline gelmiştir. Uluslararası Çalışma Örgütü'nün (ILO) verilerine göre, dünyada her 15 saniyede bir işçi ve her gün yaklaşık 6 bin 300 kişi iş kazası veya meslek hastalıkları nedeniyle yaşamını kaybetmekte, 160 milyon kişi de meslek hastalıklarına yakalanmaktadır. Bildirim ve kayıt sistemlerindeki eksiklikler nedeniyle gerçek rakamların daha da yüksek olması söz konusudur. Büyük çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere her yıl zehirli maddelerden dolayı 651 bin işçi yaşamını yitirmektedir (İSİG, 2015). Günümüzde artan bir ivme ile insan yaşamını tehdit eden tümör vakalarının büyük çoğunluğu da yine kimyasal madde maruziyetine bağlı olarak oluşmaktadır (Coşkunes, 2008).

Kimyasal madde maruziyeti ve bu maruziyete ilişkin hastalıklarda mesleki maruziyet ilk sıradır. Bu konuda pek çok araştırma yapılmış ve birçok kimyasal maddenin vücutta onarılması zor hasarlara neden olduğu ortaya konmuştur (Berk ve ark., 2011). Ciddi sağlık problemleri ve ölümlere neden olabilen bu kimyasallar arasında uçucu organik çözücüler (UOÇ) başat rol oynamaktadır (Ramsey ve ark.,1989; Flanagan ve ark., 1990). Bu organik çözücülerden en çok kullanılanı tiner olup günlük yaşantımızda ve endüstrideki birçok iş kolunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ve benzeri maddelerin canlı organizmada birçok hasara neden olduğu, dahası karışım halinde bulduklarında çok düşük konsantrasyonlarda olsalar bile, birbirleriyle sinerjik etki gösterdikleri ve hatta birbirlerinin toksik etkilerini arttırabildikleri bildirilmektedir (Bruckner ve Peterson, 1976; Ramsey ve ark., 1989). Diğer yandan UOÇ'lerin yaygın bir şekilde uyuşturucu madde olarak kullanılması bu konuyu daha da önemli hale getirmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalar göstermiştir ki UOÇ'lere bağlı zehirlenme vakaları tüm zehirlenme vakalarının %5-10'nuna denk gelmektedir (Güzel ve ark., 2009). Tinerin yanı sıra tinerin ana bileşeni olan toluen (metil benzen), benzen, aseton, metanol ve n-heksan gibi nörotoksik etkili uçucu maddeler de uyuşturucu amaçlı olarak yaygın kullanıma sahiptir. Toluene birçok sprey, boya, cila, tutkal, yapıştırıcı, mürekkep ve temizleme sıvısının ana bileşeni olup (WHO, 2000) kolay ve ucuz temin edilebilen bir

maddedir. Bu nedenle uyuşturucu kullanıcılarının büyük çoğunluğu bu ürünlerden gelen buharları teneffüs etmek yoluyla, uyuşturucuya başlamaktadır (Escobar and Aruffo, 1980; Martínez-Alfaro ve ark., 2011; Beckley and Woodward 2013).

Çevresel ve kimyasal ajanlara maruziyetle birlikte organizmada reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) türevleri ortaya çıkmakta ve bu türevlerin makromoleküllerle etkileşimi oksidatif strese yol açmaktadır (Sharma, 1998). Birçok internal ve eksternal toksik etkende olduğu gibi tinerin toksik etkisi de serbest radikaller (SR) üzerinden ortaya çıkmaktadır (Mattia ve ark. 1991, Martínez-Alfaro ve ark., 2011). SR'in aşırı üretimi ve bu üretimin antioksidanlar tarafından yetersiz nötralisasyonu DNA, lipid, karbonhidrat, proteinler gibi makromoleküllerde hasara yol açmaktadır (Sharma, 1998). UOÇ ve/veya UOÇ karışımlarının uzun süreli kullanımının kalp, böbrek, akciğer ve karaciğerde kalıcı hasarlara yol açtığı gösterilmiştir (Al-Alousi, 1989; Marjot ve McLeod, 1989). Bu maddeler ayrıca, biyolojik membrana fonksiyonlarında bozulma ve akışkanlıkta azalma, membran ilişkili proteinlerde inaktivasyon, hücre-içi Ca^{2+} düzeyi ile Ca^{2+} Mg^{2+} ATP-az aktivitesinde artışlarına neden olmaktadır (Lebel ve Schatz 1990; Mattia ve ark. 1991). Bazı UOÇ'lerin pulmoner alveoler makrofajlarda ve akciğer mikrozomal membran lipidlerinde lipid peroksidasyonunu başlattığı (Suleiman, 1987; Stickney, 1989) karaciğer, beyin, böbrek ve akciğerde SR ilişkili hasarı hızlandırdığına ait deneysel çalışmalar mevcuttur (Mattia ve ark., 1993).

Antik çağlardan beri birçok bitki, hastalıkların tedavisinde veya hastalıklara ilişkin semptomları azaltmada kullanılmaktadır (Arıhan, 2003). Bu bitkilerden bazıları baharat olarak gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmakta ve yüksek antioksidan kapasite sergilemektedirler. Özellikle baharat veya gıda koruyucu olarak kullanılan veya parfümeri ve kozmetik ürünlerinde değerlendirilen bitkilerin çoğunluğu labiatae familyasına aittir (Çoban ve Patır, 2010). Ülkemizde de yetişen ve Labiatae familyasına ait bitkilerden biri ve en önemlisi safrandır (Başer, 2014). *Crocus sativus* L. çiçeğinin stigmalarının kurutulması ile elde edilen safranın temel metabolitleri krosin, krosetin, picrocrosin ve safranaldır (Lozano ve ark., 2000; Kyriakides and Kyriakidis, 2002). Safran, etnofarmakolojik olarak depresyon ve

tümör dahil birçok hastalığın tedavisinde yarar umularak kullanılan bitkiler arasında yerini almıştır (Azarabadi, 2011).

Tıbbi kullanım açısından, safranın ve bileşenlerinin sağlık üzerindeki etkilerini ve olası etkilerinin mekanizmalarını aydınlatmak, ‘dünyanın en pahalı baharatlarından biri olsa bile’, safran ve safranal'nin gelecekte bir terapötik madde olarak kullanılabilirliği yönündeki umutları artırmaktadır. Bu tez kapsamında; subkronik tiner inhalasyonunun oluşturacağı oksidatif stres ve buna bağlı oluşan doku hasarına karşı safranalın koruyucu bir potansiyele sahip olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada; subkronik tiner inhalasyonuna maruz bırakılmış ratlarda gastrik gavajla uygulanan safranalın söz konusu hayvanlarda beyin, karaciğer, akciğer, böbrek ve testis dokularında oksidatif stres parametreleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen verilerin, hem endüstriyel boyutta işçi sağlığının korunmasında hem de uçucu maddeleri kullanan bağımlıların tedavilerinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacağını ummaktayız.

1.1. GENEL BİLGİLER

Büyük çoğunluğu uçucu karakterli olan organik çözücüler; kimyasal olarak nispeten stabil, düşük molekül ağırlıklı, lipofilik, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan bileşikler veya karışımlardır (Faust, 1994). Başlıca, alifatik hidrokarbonlar (n-hekzan gibi), aromatik hidrokarbonlar (benzen veya ksilen gibi) ve halojenli hidrokarbonlar (perkloretillen, trikloretillen, karbon tetraklorür gibi) olarak gruplandırılırlar. (Bacaksız, 2012). Organik çözücüler, Tablo 1.1’de görüldüğü gibi çözücü özellikleri nedeniyle birçok sektörde yaygın olarak kullanılan kimyasallardır (Flanagan ve Meredith, 1996; Bacaksız, 2012).

Tablo 1.1. Organik Çözücüler ve Kullanım Alanları (Bacaksız, 2012).

Organik Çözücü	Kullanım alanları
Aseton	Temizleyici, çözücü
Akrilamit	Tünel ve maden çalışmaları, atık arıtımı, yapıştırıcılar
Benzen	Petrol, deterjanlar, boya çözücüler ve diğer çözücülerin imalatı
Karbon disülfür	Rayon lifi, patlayıcılar, boyalar, koruyucu maddeler, tekstil, lastik solüsyon, cila, elektrokaplama
Etilen oksit	Cihaz sterilizasyonu
N- hekzan	Yapıştırıcı, petrol bileşeni, cila, kaplama, metal temizleme bileşenlerinde
Metan	Birçok endüstride alanında
Metil merkaptan	Doğal gaz ve akaryakıt
Metill-N- butil keton	Birçok endüstride alanında
Metilen klorür	Çözücü, soğutucu
Organoklorin	İnsektisit
Organofosfat	İnsektisit
Perkloretillen	Kuru temizleme, yağ çözücü, tekstil endüstrisi
Stiren	Fiberglas bileşenleri, gemi yapımı
Toluen	Boya, cila, akaryakıt, temizleyici
Metilkloroform	Yağ çözücü ve roket yakıtı
Trikloretillen	Temizleyiciler, boya bileşenleri, cila
Vinil klorür	Plastikler, yer kaplama, döşemecilik, paketleme
Ksilen	Boya, cila, mürekkep, yapıştırıcı, patolojik örneklerin şeffaflaştırılması

Uçucu organik çözücülerin toksik etkilerini uçuculukları ve lipofiliteleri belirlemektedir (Altıntaş, 2006). UOÇ’leri inhalasyon, deri ve oral yol ile maruz kalınmakta (Vural, 1996; Şahin, 2008) ve gastrointestinal ya da dermal maruziyetten daha çok inhalasyonla zehirlenmeler görülmektedir. İnhalasyon yolu ile absorbe olan çözücü hızlı bir şekilde alveollerden kana geçer. Burada solunum yoğunluğu

önemlidir, çünkü solunum yoğunluğu arttıkça absorpsiyonun da doğru orantılı olarak artar (Schenker ve Jacobs, 1996; Viaene, 2002). Tiner, toluen, benzen, stiren gibi birçok organik çözücü oda sıcaklığında kolaylıkla buharlaştıklarından dolayı vücuda kolaylıkla bu yolla nüfuz ederler (Altıntaş, 2006).

Mesleki maruziyet kaynaklarına bakıldığında ise maruz kalınan kimyasal maddelerin çoğunun absorpsiyonunun buhar, gaz, toz ve duman şeklinde solunarak ya da doğrudan deri ve gastrointestinal sistem aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmektedir (Bacaksız, 2012). Uçucu maddelerin uyuşturucu amaçlı kullanımı ise sıklıkla plastik bir torba veya şişe içinden teneffüs edilerek ya da elbise üzerine dökülerek yapılmaktadır (Flanagan ve ark., 1990).

Çözücülerin mesleki maruziyet sonucu sıklıkla gözlenen spesifik etkileri Tablo 1.2 de özetlenmiştir.

Tablo1.2. Çözücülere Mesleki Maruziyet Sonucu Sıklıkla Gözlenen Spesifik Etkiler (Hahn ve ark., 2001).

Organ -sistem	Çözücü Grubu	Semptomlar
Karaciğer	Halojenli hidrakerbonlar ve etanol gibi	Akut ve kronik hepatoksik semptomlar
Böbrek	Halojenli hidrakerbonlar, Toluen, diokzan, glikol gibi	Akut tübüler nekroz, Glomerüler ve tübüler işlev bozukluğu(albüninüri, proteinüri)
Üreme sistemi	Karbon disülfid, benzen, glikol eter, nitrobenzen	Menstrual siklus bozuklukları, azalan sperm sayısı ve embriyotoksik etkiler
Hematopoetik sistem	Benzen metabolitleri	Lösemi, miyelotoksik etkiler
Sinir sistemi	n-hekzan, stiren, etanol, tetrakloretilen	Periferik nöropati
Göz	Metanol	Görme kaybı

Britanya'da 15 yaşına ulaşmış çocukların %3-5 kadarının hayatının herhangi bir döneminde uçucu madde kokladığı belirlenmiş ve bu yaş grubundaki 250 çocuktan bir tanesinin yapıştırıcı koklama bağımlılığı nedeniyle ülke genelinde çeşitli hastanelerde tedavi gördüğü anlaşılmıştır (Davies ve ark.,1985). Türkiye gibi birçok gelişmekte olan ülkede ise ucuz ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle tiner ya da yapıştırıcı en sık tercih edilen uyarıcı maddeler arasındadır. İstanbul'da sokakta yaşayan çocuklarda uçucu madde kullanım yaygınlığı %73 bulunmuştur (Ögel ve

ark., 2004). Bu oran lise ikinci sınıfta okuyan öğrenciler arasında ise %5 civarındadır (Ögel ve ark., 2005). Genel toplamda uçucu madde bağımlı oranı sokakta yaşayan çocuk sayısının çok ötesinde ve bağımlı sayısının 50.000 kişi gibi ürkütücü boyutlarda olduğu bildirilmiştir (Ögel ve Tamar, 2000; Vural ve Ögel, 2005)

Uçucu kimyasal maddeler vücuda alındıklarında maruz kalınan maddenin toksisitesine, maruziyet süresine ve absorpsiyon yoluna bağlı olarak çok çeşitli etkiler göstermektedirler (Linden, 1990; Haug, 1997; Altıntaş, 2006). Çözücülerin vücut içerisinde dağılımı; kan akışı ve doku/organ'ın lipid içeriğine bağlıdır. İnhalasyonla alınan çözücülere en çok duyarlı sistem lipid bakımından zengin olan merkezi sinir sistemidir (MSS). Kan dolaşımına absorbe olan çözücüler çok kısa sürede kalp ve MSS'de toplanırlar (Schenker ve Jacobs, 1996; Viaene, 2002). Genel olarak yağ çözücü özelliklerinden dolayı MSS, hematopoietik sistem, genital sistem ve diğer bazı parankimatoz organlara hasar verebilmektedirler (Bacaksız, 2012).

Kısa süreli uçucu madde solumaya bağlı olarak; kalp atışlarında ritim bozukluğu, mide bulantısı, aksırma, burun kanaması, uyuşukluk, yorgunluk hissi, geçici görme bozukluğu, kendini iyi hissetme, koordinasyon eksikliği, konuşurken dil sürçmesi, kas ve eklem ağrıları, iştah azalması gibi etkiler meydana gelebileceği belirtilmiştir. Uzun süreli uçucu madde solumanın ise aşırı kilo kaybı, aşırı yorgunluk, vücut sıvısı elektrolit dengesizliği, halüsinasyon görme, hırçın davranışlar, bilinç kaybı ve ölüm gibi sonuçlara neden olabileceği ifade edilmiştir (Linden, 1990; Haug, 1997; Altıntaş, 2006). Uyuşturucu amaçlı kullanımda ise akut intoksikasyondaki etkileri keyif verici, öfori, zindelik, disinhibisyon, takiben gevşeme, baş dönmesi, görsel, işitsel halüsinasyonlar, yorgunluk ve uyku hali olarak bildirilmiştir (Ramsey ve ark., 1989; Meadows ve Vergheze, 1996). Ayrıca kullanım sırasında öksürme, hapsirme, salivasyon, deride kızarma, bulantı, kusma, fotofobi, disorientasyon, diplopi, ataksi, konuşmada bozulma, reflekslerde azalma ve nistagmus görülebilir (Meadows ve Vergheze, 1996).

Uyuşturucu amaçlı kullanımda UOÇ'lerin hızla başlayan ve hızla geçen bir iyi hissetme haline neden olduğu ve fizyolojik ve psikolojik etkilerinin alkol, barbitürat

ve trankilizan ilaçlara benzediği ifade edilmektedir. Etkilerinin birkaç dakika içinde ortaya çıktığı ve 15-45 dakika kadar sürdüğü belirtilmektedir. Bu nedenle kişi sürekli elinde bu madde ile dolaşmakta ve kullanmak zorunluluğu hissetmektedir (Uzbay, 2009; Ögen K., 2010; Bacaksız, 2012).

1.1.1. Tiner

Tiner selülozik ve sentetik olmak üzere iki çeşittir. Toluene, benzen, aseton, metanol, hekzan ve diğer maddeleri içeren bir karışımdır ve yaygın olarak pek çok sanayi dalında çözücü olarak kullanılmaktadır (Nedzvetskii ve ark., 2012). Ülkemizde yaygın kullanılan ve fiziksel ve kimyasal özellikleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenen tiner, selülozik tiner grubundadır (TSE, 1992).

Selülozik tiner; bünyesinde hidrokarbonlar, esterler, glikol eterler, ketonlar ile alkoller bulunduran ve nitro-selüloz esaslı her türlü boyaların, verniklerin viskozitelerini düşürerek uygulama kolaylığı sağlamak için kullanılan çözücü karışımıdır (TSE, 1992).

Boya tineri olarakta bilinen selülozik tinerin gaz kromatografik analizinde 200'den fazla aromatik ve alifatik maddenin karışımından oluştuğu ortaya çıkarılmıştır (Allen ve ark.,1992). Boya tineri bu kimyasal yapısından dolayı saf bir madde olarak ifade edilemez ve deneysel çalışmalarda gerçek konsantrasyonunun belirlenmesi çok güçtür (Kuzugüden, 2007; Güçlü, 2014).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenen selülozik tinerin asetik asit oranı en çok % 0.03, toplam hidrokarbon miktarı en çok % 56, aromatik hidrokarbon oranı en az % 30, alifatik hidrokarbon oranı en çok % 25 ve alkoller, esterler, ketonlar, glikol eterlerin oranı ise en az % 44 olmalıdır. Benzen ve klorlu hidrokarbonlar bulunmamalıdır. Toluenele seyrelme oranı en az 1 olmalıdır (TSE, 1992). Selülozik tinerin içeriğinin gaz kromatografisi metodu ile analiz edilmesiyle; Türkiye'de kullanılan tinerin, yaklaşık olarak %63 oranında toluene, %13 aseton, %10 izobutil asetat, %7,5 izobutanol ve % 6.5 oranında butilglikol içerdiği ve tiner kaynaklı zararlı etkilerin büyük çoğunlukla toluene ilişkili olduğu, diğer maddelerin ise bu etkileri aktive ettikleri vurgulanmıştır (Vural, 1996).

Tiner inhalasyonu ensefalopati gelişimi için önemli bir neden olabilirken aynı zamanda da geri dönüşümsüz beyin hasarına da yol açabilmektedir (Baelum J., 1991; Hass ve ark., 1999). Tinerin ana bileşeni olan toluen (% 60-70), güçlü nörotoksik özelliklere sahip bir bileşiktir (Escobar ve Aruffo, 1980). Toluene depresyon, hafıza kaybı ve ilerleyen beyin ve sinir hasarına neden olabilmektedir (Mattia ve ark., 1993a). Toluene maruziyetinin işitme bozukluğuna sebep olduğu ve sıçanlarda doğum ağırlığını azalttığı bildirilmektedir (Greenberg, 1997).

Türkiye’de yapılan çalışmalar ve gözlemler, sigara ve alkol dışında en sık kullanılan maddenin esrar olduğunu, sırayı uçucular diye adlandırılan çözücüler, yapıştırıcılar, benzin, gaz gibi maddelerin takip ettiğini göstermiştir. Uçucu maddeler içinde özellikle tiner, bally, uhu adlı maddeler en sık kullanılanlardır (Ögel ve ark., 1998).

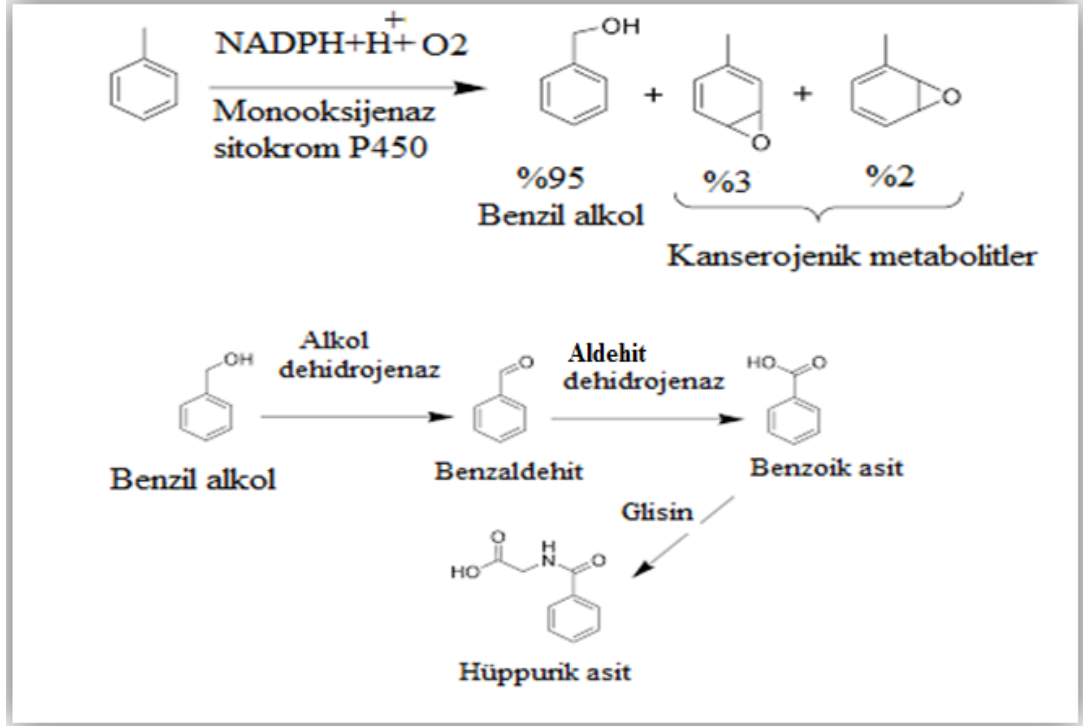
Uçucu madde bağımlıları merkezi (UMATEM)’nde yatarak tedavi gören bağımlılarla yapılan araştırma bulgularına göre, sokakta yaşayanların ailesiyle yaşayanlara göre tineri 6 kat daha fazla oranda tercih ettikleri belirtilmiştir ve ailesiyle yaşayanlar daha çok bally adındaki yapıştırıcıyı tercih ettikleri tespit edilmiştir. Erkek bağımlıların %38.7 oranında tiner ve %45.2 oranında bally tercih ettiği, bu oranların kadın bağımlılarda sırasıyla %21.1 ve %18.9 olduğu görülmüştür (Ögel, 2010).

1.1.2. Tinerin Vücutta Metabolizasyonu

İnhalan maddelerin en toksiklerinden biri olan tinerin ana bileşeni ve tiner maruziyetini biyolojik indikatörü olan toluen vücuda solunum yoluyla alındıktan 10 saniye sonra bronşlardan kana karışmakta ve kan yoluyla tüm vücuda yayılarak, adipoz dokularda, yüksek yağ içeren dokularda ve vasküler dokularda birikmekte ve çeşitli enzimatik etkileşimlerle diğer bileşiklere dönüşmektedir (Şekil 1.1) (Faust, 1994; Uzun ve ark., 2001; Tsuga ve ark., 2002; Altıntaş, 2006).

Vücuda giren toluen öncelikle karaciğerde bulunan monooksijenaz sitokrom P-450 enzimleri ile etkileşerek yan zinciri hidrosillenmekte ve benzil alkole dönüşmektedir. Benzil alkol alkol dehidrogenaz enzimi ile oksitlenerek benzaldehide

ve aldehid dehidrogenaz etkisi ile benzoik aside dönüşmektedir. Oluşan bu benzoik asidin idrar yoluyla vücuttan atılması için bir dönüşüme daha ihtiyaç vardır. Benzoik asit glisin ile birleşerek temel idrar metaboliti olan hüppirik asidi oluşturur. Vücuda giren toluenin %70-80'i 24 saat içinde hüppirik aside dönüştürülerek idrar yoluyla vücuttan atılmakta, geri kalan % 10-20'si solunum ve terleme yoluyla deriden atılmaktadır (Haug, 1997; Xiao ve ark., 2001; Eisenberg, 2003; Altıntaş S. 2006).



Şekil 1.1. Vücutta Toluenin Metabolizması Sonucu Dönüştüğü Bileşikler (EPA, 2005)

Yağda çözünen organik maddelerden oluşan uçucu maddelerin hepsi kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçebilmekte ve bilinç düzeyini etkilemektedir. Bu uçucu maddelerin merkezi sinir sistemindeki farmakolojik etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak; alkole benzer biçimde, nöronal hücre membranının akışkanlığını ve beyin gama aminobütirik asit (GABA) düzeylerini artırarak etki gösterebileceği belirtilmektedir. Etkilerinin birkaç dakikadan birkaç saate kadar devam edebileceği ifade edilmektedir. İdrarda hippurat/ kreatinin oranının 1gr/gr'ın üstünde olması tiner kullanımını işaret edebilir; ancak, benzoik asit gibi gıda koruyucuların yanlış pozitif sonuçlara yol açabileceği de düşünülmelidir (Filley ve ark. 2004; Altındağ ve ark., 2001).

1.1.3. Toluen Düzeyleri ve Dokularda Tiner İlişkili Değişikler

Araştırmalar, uçucu madde bağımlılarının %90 oranında toluen, %5 oranında klorlu hidrokarbonlar, %3 oranında bütan ve %2 oranında diğer uçucu maddeleri kullandıklarını belirtmiştir (Watson, 1980; Hormes ve ark., 1986). Uçucu maddeler, bağımlılık yapan maddelerdir ve bağımlılık çabuk ve hızlı oluşur. Tolerans gelişimi yani giderek artan miktarlarda madde kullanımı isteği bağımlılığın en önemli kriterlerinden birisidir. Ancak tüm kullanıcıların bağımlı olduğunu söylemek güçtür (Öğel, 2010). Tinerin uyuşturucu amaçlı kullanımı sonucu ölen bir bireyin beyin ve karaciğer dokularında yüksek miktarda toluene rastlanmıştır (Faust, 1994; Uzun ve ark. 2001; Tsuga ve ark. 2002; Altıntaş, 2006).

Tinerin içeriğindeki ana bileşeni toluen olup toluenin legal maksimum dozu 200 ppm'dir. Bunu aşan yüksek dozlar, alkol ve diğer uçucu maddeler gibi merkezi sinir sistemi üzerinde önce uyarıcı sonra depresan etki yapmaktadır (Uzun ve ark., 2001). Amerika işçi sağlığı ve güvenliği kurumu (OSHA) toluen için kabul edilebilir maruz kalma sınırlarını bildirmiş ve 100 ppm düzeyini iş yeri için güvenli görürken, 150 ppm düzeyini sekiz saatten az maruz kalmanın kabul edilir olduğunu, 2000 ppm düzeyini ise yaşamsal risk gösterdiğini belirtmişlerdir. Kan toluen seviyesinin 2,5 mg/ml (mikrogram/mililitre) olması durumunda hastalık oluşumu görülürken, 50 mg/ml düzeylerinin olasılıkla ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir (Martin, 2001; Koyuncuer, 2004). Türkiye için izin verilen maruziyet sınırı 50 ppm ya da 192 mg/m³ iken kısa süreli maruziyet sınırı (ortalama 8 saat vardiyaya göre) 100 ppm ya da 384 mg/m³(15 dakikalık maruziyet) olarak belirtilmiştir (Öztürk, 2016).

Meslek kuruluşlarında sekiz saat kadar süren 127 ppm'lik maruziyetten sonra kan toluen düzeyleri ölçülmüş ve yaklaşık olarak 0.4-6,7 mg/l tespit edilmiştir (Flanagan ve Ives, 1994). Boya yaparken ölen bir kişinin otopsi sonuçlarında da sırasıyla kanda, akciğerlerde, karaciğerde ve beyinde: 48, 35, 65, 80 µg/g toluen tespit edilmiştir (Dorsey ve ark., 2000).

Uçucu maddeler kalp ve dolaşım sistemi üstünde çarpıntı, kalp ritminin bozulması, kalp kasında bozulma, akciğerlerin kanlanması, solunum yolunun hasarına yol açtığı, karaciğerde büyüme, böbrek yetmezliği, böbrek mikroskopik

yapısında çürüme görülebildiği belirtilmiştir. Günlerinin büyük bölümünü sokakta geçiren uçucu madde kullanıcıları, birçok fiziksel hastalığa da maruz kalmaktadır bu sebeple bu kişilerde belirtilen hastalıkların görülmesi daha da sıktır (Öğen, 2010).

Kalp-damar sistemi üzerine olumsuz etkilerine bağlı bradikardi ya da taşikardiye bağlı ani ölüm, miyokard infarktüsü ya da kalp yetersizliğine yol açar (Flanagan ve ark., 1990). Uçucu maddelerin kalp üzerine etkilerinin araştırıldığı en önemli çalışmalardan biri “*Stockholm Heart Epidemiology Program*” (SHEEP) çalışmasıdır. Kırk beş ile 70 yaş arasında 2993 olgunun alındığı bu çalışmada dinamit patlaması ya da organik çözücülere maruz kalmanın, temas süre ve yoğunluğuna göre miyokard infarktüsü riskini 1,5-2 kat arttırdığı gösterilmiştir (Gustavsson ve ark., 2001).

Deneyel çalışmalarla akut toluen ve ksilen maruziyetinin solunum felci, bradikardi ve asistol yaptığı benzenin ise solunum felcine yol açtığı görülmüştür. Bu üç maddenin subakut verilmesi sonucu ise repolarizasyon bozukluğu ve aritmi oluşumuna rastlanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre tüm bu olayların derecesi, sıklığı ve gelişimi uygulanan doz ve temasın süresi ile yakından ilişkilidir (Morvai ve ark.,1976).

Toluen asit-baz dengesizliklerine, akut böbrek yetmezliğine, Fanconi sendromuna ve renal tübüler asidoza neden olabilmektedir (Vural ve Öğen, 2007). Akciğerler toluen'den etkilenen başka bir organdır. Hem toluen buharına maruz kalarak hem de sistemik emiliminden sonra dolaylı olarak etkisini göstermektedir. Toluen diizosiyanat gibi izosiyanatlar, mesleki astımın en yaygın nedeni olarak kabul edilir, ABD'de yılda 100.000'den fazla işçi maruz kalmaktadır ve bunların% 5-10'u astım gelişmektedir (Tee ve ark., 1998).

UMATEM kliniğinde yatarak tedavi gören uçucu madde bağımlısı gençlerin beyinleri magnetik rezonans görüntüleme (MRI) adı verilen teknikle değerlendirildiğinde beyindeki beyaz madde lezyonu %46, “ventrikül ve sulcus atrofik dilatasyon” adı verilen bozukluk %27, “talamik hipotensite” adı verilen bozukluk ise %20 oranında gözlenmiştir. 4 yıl ve daha uzun süren madde kullananlarda bu değişikliklerin çok daha belirgin olarak gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak uçucu maddelerin kullanım süresi uzadıkça beyinde meydana gelen değişikliklerin netleştiği görülmüştür. Beyinde oluşan bu hasarın süresi ve geri dönüşümlü olup olmadığı bilinmemektedir (Öğen, 2010).

Uzun süreli UOÇ kullanımının akciğer ve karaciğerde kalıcı hasarlara yol açtığı gösterilmiştir (Marjot ve McLeod, 1989; Al-Alousi, 1989). Mattia ve ark. (1991;1993) in vivo ve in vitro çalışmalarında, intraperitoneal olarak uyguladıkları toluen etkisiyle beyin, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında ROS oluşumunun hızlandığı ve lipid peroksidasyonunun arttığını bildirmişlerdir Al-Alousi (1989), uçucu maddeye bağlı ölümden nedenin akciğer ödemi olduğunu vurgulanmıştır.

Carabez ve ark. (1998) tinere maruz bırakılan sıçanların merkezi sinir sistemi bulguları olarak intersinaptik mesafede artış, intersinaptozomal veziküllerde sayıca azalma, mitokondrial matrikste vakuolizasyon ile boyut ve şekil farklılıkları bildirmişlerdir. Periferik sinir myelin tabakasında da değişiklikler tespit etmişlerdir Ottosan ve ark.(1980) ise toluen ve stirene maruz kalma sonucu kurbağalarda olfaktör sinir hücrelerinde hasar oluştuğunu göstermişlerdir. Araştırmalara göre tiner gibi organik solventlerle maruz kalan ratlarda kilo kaybı gözlenmiştir (Yamada, 1993; Marguez-Orozco ve ark., 1983).

1.1.4. Tiner Toksikasyonu ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve kimyasal aktifliği yüksek moleküller olarak tanımlanır. Başka bir ifadeyle serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının, pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir (Halliwell, 1987, Cheeseman, 1993; Akkuş, 1995). Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdek ve bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Atom çekirdeğinin çevresindeki, elektronların bulunduğu boşluğa da orbital denir. Her bir orbitalde spinleri birbirine zıt ($\uparrow\downarrow$) olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşleşmiş veya ortaklanmış elektronlar denir (Halliwell, 1987). Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş ve ters pozisyonda yer aldıklarında kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulunduklarında bozular (Halliwell, 1987; Cheeseman, 1993).

Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Bir serbest radikal üç temel mekanizmayla oluşmaktadır (Tablo 1.3). Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (Akkuş, 1995).

Tablo 1.3. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizması (Feldman ve ark., 1995; Halliwell 2001).

Serbest radikallerin Oluşumu		
1	Kovalent bağların homolitik yıkımı ile; bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır	$A:B \rightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$
2	Normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya heterolitik bölünme ile; Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.	$A:B \rightarrow A^{\cdot-} + B^{+\cdot}$
3	Normal bir moleküle elektron transferi ile	$A + e^{-} \rightarrow A^{\cdot-}$

Dokularda meydana gelen serbest radikaller DNA, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi biyolojik açıdan önemli materyallere zarar verebilmektedir (Fidan, 2007). Ancak, üretilen radikaller her zaman tehlikeli ve zararlı maddeler olarak değerlendirilmemelidir. Zararlı etkilerinin yanında vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde de önemli rol oynarlar.

Moleküler oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur. Hücre farklılaşması ve apoptozis, mikroorganizmalara karşı savunma, steroid yapıda çok sayıdaki bileşiğin üretimi, eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, çok sayıda oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin etkileri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için, serbest radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (Cheeseman, 1993; Bergendi, 1999).

Serbest radikaller vücut dışından gelebileceği gibi metabolizmanın doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir (Tablo 1.4.) Canlı organizmalar serbest radikallerin

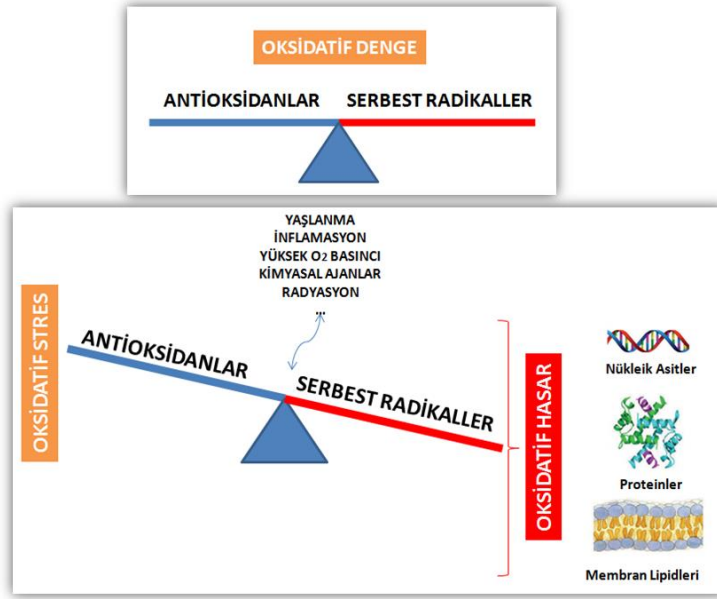
potansiyel yıkıcı etkilerine karşı kendilerini korumak için çeşitli mekanizmalara sahiptir (Koca ve Karadeniz, 2003).

Tablo 1.4. Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen ve Endojen Faktörler (Kalaçay, 2013).

Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen ve Endojen Faktörler	
Eksojen Faktörler	
1.	Diyet ilişkili faktörler.
2.	Çevresel faktörler:
3.	İlaçlar:
Endojen Faktörler	
1.	Fiziksel egzersiz / sedanter yaşam
2.	Stres
3.	Yaşlılık
4.	Doku hasarı ve kronik hastalıklar
5.	Diyetle birlikte antioksidan alınımını etkileyen koşullar

Aerobik yaşam, reaktif oksijen türlerinin devamlı olarak üretilmesi ve bunların benzer bir hızla antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılması ile karakterizedir. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. “Oksidatif stres” olarak adlandırılan bu durum özetle: Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Serafini, 2004).

Oksidatif stresteki artış sonucunda oluşan ROS ve RNS hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA’daki bazların çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Sonuçta hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküller hasarlanarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana gelmektedir (Resim 1.1) (Fidan, 2007; Özcan ve ark., 2015).



Resim 1.1. Oksidatif Denge (Özcan ve ark.,2015).

Serbest radikallerin lipidler üzerine yaptığı etki lipid peroksidasyonu (LP) olarak adlandırılır, LP doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Fidan, 2007). Biyolojik zarların yapısı lipid ve proteinden oluşmaktadır, lipid peroksidasyonu lipidlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açmaktadırlar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen hücrel hasar geri dönüşümsüzdür (Gutteridge, 1995; Kurutaş ve İnanc, 2004).

Lipid peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikalinin başlattığı kabul edilmektedir (Mates ve Sanchez-Jimenez, 1999; Avşaroğlu, 2009). Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir. Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asiti radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikali (LOO) oluşur. Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına neden olurken

kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipid hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (Gutteridge, 1995; Sodergen, 2000; Özkan ve Fışkın, 2004; Fidan, 2007). Lipid peroksitler hücre zarının önemli bir komponentidir ve Fe ile Cu gibi geçiş metallere varlığında alkoksil ve peroksil radikali verirler. Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını arttırmak suretiyle hücre zarı akışkanlığı ve permabilitesini zayıflatırlar, bu tablo hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir. Lizozomal membranların yıkılması hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur (Mead, 1984; Braugher ve ark., 1987; Burton, 1989).

Serbest radikallerin proteinlerle ilişkisi aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu oluşan yapısal değişiklikler amino asitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu, agregasyonu ve çapraz bağlanmalar olmak üzere üçe ayrılır (Kayalı ve Çakatay, 2004). Fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi doymamış yapılar taşıyan aromatik amino asitler ve sülfürlü amino asitler oksidatif ataklara karşı çok hassastırlar. Protein temel yapısındaki değişiklik, antijenite değişkenliğine ve proteolize yatkınlık nedeniyledir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bu yolla bozulmasına neden olabilirler (Reznick ve ark.,1992). Serbest radikal türlerinin lizozomal membranlara zararlı etkisi sonucu, hidrolitik enzimlerin hücre içine salınması duyarlı aminoasit kalıntılarını okside ederek veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarına neden olarak enzimleri inaktive edebilir (Mead, 1984; Braugher ve ark. 1987; Burton, 1989). Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerde üç boyutlu yapı bozulur ve normal fonksiyonlarını yitirirler (Çelik, 2005).

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir (Reznick ve ark.,1992). Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler. Serbest radikaller bağ dokunun

önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbonhidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (Bell ve Hye, 1983; Kurt ve ark., 2004).

DNA; hücrenin genetik materyalidir. Ayrıca proteinleri kodlayan DNA'nın fonksiyon bozukluğu veya inaktivasyonu, kodladığı proteinleri etkiler (Wu, 2003). İnsan bedeninin her hücresindeki DNA, günde 10.000 kez serbest radikal saldırısına maruz kalmaktadır. Oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından onarılmakla birlikte, hasarın çok fazla olduğu veya onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde oluşan hasar hücre ölümüne veya mutasyona neden olur. DNA hasarının çeşitli hastalıkların etyolojisinde ve yaşlanmada önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Ames ve ark., 1992; Halliwell ve ark., 1992; Andican ve ark., 2004; Çelik, 2005).

Serbest radikallerin etkileri ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucunda açığa çıkan malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi ürünlerin vücut sıvıları ve dokularda biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesi ile oksidatif hasar varlığı tespit edilmektedir (Özcan ve ark., 2015).

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (Halliwell, 1995; Martínez-Alfaro, 2011). Günlük yaşamın rutin ilerleyişi sırasında karşılaşılan reaktif metabolitlerin giderilmesi ve fizyolojik işleyişin devamında endojen antioksidanlar önemlidir. Bununla birlikte antioksidan kapasitenin güçlendirilmesi amacıyla, eksojen antioksidan maddelerin alımı gündeme gelmiştir (Dündar ve Aslan, 2000). Organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini, serbest radikal oluşumu yolu ile gösterdikleri de bildirilmiştir (Lebel ve ark., 1990, Mattia ve ark. 1993a, 1993b).

Karabulut ve ark. (2009) insanlarda toluenin, hem in vivo hem de in vitro oksidatif stres parametrelerini önemli ölçüde arttırdığını, aynı zamanda antioksidan enzim aktivitelerinde önemli bir düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir. Organik çözücülerden tinerin neden olduğu oksidatif stres tablosu şu mekanizmalarla açıklanmaktadır.

- Bunlardan biri sitozolik NADH üreten benzen, toluen, ksilen, etanol, aseton ve tri-metilbenzen'in oksidatif metabolizmasıdır. NADH mitokondriyal elektron transportuyla dolaylı olarak mitokondriyal iç zardaki taşıyıcıları içeren hidrojen kaydırma mekanizmasına bağlı olarak okside olmaktadır. Mitokondriyal NADH'yi ve solunum hızını arttırmadan elektron taşıma zincirindeki indirgeme basıncını arttıran bu durum elektron taşıma zincirinde O₂ oluşumunu teşvik etmektedir (Roberts, 2009).
- Özellikle benzen ve toluen metabolizması sonucu kinonların sitokrom P450 ile üretimi önerilen bir başka mekanizmadır. Bu kinonlar, bir redoks döngüsü ile sitozolik ROS oluşumuna sebep olabilmektedirler (Murata, 1999).
- Bir diğer mekanizma ise ROS oluşumunu arttıran non-mitokondriyal mekanizmadır. Tiner bileşenlerin metabolizması radikal oluşumu eğilimli olan CYP2E1 gibi sitokrom P450 izoformlarının aktivasyonu ile sonuçlanır (Backes, 1993).
- Buna ek olarak, toksik maddelere maruz kalınması inflamasyona neden olmaktadır. Tiner inhalasyonu akciğerlerde inflamasyona neden olmaktadır. Çok sayıda kanıt akciğerdeki ROS ve RNS türlerinin oluşumunda fagositik lökositler ve makrofajlar tarafından salınan inflamatuvar mediatörlerin rolünü desteklemektedir. Makrofajlar, NO (nitrik oksit) sentaz enzimin indüklenebilir bir formu yoluyla NO üretmektedir. Bu enzim, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi sitokinler inflamatuvar mediatörler tarafından regüle etmektedir. Ayrıca, alveolar makrofajlarda nükleer faktör κ B'nin (NF- κ B) hızlı ve kalıcı olarak aktive edilmesi, indüklenebilir NO sentaz enzimi (iNOS) ve TNF- α reseptörünün indüklenebilir bir formunun ekspresyonunu


indüklenmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan O_2^- (süperoksit anyon), monosit, makrofaj ve polimorfonükleer lökositler de dahil olmak üzere uyarılmış lökositler tarafından NADPH oksidazın etkisi ile serbest bırakılmaktadır (Fialkow, 2007).

1.1.5.Safran

Safran (*Crocus sativus L.*), kuzey yarım kürenin tropikal ve subtropikal bölgelerinde yayılış gösteren daha çok İtalya, İspanya, Yunanistan gibi Akdeniz’e kıyısı olan ülkelerde ve Türkiye dahil olmak üzere Çin, İran ve Azerbaycan’da kültürü yapılan kormlu (sert soğanlı), çok yıllık, otsu bir bitkidir. Safran bitkisi ve bitkisinin bilimsel sınıflandırması Tablo 1.5’ de görülmektedir (Vurdu ve ark., 1997; Vikipedi 2017).

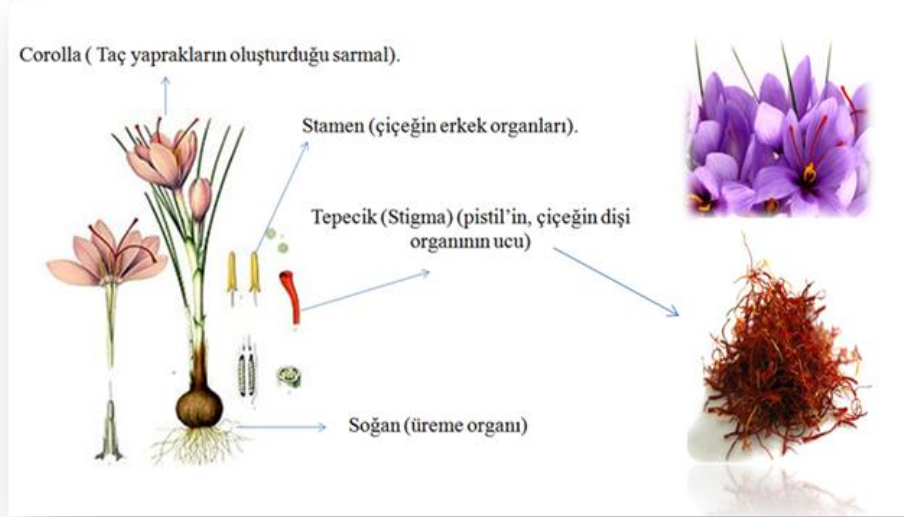
Tablo 1.5.Safran (*Crocus sativus L.*) (Vikipedi, 2017)

Safran (<i>Crocus sativus L.</i>)	
<u>Bilimsel sınıflandırma</u>	
Âlem	: <u>Plantae</u> (Bitkiler)
Bölüm	: <u>Magnoliophyta</u> (Kapalı tohumlular)
Sınıf	: <u>Liliopsida</u> (Bir çenekliler)
Takım	: <u>Asparagales</u>
Familya	: <u>Iridaceae</u> (Süsengiller)
Cins	: <u><i>Crocus</i></u>
Tür	: <u><i>C. sativus</i></u>
İkili adı	: <u><i>Crocus sativus L.</i></u>



Arapça “Za.feraan” sözcüğünden gelen safran gıda, boya, ilaç, kozmetik gibi çeşitli endüstri dallarında kullanılmaktadır. Günümüzde safranın kullanıldığı en önemli alan ise gıda sektörüdür. Safranın bu alanlarda kullanılmasının temel nedeni taze stigmalar da bulunan acı tattaki pikokrosinin kurutma süreci sırasında hidrolizi sonucunda ortaya çıkan hoş aromalı safranal bileşenidir (Azarabadi, 2011). Safran, bitkisinin çiçeklerindeki parlak kırmızı boyuncuk (stilus) ve tepecik (stigma) kısımları kullanılarak elde edilmektedir (Resim 1.2) (McGimpsey ve ark., 1997, Vikipedi 2017).

Safran, ekonomik değeri yüksek olan bir baharattır ve bir kilogram kaliteli safran üretiminin maliyeti 2.000 dolardır. 150 tane safran çiçeklerinden 1 g safran ve 147 bin tane çiçeklerden 1 kg kuru safran elde edilmektedir (Aytekin ve Açıkgöz, 2008).



Resim 1.2. Safran Çiçeği Morfolojisi ve Stigması (Wikipedi, 2017)

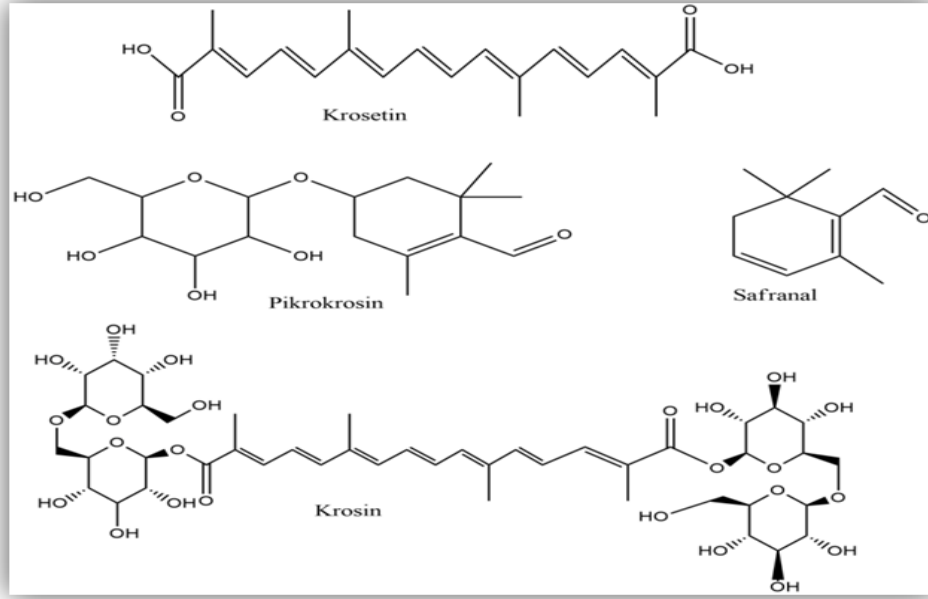
1.1.6. Safranın Bileşimi

Safran bitkisinin kimyasal analizi, proteinler, amino asitler, karbonhidratlar mineraller, vitaminler ve pigmentler gibi 150 den fazla uçucu ve uçucu olmaya bileşenin varlığını göstermektedir. Safran alının da dahil olduğu 34 den fazla terpen ve bunların esterleri olan uçucu bileşen içermektedir. Bitki özlerinin kimyasal analizi göstermiştir ki bitkinin temel bileşenleri karotenoid yani krosinler, krosetin, karotenoidin ve safranaldır (Abdullaev ve ark., 2007).

Safran genel olarak % 15-16 su, % 10-14 protein, % 13-14 şeker, % 6-7 nişasta, % 9-10 gamlar ve dekstrin, % 6-7 pentozlar, % 5-8 kül, % 4-5 lif, % 0.8-1 uçucu yağ, % 8- 13 bitkisel yağdan (palmitik, stearik, laurik ve oleik asitler) oluşmaktadır. Safran ayrıca B2 vitamini ve B1 vitaminleri ile Ca, Fe, P, Na ve K gibi mineraller de içermektedir (Peter, 2001). Ayrıca kamferol, mirisitin, kuersetin,

apigenin, luteolin ve tirisin safranda bulunan fenolik yapıdaki bileşiklerdendir (Williams, 1998; Azarabadi, 2011).

Safranın ana bileşenlerinden safranlal, krosin, krosetin ve pikrokrosinin (Şekil 1.2).birçok farkolojik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Gresta ve ark., 2008).

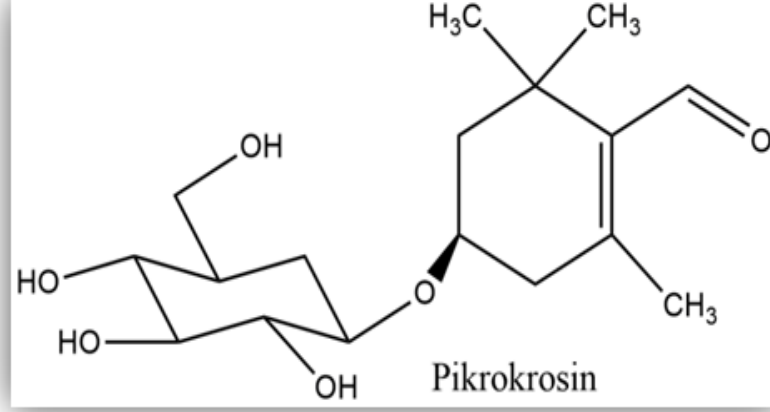


Şekil 1.2. Safranın Ana Bileşenleri (Gresta ve ark, 2008).

Safran renk özelliğini esas olarak cis ve trans şeklinde bulunan krosinlerden almaktadır. Krosin metabolitlerinin en büyüğüdür ve safranin renginden sorumludur (Şekil 1.) (Peter, 2001; Lage ve Cantrell, 2009; Azarabadi, 2011). Krosin, kendi ağırlığının 100.000 katı suyu sarı renge boyayabilen, altın sarısı rengi veren etken maddedir. Aynı zamanda içine konduğu yemeklere sarı bir renk vermektedir. Bununla birlikte güçlü renklendirme özelliğinden dolayı ipek, yün ve saç boyası olarak da kullanılmaktadır (Lage ve Cantrell, 2009).

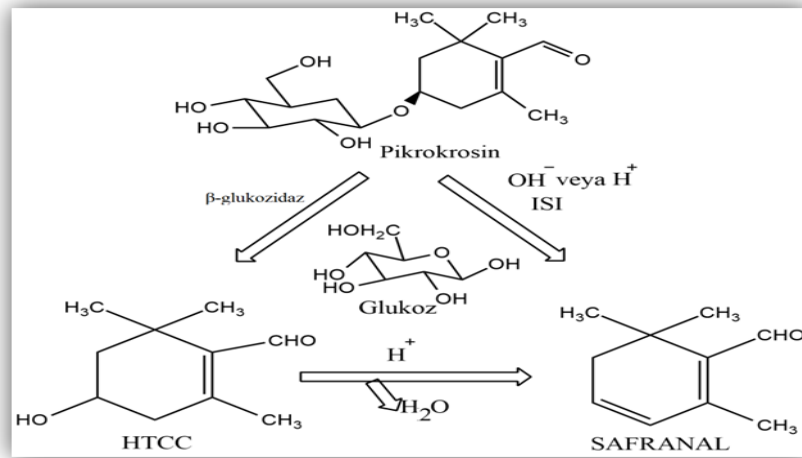
Safranin rengi ile birlikte kalitesini etkileyen diğerk özellikleri ise tadı ve aromasıdır. HTTC (4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-carboxaldehyde-1-cyclohexene) aglikonunun renksiz glikoziti olan 330.37 g/mol moleköl ağırlığına sahip pikrokrosin

(Şekil 1.3.), safrana acılık veren ve safranın tattan sorumlu olan ana bileşenidir aynı zaman da safranal'ın öncü bileşenidir (Lage ve Cantrell, 2009).



Resim 1.3. Pikrokrosinin Kimyasal Yapısı (Jalali-Heravi, 2009; Azarabadi, 2011).

Safranın acılık bileşeni olan pikrokrosin asit, alkali, ısı ve enzim etkisi ile 4-hidroksi-2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-karboksaldehit (HTTC)'ye, HTTC de asit safranın uçucu yağının ana bileşeni ve aromadan sorumlu olan (150.21 g/mol bir molekül ağırlığına sahip bir monoterpen aldehit olan safranala $C_{10}H_{10}O$, 2,3-dihidro-2,2,6-trimethylbenzaldehyde) dönüşmektedir (Şekil 1.4). Safranın rengi, aroması ve tadından sorumlu olan bu bileşikler yoğun olarak stigmasında bulunmaktadır (Trantilis ve ark., 1995; Peter, 2001; Baydar, 2005).



Resim 1.4. Pikrokrosinin HTCC ve Safranala Kimyasal Dönüşümü (Carmona ve ark., 2007).

1.1.7. Fitoterapi ve Safran

Türkçeye bitkiler ile tedavi olarak çevirebileceğimiz fitoterapi terimi Yunancada phyton=bitki ve therapeia=hizmet etmek, iyileştirmek anlamına gelen kelimelerden oluşmuştur. Fitoterapi; bitkilerin tamamı veya bazı bölümleri kullanılarak hazırlanmış doğal ilaçlarla hastalıkları önlemeyi ve tedavi etmeyi amaç edinen, insanlık tarihinin bilinen en eski doğal tedavi yöntemlerinden biridir (Karaca, 2017). Antik çağlardan bu yana birçok bitkinin, içerdiği kimyasallar nedeniyle hastalıkların tedavisinde veya hastalıkların oluşturduğu zararları azaltmada kullanıldığı bilinmektedir (Mousavi ve Bathaie, 2011).

Safranın yaklaşık dört bin yıl boyunca önemli bir tıbbi kullanım alanına sahip olduğu ve tarih boyunca 90'ın üzerinde tıbbi rahatsızlığın tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Sümerliler safranı ilaç ve iksirlerinin hazırlanmasında kullanmışlardır; Eski Mısırlılar ise sindirim sistemi hastalıkları ve yaraları iyileştirmek, aynı zamanda karaciğer ve mideyi güçlendirmek ve dalak rahatsızlıklarını tedavi etmek amacıyla kullandıkları bildirilmiştir. Hipokrat gibi devrinin önde gelen tıp âlimlerinden eserlerinde safranın tıbbi özelliklerinden bahsederek bu bitkinin göz, kulak, diş ağrılarına karşı etkili olduğundan, ayrıca ülser tedavisinde kullanıldığından ve kan durdurucu etki gösterdiğinden bahsetmişlerdir. Eski Roma'da safranla hazırlanan aromatik su, yağ ve merhemler karaciğeri rahatlatmak, öksürüğü kesmek, akciğer ve göz iltihaplarını gidermek için kullanılmıştır (Paşayeva ve Tekiner, 2014). M.Ö. 1500 yıllarına ait Eber papirüslerinde safranın böbrek rahatsızlıklarını gidermede kullanılan ilaçların bileşiminde kullanıldığından bahsedilmektedir (Mousavi ve Bathaie, 2011).

Hint tıbbında (ayurvedic) safran eklem iltihaplarından iktidarsızlığa ve kısırlığa kadar değişen pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Safran ayrıca astım, soğuk algınlığında, alkol bağımlılığını tedavisinde ve deri hastalıklarında kullanılmaktadır (Mousavi ve Bathaie, 2011; Paşayeva ve Tekiner 2014).

Menlyk ve ark. (2010) safranda bulunan pek çok fitokimyasal bileşik nedeniyle potansiyel biyolojik ve farmokojik fonksiyonlara sahip olduğunu bildirmişlerdir. Safranın içerdiği fitokimyasallar arasında bulunan krosin, krosetin, pikrokrosin ve safranalın tıbbi biyoaktivitesini belirlemek için çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma yapılmış ve safran kullanımının pek çok kanser türü riskini azaltmasının yanında kalp damar hastalıkları, mide rahatsızlıkları, depresyon, uykusuzluk ve ruhsal sıkıntı problemlerini de azalttığını belirtmişlerdir (Menlyk ve ark., 2010).

Safranal önemli bir nörotransmitter olan asetil kolin metabolizmasında görev alan, asetilkolinesteraz enzimine bağlanarak, bu enzimi inhibe edebilmektedir. Asetilkolinesterazın asetilkolini parçalayarak inaktive ettiği, böylelikle asetilkolin seviyelerini azaltarak nörodejenerasyona sebep olabileceği düşünülürse, safranalın asetilkolinesteraz inhibitörü gibi davranması Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceği rapor edilmektedir (Geromichalos ve ark., 2012). Benzer şekilde safranalın Alzheimer, Parkinson gibi hastalıkların oluşum mekanizmasında önemli rol oynayan protein yapılarının bozulması (protein toplanması=protein aggregation) sonucu oluşan toksik amyloid yapıli bileşiklerin oluşumunu, protein yapılarını koruyarak azalttığı ve böylelikle nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri olabileceği belirtilmektedir (Ebrahim-Habibi ve ark., 2010).

Yapılan farklı bir çalışmada ratlarda bir organofosfat olan diazinon ile oluşturulan toksisitede, hemotolojik toksisiteyi düşürdüğü, fakat oluşan genotoksisite üzerinde bir etkisi olmadığı rapor edilmektedir (Hariri ve ark., 2011). Deneysel olarak hipertansiyon oluşturulan ratlarda yapılan bir araştırma safran stigmaları, safranal ve krosinin sulu ekstraktlarının, ortalama arteryel kan basıncını doz bağımlı bir şekilde azalttığını ve hipotansif etkisinin vasküler düz kas üzerindeki gevşetici etkisinden kaynaklandığını göstermiştir (Imenshahidi ve ark., 2010).

Safranın bilinen olumsuz yanı ise uterus kaslarını uyarıcı etkisi nedeniyle, gebelik sırasında kullanılmaması gerektiğidir (Demirezer, 2011).

1.1.8.Antioksidatif etkileri

Safran antioksidan etki gösteren ve tıbbi bitki literatüründe yer alan günümüzde önemi gittikçe artan tedavi edici etkiye de sahip bir bitkidir. Safran ekstraktının bileşenlerinden biri olan safranalın radikal süpürücü aktivitesinin, safranala antidiyabetik, antioksidan, antikanser ve hipotansif (Imenshahidi ve ark., 2010) özellikler kazandırdığı çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Ovalı, 2014). Yapılan çalışmalar yüksek radikal süpürücü aktivitesi sayesinde safranalın gıda, farmakoloji, kozmetik sanayi gibi birçok alanda kullanılabileceği göstermiştir (Assimopoulou ve ark., 2005).

Çeşitli doku ve organlarda oluşan iskemi-reperfüzyon (IR) sonucunda oksidatif stres artabilmekte ve buna paralel olarak hasar gelişebilmektedir. Yapılan çalışmalar safranalın sahip olduğu antioksidatif özellikler (Assimopoulou ve ark., 2005) sayesinde, rat hipokampusünde IR sonucu oluşan oksidatif stresi azaltarak nöronal hücre ölümlerine karşı koruyucu etkiler gösterebileceği belirtilmektedir (Hosseinzadeh ve Sadeghnia, 2005). Safran ekstraktının ve safranalın kardioprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışmada ratlarda miyokart infarktüsü sonucu artan lipid peroksidasyonuna hem safran ekstraktının hem de temel bileşeni olan safranalın doza bağımlı bir şekilde oksidatif stresi azalttığı, yüksek safranal dozunun (0,075 mL/kg) ise en aza indirdiği belirtilmektedir (Mehdizadeh ve ark., 2013).

Assimopoulou ve ark. (2005) safranalın (500 ppm, metanol çözeltilisinde), muhtemelen 2,2-Difenil-1-Picrylhidrazil (DPPH) radikali için bir hidrojen atomu sağlama potansiyeli nedeniyle % 34 radikal süpürme aktivitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Hosseinzadeh ve ark.(2009) safranal'ın (0.1, 0.5, 1 ve 2 mM) antioksidan aktivitesini, deoksiriboz, eritrosit membran lipid peroksidasyonu ve karaciğer mikrozomal enzimatik olmayan lipid peroksit tayini gibi üç farklı yöntem ile in vitro olarak değerlendirmişlerdir. Safranal, deoksiriboz deneyinde doz bağımlı olarak hidroksil radikal temizleme aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir.

Samarghandian ve ark.(2014) diyabetik sıçanlarda safranalın solunum sıkıntısı üzerindeki önleyici etkisini araştırmışlardır. 4 hafta süresince diyabetik ratlara tedavi edici ajan olarak 3 farklı dozda safranal uygulanmış ve dört haftalık çalışma sonrası bronkoalveoler lavaj sıvısı (BALF) ve akciğer dokusunda malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) içeriği, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ve katalaz (CAT) aktiviteleri ölçülmüştür. Diyabetik+safranal grubunda, safranal'ın BALF süpernatantında ve akciğer homojenatında MDA ve NO düzeyini inhibe ettiğini ve GSH düzeyini ve CAT ve SOD aktivitesini artırdığını belirtilmiştir. Safranalın GSH seviyelerini ve CAT ile SOD aktivitelerini artırarak diyabet sonucu oluşan akciğerlerdeki oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir.

Sadeghnia ve ark. (2013) safranalın (145.5 ve 291 mg/kg i.p.), rat hipokampusunda kinolinik asit (QA) tarafından indüklenen oksidatif hasar üzerine koruyucu etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

1.1.9.Antiinflamatuvar Etkileri

Safranın inflamasyon ve ilgili metabolik hastalıkları önlediği potansiyel mekanizmalar halen araştırılmakta ancak safranın zengin polifenol/karotenoid içeriği sayesinde inflamasyonu azalttığı varsayılmaktadır. İleri sürülen safranın anti-inflamatuvar etkisi; antioksidan olarak hareket ederek veya antioksidan gen veya protein ekspresyonunu artırarak, endoplazmik retikulum stres sinyalini zayıflatarak, metabolik sendroma bağlı pro-enflamatuvar sitokinler veya endotoksin aracılı kinazları ve transkripsiyon faktörlerini bloke ederek, histon deasetilaz aktivitesini artırarak inflamasyonu bastırmak veya metabolik-gen ifadesini indükleyerek ve kronik enflamasyonu yoğunlaştıran transkripsiyon faktörlerinin aktive ederek oluştuğu düşünülmektedir (Mashmoul ve ark., 2013).

Tamaddonfard ve ark. (2013) krosin, safranal ve diklofenakın sıçanlarda lokal inflamasyon ve bunun neden olduğu ağrı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 25, 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarda krosin, 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozlarda safranal ve 10 mg/kg'lık bir dozda diklofenak (referans ilaç olarak) uygulanan

sıçanlarda ödemini azalttığı, inflamatuvar ağrı yanıtlarını baskıladığı ve nötrofil sayısını azalttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, lokal inflamasyon ve inflamatuvar ağrının kangren modelinde krosin, safranal ve diklofenak için anti-inflamatuvar ve antinosiseptif aktiviteler gösterildiği kanısına varılmıştır.

Hazman ve Bozkurt (2015) sıçanlarda diyabetik nefropatide safranalın inflamasyon ve oksidatif stres üzerine iyileştirici ve böbreklerdeki hasarı azaltıcı etkilerini araştırmışlardır. 10 haftalık çalışmanın sonunda, serum kan üre azotu (BUN) oksidatif stres indeksi (OSI), GSH, NO, sitokin düzeyleri (TNF- α , IL-1 β) ve kreatinin (CREA) düzeyleri, böbrek doku oksidatif stres parametreleri (toplam antioksidan kapasite (TAS), IL-18, IFN- γ) analiz etmişlerdir. Ek olarak, safranalın böbrek dokusunda diyabetik nefropati kaynaklı hasar üzerindeki etkisi histopatolojik olarak analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, safranalın hem antioksidatif hem de anti-inflamatuvar aktiviteler yoluyla böbrek dokusunda görülen disfonksiyonu ve doku hasarını azalttığını tespit etmişlerdir.

Ovalı (2014) çalışmasında safranalın özellikle TNF- α ve IL-1 β seviyelerini düşürerek inflamasyonu azaltmış olabileceği belirtmiştir. Safranalın hem oksidatif strese hem de inflamasyona olan etkileri sayesinde diyabetik komplikasyonların azaltılması açısından diyabetik tedavide faydalı olabileceği birdirmiştir.

1.1.10. Antikanserojenik Etkileri

Safranın ve onun bileşenlerinin, hücresel DNA ve RNA sentezinde inhibe edici etkisi, serbest radikal zincir reaksiyonları üzerindeki önleyici etkisi, doğal olarak oluşan karotenoidlerin retinoidlere metabolik olarak dönüşümü ve karotenoidlerin hücresel DNA-protein etkileşiminde rol oynayan bir enzim olan topoizomeraz II ile etkileşimi ile antitümöral etki gösterdiği öne sürülmektedir (Azam ve ark., 2014).

Krosin ve krosetin olmak üzere iki ana doğal karotenoid safranın renginden sorumludur. Klinik öncesi çalışmalara göre bazı karotenoidlerin diyetle alınması hem in vitro hem de in vivo güçlü antitümör etkilerine sahiptir ve bu durum bazı dokularda potansiyel önleyici ve/veya terapötik rolleri olduğunu düşündürmektedir.

Raporlar, A vitamini dönüştürme potansiyeli olmayan karotenoidlerin kullanımının daha fazla koruma sağlayabileceğini ve toksisiteyi önleyebileceğini göstermektedir. Karotenoidlerin kanser önleyici faaliyetlerinin altında yatan mekanizmalar arasında; kanserojen metabolizmasının modülasyonu, hücre büyümesinin ve hücre döngüsü ilerlemesinin düzenlenmesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, antioksidan aktivite, bağışıklık modülasyonu, hücre farklılaşmasının artırılması, hücre-hücre uyarımı, boşluk birleşim iletişimi, apoptozis ve retinoide bağlı sinyalizasyonun yer aldığını belirtmişlerdir. Kısasaca *Crocus sativus* çiçeğinden elde edilen ve karotenoid bakımından zengin bir baharat olan safranın ve doğal karotenoidlerin, kanser önleyici ilaç olarak biyokimyasal ve immünolojik aktivitelerini ve önleyici özelliklere sahip olduklarını belirtmişlerdir (Azam ve ark 2014).

Çeşitli adeno karsinoma hücre hatlarıyla (LD50, MCF-7 ve MDAMB-231) yapılan invitro çalışmalarda safranal ve diğer safran bileşenlerinin çeşitli kanser hücrelerinde proliferasyonu engellediği, bu nedenle kanser tedavisinde koruyucu veya antikanser ajanı olarak kullanılabilirliği ifade edilmektedir (Escribano ve ark., 1996).

Samarghandian ve Shabestari (2013) tarafından yapılan bir araştırmada, prostat kanseri hücre tabakasında safranalın doz bağımlı antitümör aktivitesini (5, 10, 15, 20 mg/ml) tespit etmişlerdir.

Yapılan çalışmalara göre, safranal düşük dozlarda bile tümör öldürücü aktivite göstermektedir. Şeçici toksisiteye sahip safranalın, doz bağımlı etkileri ve düşük dozlarda tümör öldürücü aktivitesi nedeniyle, safranın en güçlü toksik bileşeni olduğu belirtilmektedir (Milajerdi ve ark., 2016).

1.1.11.Antinosiseptif Etkileri

Opioid reseptörleri agonisti, morfin ve siklooksijenaz yol ürünleri inhibitörleri olan Non steroid al antiienflamatuar (NSAID) ilaçlar orofasiyal ağrı tedavisinde en sık kullanılan ilaçlardır. Ancak NSAID'lerin ve morfinin yan etkileri nedeniyle, yüzlerce yıldır ağrıyı ve iltihaplanmayı azaltmak için kullanılmış olan bitkisel ilaçlar gibi

doğal bileşikler üzerinde büyük bir ilgi vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, çeşitli ağrı modellerinde krosin ve safranalın antinosiseptif etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Hosseinzadeh ve Younesi, 2002; Erfanparast ve ark., 2014).

Hosseinzadeh ve Shariaty (2007) çalışmalarında farelere formalin, kıvrırma ve sıcak plaka testleri uygulamış ve safranal için antinosiseptif ve anti inflamatuvar özellikler tespit etmiştir. Farelere safranal (0.1, 0.3 ve 0.5 ml/kg/IP) uygulamasının, asetik asit ile indüklenen abdominal daralmaları engellediğini belirtmişlerdir. 0.5 ml/kg safranal uygulamasından sadece 30 dakika sonra, termal kaynağa karşı ağrı eşiğı arttığını belirtmişlerdir. Safranal antinosiseptif etkisi, opioid reseptörlerinden ziyade prostaglandin sentezi veya etkileşimi üzerine etkisinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Hosseinzadeh ve Younesi (2002) halk tıbbında antiyematogenik bir madde olarak kullanılan safran (*Crocus sativus* L.) özütünün farelerde antinosiseptif ve anti-inflamatuvar aktivitesini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. *Crocus sativus* L. bitkisinin stigma ve yapraklarına ait sulu ve etanolik maserasyon ekstraktlarını kullandıkları çalışmalarında antinosiseptif aktiviteyi, sıcak plaka ve yazı testleri kullanılarak incelemişlerdir. Sıcak plaka testlerinde, her iki ekstraktın farelerde anlamlı bir antinosiseptif aktivite göstermediğini belirtmişlerdir. Ekstraktların, asetik asidin neden olduğu kıvrılmaya karşı antinosiseptif etkinlik sergilediğini tespit etmişlerdir. Safran stıgmasının ve petalinin sulu ve etanolik özütlerinin antinosiseptif etkisinin yanı sıra akut ve/veya kronik anti-inflamatuvar etkinliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Hosseinzadeh ve Jahanian (2010) çalışmalarında *Crocus sativus* L.'nin stıgmasının sulu ve etanolik ekstraktlarının ve bileşenlerinin farelerde morfin alım sendromu üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Ekstraktların ve krosinin, yoksunluk sendromunu azaltmak için opioid sistemi ile etkileşime girmiş olduğu sonucuna varmışlardır.

Erfanparast ve ark. (2014) çalışmalarında krosin ve safranalın inflamatuvar ağrı için antinosiseptif etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Krosin ve safranalın diklofenak ile indüklenen antinosiseptiviteyi artırdığını belirtmişlerdir

Yapılan araştırmalar, yukarda belirtilen özellikleri dışında safran bileşenlerinin antitümör, antigenotoksik, hafıza ve öğrenmeyi güçlendiren, nöroprotektif, analjezik ve antiinflamatuvar, antikonvülsan, antianksiyete, antidepresan, antihipertansif ve antihiperlipidemik etkiler gibi çok çeşitli farmakolojik etkileri olduğu kanısına varılmıştır.

1.1.12. Safran'ın Kullanılma Alanları

Boya Sanayi: Boyama gücünün çok yüksek (kendi ağırlığının 100 bin katı kadar) ve hoş giden parlak sarı renk vermesiyle, geçmişte boyama işlerinde, kumaş ve halı ipliklerinin boyanmasında geniş olarak kullanılmasına rağmen, sentetik boyalar çok daha ucuz olduğu için safranın yerini almış ve boyama için kullanımı çok azalmıştır (Çalışkan ve Kara, 2014).

İlaç Sanayi: Safran ile üretilen ilaçların, halk hekimliğinde; kalp çarpıntısı, nefes zorluğu, gut ağrıları, iştahsızlık, uykusuzluk, bronşit, sindirim bozukluğu ve iktidarsızlık gibi rahatsızlıklarda kullanıldığı belirtilmektedir. Safran, ayrıca kanser araştırmalarında önemli oranlarda kullanılmaktadır. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Rusya, İspanya, Fransa, Romanya ve İngiltere'de yapılan kanser araştırmalarında, fareler üzerindeki denemelerden, bazı kanser türleri için umut verici sonuçlar alındığı belirtilmektedir (Çalışkan ve Kara, 2014).

Gıda Sanayi: Safranın gıda sanayinde kullanılma alanı ise çok geniştir. Çorba çeşitlerinden et kızartmalarına ve etli yemeklere, tatlılardan tuzlulara, hamur işlerinden kurutulmuş meyvelerin renklendirilmesine kadar aynı zaman da ülkemizde de lokum ve zerde gibi tatlılarda ve safranlı pilav yapımında kullanılmaktadır. Örneğin, yemeklerde ve tatlılarda renklendirici ve tatlandırıcı olarak kullanıldığı gibi; hamur, makarna, peynir, tereyağı, sucuk, salam ve sosiste renklendirici; sıcak ve soğuk içeceklerde ve hatta bazı içki çeşitlerinde renklendirici ve tatlandırıcı olarak

hazırlanmasına ait kitaplar yayımlanmıştır. Safranlı besinlerin fiyatı, eşdeğerde olan çeşitlerine göre daha yüksek olmaktadır (Çalışkan ve Kara, 2014).

Kozmetik sanayinde: Ünlü parfüm markalarına ait ürünlerin temel bileşenlerinden biri olan ve bazı tütü çeşitlerinde de kullanılan safranın kozmetik endüstrisinde kullanımı içerdiği aktif bileşikler ve kozmetik formülasyonlarında doğal ürünlerin kullanım eğiliminin artmasına bağlı olarak hızla artmaktadır (Peter 2001). Ayrıca safranın kozmetik preparat olarak bazı saç toniklerinde yer aldığı belirtilmektedir (Çalışkan ve Kara, 2014).

2. MATERYAL ve METOD

2.1. MATERYAL

Çalışmada, ortalama 3 aylık, 40 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar, oda ısısı 20-22 °C olan, havalandırılmalı, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlıkta kalacak şekilde ve her bir kafeste 3-4 rat olmak üzere ayrılmıştır. Deneklere çalışma süresince standart rat yemi ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Yemleme gün içinde saat 09.00 ile 19.00 da olmak üzere iki kez yapılmıştır. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan alınan 07.05.2015 tarihli (49533702/46) AKUHEDYAK-453-15 sayılı etik kurulu onayı doğrultusunda, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

Deneye başlamadan önce çıkabilecek aksaklıkların en aza indirilmesi amacıyla, laboratuvar şartlarında selülozik tiner inhalasyonunu uygulamasına bağlı oluşabilecek komplikasyonların ve toksikasyon şiddeti izlenerek bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir.

2.1.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

- **Kontrol Grubu (K) (n=10):** Sağlıklı kontrol grubu olarak 10 adet rat, standart rat yemi ile 8 hafta boyunca beslenmiştir. Deneme süresince vücut ağırlıkları haftada bir tartılarak kaydedilmiştir.
- **Subkronik tiner inhalasyonu Grubu (T) (n=10):** Deneklere 8 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere belli bir hacimde içinde NaOH tabletleri bulunan hayvanların dışarıdan gözlenebildiği ve dışarıdan hava ile izolasyonu sağlandığı düzenek içinde 5 ml selülozik tiner inhalasyon için konulmuş ve hayvanların %50'sinin ayakta durma refleksi kaybolduğunda uygulama sonlandırılmıştır (Konuk ve ark., 2008). Ratlar standart rat yemi ile 8 hafta boyunca beslenmiştir. Deneme süresince vücut ağırlıkları haftada bir tartılarak kaydedilmiştir.

- **Subkronik tiner inhalasyonu +Safranal Grubu (STS) (n=10):** Bu grupta tiner inhalasyonu gerçekleşen ratlara her bir hayvan için 8 hafta boyunca her gün 100 mg/kg dozda safranal 1 cc serum fizyolojikde çözündürülerek gastrik gavaj yoluyla verilmiştir. Ratlar standart rat yemi ile 8 hafta boyunca beslenmiştir. Deneme süresince vücut ağırlıkları haftada bir tartılarak kaydedilmiştir.
- **Safranal Grubu (S) (n=10):** Bu gruptaki ratlara her bir hayvan için 8 hafta boyunca her gün 100 mg/kg dozda safranal 1 cc serum fizyolojikde çözündürülerek gastrik gavaj yoluyla uygulanmıştır. Ratlar standart rat yemi ile 8 hafta boyunca beslenmiştir. Deneme süresince vücut ağırlıkları haftada bir tartılarak kaydedilmiştir.

2.1.2.Safranalin Hazırlanması

1 ml (0,96 g) safranal 16 ml serum fizyolojik ile emülsifiye edildikten sonra 100 mg/kg (0,1 ml/kg-gün) (Riahi-Zanjani ve ark., 2015, Arihan ve ark., 2016, Hosseinzadeh ve ark., 2015) dozunda ratlara her gün gavaj yöntemiyle verilmiştir.

2.1.3.Canlı Ağırlık Ölçümleri

Deney hayvanları gruplara ayrılmadan canlı ağırlıkları belirlenerek rastgele kafeslerine alınmıştır. Gruplardaki ratların çalışmaya başlarken (0. Hafta) ve çalışma başladıktan sonra hafta da bir canlı ağırlıkları ölçülmüştür.

2.1.4.Çalışmanın Sonlandırılması

8 haftalık safranal uygulaması sonunda, denekler 10 mg/kg Xylazine HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınmıştır. Gruplardaki hayvanlardan tekniğine uygun olarak alınan doku örnekleri (Beyin, akciğer, karaciğer, böbrek, testis) biyokimyasal analizler için hazırlanmıştır.

2.1.5. Doku homojenati

Çeşitli doku örneklerinde (Beyin, akciğer, karaciğer, böbrek, testis) oksidatif stres parametrelerinin çalışılması için dokular önce homojenize edilmiştir. Yaklaşık 0,5 g alınan doku örnekleri homojenizatöre alınarak üzerine fosfat tampon çözeltisinden

(PBS) (pH:7,4) 5 mL eklenmiş ve homojenizatör ve sonikatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Deneyin bütün aşamalarında soğuk zincirin sağlanmasına dikkat edilmiştir. Homojenatlar 15000xrpm, +4 C°'de 10 dakika santrifüj edilerek hazırlanan doku homojenatı -70°C'de derin dondurucuda analiz yapıncaya kadar saklanmıştır. Elde edilen süpernatantlarda MDA, GSH, NOx, TAS ve TOS analizleri gerçekleştirilmiştir.

2.1.6.Tiner İnhale Edilen Gruplarda Toluol Düzeyi Ölçümü

Tam kan Toluol düzeyleri Acıbadem Labmed Merkez Laboratuvarında (İstanbul, Türkiye) GS-MS kullanılarak tayin edilmiştir.

2.1.7.Biyokimyasal Analizler

Sunulan çalışmada ratlardan elde edilen doku homojenatından elde edilen süpernatantlarda planlanan biyokimyasal analizler yapılmıştır. Kullanılan spektrofotometrik yöntemle göre ölçümler ELİSA cihazıyla (Biotek ELx800) ile yapılmıştır.

2.2. METOD

2.2.1. Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Dalı ve Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan aşağıda özellikleri verilen cihazlar ve laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır.

2.2.2. Kullanılan Cihazlar

- Vorteks (Nüve. NM 110)
- Hassas terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı)
- Su banyosu (Nüve. BM 402)
- Isıtıcı tabla (Nüve. HP 221)
- Shaker (Nüve. SC 350)
- Dijital pH metre (Inolab)

- *Çeker Ocak*
- *Ultra Distile Su Cihazı – Elga DV 25*
- Değişik hacimlerde otomatik pipet (*Ependorf, Scorex*)
- Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (*Isolab*)
- Homojenizatör
- Sonikatör
- Spektrofotometre (Biotek, ELx800))
- Vorteks (NM 110, Nüvefuge)
- Santrifüj (CN 180, Nüvefuge)
- Santrifüj (Nüvefuge)
- Derin dondurucu (Arçelik)
- Otomatik pipetler (5 mL, 1 mL, 100µL, 20 µL),

2.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.2.3.1. Lipid peroksidasyonu (MDA tayini) için:

- Thiobarbitüric asit (TBA) (Merck)
- Sodyum dodosil sülfat (SDS) (Merck)
- Glasiyel asetik asit (Sigma)
- Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)
- Piridin (Sigma)
- Bütan-1-ol (Carlo Erba)

2.2.3.2. Glutatyon (GSH) Tayini İçin;

- Metafosforik asit(Sigma)
- Sodyum klorür (NaCl) (Sigma)
- Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)
- Monosodyum fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
- Disodyum fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
- Sodyum sitrat (Merck)
- 5,5-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) (Sigma)

- GSH standardı (Sigma)

2.2.3.3. Nitrik Oksit (NOx) Tayini İçin;

- Vanadium klorür (VCl₃, Merck)
- Sülfanilamid (Merck)
- N-(1-naphthyl)ethylenediamin (NEDD) (Merck)
- Çinko sülfat (ZnSO₄) (Sigma)
- Sodyum Hidroksit (NaOH)
- Hidroklorik asit (HCl) (Carlo Erba)

2.2.3.4. Total Antioksidan Kapasite İçin:

-Antioxidant Assay Kit (Rel Assay Diagnostics) RL0017

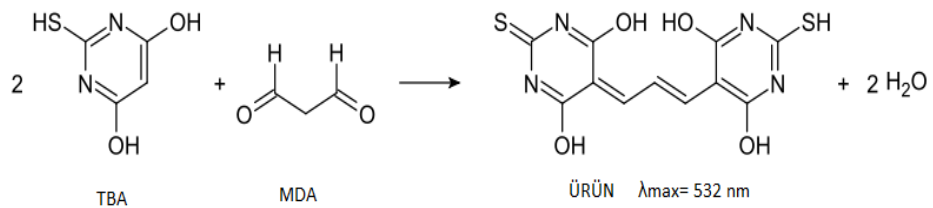
2.2.3.5. Total Oksidan Kapasite İçin

-Total Oksidant Assay Kit (Rel Assay Diagnostics) RL0024

2.3. Dokuda MDA Tayini

2.3.1. Deneyin Prensibi

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Yöntem, doku homojenatında peroksida lipidlerin yıkım ürünü olan MDA'nın, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucunda oluşan renkli ürünün miktar tayini prensibine dayanmaktadır. Lipid peroksidasyonunun tayini pH'ın 3.5 olduğu ve aerobik şartlar altında, %0.8'lik TBA ile doku homojenatının sıcak su banyosunda 95C°'de bir saat inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin (Şekil 2.1) 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile gerçekleştirilmiştir (Ohkawa ve ark., 1979).



Şekil 2.1. MDA'in TBA ile reaksiyonu (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

2.3.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler

% 8,1'lik Sodyum Dodosil Sülfat (SDS): 2,02 g SDS 250 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

% 20 'lik glasiyel asetik asit : %96'lik asetik asitten 104,16 ml alınıp 500 ml'ye distile suyla tamamlanmıştır.

% 0,8'lik tiyobarbitürik asit (TBA): Önce 1 g NAOH 500 ml distile suda çözülmüş daha sonra 4 g TBA hazırlanan 500 ml NAOH çözeltisinde çözülmüştür.

Butanol-piridin karışımı: 750 ml n-butanol 50 ml piridinle (15:1) karıştırılmıştır.

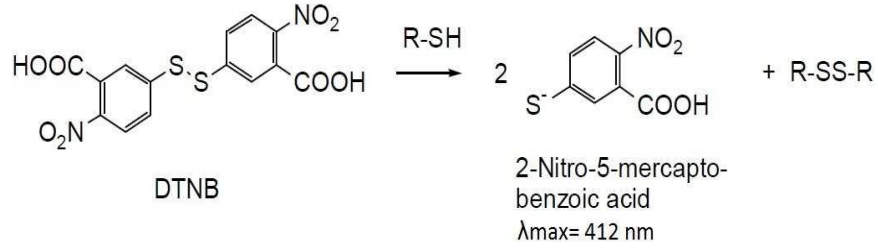
2.3.3. Deneyin Yapılışı

Dokuda MDA analizi Ohkawa ve ark.'nın bildirdiği yöntemle yapıldı (Ohkawa ve ark., 1979). Yöntem kısaca, 50 µl sodyum dodesil sülfat (SDS, %8.1)'a 100 µl doku homojenatı eklenerek vortekslenip oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. 375 µl asetik asit (pH 3.5, 20%) ve 375 µl tiobarbitürik asit (0.6%) eklendikten sonra 95C° su banyosunda 60 dakika bekletilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. 1.25 ml bütanol:piridin (15:1) eklenip, vortekslenmiş ve 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 750 µl organik pembe tabaka 532 nm'de ölçülmüştür. Dokularda lipid peroksidasyonu ile ilgili sonuçlar, nmol MDA/g doku olarak verilmiştir.

2.4. Dokuda GSH Tayini

2.4.1. Deneyin Prensibi:

Tüm non-sülfidril grupları indirgenmiş glutatyon (GSH) formundadır. 5',5'-Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DNTB) disülfid kromojen yapısında olup sülfidril bileşikler tarafından indirgenerek sarı renkte bileşik oluştururlar. Testin prensibi, 412 nm absorbansta okunan GSH konsantrasyonunun, bu indirgenmiş kromojenin ile doğru orantılı olmasına dayanır (Beutler ve ark., 1963).



Şekil 2.2. GSH'un DTNB ile reaksiyonu

2.4.1. Dokuda GSH Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Presipitasyon solüsyonu: Bir beher içine 1.67 g Metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl ekledikten sonra distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Fosfat solüsyonu: 0.3 M Na_2HPO_4 hazırlanmıştır.

DTNB: 40 mg %1 lik Na-asetat hazırlanmıştır.

2.4.2. Deneyin Yapılışı

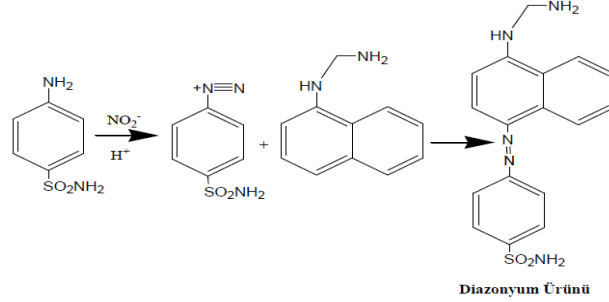
Dokularda GSH analizi Beutler (1963) metoduna göre yapılmıştır. Analiz için kör, standart ve numune tüpleri hazırlanmıştır. Standart tüpe 200 μl standart, numune tüpüne 200 μl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1.8 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu ilave edilmiştir. Kör tüpe ise 0.4 ml saf su ve 0.6 ml presipitasyon solüsyonu konulmuştur. Hazırlanan karışımlara süzme işlemi uygulandıktan sonra süzülen kısımlardan 1 ml süpernatant alınmış ve üzerine 4 ml fosfat solüsyonu ve 0.5 ml DTNB (5- 5'- dithiobis (2-nitrobenzoik asit) eklendikten sonra 412 nm' de okunmuştur. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplanmıştır.

2.5.Dokuda NO_x Tayini

2.5.1.Deneyin Prensibi:

Nitrik oksit (NO) yarı ömrü çok kısa olan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. Bu yüzden NO seviyesi genellikle bu metabolitlerin tespiti ile değerlendirilir (İnan ve ark., 2005). Bu nedenle, nitrik oksit miktarı Miranda ve ark.(2001)'nın "Vanadium klorür (III) - Gries Reaksiyonu" yöntemi ile belirlenmiştir (Miranda ve ark., 2001). Bu yöntem (Griess reaksiyonu),

nitritin asidik ortamda primer bir aromatik aminle (sülfanilamid) diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl)ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanmaktadır.



Şekil 2.3. Nitrit'ten Renkli Diazonyum Ürününün Oluşumu

2.5.2. Dokuda NO Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Çinko Sülfat (% 10): 10 g çinko sülfat distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Sodyum Hidroksit (0,3 M): 1,2 g sodyum hidroksit distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Vanadyum (III) Klorür (% 0,8): 800 mg vanadyum (III) klorür 1 M HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

1 M HCl: 8,29 ml HCl (d:1,19; %37; MA: 36,46) içinde bir miktar distile su bulunan bolonda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Sülfanilamid (% 2): 2 g sülfanilamid % 5'lik HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

NEDD (% 0,1): 100 mg N-(1-Naftil)etilendiamine dihidroklorür distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

2.5.3. Deneyin Yapılışı

50 µl doku süpernatantı tüplere alınarak. 200 µl Somogyi reaktifi (%10 ZnSO_4 ve 0,5 N NaOH (1:1) eklenmiştir (Somogy,1930).1 gece inkübe edilmiştir. 1500-3000 pm, 10 dk santifüj edilerek 100 µl süpernatant alınmıştır.100 µl VaCl_3 ,50 µl sülfanilamid

ve 50 µl NEDD eklenmiştir. 30 dk 40 C° de bekletilmiştir (Oda ısısında iki saat). Aynı işlemler kör tüpü için uygulanarak tüm örnekler 540 nm'de okunmuştur. Dokularda NOx konsantrasyonu µmol/g doku olarak verilmiştir.

2.6.Total Antioksidan Kapasite Ölçümü

Çalışma sonunda ratlardan alınan karaciğer, böbrek, beyin, testis, akciğer dokusu örneklerinde total oksidan ve antioksidan statü ölçümleri, Erel'in (2004, 2005) geliştirdiği metoda göre spektrofotometrik (Biotek, ELx800) yöntemlerle yapılmıştır

2.6.1.Deneyin Prensibi

Numunede bulunan antioksidan maddelerin mavi-yeşil renkli ABTS (2,2' -Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radikali ile reaksiyona girerek bileşiğin renginde azalmaya ya da rengin kaybolmasına neden olması prensibine dayanmaktadır. Renk değişimi ile numune içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunmaktadır. Standart olarak E vitamini analogu olan trolox kullanılmış ve sonuç mmol Trolox equiv/L olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 2.1.Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1	Asetat tamponu	0,4 mol/L pH 5.8
Reaktif 2:	Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6 sulphonic acid)] radikal solüsyonu	30 mmol/L
Standart solüsyonu		1.0 mmol Trolox Equiv./L)

2.6.2.Deneyin Yapılışı

Mikroplate kuyucukları dH₂O, standart ve örnek olmak üzere işaretlenmiştir. Bütün kuyucuklara 250 µl reaktif 1 konulduktan sonra 15 µl dH₂O, 15 µl standart ve 15 µl supernatant örnek belirlenen kuyucuklara eklenerek, 660nm'de ilk okuma yapılmıştır. Kuyucuklara reaktif 2'den 37,5 µl pipetlenerek 37 °C'deki 5 dakikalık inkübasyonu takiben 660 nm'de ikinci okuma yapılmıştır.

Çizelge 2.2. Total Antioksidan Kapasite Analizi

	Örnek	Standart	dH₂O
Standart	-	15 µl	15 µl
Numune	15 µl	-	-
Reaktif 1	250 µl	250 µl	250 µl
Karıştırılıp 30 sn içinde 660 nm de ilk okuma			
Reaktif 2	37,5 µl	37,5 µl	37,5 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
660 nm ikinci okuma			

Sonuçların Hesaplanması

A2-A1=Standart veya örneğin Δ absorbansı

Sonuç = [(Δ Abs H₂O) - (Δ Abs Örnek)] / [(Δ AbsH₂O) - (Δ Abs Std)]

Δ Standart H₂O’in absorbansı = (Std H₂O’in ikinci absorbansı - Std H₂O’in ilk absorbansı)

Δ Standart ’nin absorbansı = (Std ’in ikinci absorbansı - Std ’in ilk absorbansı)

Δ Örneğin absorbansı = (Örneğin ikinci absorbansı - Örneğin ilk absorbansı)

2.7.Total Oksidan Kapasite Analizi

2.7.1.Deneyin Prensibi

Örnekte bulunan oksidanlar Fe⁺²-o-dianisidin kompleksini ferri (Fe⁺³) iyonla oksitlerler. Fe⁺³ asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Standart olarak hidrojen peroksit kullanılmış ve sonuç µmol H₂O₂ Equiv/L olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 2.3.Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif 1	Tampon solüsyonu	25 mM, pH 1.75
Reaktif 2:	Prokromojen solüsyonu	
	H ₂ SO ₄	25 mM, pH 1.75
	Fe ⁺²	5mM
	O-dianisidin	10mM
Standart solüsyonu		10 µmol H ₂ O ₂ Equiv./L

3.7.2.Deneyin Yapılışı

Doku süpernatantlarında oksidan kapasiteleri analizi için hacimler yarı yarıya azaltılarak kullanılmıştır. Mikroplatin kuyucukları standart ve örnek olmak üzere işaretlenmiştir. Bütün kuyucuklara 250 µl reaktif 1 konulduktan sonra standart kuyucuğuna 37,5 µl standart ve örnek kuyucuklarına 37,5 µl süpernatant eklenerek, 530 nm’de ilk okuma yapılmıştır. Kuyucuklara reaktif 2’den 12,5 µl pipetlenerek 37 °C’deki 5 dakikalık inkübasyonu takiben 530 nm’de ikinci okuma yapılmıştır.

Çizelge 2.4.Total Oksidan Kapasite Analizi

	Standart	Örnek	
Standart	37,5µl	-	
Numune	-	37,5 µl	
Reaktif 1	250 µl	250 µl	
530 nm ilk okuma			
Reaktif 2	12,5 µl	12,5 µl	12,5 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
530 nm ikinci okuma			

Sonuçların Hesaplanması

Sonuç =[(Δ Abs Örnek) / (Δ Abs Std)] x 10 (Std değeri)

Δ Abs Örnek = Örneğin ikinci absorbansı – Örneğin ilk absorbansı

Δ Abs Std = Standart ’ın ikinci absorbansı – Standart ’ın ilk absorbansı

Std değeri = 10 µmol /L

2.8. İstatistiksel Analiz Yöntemi

2.8.1.Kovaryans analizi (ANCOVA)

Kovaryans analizi, iki ya da daha fazla grupta bir bağımlı değişkenin ortalamalarının karşılaştırılması sırasında, söz konusu değişkene etki eden başka bağımlı değişkenin etkisinin ortadan kaldırılması veya bu etkinin artırılması maksadıyla kullanılan bir istatistiksel yöntemdir. Kovaryans analizi, varyans analizinin bir uzantısıdır ve tüm

grubu etkileyen bağımlı değişkendeki değişmeyi kontrol altına almak suretiyle hata varyansını dūřür. Kovaryans analizinde, varyans analizinde olduğu gibi bağımlı ve bağımsız değişkenler vardır fakat bu değişkenlere ek olarak "araya giren" bir ya da daha fazla değişken bulunur. Bu araya giren değişkenlere "kodeğişken(covariate)" denir (Kalaycı, 2010; Özgören, 2011).

Tinerin meydana getirdiği oksitatif strese karşı safranalın koruyucu etkisini tespit etmek için dört farklı grupta dokularda ölçülen parametrelere ANCOVA analizi yapılmış ve gruplar arası fark olup olmadığı Bonferroni testi ile tespit edilmiştir. Covariate olarak grupların sıfırncı ve sekizinci haftadaki canlı ağırlık ortalamaları seçilmiştir.

Elde edilen bulguların istatistik hesaplamaları, SPSS 24 paket programı kullanılarak yapılmış, çalışmada elde edilen veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edilmiştir ($X \pm SD$).

3. BULGULAR

Materyal ve metot bölümünde belirtilen yöntemlerle çalışma protokolü başarıyla oluşturulmuştur. Çalışmanın bitirilmesiyle deney hayvanlarından elde edilen karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, testis gibi dokularda laboratuvar analizleri yapılmış ve sonuçların istatistiki analizlerinden elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

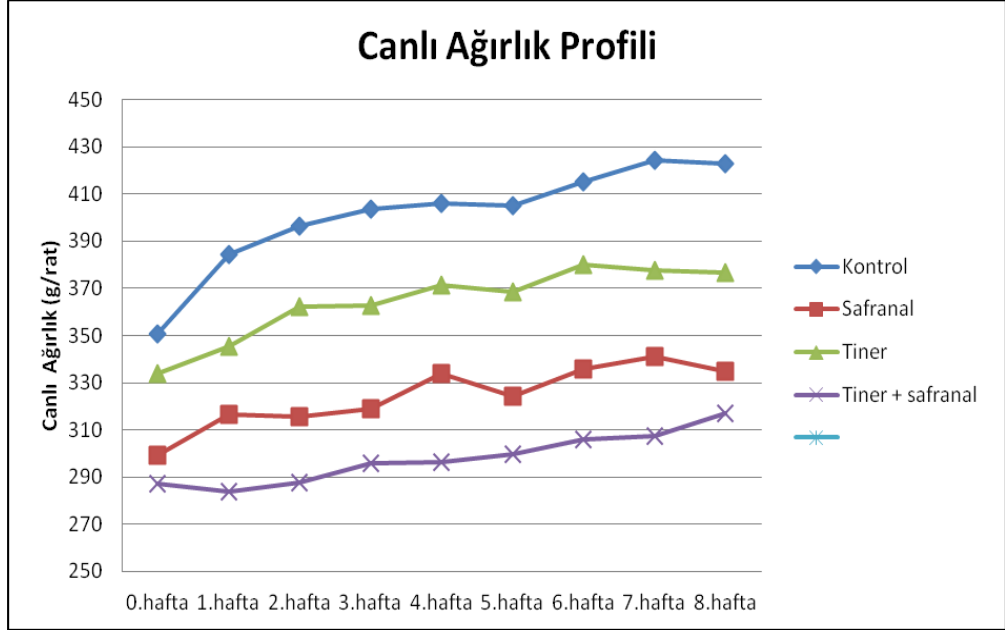
3.1. Canlı Ağırlık Profilleri

Deney hayvanlarının laboratuvar ortamına uyum sağladıktan sonra aralıksız her hafta canlı ağırlıkları ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Çalışma süresince ratlara ait değişimler Tablo 3.1’de ve Grafik 3.1’de sunulmuştur. İstatistiksel olarak incelendiğinde başlangıçla birlikte tüm haftalarda canlı ağırlıklarda fark olduğu gözlemlenmiş bu sebeple istatistiksel fark açısından değerlendirilmemiştir.

Tablo 3.1. Guruplarda Gözlenen Canlı Ağırlığı Değişimi

CA	0.hafta	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
K	350,7±7,5	384,2±7,9	396,3±8,5	403,6±8,8	406,0±10,9	405,2±10,9	415,4±10,8	424,2±10,6	422,7±11,8
S	299,1±6,2	316,4±6,7	315,8±6,2	319,1±7,4	333,8±7,6	324,3±7,8	335,9±7,3	341,1±7,9	334,7±7,5
T	333,7±6,3	345,5±10	362,1±11,1	362,6±11,4	371,4±10,6	368,3±11,6	380,3±11,7	377,9±11,2	376,7±10,9
T+S	287,0±4,3	283,8±4,6	287,5±3,9	295,9±3,8	296,5±3,5	299,5±3,1	305,8±2,8	307,2±2,7	317,2±17,9

Canlı ağırlık profiline göre tüm gruplarda kilo artışı söz konusudur. Gruplardaki hayvanların ilk ve son ağırlıklarını baz alırsak 73 g fark ile en fazla canlı ağırlık artışı kontrol grubunda olmakla birlikte daha sonra sırasıyla 43 g ile tiner, 36 g ile safranal ve 30 g ile tiner+safranal grubunda canlı ağırlık artışı meydana gelmiştir. Bütün gruplarda ağırlık artışı görülmesine rağmen safran verilen gruplarda canlı ağırlık artışının kontrole göre daha az olduğu görülmektedir. Tiner+safranal grubunda ise tiner grubuna göre daha az kilo artışı dikkat çekmektedir.



Grafik 3.1. Canlı Ağırlık Profilleri

3.2. Tiner İnhale Edilen Gruplarda Toluol Düzeyi Ölçümü

Tam kan Toluol düzeyleri Acıbadem Labmed Merkez Laboratuvarında (İstanbul, Türkiye) GS-MS kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen kan toluen düzeyleri ng/ml cinsinden aşağıdaki tablodaki gibi tespit edilmiştir.

Tablo 3. 2.Tiner İnhale Edilen Gruplarda Toluol Düzeyi

GRUPLAR	KONTROL (n=10) Ortalama±SD	SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	TİNER (n=10) Ortalama±SD	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	p
Toluen (ng/ml)			1,525±0,071	1,481±0,071	0,730

T ve T+S gruplarında inhale ettikleri toluen düzeylerinde istatistiksel olarak bir farklılık görülmemiştir.

3.3. Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler

Çalışmamızda oluşturulan dört deneme grubundan alınan karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, testis doku örneklerinde MDA, GSH, NOx, TAS, TOS düzeyleri tayin edilmiştir. Bu göstergelerin 8 haftalık araştırma süresi sonundaki dokulardaki

düzelelerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırması tablo ve grafiklerle aşağıda sunulmuştur.

3.3.1 Dokularda MDA Düzeyi

Lipid peroksidasyonu göstergelerinden MDA'nın, Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'te tüm dokulardaki değişimi görölmektedir.

Tablo 3.3. Dokularda Ölçölen MDA Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

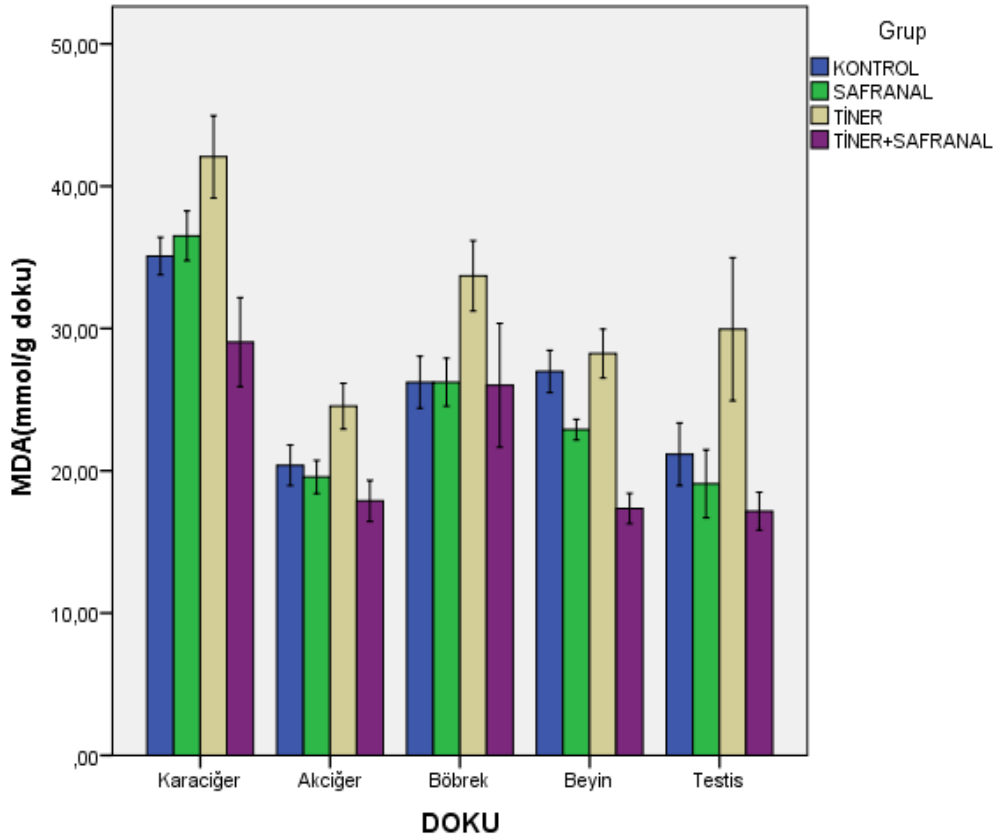
DOKULAR MDA (nmol/g doku)	KONTROL (n=10) Ortalama±S D	SAFRANOL (n=10) Ortalama±S D	TİNER (n=10) Ortalama±S D	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	P
KARACİĞER	34,82±1,60 ^{bc}	36,71±1,24 ^{ab}	41,81±1,18 ^a	29,38±1,46 ^c	0,000
AKCİĞER	19,95±0,94 ^b	19,83±0,73 ^b	24,27±0,69 ^a	18,32±0,86 ^b	0,000
BÖBREK	24,18±1,81 ^b	27,32±1,39 ^{ab}	32,83±1,33 ^a	27,82±1,65 ^{ab}	0,000
BEYİN	27,32±0,88 ^a	22,72±0,68 ^b	28,35±0,65 ^a	17,09±0,79 ^c	0,000
TESTİS	20,28±2,05 ^b	19,58±1,58 ^b	29,54±1,51 ^a	17,97±1,87 ^b	0,000

P<0.05. Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel önem vardır.

Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'teki verilere göre karaciğer dokusunda MDA düzeyi T grubunda K ve T+S gruplarına oranla anlamlı bir artış saptanmıştır (p<0,05). T+S grubunda T ve S grubuna oranla anlamlı bir azalma görölmektedir (p<0,05). S grubu K grubuna göre anlamlı olmayan bir artış göstermişken, T+S grubunun K grubuna göre anlamlı olmayan bir azalış göstermesi dikkat çekmektedir.

Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'teki göre akciğer dokusunda MDA düzeyi T grubunda diğer dokulara göre anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$).T+S grubunda diğer gruplara oranla görülen anlamlı olmayan bir azalış söz konusudur.

Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'teki verilere göre böbrek dokusunda MDA düzeyi T grubunda K grubuna oranla anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$).T+S grubunda T grubuna göre anlamlı olmayan bir azalış gözlenmiştir.



Grafik 3.2. Dokuda MDA Düzeyleri

Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'teki verilere göre beyin dokusunda MDA düzeyi T grubunda S ve T+S gruplarına oranla anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). S ve T+S grubunda K ve T grubuna oranla anlamlı bir azalış gözlenmektedir ($p<0,05$).

Tablo 3.3 ve Grafik 3.2'teki verilere göre testis dokusunda MDA düzeyi T grubunda diğer gruplara oranla anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$). T+S grubunda T

grubuna göre anlamlı bir azalış söz konusudur ($p<0,05$). Bununla birlikte T+S grubunda K ve S grubuna göre anlamlı olmayan bir azalış görülmektedir.

3.2.2. Dokularda GSH Düzeyi

Gruplardaki GSH düzeyleri tüm dokulardaki değişimi Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te görülmektedir.

Tablo 3.4. Dokularda Ölçülen GSH Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

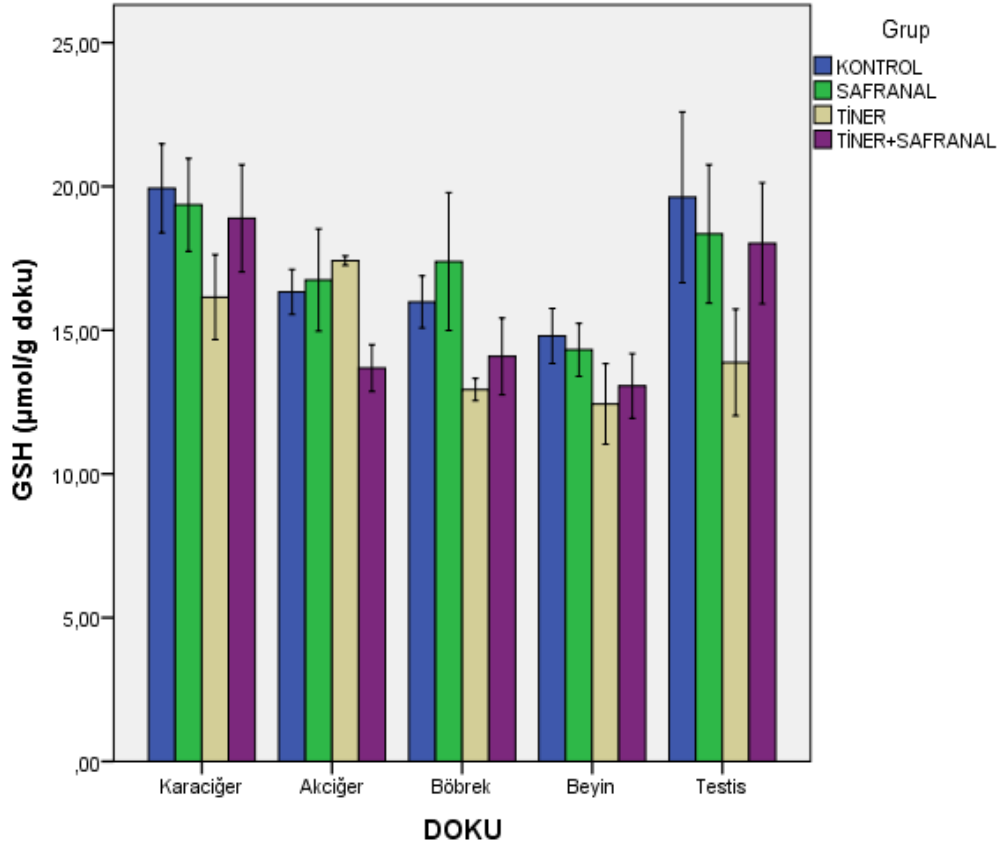
DOKULAR GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)	KONTROL (n=10) Ortalama\pmSD	SAFRANOL (n=10) Ortalama\pmSD	TİNER (n=10) Ortalama\pmSD	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama\pmSD	p
KARACİĞER	19,93 \pm 1,05 ^a	19,25 \pm 0,81 ^{ab}	16,47 \pm 0,78 ^b	18,69 \pm 0,96 ^{ab}	0,013
AKCİĞER	16,46 \pm 0,70 ^{ab}	16,71 \pm 0,54 ^a	17,37 \pm 0,52 ^a	13,64 \pm 0,642 ^b	0,000
BÖBREK	15,99 \pm 0,98 ^{ab}	17,39 \pm 0,76 ^a	12,91 \pm 0,72 ^c	14,09 \pm 0,89 ^{bc}	0,000
BEYİN	14,70 \pm 0,75 ^a	14,36 \pm 0,58 ^a	12,41 \pm 0,55 ^b	13,14 \pm 0,69 ^{ab}	0,015
TESTİS	18,8 \pm 1,6 ^a	18,71 \pm 1,22 ^{ab}	13,76 \pm 1,16 ^b	18,60 \pm 1,44 ^{ab}	0,007

$P<0.05$. Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel önem vardır.

Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te verilere göre GSH düzeyi karaciğer dokusunda T grubunda K grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı ($p<0,05$). S ve T+S gruplarında T grubuna göre anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.

Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te verilere göre akciğer dokusunda T+S grubunda S ve T gruplarına göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). T grubunda K ve S grubuna oranla anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır.

Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te verilere göre böbrek dokusunda T grubunda K ve S grubuna oranla anlamlı bir azalış görülmüştür($p<0,05$). S grubunda T ve T+S grubuna göre anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$), K grubuna göre ise anlamlı olmayan bir artış görülmüştür. T+S grubunda T grubuna göre anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.



Grafik 3.3. Dokulardaki GSH Düzeyleri

Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te verilere göre beyin dokusunda GSH düzeyinde T grubunda K ve S grubuna oranla anlamlı bir azalış görülmüştür($p<0,05$). S grubunda T grubuna göre anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$), K grubuna göre ise anlamlı olmayan bir azalış görülmüştür. T+S grubunda T grubuna göre anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.

Tablo 3.4 ve Grafik 3.3'te verilere göre testis dokusunda T grubunda K grubuna oranla anlamlı bir azalış görülmüştür($p<0,05$). S grubunda T ve T+S grubuna göre

anlamli olmayan bir artiş tespit edilmiştir. T+S grubunda T grubuna oranla anlamli olmayan bir artiş saptanmıştır.

3.2.3. Dokularda NOx Düzeyi

Gruplardaki NOx düzeylerinin tüm dokulardaki değişimi Tablo 3.5 ve Grafik 3.4'da görölmektedir.

Tablo 3.5.Dokularda Ölçülen NOx Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

DOKULAR NOx (µmol/g doku)	KONTROL (n=10) Ortalama±SD	SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	TİNER (n=10) Ortalama±SD	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	P
KARACİĞER	7,23±1,314 ^{ab}	12,09±1,02 ^a	9,32±0,97 ^a	3,00±1,19 ^b	0,000
AKCİĞER	4,32±0,89 ^{ab}	6,86±0,69 ^a	6,54±0,66 ^a	2,85±0,82 ^b	0,000
BÖBREK	5,09±0,90 ^{ab}	8,63±0,69 ^a	6,99±0,67 ^a	2,29±0,82 ^b	0,000
BEYİN	3,32±1,01 ^b	7,71±0,78 ^a	6,98±0,74 ^a	3,62±0,92 ^b	0,000
TESTİS	5,64±0,95 ^{ab}	5,87±0,73 ^a	6,69±0,69 ^a	2,81±0,86 ^b	0,006

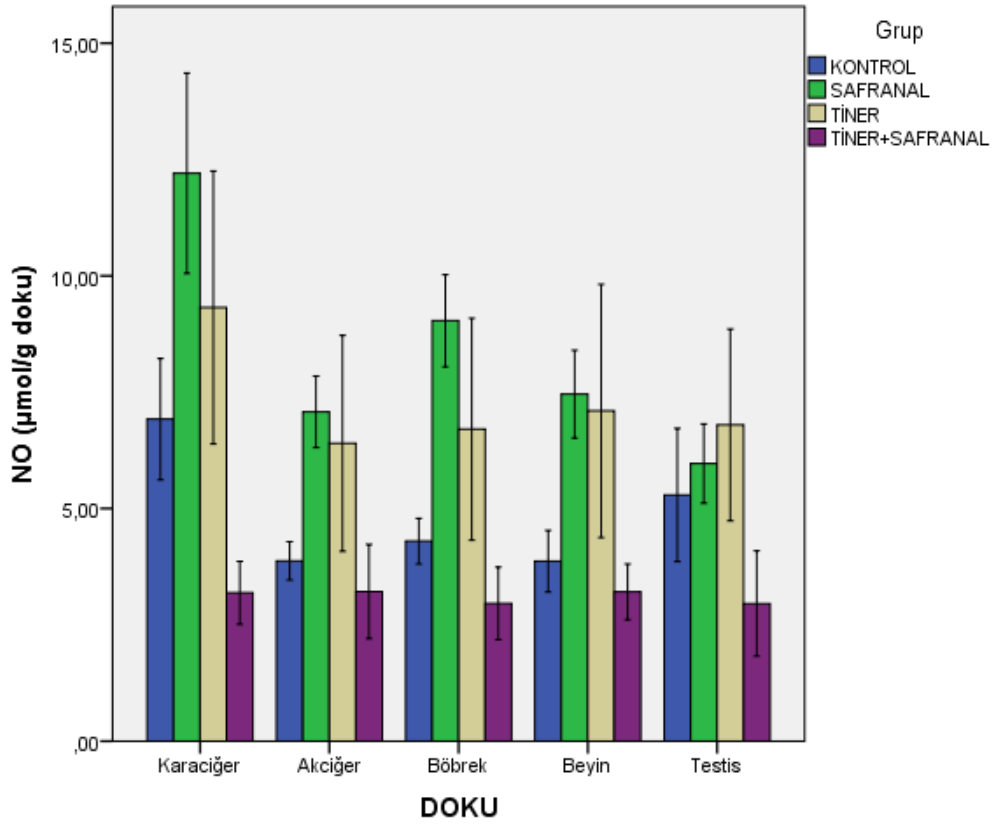
P<0.05. Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel önem vardır.

Tablo 3.5 ve Grafik 3.4'da verilere göre karaciğer dokusunda NOx düzeyi T+S grubunda T ve S grubuna oranla anlamli şekilde azalmıştır (p<0,05).

Tablo 3.5 ve Grafik 3.4'da verilere göre akciğer dokusunda NOx düzeyi T+S grubu S ve T grubuna oranla anlamli şekilde azalmıştır (p<0,05) ve kontrol grubu seviyelerine düşmüştür. S grubunun ile T grubu arasında anlamli bir farkın bulunmaması ve değerlerin çok yakın olması dikkat çekicidir.

Tablo 3.5 ve Grafik 3.4’da verilere göre böbrek dokusunda NO_x düzeyi T+S grubunda T ve S grubuna oranla anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,05). S grubunda K ve T gruplarına oranla anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.

Tablo 3.5 ve Grafik 3.4’da verilere göre beyin dokusunda NO_x düzeyi T+S grubu T ve S grubuna oranla anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,05). S grubunda K ve T+S grubuna oranla anlamlı bir artış saptanmıştır (p<0,05).



Grafik 3.4. Dokularda NO_x Düzeyleri

Tablo 3.5 ve Grafik 3.4’da verilere göre testis dokusunda T+S grubunda S ve T gruplarına oranla anlamlı bir azalış görülmüştür (p<0,05). T grubunda S grubuna oranla anlamlı olmayan artış saptanmıştır.

3.2.4. Dokularda TAS Düzeyi

Gruplardaki TAS düzeylerinin tüm dokulardaki değişimi Tablo 3.6 ve Grafik 3.5’te görülmektedir.

Tablo 3.6 ve Grafik 3.5'deki verilere göre karaciğer dokusunda TAS düzeyi S ve T gruplarında K ve T+S gruplarına oranla anlamlı bir azalış göstermiştir ($p<0,05$). T+S grubunda T ve S grubuna göre anlamlı bir artış saptanmıştır ve kontrol grubu seviyesine çıkmıştır ($p<0,05$).

Tablo 3.6 ve Grafik 3.5'deki verilere göre akciğer dokusunda TAS seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Tablo 3. 6. Dokularda Ölçülen TAS Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

DOKULAR TAS (mmol Trolox Equiv./g protein)	KONTROL (n=10) Ortalama±S D	SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	TİNER (n=10) Ortalama±S D	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama±SD	P
KARACİĞER	0,89±0,07 ^a	0,39±0,05 ^b	0,38±0,05 ^b	0,80±0,06 ^a	0,000
AKCİĞER	0,28±0,09	0,29±0,07	0,32±0,07	0,49±0,09	0,213
BÖBREK	0,56±0,07 ^a	0,45±0,06 ^a	0,15±0,06 ^b	0,49±0,07 ^a	0,000
BEYİN	0,35±0,07	0,22±0,05	0,32±0,05	0,35±0,06	0,158
TESTİS	0,43±0,05	0,33±0,04	0,30±0,03	0,38±0,04	0,060

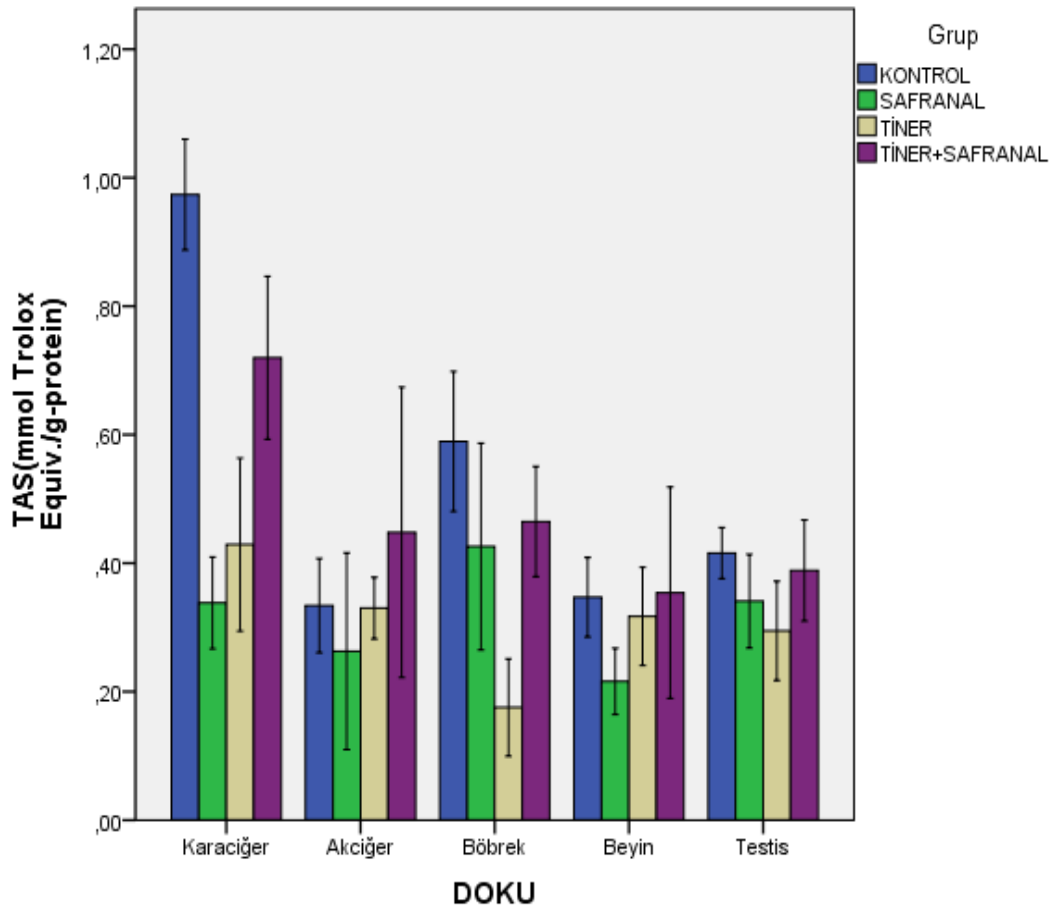
$P<0.05$. Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel önem vardır.

Tablo 3.6 ve Grafik 3.7'deki verilere göre böbrek dokusunda TAS düzeyi T grubunda diğer gruplara oranla anlamlı bir azalış saptanmıştır ($p<0,05$). T+S grubunda T grubuna oranla anlamlı olmayan bir artış dikkat çekmektedir.

Tablo 3.6 ve Grafik 3.5'deki göre beyin dokusunda TAS seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşmamıştır. T grubunda diğer

gruplara oranla anlamlı olmayan bir artış görülmüştür. T+S grubunda S grubuna göre anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır.

Tablo 3.6 ve Grafik 3.5'deki göre testis dokusunda TAS seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşmamıştır. T grubunda diğer gruplara oranla anlamlı olmayan bir azalış dikkat çekmiştir. T+S grubunda S ve T gruplarına oranla anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır.



Grafik 3.5. Dokularda TAS Düzeyleri

3.2.5. Dokularda TOS Düzeyi

Gruplardaki TOS düzeylerinin tüm dokulardaki değişimi Tablo 3.7 ve Grafik 3.6'de görülmektedir.

Tablo 3.7 ve Grafik 3.6’de verilere göre karaciğer dokusunda TOS düzeyi T grubunda K ve T+S grubuna oranla anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). T+S grubunda S ve T grubuna oranla anlamlı şekilde azalmıştır($p<0,05$).

Tablo 3.7 ve Grafik 3.6’de verilere göre akciğer dokusunda TOS düzeyinde gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır. Fakat S ve T gruplarının K ve T+S gruplarına göre artmış değerleri dikkat çekicidir.

Tablo 3.7 ve Grafik 3.8’de verilere göre böbrek dokusunda TOS düzeyi gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır. T grubunda diğer gruplara oranla anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.

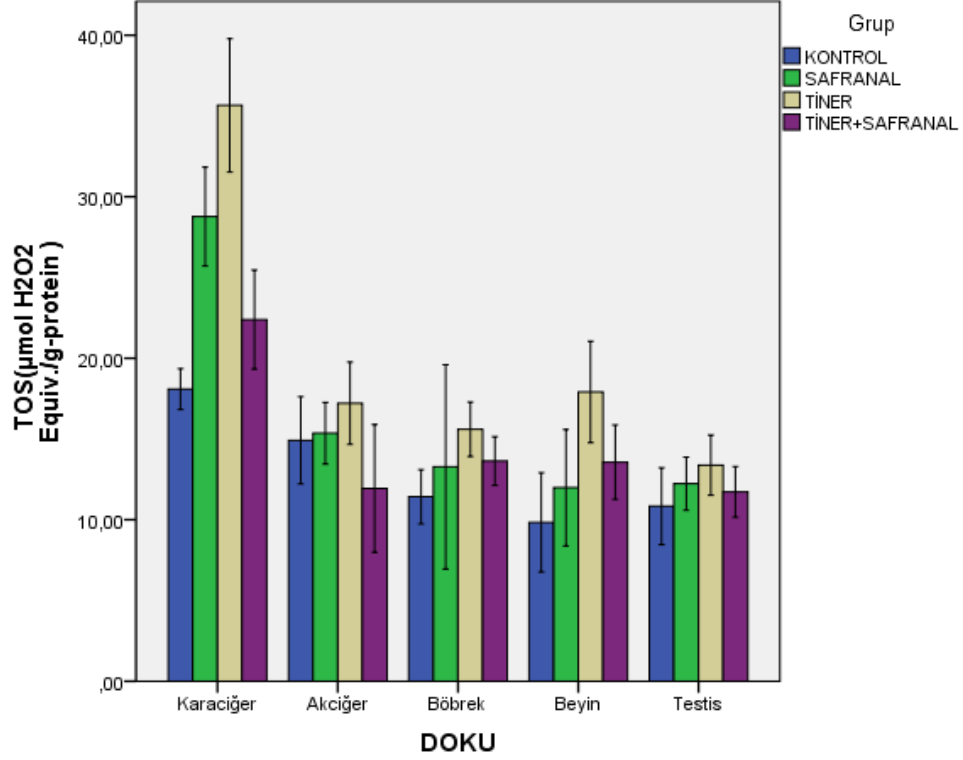
Tablo 3.7.Dokularda Ölçülen TOS Parametresine Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

DOKULAR TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Equiv./g protein}$)	KONTROL (n=10) Ortalama\pmS D	SAFRANOL (n=10) Ortalama\pmSD	TİNER (n=10) Ortalama\pmSD	TİNER + SAFRANOL (n=10) Ortalama\pmSD	p
KARACİĞER	18,24 \pm 2,03 ^b	28,82 \pm 1,56 ^a	35,32 \pm 1,49 ^a	22,51 \pm 1,85 ^b	0,000
AKCİĞER	13,24 \pm 1,89	16,17 \pm 1,46	16,75 \pm 1,39	13,26 \pm 1,73	0,129
BÖBREK	12,64 \pm 2,31	12,62 \pm 1,78	16,10 \pm 1,70	12,56 \pm 2,11	0,361
BEYİN	7,46 \pm 1,98 ^b	13,14 \pm 1,53 ^{ab}	17,26 \pm 1,46 ^a	15,44 \pm 1,81 ^{ab}	0,001
TESTİS	11,74 \pm 1,25	11,74 \pm 0,97	13,77 \pm 0,92	10,91 \pm 1,14	0,193

$P<0.05$. Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel önem vardır.

Tablo 3.7 ve Grafik 3.6’de verilere göre beyin dokusunda TOS düzeyi T grubunda K grubuna oranla anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). T+S grubunda S ve K grubuna oranla anlamlı olmayan bir artış görülmüştür.

Tablo 3.7 ve Grafik 3.6’de verilere göre testis dokusunda TOS düzeyi gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır. T grubunda diğer gruplara oranla anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır.



Grafik 3.6. Dokularda TOS Düzeyleri

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, tiner, ratlara fiziksel temas olmaksızın, havayla teması kesilmiş ve içerisinde NaOH tabletleri bulunan cam fanus içinde günde iki kez olmak üzere 8 hafta boyunca inhale ettirilmiştir. Tiner inhalasyonunun ilk iki haftasında denekler fanusa konulduktan sonra herhangi bir kaçma refleksi göstermezken, üçüncü haftadan sonra deneklerin agresifleştiği ve kaçma hareketleri sergiledikleri, idrar ve dışkılamanın arttığı, sonrasında oluşan kontrolsüz rotasyonel hareketlerin ve ayakta durma reflekslerinin bozulduğu gözlemlenmiştir. Hayvanların %50 sinin ayakta durma refleksi bozulduğu an tiner inhalasyonu uygulaması sonlandırılmış hayvanlar kafeslerine alınarak temiz havaya çıkarılmıştır. Temiz havaya çıkarılınca bir süre sonra reflekslerin geri döndüğü gözlenmiştir. Çalışmamız sırasında elde ettiğimiz bu gözlemler, literatürde bildirilen (Bölükbaşı, 2005) tinerin nörotoksik bir ajan olarak davrandığını ve tiner inhalasyonun merkezi sinir sistemi üzerinde oluşturduğu intoksikasyon bulgularını destekleyici niteliktedir.

Çalışmamızda, deneklerin laboratuvar ortamına uyum sağlamalarının ardından deneme süreci boyunca her hafta canlı ağırlıkları ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Çalışma gruplarını oluşturan ratların canlı ağırlık yönünden, elde edilen verileri incelendiğinde her dört grupta da başlangıç ağırlığına göre canlı ağırlıklarında artış göze çarpmaktadır. Tiner toksikasyonunun canlı ağırlık değişimi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda; Yamada ve arkadaşları 7 gün boyunca günde iki kez doğrulma refleksleri kaybolana kadar tiner inhale ettirilen sıçanlarda kilo artışının belirgin şekilde azaldığını bildirmişlerdir (Yamada ve ark.,1993; Bölükbaşı, 2005). Bölükbaşı'nın (2005) tiner inhalasyonunun sıçanların vücut ağırlıkları ve davranışlarında meydana getirdiği değişiklikleri tespit ettiği çalışmasında, tiner grubundaki hayvanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında zamanla orantılı olarak kilo kaybının anlamlı olarak arttığını saptamıştır. Diğer bir çalışmada haftada 5 gün, günde 8 saat süre ile toluen inhale ettirilen 15 adet sıçanın başlangıçtaki ortalama ağırlığı olan 252 gr'dan, 6 hafta sonunda 321 gr'a çıktığı ve ancak bu artışın istatistiksel olarak anlam taşımadığı bildirilmiştir (Jenkins ve ark., 1970, Bölükbaşı 2005). Kuzugüden (2007) ise 30 gün boyunca günde 1 saat 3000

ppm tiner buharı uygulanan ratların canlı ağırlıklarının tiner verilen grupta giderek azaldığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda tiner uygulanan grupta ratların canlı ağırlıklarının başlangıç düzeyine göre arttığı gözlenmiştir. Ancak kontrol grubunda başlangıç ağırlık ortalamalarına göre 8 hafta sonunda yaklaşık 72 gramlık bir artış söz konusu iken, sadece tiner uygulanan grupta başlangıç ağırlık ortalamalarına göre 8 hafta sonunda yaklaşık 33 gramlık bir artış söz konusu olmuştur. Bu bulgu literatür verileriyle karşılaştırıldığında canlı ağırlık artışı yönünden Jenkins ve ark.'nın (1970) çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak diğer literatürlerde bildirildiğinin aksine, bizim çalışmamızda canlı ağırlık azalmamıştır, kontrol grubundaki artışla kıyaslandığında daha düşük bir ağırlık artışı kaydedilmiştir. Bu bulgu canlı ağırlık artışının tiner alan grupta baskılanmış olabileceğini ortaya koymaktadır.

Safran bileşikleri ile vücut ağırlığı arasındaki bağlantı hakkında yapılan araştırmalar safranın, yüksek antioksidan aktivitesi ve farklı biyolojik özellikleri nedeniyle aşırı kilo/obezite ve buna bağlı metabolik bozukluklarla mücadele etme potansiyeline sahip olduğunu, kilo vermeye yardımcı olduğu ve bunu da serotonin hormonunun seviyesini arttırarak ve açlık hissini azaltarak yaptığı bildirilmiştir (Mashmoul ve ark., 2013; Hosseinzadeh ve ark., 2004). Farahmand ve ark.,(2013) 2, 10 ve 20 aylık sıçanlarda safranalın etkisini inceledikleri çalışmada tüm gruplarda yaşlanma ile birlikte çalışma boyunca vücut ağırlığında bir artış olduğunu bildirmişlerdir. 10. ve 20. ayda tespit edilen canlı ağırlıkları iki aylık kontrolle kıyaslandığında, hayvanların vücut ağırlığının yaşlanmayla arttığını saptamışlardır. 20 aylık yaş grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında safranal tedavisiyle vücut ağırlığında belirgin bir düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Toksikolojik çalışmalar safranalın, safran ekstraktının diğer aktif bileşenlerden daha toksik olduğunu göstermiştir, bu nedenle Ziaee ve ark.(2014) sıçanlarda safran ekstraktı ve safranalın birlikte uygulanmasının akut ve subakut toksisiteelerde etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada safranal grubunda gıda ve su tüketiminde azalma ve kilo kaybı gözlemlenmişlerdir. Bizim çalışmamızda da safranal grubunun çalışma başlangıç ve son canlı ağırlık verileri arasındaki farka göre incelendiğinde kontrol ve tinere göre kilo artışın en az grup olduğu görülmüştür. Tiner +safranal grubuna bakıldığında ise

tiner grubunda artan canlı ağırlığın bu grupta tekrar düştüğü saptanmıştır. Çalışmadan elde ettiğimiz canlı ağırlık değişimleri literatür bilgilerle uyumluluk göstermektedir. Ancak deneme süresi sonunda elde edilen veriler, safranalın subkronik tiner inhalasyonunun neden olduğu canlı ağırlık kaybına karşı ratları koruyamadığını hatta canlı ağırlık artışını daha da azalttığını ortaya koymaktadır.

Yaşam ve metabolik aktivite oksidatif stresten etkilenebilmekte, kimyasal ajanlar, yaşlanma, stresli koşullar gibi bir çok durum artan serbest radikal üretimine yol açmaktadır (Megahed ve ark., 2008). Aerobik organizmalar sürekli olarak reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan moleküler oksijenden türetilen reaktif molekülleri üretirler. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) çok çeşitli biyolojik sistemlerde, normal metabolizma sırasında çok önemli fizyolojik işlevleri vardır. Bununla birlikte normal metabolizma sırasında fizyolojik olarak üretilen serbest radikaller vücuttaki antioksidanlar tarafından elimine edilmekte ve herhangi bir olumsuz etkiye neden olmamaktadır. Ancak herhangi bir stresöre bağlı olarak serbest radikallerin hücrenin ihtiyaçlarının ötesinde oluşumu veya birikimi, vücutta antioksidanların serbest radikallerle yeterince mücadele edememesi veya savunmada yetersiz kalması organizmada oksidatif stres tablosunun oluşmasına neden olabilmektedir. Bu radikaller çeşitli hücresel bileşenler ve makromoleküller ile etkileşime girebilmekte ve hücre ölümüne kadar gidebilecek metabolik, yapısal ve işlevsel hasara neden olabilmektedir (Sies, 1991; Fidan ve ark., 2009; Emecen ve ark., 2010; Çaylak 2011; Çetin ve ark. 2011; Öğüt ve Atay 2012; Cıngı ve ark., 2012; Rahal ve ark., 2014 Megahed ve ark., 2008).

Yaptığımız bu çalışmada; 8 hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda karaciğer, akciğer, beyin, böbrek ve testis dokularında oksidatif hasarın tespiti amacıyla malondialdehid düzeyleri, total oksidan statü, glutatyon, total antioksidan statü ve doku nitrik oksit metabolitleri değerlendirilmiştir.

Serbest radikallerin etkileşime girdiği önemli hücresel bileşenler ve makromoleküllerden biri lipidlerdir. Serbest radikallerin lipidlere saldırısı sonucu lipid peroksidasyonu (LP) gelişir. Serbest radikallere bağlı hücre hasarındaki en

önemli mekanizmalardan biri membranlardaki lipid peroksidasyonudur ve hücre membranlarında yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur (Grisotto ve ark., 2000, Fidan, 2007). Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açmaktadırlar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen hücresel hasar geri dönüşümsüzdür (Gutteridge, 1995; Kurutaş ve İnanç, 2004). Membran fosfolipidleri serbest radikallerin başlıca hedefi olduğundan, LP genellikle serbest radikal hasarının ölçülmesi için analiz edilen ilk parametredir ve LP nin son ürünlerinden olan MDA konsantrasyonlarının hasar şiddeti ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (Aleksandrovskii ve ark., 1988).

Organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini, serbest radikal oluşumu yolu ile gösterdikleri de bildirilmiştir (Lebel ve ark., 1990; Mattia ve ark. 1993a, 1993b). Peroksidatif hasarlarda artma, tiner inhalasyonunun doğurduğu önemli komplikasyonlardandır (Kuzugüden, 2007). Karabulut ve ark. (2009) insanlarda toluenin, hem in vivo hem de in vitro oksidatif stres parametrelerini önemli ölçüde arttırdığını; aynı zamanda antioksidan enzim aktivitelerinde önemli bir düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek doz ve uzun süre tiner inhalasyonu CYP-450'ye bağlı monooksijenazı arttırarak, ROS oluşturmaktadır. Organik çözücülerin hücre hasarındaki toksik etkilerini süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi serbest oksijen radikallerinin (ROS) lipid peroksidasyonunu'nu başlatmasıyla meydana getirdikleri bilinmektedir. Vücuda inhalasyonla alınan tiner karaciğerde bulunan CYP-450 enzimleri ile etkileşerek yan zinciri hidroksillenmekte ve benzil alkole dönüşmektedir. Daha sonra alkol dehidrogenaz enzimi ile oksitlenerek, benzaldehyde ve aldehid dehidrogenaz etkisi ile benzoik aside transforme olmaktadır (Koyuncuer, 2004). Mattia ve ark. (1991) çalışmalarında benzaldehitin, sinir sisteminde reaktif oksijen üretimini hızlandırmada toluen'in etkisinden sorumlu olan metabolit olduğunu ve aynı zamanda benzaldehitin toluenin genel nörotoksitesine katkıda bulunduğu bilgilerini tespit etmişlerdir.

Karaözler ve ark. (2002) uzun süre solventlere maruz kalan boyacıların kanında MDA ve sitokin düzeylerinin belirgin bir şekilde arttığını, Halifeoğlu ve ark. (1999) ise tiner ile çalışan işçilerde, MDA düzeylerinde belirgin bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Ulakoglu ve ark. (1998) yapmış oldukları çalışmada beş hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda lipid peroksidasyon ürünlerinde anlamlı artışlar gözlemlemişlerdir. Dünderoz ve ark. (2003) tiner inhale eden çocuklarda eritrosit ve plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Toluene gerek in vivo gerekse in vitro maruziyetin sıçanlarda beyin, karaciğer akciğer ve böbreklerde ROS oluşumuna yol açtığı bilinmektedir. Bu sonuçlara paralel olarak, toluen içeren tinerin lipid peroksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (El-Nabi Kamel ve Shehata, 2008). Ameno ve ark (1992), tinerin kaza sonucu oral alımı sonrası ölen bir erkekde, toluen konsantrasyonunun en çok karaciğerde, onu takiben pankreas, beyin, kalp, kan, yağ ve serebrospinal sıvıda olduğunu tespit etmiştir. Paterson ve Sarvesvaran (1983) ise inhalasyon yoluyla zehirlenip ölen 16 yaşındaki bir erkeğin otopsisinde toluenin sırasıyla en çok beyin, karaciğer ve kanda biriktiğini yayımlamıştır (Kuzugüden, 2007). Toluene maruziyetinin bazı rat organlarında antioksidan statü ve apoptotik yol üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada kronik toluene maruziyetinin (15, 30 ve 45 gün) sıçanlardaki beyin korteksi, serebellum, karaciğer, böbrek ve testis gibi organlarda oksidatif stres ve antioksidan durumuna etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonuçlarına göre TBARS, GSSG ve GST, SOD, COX-2 ve kaspaz-3 aktivitesindeki seviyelerde belirgin ve zamana bağlı bir artış gösterirken; GSH, GR ve GPx çoğu dokuda belirgin bir düşüş göstermiştir. Apoptotik marker olan kaspaz-3'ün en fazla artış olduğu organ beyin (korteks ve beyincik) tespit edildiği ve en fazla etkilenen organın beyin olduğu, testis ve böbreklerin en az etkilenen organlar olduğu belirtilmiştir (El-Nabi Kamel ve Shehata, 2008).

Ratlar üzerinde subkronik tiner inhalasyonunun etkilerini ve bu etkilere karşı safranalin koruyucu etkisini araştırdığımız bu çalışmada; 8 hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda 5 farklı organa ait tiner grubunun MDA düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman karaciğer, akciğer, testis ve böbrek dokularında MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığını, beyin dokusunda ise göreceli bir artış

olmasına rağmen bu artışın istatistiksel anlamda olmadığı görülmektedir. Bu bulgular daha önce yapılmış çalışmalarla uyumludur. Ancak gerek El-Nabi Kamel ve Shehata, (2008) gerekse Ameno ve ark. (1992) ve Kuzugüden'nin (2007) bildirdiği bulgularla karşılaştırıldığında beyin dokusunda MDA düzeyinde anlamlı bir artış beklenirken çalışmamız da beyin dokusunda MDA düzeyi sayısal olarak artmış ancak artış istatistiksel anlam taşımamıştır. Bu bulgu diğer literatürlerle uyumlu değildir ve dikkat çekicidir.

Safran ve bileşenlerinin yüksek radikal temizleme etkinliği gösterdiği ve bu bileşiklerin yüksek radikal süpürme aktivitesi muhtemelen DPPH radikaline bir hidrojen atomu bağlama kabiliyetlerinden kaynaklanmakta olduğu bildirilmektedir (Assimopoulou ve ark.,2013). Hosseinzadeh ve ark.(2009) safranal'ın hidroksil radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmamızda antioksidan molekül olarak kullanılan safranal ile yapılan araştırmalarda, Hosseinzadeh ve Sadeghnia (2005) çeşitli doku ve organlarda oluşan iskemi-reperfüzyon (IR) sonucunda artan MDA düzeyini safranalın sahip olduğu antioksidatif özellikler sayesinde düşürdüğünü belirtmektedir. Mehdizadeh ve ark. (2013) ratlarda izoprotereno ile oluşturulan miyokart infarktüsü sonucu artan MDA seviyelerini hem safran ekstraktının hem de onun temel bileşeni olan safranalın doza bağımlı bir şekilde düşürerek oksidatif stresi azalttığını bildirmişlerdir. Sadeghnia ve ark. (2013) düşük doz safranalın (72.75 mg/kg) kinolinik asit kaynaklı oksidatif hasarı azaltabildiğini bildirmişlerdir. Samarghandian ve ark. (2014) diyabetik sıçanlarda safranal'ın solunum sıkıntısı üzerindeki önleyici etkisini inceledikleri çalışmada bronkoalveoler lavaj sıvısı (BALF) ve akciğer dokusunda artan malondialdehit (MDA) düzeyinin 3 farklı doz safranal uygulanarak inhibe edildiğini belirtmişlerdir. Samarghandian ve ark. (2015) safranalın (0.5 mg/kg gün, IP) yaşlanmaya bağlı olarak artan MDA düzeylerinde azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda safranal grubunun MDA düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman beyin dokusunda MDA düzeyinin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Testis ve akciğerde tespit edilen kontrol grubuna göre, azalışın ise istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği görülmüştür. Ancak karaciğer ve böbrek

dokusunda MDA düzeyinde diğer literatürlerle karşılaştırıldığı zaman anlamlı bir azalış beklenirken burada tam tersi istatistik açıdan anlamsız olmasına rağmen bir artış gözlenmesi dikkat çekicidir. Bu durum safranalin hormetik etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız literatür taramasında safranalin tiner toksikasyonuna karşı etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar; 8 hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda karaciğer, akciğer, beyin ve testis dokularında MDA düzeyinin sadece tiner uygulanan gruba göre Tiner + safranin grubunda anlamlı olarak azaldığını ortaya koymaktadır. Böbrek MDA düzeylerinde ise sayısal bir azalış görülmekle birlikte bu azalışın istatistiksel anlamı olmadığı izlenmiştir. Tiner+safranin grubunda MDA düzeylerinin T Grubu'na göre karaciğer, akciğer, beyin ve testis dokularında anlamlı olarak azalması, safranalin bu organlarda oksidasyon reaksiyonlarının yıkımlayıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağladığını göstermektedir. Yine Tiner+safranin gruplarındaki MDA seviyelerinin kontrol grubu verilerine yaklaşmış olması, safranalin lipid peroksidasyonunu önlemede antioksidan potansiyele sahip olduğunu fakat bunu tüm dokularda aynı şiddette göstermediğini düşündürmektedir.

Serbest radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak ve oksidatif stres tablosun oluşumunu önlemek için serum, eritrosit ve dokularında genel olarak antioksidanlar diye adlandırılan bir defans mekanizması mevcuttur ve bu defans mekanizmasıyla oksidatif stres arasında bir denge vardır. Bu dengenin bozulması sonucu biriken serbest radikaller oksidatif stres tablosunun ve birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Antioksidanlar hem endojen serbest radikalleri inaktive etmek için hem de ksenobiyotik patlamasından ortaya çıkan elektrofilik ara ürünleri yeniden inaktive etmek için direk veya indirekt olarak etki edebilir ve böylece hasarı önleyebilirler (Çelik, 2005).

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmamızda MDA ölçümlerinin yanında önemli bir antioksidan olan GSH düzeyleri ölçülerek tinerin dokularda neden olabileceği hasara karşı safranalin olası koruyucu etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. İntraselüler

konsantrasyonu daha fazla olan, Glutasyonun (GSH) oksidatif strese karşı hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında antioksidan bir molekül olarak önemi büyüktür (Aksoy 2002). Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir. Aktif grubu sistein kalıntısındaki tiyol (-SH) grubudur (Meister ve Larsson, 1989). Hücrelerde -SH grubu içeren ana moleküldür. Sülfidril grubu serbest radikaller ile direk etkileşime girerek enzimatik olmayan antioksidan sistemin önemli bir parçasını oluşturur. Serbest oksijen radikalleri ve yabancı maddelerin enzimatik detoksifikasyonunda da kofaktör olarak görev alabilir. Böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Yalçın 1998, Valko ve ark., 2006). Tüm organlarda özellikle de karaciğerde sentezlenir ve tüm memeli dokularında bulunmaktadır (Meister ve Larsson, 1989). Vücutta normal metabolizma sonucu oluşan süperoksit radikali ve H₂O₂, süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri kullanılarak ortadan kaldırılırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1986). Bu reaksiyonda GSH, glutasyon peroksidaz etkisiyle oksitlenerek okside glutatona (GSSG) dönüşür ve okside glutasyonun tekrar redükte hale gelmesi NADPH bağımlı glutasyon redüktazın kullanılması ile mümkün olur (Orlowski ve Karkowsky,1976; Yalçın, 1998; Valko ve ark., 2006). Dokuları ve organları oksidatif strese karşı koruyan GSH düzeyindeki bir artış, muhtemelen ROS ve oksidatif stresin azaldığını göstermektedir (Mecocci, 2004). Geri dönüşümü olmayan hücre hasarı meydana geldiğinde, hücredeki GSH içeriği devamlılığını kaybeder. Biyolojik kompartımanlarda GSH'ın konsantrasyonunun ölçülmesi, çeşitli patolojik durumların anlaşılması için önemli bir parametredir (Reed ve Fariss, 1994).

Tinerin GSH düzeyine etkilerini konu alan benzer çalışmalara bakıldığında: Altıntaş (2006) organik çözücüye maruz kalınan iş kollarında çalışan işçilerde eritrosit membranı sialik asit (SA), NO, GSH düzeylerinin azaldığı, plazma SA ve MDA değerlerinin ise arttığı tespit etmişlerdir. Baydas ve ark. (2003) tiner uyguladıkları ratlarda beyinde antioksidan enzimlerden olan SOD aktiviteleri ve glutasyon düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Ilgazlı ve ark'da (2004) günde 2 kez birer saat tiner inhale ettirdikleri ratlarda kanda 12 hafta boyunca değişimleri incelemişler; ancak SOD aktivitelerinde artış ve glutasyon seviyelerinde azalma olmakla birlikte anlamlı değişiklik saptayamamışlardır. Ulakoğlu ve ark. (1998a)

kronik tiner inhalasyonunda ratların akciğer ve karaciğer dokularındaki GSH seviyeleri araştırılmış ve her iki dokuda da GSH değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. El-Nabı Kamel ve Shehata (2008), kronik toluen maruziyetinin (15, 30 ve 45 gün) sıçanlardaki beyin korteksi, serebellum, karaciğer, böbrek ve testis gibi organlarda oksidatif stres ve antioksidan durumuna etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonuçlarına göre TBARS, seviyelerde belirgin ve zamana bağlı bir artış gösterirken; GSH, çoğu dokuda belirgin bir düşüş göstermiştir. Baydas ve ark. (2005), 3000 ppm konsantrasyonda 45 gün süreyle tinere maruz bırakılan ratların tüm beyin bölgelerinde lipid hasarı sonucu oluşan MDA ve 4-hidroksialkenlerin (4-DHA) anlamlı bir şekilde arttığını belirtmişlerdir. Fakat, beynin hiçbir bölgesindeki GSH seviyelerine anlamlı bir değişiklik gözlemleyememişlerdir (Baydas ve ark., 2005). Ulakoğlu ve ark.(1998b), beş hafta boyunca tinere maruz bırakılan ratlarda lipid peroksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-DHA'da anlamlı artışlar tespit etmişlerdir. Lipid peroksidasyon seviyesinin artmasına karşın üçüncü soluma haftasından beşinci soluma haftası kadar SOD ve GSH seviyelerinde belirgin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Şahin (2008) ratlarda subkronik tiner inhalasyonuna bağlı olarak kanda MDA düzeylerinde anlamlı olarak arttığını, GSH ve TAK düzeylerinin ise azaldığını tespit etmişlerdir. Dillioglugil ve ark. (2005) çalışmalarında 8 hafta boyunca tiner inhalasyonuna maruz bırakılan sıçan akciğerlerinde GSH düzeylerini anlamlı olarak düşük tespit etmişlerdir. Ahmadizadeh ve ark. (2014), çalışmalarında yetişkin erkek sıçanlara yedi ardışık günde 300, 600 ve 900 mg/kg dozlarında toluen vermişlerdir. Bu çalışmada, toluenin böbrek hasarına neden olduğu mekanizmayı ortaya koymaya çalışmışlardır. Sonuç olarak toluenin böbrekte hasara neden olduğunu bildirmiş kontrol değerlerine kıyasla GSH düzeylerini düşürdüğü belirtmişlerdir. Toluenin böbrekte GSH düzeyini düşürmesini oksidatif stres kaynaklı toksisitesinin bir sonucu olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda 5 farklı organa ait tiner grubunun GSH düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman karaciğer, testis, beyin ve böbrek dokularında GSH düzeyinin istatistik açısından anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Akciğer dokusunda ise literatür bilgilerinin aksine istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir

artış görülmesi dikkat çekmektedir. Sonuç olarak akciğer dokusu dışında diğer dokuların tiner gruplarında azalan GSH'ın sebebi artan tiner metabolitlerinin oluşturduğu reaktif oksijen türleri olarak düşünülmektedir.

Hazman ve Bozkurt (2015) sıçanlarda diyabetik nefropati oluşturmuş ve safranal tedavisine tabi gruplarda GSH düzeylerinin daha düşük olduğu tespit etmişler diyabet +Saf grubunun GSH düzeylerini DYB grubuna göre istatistiksel olarak farklı ve daha yüksek tespit etmişlerdir. Samarghandian ve ark.(2014) diyabetik sıçanlarda safranalın GSH seviyelerini ve CAT ile SOD aktivitelerini artırarak diyabet sonucu oluşan akciğerlerdeki oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir.

Safranal grubu tüm dokularda kontrol grubuyla kıyaslandığında GSH değerlerinde gruplar arası istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşmadığı saptanmıştır. Safranal grubunun böbrek ve akciğer dokusunda istatistik olarak anlamlı olmayan az da olsa bir artış göstermesi bu dokularda antioksidan etki göstererek ve GSH seviyesini kontrol grubuna göre artırdığı görülmüştür.

Çalışmamızda 5 farklı organa ait tiner+safranal grubunun GSH düzeyleri tiner grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman karaciğer, testis, beyin ve böbrek dokularında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir artış olduğu saptanmıştır. Akciğer dokusunda ise literatür bilgilerinin aksine tiner+safranal grubunda tiner grubuna kıyasla anlamlı bir azalış görülmüştür. Bu durumdan yola çıkarak safranalın, karaciğer, testis, beyin ve böbrek dokularında tiner grubunda azalan GSH seviyesini tekrar kontrol seviyelerine gelmesini sağlayarak ortaya çıkan oksidan dengeyi antioksidan lehine çevirmeyi başarmış olduğu söylenebilir.

Bu araştırmada tiner inhalasyonunun neden olduğu oksidatif stresin sistemik etkisini değerlendirmek için TAS ve TOS ölçümleri kullanılmıştır. TAS, antioksidan alım ve/veya üretimden kaynaklanan serum ve vücut sıvılarının genel antioksidan durumunu ve normal veya artmış ROS üretim seviyeleri ile tüketimlerini değerlendirmek için kullanılan biyokimyasal bir parametredir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini total antioksidan kapasite

(TAS), oksidanların toplam etkisini ise total oksidan kapasite (TOS) yansıtır. Vücutun antioksidan/oksidan durumu antioksidan enzimlerin aktivitesi ve antioksidan/oksidan moleküllerin konsantrasyonu ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilebilmekle beraber, genel antioksidan/oksidan durumu TAS ve TOS ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilmektedir (Erel, 2004; Erel, 2005). TAS ve TOS değerlerinin ölçümünün, bilinen ve bilinmeyen antioksidanların kapasiteleri ve sinerjik etkileşimleri sonucu in vivo oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki hassas denge hakkında, fikir verdiği değerlendirilmektedir (Ghiselli ve ark., 2000; Kayar ve ark., 2015). Bununla birlikte oksidan/antioksidan denge oksidanlar lehine bozulduğunda ve oksidatif stres ortaya çıktığında, TAS ve TOS değerleri arasında anlamlı bir negatif korelasyon izlenmektedir (Erel, 2005).

Tinerin TAS ve TOS düzeyine etkilerini konu alan benzer çalışmalara bakıldığında; Bayil ve ark. (2008) çalışmalarında tekstil boya endüstrisinde yaygın olarak kullanılan uçucu organik çözücülerin tekstil işçilerinde serbest radikal düzeyleri ve antioksidan enzim sistemi üzerindeki etkilerini belirlemişlerdir. Yirmisi organik çözücülere maruz yirmisi kontrol grubu olan işçilerden alınan kan örneklerinden, serumda malondialdehit (MDA) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAK) incelenmiş; eritrositlerde ise süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi çalışılmıştır. Yapılan analizler sonucu tekstil işçilerinde MDA ve SOD değerleri kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş buna karşılık, TAK için aralarında anlamlı bir fark gözlenmediği belirtilmiştir. Şahin (2008) subkronik tiner inhalasyonuna bağlı TAK düzeylerindeki düşüşün oksidatif stresin sonucu meydana geldiğini belirtmiştir.

Çalışmamızda ise ratlarda 5 farklı organa ait tiner grubunun TAS düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece karaciğer ve böbrek dokusunda TAS düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Akciğer, beyin ve testiste istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik meydana gelmediği görülmektedir bununla birlikte beyin ve testiste Tiner grubunun TAS düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman değerlerinde bir düşüş görülmektedir.

Tiner grubunun TOS düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman ise sadece karaciğer ve beyin dokusunda TOS düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Akciğer, böbrek ve testis dokusunda istatistik açısından anlamlı bir değişiklik görülmemiştir buna rağmen TOS seviyelerinde sayısal olarak bir artış tespit edilmiştir.

Ovalı (2014) TAS ve TOS analizlerini yaparak elde ettikleri verilerden OSI değerlerini hesaplamış ve safranalın literatürde belirtildiği (Samarghandian ve ark. 2013, 2014) üzere diyabet sonucu oluşan oksidatif stresi azalttığını bildirmiştir. Pankreas dokusu oksidatif stres verileri incelendiğinde ise safranalın özellikle diyabetik ratlarda TAS seviyelerini artırarak ve TOS seviyelerini düşürerek tam bir antioksidan gibi davrandığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda ise ratlarda 5 farklı organa ait safranal grubunun TAS düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece karaciğer dokusunda TAS düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı görülmüş bununla birlikte böbrek dokusunda istatistik açısından anlamlı olmayan bir azalış söz konusu iken akciğer, beyin ve testiste istatistik açıdan önemli bir değişiklik tespit edilememiştir.

Tiner+safranal grubunun TAS düzeyleri tiner grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman karaciğer ve böbrek dokusunda TAS düzeylerinin anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Tiner+safranal grubunun TOS düzeyleri tiner grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece karaciğer dokusunda anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Beyin dokusunda gözlenen azalışın ise istatistik açıdan bir fark ifade etmediği görülmüştür.

Tüm dokuların TAS ve TOS düzeyleri ele alındığında tiner+safranal grubundan tiner grubuna göre sayısal olarak TAS seviyelerinde bir artış, TOS seviyelerine bir azalış dikkat çekmektedir. Safranal grubu verileri kontrol grubu verileriyle kıyaslandığında ise beklenen TAS-TOS negatif korelasyonu gözlenmediği bu sonucun ise antioksidan bir madde olan safranalın vücutta tiner inhalasyonunun yarattığı oksidatif stres yokken oksidan-antioksidan dengesini bozabileceğini bu

sebeplede tıbbi uygulamalarda bu maddenin dozunun ayarlanabilmesi için mutlaka bu konuda daha fazla bilimsel çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Nitrik oksit, bir adet eşlenmemiş elektronu olan küçük bir moleküldür. Nitrik oksit muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz enzimi etkisiyle sentezlenir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). NO'nun organizmadaki rolü tartışmalıdır (Rahal ve ark., 2014). NO nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immun regülasyon gibi süreçlerde biyolojik sinyal molekülü olarak tanımlanan hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). NO, bazal düzeydeki salınımı olumsuz etkilemeden, sadece aşırı salınımın kontrol altına alınması ve artan miktarın etkisiz hale getirilmesi fizyolojik rolünü koruması için önemlidir. NO, direkt olarak veya süperoksit ile reaksiyona girdikten sonra proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar verebilmekte bu da çok reaktif peroksinitrit anyonunun oluşumuna neden olmaktadır (Rahal ve ark., 2014; Vincent ve ark., 2004). Peroksinitrit (ONOO^-) güçlü ve yarılanma ömrü uzun bir oksidandır. Organizmada, ONOO^- hidrosil radikali gibi davranan hidrosinitrite (HOONO) dönüşür. ONOO^- 'in parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlarda NO_2 oluşur (Kalfı ve ark., 1999). Bu reaktif nitrojen bileşikleri lipidler, DNA, tioller, aminoasitler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını bozar, membran bütünlüğüne zarar verir ve DNA mutasyonuna neden olabilir (Eiserich ve ark.,1998).

Vücuda en çok solunum ve deri yoluyla alınan maddeler kan yoluyla tüm vücuda yayılmakta ve ulaştıkları dokularda birikerek serbest radikal oluşumunun artmasına neden olmaktadır (Altındağ ve ark., 2001). Şahin (2008), 8 haftalık deneysel çalışmasında kontrol grubu (K), zeytin yağ (Z), α - lipoik asit (LA), tiner (T) ve tiner+ α -lipoik asit (LAT) olmak üzere, her grupta 15 rat içeren 5 grup oluşturmuştur. Deneme sonrası ratlarda nitrik oksit metabolitlerinin Z ve T gruplarında kontrol grubuna göre yüksek, L ve LAT gruplarında ise kontrol grubuna oranla düşük bulunmuş, fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Maniscalco ve ark. (2004), toluen, ksilen ve metil-etil keton gibi

organik çözücülerini teneffüs eden ayakkabı ve deri işçilerinin kanında NO düzeyini ölçmüşlerdir. Her iki işçi grubunda da NO konsantrasyonu kontrol grubuna kıyasla daha fazla çıkmıştır.

Çalışmamızda ratlarda 5 farklı organa ait tiner grubunun NO düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece beyin dokusunda NO düzeyinin anlamlı olarak arttığı bununla birlikte karaciğer, akciğer, böbrek ve testiste meydana gelen artışın istatistik açısından anlam ifade etmediği görülmektedir. Bu artışa ait bulgular daha önce yapılmış çalışmalarla uyumludur. Tiner gruplarında kontrole göre artmış NO aktivitesinin antioksidan sistemin lipit peroksidasyonuna karşı aktive olduğunu gösterebilmektedir.

Nabavizadeh ve ark .(2009) çalışmalarında safran ekstaktının, muhtemelen NO artışıyla bazal ve pentagastrin ile uyarılan asit ve pepsin sekresyonlarını arttırdığını bildirmiştir. Bukhari ve ark. (2015) çalışmalarında *Crocus sativus*'un temel bileşenlerinden safranal ve krosinin, bronşiyal epitel hücrelerinde antioksidan potansiyelinin değerlendirmiş ve astım fare modelinde aktif bileşen safranalın antiinflamatuvar potansiyelini izlemişlerdir. Safran ve bileşenlerinden safranal ve krosin ile uygulama sonucu, NO, iNOS seviyeleri ve peroksinitrit iyonu oluşumunda bir azalmaya ve böylelikle bu maddelerin sitokrom c salımını engellediğini belirtmişlerdir. Hazman ve Bozkurt (2015) sıçanlarda diyabetik nefropati için uyguladıkları safranal tedavisinin hem HFD (yüksek yağlı diyet) tedavi grubunun (HFD-Saf) hem de diyabet tedavi grubunun (DYB-Saf) NO düzeylerini azalttığını bildirmektedir. Samarghandian ve ark.(2014) diyabetik sıçanlarda safranal'ın NO düzeyinin azaldığını bildirmiştir.

Çalışmamızda ise ratlarda 5 farklı organa ait safranal grubunun NO düzeyleri kontrol grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece beyin dokusunda NO düzeyinin anlamlı olarak arttığı bununla birlikte karaciğer, akciğer, böbrek ve testiste meydana gelen artışın istatistik açısından fark ifade etmediği görülmektedir.

Dokulardaki tiner+ safranal grubunun NO düzeyleri tiner grubu seviyeleriyle karşılaştırıldığı zaman bütün dokularda istatistiksel açıdan anlamlı olan bir azalış söz konusudur. Bu bulgu literatür bilgileriyle uyumlu olup tiner inhalasyonun yaratmış olduğu toksik ajanlarla savaşarak konsantrasyonunun azaldığını düşünmekteyiz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak subkronik tiner inhalasyonuna maruz kalan ratlara 8 hafta boyunca her gün 100 mg/kg dozda safranalın gastrik gavaj yöntemiyle uygulanması ile;

- Tiner uygulanan gruplarda; tiner inhalasyonu sırasında ratların göstermiş oldukları davranışlar, tinerin nörotoksik bir ajan olarak davrandığını ve tiner inhalasyonun merkezi sinir sistemi üzerinde etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. T+S grubundaki ratlarda ise tiner inhalasyonu süresince daha sakin oldukları gözlemlerimiz arasındadır.
- Deneme süresi olan 8 hafta sonunda tiner inhalasyonunun çoğu literatür bilgilerin aksine tiner uygulanan grupta ratların canlı ağırlıklarının başlangıç düzeyine göre arttığı gözlenmiştir. Kontrol grubundaki artışla kıyaslandığında daha düşük düzeyde de olsa bir ağırlık artışı kaydedilmiştir. Bu bulgu canlı ağırlık artışının tiner alan grupta sağlıklı deneklere göre baskılanmış olabileceğini ortaya koymaktadır. Diğer yandan yalnızca safranal uygulanan grupta da başlangıç ve son canlı ağırlık verileri arasındaki farka göre incelendiğinde ise kontrol ve tinere göre kilo artışın en az grup olduğu görülmüştür. Tiner+safranal grubuna bakıldığında ise tiner grubunda artan canlı ağırlığın bu grupta tekrar düştüğü saptanmıştır. Bu bulgular safranalın subkronik tiner inhalasyonunun neden olduğu canlı ağırlık kaybına karşı ratları koruyamadığını hatta canlı ağırlık artışını daha da azalttığını ortaya koymaktadır.
- 8 hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında oksidatif hasar düzeyinin tesbiti ve bu hasara karşı safranalın koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla bu dokularda malondialdehid ve total oksidan statü düzeyleri ile glutatyon, total antioksidan statü düzeyleri değerlendirilmiştir.

- Karaciğer dokusunda elde ettiğimiz bulgular; tiner uygulamasının karaciğerde MDA ve TOS düzeyini kontrole göre anlamlı olarak arttırdığı; GSH ve TAS düzeylerini ise anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir. Tiner verilen grup da, safranal uygulamasının ise MDA ve TOS düzeyini anlamlı olarak azalttığı, GSH ve TAS düzeylerini ise arttırdığı görülmüştür.
- Akciğer dokusunda elde ettiğimiz bulgular; tiner uygulamasının akciğerde MDA düzeyini anlamlı olarak, TOS düzeyini ise anlamlı olmasa da arttırdığını; GSH ve TAS düzeylerini ise sayısal değişiklikler olsa da anlamlı olarak etkilemediği izlenmiştir. Tiner verilen grup da, safranal uygulamasının ise artmış MDA düzeyini anlamlı olarak ve TOS düzeyini ise sayısal azalttığı, GSH düzeyinin anlamlı azaldığı ve TAS düzeyinin ise sayısal olarak artsada istatistiksel olarak etkilenmediği izlenmiştir.
- Böbrek dokusunda elde ettiğimiz bulgular; tiner uygulamasının böbrekte MDA düzeyini anlamlı olarak, TOS düzeyini ise anlamlı olmasa da arttırdığını; GSH ve TAS düzeylerini ise anlamlı olarak azalttığı tesbit edilmiştir. Tiner verilen grupta, safranal uygulamasının ise MDA ve TOS düzeyini azalttığı, GSH ve TAS düzeylerini ise artırarak kontrol grubu seviyesine yükselttiği görülmüştür.
- Beyin dokusunda elde ettiğimiz bulgular; tiner uygulamasının beyin MDA düzeyini anlamlı olmasa da artırdığı, TOS düzeyini ise anlamlı şekilde arttırdığını; GSH düzeyini anlamlı azalttığı ve TAS düzeylerini ise anlamlı olarak etkilemediği tesbit edilmiştir. Tiner verilen grupta, safranal uygulamasının

ise artmış MDA ve TOS düzeyini azaltarak, GSH düzeyini artırırken ve TAS düzeylerini etkilemediği izlenmiştir.

- Testis dokusunda elde ettiğimiz bulgular; tiner uygulamasının testiste MDA düzeyini anlamlı olarak artırdığını ve TOS düzeyini sayısal olarak artırsada anlamlı olarak etkilemediği; GSH düzeyini anlamlı olarak azalttığı ve TAS düzeyini sayısal olarak azaltsa da anlamlı olarak etkilemediği görülmektedir. Tiner verilen grup da, safranal uygulamasının ise MDA ve TOS düzeyini azaltarak kontrol grubu düzeyine çektiği, GSH düzeyini artırarak yine kontrol grubu düzeyine yükseldiği ve TAS düzeylerini ise sayısal olarak arttırdığı görülmüştür.
- 8 hafta boyunca tiner inhale ettirilen ratlarda karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve testis dokularından elde edilen NOx düzeylerini değerlendirdiğimizde; karaciğer, akciğer, böbrek ve testis dokularında NOx düzeyinin yalnız tiner verilen grup da anlamlı olmasada sayısal olarak arttığını diğer yandan beyin dokusunda ise NOx düzeyini anlamlı olarak arttığı görülmektedir. Tiner verilen grup da, safranal uygulamasının ise yalnız tiner verilen gruba göre NOx düzeyini anlamlı olarak azaltarak kontrol grubu düzeyine çektiği görülmüştür.

Organik çözücülerin, ROS oluşumunu tetikledikleri ve hücre hasarı yoluyla toksisitelerini gösterdikleri literatür çalışmalarıyla kanıtlanmıştır. Bu çalışma da tiner inhalasyonu ile oksidatif stresin rolünü doğrulamaktadır. Tiner inhalasyonu ile toluen kaynaklı toksisitenin metabolizmadaki redoks durumunu bozması, ratın farklı organlarındaki yüksek lipid peroksidasyonu, GSH'nin tükenmesi, antioksidan enzimlerin bozulması ile gösterilmiştir.

Yukarıda verilen bulgular oksidatif stres yönünden incelendiğinde tiner verilen grupta tüm dokularda MDA düzeylerinde anlamlı artış olması, tinere bağlı oluşan doku hasarında lipid peroksidasyonunun rolü olduğu görüşünü

desteklemektedir. Diğer yandan tiner inhale ettirilen gruplarında akciğer, karaciğer, böbrek, testis ve beyin dokularına ait MDA düzeylerinin artmış olması buna karşın T+S grubunda, safranalın incelenen dokularda gelişen oksidatif stres tablosunu gerek MDA ve TOS düzeylerini azaltarak gerekse GSH ve TAS düzeylerini artırarak ortadan kaldırdığını veya hafiflettiği ve incelenen dokuları oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı korumada önemli bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir. Ancak safranalın her dokuda aynı düzeyde etki göstermediği de aşıkardır. Safranal biyolojik bir antioksidan gibi görünse de, doğrudan kimyasal bir antioksidan olarak etkisinin kanıtı azdır. Bununla birlikte safranalın bir hormin olarak dolaylı yoldan bir antioksidan olabileceği belirtilmektedir. Farahmand ve ark. (2013) safranalın, bir hormin olarak etkinliği olabileceğini ve antioksidatif enzimlerin aktivasyonuna yol açan hafif oksidatif hasar sonucu etkinliğini gösterdiğini belirtmiştir. Tiner gruplarında kontrole göre artmış NOX aktivitesinin antioksidan sistemin lipit peroksidasyonuna karşı aktive olduğunu, T+S grubundan safranal uygulamasının tüm dokularda NOX düzeyinde anlamlı azalışlar ortaya koyması safranalın hormetin benzeri etki gösterdiğini düşündürülebilir.

Yüksek doz tiner inhalasyonunun tüm dokularda meydana getirdiği komplikasyonların diğer kalıcı ve ölümcül olabilecek hasarları meydana getirebileceğini düşünürsek, ülkemizde adolesan çağındaki gençler arasında hızla yaygınlaşmakta olan tiner ve benzeri maddelerin uyuşturucu amaçlı kullanımının eğitici ve yasal önlemlerle engellenmesini umut etmekteyiz. Endüstri alanında fazlaca kullanılan organik çözücülerin ne gibi hasarlara yol açacağına değindiğimiz üzere bu sektörde çalışanların belirli aralıklarla rutin kontrollerini yaptırması gerektiğini ve çalışma alanların gözetim altında tutularak, çözücü inhalasyonunun belirli limit değerleri geçmemesine özen göstererek verilecek hasarların önüne geçilebilmesi gerekmektedir. Uyuşturucu bağımlılarına yapılan klasik tedavilerin yanında veya bu tedavilere ek olarak safranalı içine alan yeni tedavi modülasyonlarının geliştirilmesi ve safranalın etkisinin anlaşılması için daha fazla bilimsel çalışmalar yapılmasının gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, safranalin tiner inhalasyonu sebebiyle dokularda oluşan oksidatif stresin olumsuz etkilerinin tamponlaması ve hafifletilmesinde etkili olduğu grlmektedir. Ancak yaptığımız çalışmada safranalin belirlenen tek bir dozu kullanılmış olup, doz değerleri değiştirilerek benzer çalışmaların gerçekleştirilmesi ve organizmayı korumada en uygun dozun ortaya konmasıda kaçınılmazdır.

KAYNAKÇA

- Abdullaev, F., Ortega, C.H., Miranda, P.R. (2007). HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chem*, **100**: 1126- 1131.
- Ahmadizadeh, M., Amirmoezy, C., Pole, T. (2014). Effects of Toluene on Rat Kidney. *Jundishapur J Health Sci*, **6(1)**: 281-287
- Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- Aksoy, Y., 2002, "Antioksidan Mekanizmada Glutasyonun Rolü, The role of
- Al-Alousi, L.M. (1989). Pathology of volatile substance abuse: a case report and a literature review. *Med Sci Law*, **29**: 189-208.
- Aleksandrovskii, I.A., Poiurovskii, M.V., Neznamov, G.G., Seredeniia, EA., Krasova, S.B. (1988). Lipid peroxidation in emotional stress and neurotic disorders. *Zh Nevro patol Psikhiatr Im S S Korsakova*. **88(11)**: 95-101.
- Ali, R.E., Rattan, S.I.S. (2006). Curcumin's biphasic hormetic response on proteasome activity and heat shock protein synthesis in human keratinocytes. *Ann NY Acad Sci*, **1067**: 394-399
- Allen, R., Kidd, H., Lyons, G., Templer, S., Hannat, M.(1992). Solvents. In: Walsh D, Editör. Chemical Safety Data Sheets. Athenaeum Press, Newcastle-UK,1-4,190-5,303-5.
- Altındağ, A., Özkan, M., Oto, R. (2001). İnhalanla ilişkili bozukluklar. Klinik Psikofarmokoloji Bülteni, **11**: 143-148.
- Altıntaş, S. (2006). Kahramanmaraş'ta Bazı İş Kollarında Çalışan Boya İşçilerinde Plazma Ve Eritrosit Membranı Sialik Asit, Glutasyon, Plazma Nitrik Oksit Ve Lipid Peroksidasyonu Düzeylerindeğerlendirilmesi. Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı.
- Ameno, K., Kiriu, T., Fuke, C. (1992). Regional brain distribution of toluene in rats and in a human autopsy. *Arch Toxicol*, **66**: 153-6.
- Ames, B.N., Shigenara, M.K. (1992). DNA damage by Endogenous oxidants and mithogenesis As Causes of Aging and Cancer. Molecular Biology of free radical scavenging systems, ed, scandalios, J.G, Cold Spring Harbor Laboratuary Pres, Plainviev, pp. 1-21.
- Andican, G., Burçak, G. (2004). Oksidatif DNA Hasarı Ve HPLC ile Analizi. II. Ulusal HPLC ve Diğer seperasyon Teknikleri sempozyumu, Özet kitabı, 110p.

- Arıhan, S.K. (2003). Antik Dönemde Tıp Ve Bitkisel Tedavi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Arkeoloji Bölümü Klasik Arkeoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Arihan, O., Oto, G., Bayram, İ., Aras, İ. (2016). Effect of safran, safranal and crocin which are active ingredients of Saffron (*Crocus*) on erythrocyte fragility and hematological parameters in carbon tetrachloride intoxicated rats. *East J Med*, **21**: 4.
- Assimopoulou, A.N., Sinakos, Z., Papageorgiou, V.P. (2005). Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytother Res*, **19**: 997–1000.
- Avşaroğlu, A.B. (2009). Obez hastalarda diyet egzersiz antiobezite ilaç uygulamalarının oksidan stres ve antioksidan savunma mekanizmaları üzerine etkileri. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Aytekin, A., Açıkgoz, A.O. (2008). Hormone and microorganism treatments in the cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.) plants. *Molecules*, **13(5)**:1135-1147.
- Azam Bolhassani, A., Khavari, A., Bathaie S.Z. (2014). Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1845**: 20–30.
- Azarabadi, N. (2011). Farklı kalitedeki İran safranının renk ve aroma bileşenlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans, Akdeniz Üniversitesi , Ocak,
- Bacaksız, A. (2012). Organik Çözücülere Maruz Kalan Bireylerde Lenfosit Dna Hasarının Xrcc1 Ve Xrcc3 Gen Polimorfizmleri İle İlişkisi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı.
- Backes, W.L., Sequeira, D.J., Cawley, G.F., Eyer, C.S. (1993). Relationship between hydrocarbon structure and induction of P450: Effects on protein levels and enzyme activities. *Xenobiotica.*, **23**:1353–66.
- Baelum, J. (1991). Human solvent exposure: factors influencing the pharmacokinetics and acute toxicity. *Pharmacol. Toxicol.*, **68(1)**: 1-36
- Başer, K.H.C. (2014). Safran (*Crocus sativus*L.) int erişim: https://www.researchgate.net/publication/291971783_Safran_Crocus_sativus_L. erişim tarihi:11.05.2017
- Bathaie, S.Z. and Mousavi, Z. (2010). .New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **50**: 761 – 86.
- Baydar, H. (2005). Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları. **51**: 216, Isparta.

- Baydas, G., Özveren, F., Tuzcu, M., Yaşar, A. (2005). Effects of thinner exposure on the expression pattern of neural cell adhesion molecules, level of lipid peroxidation in the brain and cognitive function in rats. *European Journal of Pharmacology*, **512**: 181-187.
- Baydas, G., Reiter, R.J., Nedzvetskii, V.S. (2003). Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. *Toxicol Lett*, **137**: 169-74.
- Bayil, S., Cicek, H., Cimenci, G.I, Hazar, M. (2008). Effects Of Organic Compounds On Antioxidant Enzymes In Textile Workers. *Arh Hig Rada Toksikol*, **59**: 283-287.
- Beckley, J.T., Woodward, J.J. (2013). Volatile solvents as drugs of abuse: focus on the cortico-mesolimbic circuitry. *Neuropsychopharmacology*, Aug 19. [Epub ahead of print]
- Bell, R.H., Jr Hye, R.J. (1983). Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *J Surg Res Nov*, **35(5)**: 433-60.
- Bergendi, L., Benes, L., Durackov, Z., Ferencik, M. (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*, **65**: 1865- 74.
- Berk, M., Önal, B., Güven R. (2011). Meslek Hastalıkları Rehberi ,Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, İş Sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü (İSGGM). Matsa Basımevi, Ankara.
- Beutler, E., Duran, O., Kelley, B.M. (1963). Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, **61**: 882-888.
- Bölükbaşı, S. (2005). Sıçanlarda Tiner İnhalasyonunun Larenks Ve Burun Mukozası Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 2.Kulak Burun Boğaz Kliniği, İstanbul .
- Braugher, J.M., Chase R.L., Pregonzer J.F.(1987). Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *Biochim Biophys Acta.*, **17(3)**: 457– 464.
- Bruckner, J.V., Peterson, R.G. (1976). Evaluation of toluene toxicity, utilizing the mouse as an animal model of human solvent abuse. *Pharmacology*, **18**: 244.
- Buege, J.A. and Aust, S.D. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation, In: *Methods in Enzymology*. Fleischer, S., Packer L. (Editors). New York: Academic Press, pp. 302-330.
- Bukhari, S. I., Pattnaik, B., Rayees, S., Kaul, S. and Dhar, M. K. (2015), Safranal of *Crocus sativus* L. Inhibits Inducible Nitric Oxide Synthase and Attenuates Asthma in a Mouse Model of Asthma. *Phytother. Res.*, **29**: 617–627. doi: 10.1002/ptr.5315.
- Burton, G.W. (1989). Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr.*, **119(1)**: 109-11.

- Carabez, A., Sandoval, F., Palma, L. (1998). Ultrastructural changes of tissues produced by inhalation of thinner in rats. *Microsc Res Tech*, **40**: 56–62.
- Carmona, M., Zalacain, A., Salinas, M And Alonso, G.L. (2007). A New Approach to Saffron Aroma. *Food Science and Nutrition*, **47**: 145-159.
- Cheeseman, K.H., Slater T.F. (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49(3)**: 479-481.
- Cıngı, C.C., Baser, D.F., Karafakioglu Y.S., Fidan, A.F (2012). Stress Response in Dairy Cows Related to Rectal Examination., *Acta Scientiae Veterinariae.*, **40(3)**: 1053.
- Clavelou, P., Dallel, R., Orliquest, T., Woda, A., Raboisson, P. (1995). The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. *Pain*, **62**: 295-301.
- Compoti, M. (1987). Glutathione depleting agents and lipid peroxidation in the aging rat. *Com Biochem Phys*, **88**: 177-180.
- Coşkunes, F.I. (2008). Kanserojen Kimyasal Maddeler Ve İş Sağlığı Ve Güvenliği. İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi, Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü. ANKARA,
- Çalışkan, N., Kara, İ. (2014). Farklı Kurutma Tekniklerinin Safran (*Crocus sativus*)'ın Kalitesine Etkileri. II. TIBBİ ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu 23–25 Eylül, Bildiriler Kitabı, P-126, Yalova.
- Çaylak, E. (2011). Hayvanlar ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi, **9(1)**.
- Çelik, H. (2005). Malarya (Sıtma) Hastalarında Oksidatif stres ve Mononükleer Lenfosit DNA Hasarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
- Çelik, H. (2005). Malarya (sıtma) hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı.84 sy.
- Çetin, B., Özşahin, E. (2011). Turizm Ve Mekânsal Değişime Etkileri Yönüyle Gönen (Balıkesir) Termal Kaynakları. *Electronic Turkish Studies*, **6(2)**.
- Çoban, Ö.E, Patır, B. (2010). Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **5(2)**: 7-19.
- Davies, B., Thorley, A. O'Connor, D.(1985). Progression of addiction carriers in young.
- Demircan, E. (2014). Romatoid Artritte Total AntiOksidan Status (Tas), Total Oksidan Status (Tos), İskemi Modifiye Albumin (İma) Düzeylerin Hastalık

Aktivitesi ve İnsulin Direni ile İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

- Demirezer, Ö. (2011). FFD Monografıları, Tedavide Kullanılan Bitkiler (2.Baskı), Nobel Tıp Kitapevi.
- Dillioglugil, M.O., Ilgazlı, A., Maral, H., Sengul, C., Ozdemir, G., Ercin, C.(2005). Protective effects of N-acetylcysteine on the peroxidative changes of rat lungs exposed to inhalation of thinners. *Respirology*, **10**: 615-19.
- Dorsey, A., McClure, P, McDonald, A.R, Singh, M. (2000). Toxicological profile for toluene, U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease, Atlanta, Georgia.
- Dündar, Y., Aslan, R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım. S: 4-6.
- Dündaröz, M.R., Türkbay, T., Akay, C., Sarıcı, S.Ü., Aydın, A., Denli, M., Gökçay, E. (2003). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in adolescents with inhalant abuse *The Turkish Journal of Pediatrics*, **45**: 43-45.
- Ebrahim-Habibi, M.B., Amininasab, M., Ebrahim-Habibi, A., Sabbaghian, M., Nemat-Gorgani, M. (2010). Fibrillation of alpha-lactalbumin: effect of crocin and safranal, two natural small molecules from *Crocus sativus*. *Biopolymers.*, **93(10)**: 854-65.
- Eisenberg, D.P. (2003). Neurotoxicity and mechanism of toluene abuse. *Einstein Quart J Biol Med*, **19**: 159-159.
- Eiserich, J.P., Patel, R.P., O'Connell, V.B. (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med*, **19**: 221-57.
- El-Nabi, K., Shehata, M. (2008). Effect of toluene exposure on the antioxidant status and apoptotic pathway in organs of the rat. *British Journal of Biomedical Science*, **65(2)**: 75-79, DOI: 10.1080/09674845.
- Emecen, Ö., Berçik Inal, B., Erdenen, F., Usta, M., Aral, H., Güvenen, G. (2010). Evaluation of oxidant/antioxidant status and ECP levels in asthma., *Turk J Med Sci.*, **40 (6)**: 889- 895.
- EPA (U.S.A Environmental Protection Agency). (2005). Toxicological Review of Toluene.
- Erel, Ö. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, **37(2)**: 112-119.
- Erel, Ö. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38(12)**: 1103-1111.

- Erfanparast, A., Tamaddonfard, E., Taati, M. Dabbaghi M. (2015). Effects of crocin and safranal, saffron constituents, on the formalin-induced orofacial pain in rats. *Avicenna J Phytomed*, **5 (5)**: 392-402.
- Escobar, A. and Aruffo, C. (1980). Chronic thinner intoxication: clinico-pathologic report of a human case. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, **43**: 986-994.
- Escribano, J., Alonso, G.L., Coca-Prados M., Fernandez, J.A. (1996). Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Lett.*, **100**: 23–30.
- Farahmand, S.K., Samini, F., Samini, M., Samarghandian, S. (2013). Safranal ameliorates antioxidant enzymes and suppresses lipid peroxidation and nitric oxide formation in aged male rat liver. *Biogerontology*, **14**: 63–71. doi: 10.1007/s10522-012-9409-0.
- Faust, R.A. (1994). Toxicity summary for toluene. Biomedical and Environmental Information Analysis Section, 1-13.
- Feldman, P.L., Stuehr, D.J., Griffith, O.W., Fukuto, J.M. (1995). Mechanisms of mammalian nitric oxide biosynthesis. In: Weisman, BA. et al. (edt): 79 Biochemical, pharmacological and clinical aspects of nitric oxide. Plenum Press, New York., 14-20.
- Fialkow, L., Wang, Y., Downey, G.P. (2007). Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radic Biol Med.*, **42**:153–64.
- Fidan, A.F. (2007). Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin Dna Hasarı, Protein Oksidasyonu Ve Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı.
- Filley, C.M., Halliday, W., Kleinschmidt-Demasters B, K. (2004). The Effects of Toluene on the Central Nervous System. *J Neuropathol Exp Neurol*, **63 (1)**: 1-12.
- Flanagan, R.J., Ives, R.J. (1994). Volatil Substance Abuse. Bulletin on Narcotics, United Nations Office on Drug And Crime, **2**: 48-78.
- Flanagan, R.J., Ruprah, M., Meredith, T.J., Ramse, J.D.(1990). An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. *Drug Saf.*, **5(5)**: 359-383.
- Geromichalos, G.D., Lamari, F.N., Papandreou, M.A., Trafalis, D.T., Margarity, M., Papageorgiou, A., Sinakos, Z. (2012). Saffron as a source of novel acetylcholinesterase inhibitors: molecular docking and in vitro enzymatic studies. *J Agric Food Chem.*, **60(24)**: 6131-8.

- Ghiselli, A., Serafini, M., Natela, F., Scaccini, C. (2000) Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Rad Biol Med.*, **29**: 1106-1114
- glutathione in antioxidant mechanism. *T.Clin. J.Med.*, **22**: 442-448.
- Gökalp, N. (2006). Doğal antioksidanlar, Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 7-33.
- Greenberg, M.M. (1997). The central nervous system and exposure to toluene: a risk characterization. *Environ Res.*, **72(1)**: 1-7.
- Gresta, F., Siracusa, L., Avola, G., Lombardo, G.M., Ruberto, G. (2008). Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. *Scientia Horticulturae*, **119**: 320–324.
- Grisotto, P.C., dos Santos, A.C., Coutinho-Netto, J., Cherri, J., Piccinato, C.E. (2000). Indicators of oxidative injury and alternations of the cell membrane in skeletal muscle of rats submitted to ischemia and reperfusion. *J Surg Resc.*, **92**: 1-6.
- Gustavsson, P., Plato, N., Hallqvist, J.(2001). A population-based case-referent study of myocardial infarction and occupational exposure to motor exhaust, other combustion products, organic solvents, lead, and dynamite. Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) Study Group. *Epidemiology*, **12(2)**: 222-228.
- Gutteridge, J.M.C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry*, **41**: 1819-1828.
- Güçlü, O. (2004).Uzun süreli tiner inhalasyonunun iştme yolları üzerine etkilerinin, hayvan modeli üzerinde işitsel beyin sapı yanıtları ile değerlendirilmesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Kulak Burun Boğaz Kliniği.
- Güzel, A., Kızıltepe, C., Aylanc, H., Sayar, E.,Karasalihoğlu, Kavalcı C. (2009). Çocukluk Çağında Tiner Zehirlenmeleri Thinner Intoxications in Childhood. Akademik Acil Tıp Dergisi, Araştırma Makalesi, doi:10.4170/jaem.2009.26878.
- Hahn, T., Botzenhart, K., Schweinsberg, F. (2001). Toxic Effects of Solvent Exposure. In: Handbook of Solvents. Edt: G. Wypych. ChemTech Publishing, 1315-1404.
- Halliwell, B. (1987). Free radicals and metal ions in health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, **46(1)**: 13-26. doi:10.1079/PNS19870004.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK.

- Halliwell, B., (1995). Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, **49 (10)**: 1341-1348.
- Halliwell, B., Dizdaroglu, M. (1992). The measurement of oxidative damage to DNA by HPLC and GC/MS techniques. *Free Radical Res Commun*, **16**: 75-87.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1990). Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview, Methods. *Enzymol.*, 186.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*, **219**:1-14.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1985). The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Molec Aspects Med*, **8**: 89-193.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1986). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys*, **311**: 659-71.
- Hariri, A.T, Moallem, S.A. (2011). Mahmoudi M, Hosseinzadeh H, The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*, **18**: 499–504.
- Hass, U. S. P. Lund, K. S. Hougaard, and L. Simonsen (1999). Developmental neurotoxicity after toluene inhalation exposure in rats. *Neurotoxicol. Teratol.*, **21(4)**: 349- 357.
- Haug, L.W. (1997). Teratogen update: Toluene. *Teratology*, **55**: 145-151.
- Hayes, D.P. (2007). Nutritional hormesis. *Eur J Clin Nutr*, **61**: 147–159.
- Hazman, Ö., Bozkurt, M.F. (2015). Anti-inflammatory and Antioxidative Activities of Safranal in the Reduction of Renal Dysfunction and Damage that Occur in Diabetic Nephropathy. *Inflammation*, 38, No. 4, August DOI: 10.1007/s10753-015-0128-y.
- Hellguist, H., Irander, K., Edling, C., Ödkvist, L.M. (1983). Nasal symptoms and histopathology in a group of spray-painters. *Acta Otolaryngol*, **96**: 495-500.
- Hormes JT, Filley CM, Rosenberg NL. (1986). Neurologic sequelae of chronic solvent vapor abuse. *Neurology*, **36**: 698-702.
- Hosseinzadeh, H. and Jahanian, Z. (2010). Effect of Crocus sativus L. (saffron) Stigma and its Constituents, Crocin and Safranal, on Morphine Withdrawal Syndrome in Mice. *Phytotherapy Research*, **24**: 726–730.
- Hosseinzadeh, H. and Younesi, M.H. (2002). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Crocus sativus L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*, **2**: 7.

- Hosseinzadeh, H., Karimi, Gh., Niapoor, M. (2004). Antidepressant effects of *Crocus sativus* stigma extracts and its constituents, crocin and safranal, in mice. *Acta Hort.*, **650**: 435–445.
- Hosseinzadeh, H., Sadeghnia, H.R. (2005). Safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *J Pharm Pharm Sci*, **8**: 394–9.
- Hosseinzadeh, H., Shamsaie, F., Soghra, M. (2009). Antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigma and its bioactive constituent, crocin and safranal. *Pharmacogn Mag.*, **5**: 419-424.
- Hosseinzadeh, H., Shariaty V. (2007). Antinociceptive effects of safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), in mice. *Pharmacologyonline*, **2**: 498-503.
- Hosseinzadeh, H., Ziaee, T., Sadeghi A. (2008). The effect of saffron, *Crocus sativus* stigma, extract and its constituents, safranal and crocin on sexual behaviors in normal male rat. *Phytomedicine*, **15**: 491–495.
- Ilgazlı, A., Sengul, C., Maral, H., Ozden, M., & Ercin, C. (2004). The effects of thinner inhalation on superoxide dismutase activities, malondialdehyde and glutathione levels in rat lungs. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 343(1-2), 141–4. <http://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.01.005>
- Imenshahidi, M., Hosseinzadeh, H., Javadpour, Y. (2010). Hypotensive effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and its constituents, safranal and crocin, in normotensive and hypertensive rats. *Phytother Res.*, **24**: 990–994.
- İnan, Ü.Ü., Serteser, M., Ermiş, S.S., Demir S., Öztürk F.(2005). Diabetes mellituslu hastalarda serum leptin, VEGF, NO ve ET- 1 düzeyleri ile retinopati derecesi ve tedavisi şekli arasındaki ilişki. AKU BAP 01.TIP.05 No’lu Araştırma Projesi kesin Raporu. Afyonkarahisar.
- İSİG (İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği) (2015). Tmmob Makina Mühendisleri Odası, Yayın No: MMO/617.
- Jalali-Heravi, M., Parastar, H., Ebrahimi-Najafabadi, H. (2009). Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. *J Chromatogr A.*, **1216(33)**: 6088-97.
- Jenkins, L. J., Jones, R. A., Coon, R. A. & Siegel, J. (1970). Animal inhalation studies on ammonia, ethylene glycol, formaldehyde, dimethylamine, and ethanol. *Toxicol Appl Pharmacol*, **16**: 133
- Kalaçay, D. (2013). Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Ratlarda Borik Asit Total Oksidan Kapasite Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri Ve Paraoksonaz Aktivitesine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.

- Kalaycı, Ş. (2010). SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri. Asil Yayın Dağıtım.5.baskı, sy.185-196.
- Kalff, J.C., Carlos, T.M., Schraut, W.H., Billiar, T.R., Simmons, R.L., Bauer, A.J. (1999). Surgically induced leukocytic infiltrates within the rat intestinal muscularis mediate postoperative ileus. *Gastroenterology*, **117**: 378-87.
- Karabulut, B., Pehlivanoglu, İ.Z.D., Aysen B., Erdem, A., Fadillioglu, E. (2009). Effect of toluene on erythrocyte membrane stability under in vivo and in vitro conditions with assessment of oxidant/antioxidant status. *Toxicology and Industrial Health*, **25 (8)** : 545–550.
- Karaca S. Erişim adresi: <http://www.sadumankaraca.com/index.php/tedavi-yoentemleri/fitoterapi-ve-goez-diyagnozu>. Erişim Tarihi:12.06.2017
- Karadağ, Ö.K. (2005). Solvent Nedeniyle Sağlık Risklerinin Yönetimi, Türk Tabipleri Birliği Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi. <http://www.isgebrar.com/ebr/144.pdf>.
- Karaözler, A.A., Mehmet, N., Batcioglu, K., (2002). Effects of long-term solvent exposure on blood cytokine levels and antioxidant enzyme activities in house painters. *J Toxicol Environ Health* ,**13 (65)**: 1237-46.
- Kayalı R., Çakatay U. (2004). Protein Oksidasyonunun Ana Mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med.*, **35**: 83-89.
- Kayar, A., Dokuzeylul, B., Kandemir, F.M., Kirbas, A., Bayrakal, A., Or, M.E. (2015). Total oxidant and antioxidant capacities, nitric oxide and malondialdehyde levels in cats seropositive for the feline coronavirus., *Veterinari Medicina.*, **60(5)**: 274–281.
- Koca, N., Karadeniz F. (2003). Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları Ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*. Erişim:http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?dergi=16 Erişim tarihi :09.12.2016.
- Konuk, M., Ciğerci, H., Fidan, F.A., Korcan, E. (2008). Subkronik Tiner İnhalasyonunun Ratlarda DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu, Lipid Peroksidasyonu ile Bazı Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimleri ve Bunlara α -Lipoik Asitin Etkisinin Araştırılması. TÜBİTAK (107T615) No'lu Araştırma Projesi kesin Raporu. Afyonkarahisar.
- Konukoğlu, D., Akçay, T. (1995). Glutasyon Metabolizması ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri*, **7995**: 214-218.
- Koyuncuer, A. (2004). Uçucu Madde Entoksikasyonlu Hastalara İlk Yaklaşım. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (STED)*. **13**: 10- 366.
- Kurt M., Atmaca A., Gürlek A. (2004). Diyabetik Nefropati. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **35**:12-17.

- Kurutaş, B. E., İnanç, G. F. (2004). Serbest Radikaller. Arşiv, **13**: 120-13
- Kuzugüden, S. (2007). Tiner İle Rat Beyninde Oluşturulan Oksidatif Stres Üzerine Melatonin Ve Eritropoetinin Etkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi ,Biyokimya Anabilimdalı.
- Kyriakides, M.L. and Kyriakidis D.A. (2002). Crocus sativus biological active constituents. *Studies Nat. Prod. Chem.*, **26**: 293 - 312.
- Lage, M. Cantrell, C. (2009). Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. *Sci. Hortic.* **121**: 366-373.
- Lamming DW, Wood JG, Sinclair DA (2004). Small molecules that regulate lifespan: evidence for xenohormesis. *Mol Microbiol*, **53**: 1003–1009.
- LeBel, C.P., Ali, S.F., McKee, M., Bondy, S.C. (1990). Organometal-induced increases in oxygen reactive species: the potential of 2',7'-dichlorofluorescein diacetate as an index of neurotoxic damage. *Toxicol Appl Pharmacol*, **104**: 17–24.
- Lebel, C.P., Schatz, R.A. (1990). Altered synaptosomal phospholipid metabolism after toluene. Possible relationship with membrane fluidity, Na⁺, K⁺ - adenosine triphosphate and phospholipid metylation. *J Pharmacol Exp Ther*, **253**: 1189-97.
- Linden, C. (1990). Volatile substances of abuse. Emergence medicine clinics of North America, **8**: 559-578.
- Linnane, A.W., Eastwood, H. (2006). Cellular redox regulation and prooxidant signaling systems. A new persepective on the free radical theory of aging. *Ann NY Acad Sci*, **1067**: 47–55.
- Lozano, P., Delgado, D., Gomez, D., Rubio, M., Iborra, J.L. (2000). A non-destructive method to determine the safranal content of saffron (*Crocus sativus* L.) by supercritical carbon dioxide extraction combined with high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *J. Biochem. Biophys. Meth.* **43**: 367– 378.
- Malaekheh-Nikouei B., Mousavi S.H., Shahsavand, S. Mehri, S. Nassirli, H. Moallem, S.A. (2013). Assessment of cytotoxic properties of safranal and nanoliposomal safranal in various cancer cell lines. *Phytotherapy Res*, **27 (12)** 1868e1873.
- Mamscalco, M., Grieco, L., Galdi, A., Lundberg, J.O., Sofia, M. (2004). Increase in exhaled nitric oxide in shoe and leather workers at the end of the workshift. **54 (6)** : 404-7.
- Marjot, R. and McLeod, A.A. (1989). Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human Toxicol*, **8**: 301-306.

- Márquez-Orozco, M. C., Gazca-Ramirez, M. V. & Marquez-Orozco, A. (1983). Ultrastructural alterations of fetal mice heart produced by treatment with diazepam during gestation. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, **26**: 83-4.
- Martin, K.A. (2001). Toluene Toxicity: Department of Emergency, The Toledo Hospital, e Medicine Specialites, 1-13.
- Martínez-Alfaro, M., Alcaraz-Contreras, Y., Cárabez-Trejo, A., & Leo-Amador, G. E. (2011). Oxidative stress effects of thinner inhalation. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **15(3)**: 87–92. <http://doi.org/10.4103/0019-5278.93195>
- Mashmoul, M., Azlan. A., Khaza'ai ,H. , Yusof, B.N.M., Noor, M.S. (2013). Saffron: A Natural Potent Antioxidant as a Promising Anti-Obesity Drug. *Antioxidants*. **2**: 293-308; doi:10.3390/antiox2040293
- Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Bio sci*. **4**: 339–345.
- Mattia, C.J., Adams, J.D., Bondy, S.C. (1993a). Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol*, **46**: 103-110.
- Mattia, C.J., Ali, S.F. and Bondy, S.C. (1993b). Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Mol Chem Neuropathol*, **18**: 313-328.
- Mattia, C.J., LeBel, C.P., Bondy, S.C. (1991). *Biochem Pharmacol*, **42(25)**: 879 – 82.
- Mattson, M.P. (2008). Dietary factors, hormesis and health. *Ageing Res Rev.*, **7**: 43–48.
- McGimpsey, J. A., Douglas, M. H. and Wallace, A. R. (1997). Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) production in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. **25**: 159-168.
- Mead, J.F., (1984). Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in molecular biology. *Agging and disease*, 53- 66.
- Meadows, R.,Verghese, A. (1996). Medical complications of glue sniffing. *South Med J*, **89(5)**: 455-62.
- Mecocci P. (2004). Oxidative stress in mild cognitive impairment and Alzheimer disease: a continuum. *J. Alzheimers Dis.*, **6**: 159–163.
- Megahed, G. A., Anwar, M. M., Wasfy, S. I., & Hammadeh, M. E. (2008). Influence of Heat Stress on the Cortisol and Oxidant- Antioxidants Balance During Oestrous Phase in Buffalo- Cows (*Bubalus bubalis*): Thermo- protective Role of Antioxidant Treatment. *Reproduction in Domestic Animals*, **43(6)**: 672-677.

- Mehdizadeh, R., Parizadeh, M.R., Khooei, A.R., Mehri, S., Hosseinzadeh, H. (2013). Cardioprotective Effect of Saffron Extract and Safranal in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Wistar Rats. *Basic Medical Sciences*, **16**: (1) 56-63.
- Meister, A., Larsson, A. (1989). Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the g-glutamyl cycle. The metabolic basis of inherited disease. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 855-868.
- Melnyk, J.P., Wang, S., Marcone, M.F. (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Res Int*, **43**: 1981-1989.
- Meydan S., Altas M., Nacar A. (2012). The protective effects of omega-3 fatty acid against toluene-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats. *Human and Experimental Toxicology*, **31(11)**:1179–1185. doi: 10.1177/0960327112457187.
- Milajerdi, A., Djafarian, K., Hosseini, B. (2016). The toxicity of saffron (*Crocus sativus* L.) and its constituents against normal and cancer cells. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, **3**: 23-32.
- Miller, J., Johnston, J.D., Collis, C.S., Evans, C. (1997). Serum total antioxidant activity after myocardial infarction. *Ann. Clin. Biochem*, **34**: 85-90.
- Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A.(2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide: Biol Chem.*, **5 (1)**: 62-71.
- Mitchel, J.B. and Russol. (1987). The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *BJ Cancer*, **55**: 96-104.
- Morvai, V., Hudak, A., Ungvary, G., Varga, B. (1976). ECG changes in benzene, toluene and xylene poisoned rats. *Acta Med Acad Sci Hung*, **33 (3)** :275-286.
- Mousavi, S.Z., Bathaie, S.Z. (2011). Historical uses of saffron: identifying potential new avenues for modern research. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **1(2)**: 57-66.
- Murata, M., Tsujikawa, M., Kawanishi, S. (1999). Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun.*, **261**:478–83.
- Nabavizadeh, F., Salimi, E., Sadroleslami, Z., Vahedian, J. (2009). Saffron (*Crocus sativus*) increases gastric acid and pepsin secretions in rats: Role of nitric oxide. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, **3(5)**: 181-184.
- Nedzvetskii, V., Kirichenko, S. Baydas, G., Nerush, O. (2012). Effects of Melatonin on Memory and Learning Deficits Induced by Exposure to Thinner. *Neurophysiology*, **44:1**, April.

- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animals and tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, **95**: 351-358.
- Orlowski, M., Karkowsky, A. (1976). Glutathione metabolism and some possible functions of glutathione in the nervous system. *Int Rev Neurobiol*, **19**: 75-121.
- Ottoson, D., Flock, Å., Ekblom, A., Hansson, P. (1980). Inverkan av organiska Iosningsmedel på nervsystemet. Funktionella och ultrastrukturella studier nied luktsystemet som modellorgan. Arbetskyddsfondens rapporter; no. 268 [Google Scholar]
- Ovalı, S. (2014). Tip 2 Diyabette Safranal'ın İnflamasyon Üzerine Etkisi . Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Ögel, K. (2010). Sigara, Alkol ve Madde Kullanım bozuklukları: Tanı, Tedavi ve Önleme. Bağımlılık Yapan Maddeler. Yeniden Yayınları. İstanbul. erişim: <http://www.ogelk.net/Dosyadepo/maddeler.pdf>. Erişim Tarihi 23.12.2016.
- Ögel, K., Tamar, D., Çakmak, D. (1998). Madde Kullanımı Sorununda Türkiye'nin Yerine Bir Bakış. *Türk Psikiyatri Dergisi*, **9 (4)**: 301-307.
- Ögel, K., Tamar, D. (2000). Ruhsal Bozukluklar Epidemiyolojisi: Alkol ve madde kullanım bozuklukları epidemiyolojisi. *Ege Psikiyatri Sürekli Yayınları*, s.124.
- Ögel, K., Taner, S., Eke, C., Erol, B. (2005). İstanbul'da onuncu sınıf öğrencileri arasında tütün, alkol ve madde kullanım yaygınlığı raporu. Yeniden Bilimsel Araştırma Raporları Yayın no.15. İstanbul.
- Ögel, K., Yücel, H., Aksoy, A. (2004). İstanbul'da sokakta yaşayan çocukların özellikleri. Yeniden Bilimsel Araştırma Raporları. Yayın no:7. İstanbul
- Öğüt, S., Atay, E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres. SD Ü. Tıp Fak. Derg, **19(2)**: 68-74.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **6(3)**: 331-336.
- Özgören, B. (2011). Değerler Ölçeği ve Kovaryans Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstatistik Anabilim Dalı.
- Özkan, A., Fışkın, K. (2004). Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, **14**: 52-60.
- Öztürk, U. (2016). Oto Boya Sektörü Çalışanlarının Toluen Ve Benzen Maruziyet Düzeyinin Araştırılması. İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi, Çalışma Ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Sağlığı Ve Güvenliği Genel Müdürlüğü, Ankara.

- Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M., Lamari, F.N. (2006). Inhibitory activity on amyloid-beta aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *J Agric Food Chem.* **54 (23)**: 8762–8.
- Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M., Lamari, F.N. (2006). Inhibitory activity on amyloid-beta aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *J Agric Food Chem.*, **54**: 23, 8762–8.
- Paşayeva, L., Tekiner, H. (2014). Türk-İslam Tıbbında Safranın Yeri.The Place of Saffron in Turkish-Islamic Medicine. *Lokman Hekim Journal*, 4(3).
- Paterson, S.C., Sarvesvaran, R. (1983). Plastic bag death: a toluene fatality. *Med Sci Law*, **23**: 64-6.
- Peter, K.V. (2001). Handbook of Herbs and Spices. CRC Press Washington D.C. pp:292-300.
- Putics A, Ve'gh EM, Csermely P, Soti, C. (2008). Resveratrol induces the heat-shock response and protects human cells from severe heat stress. *Antioxid Red Signal*, **10**: 1–11.
- Raghavan, S. (2007). Handbook of Spices, Seasonings, and Flavoring. 161-163ss. Boca Raton London New York.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S. Dhama, K. (2014). Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay., *Bio Med Research International*.,1-19.
- Ramsey, J., Anderson, R., Bloor, K., Flanagan, R.J. (1989). An introduction to the practice, prevalence and Chemical Toxicology of volatile substance abuse. *Human Toxicol*, **8**: 261-9.
- Rattan, S.I. (2012a). Biogerontology: from here to where? The lord cohen medal lecture-2011. *Biogerontology*, **13**: 83–91.
- Rattan, S.I. (2012b). Rationale and methods of discovering hormetins as drugs for healthy ageing. *Expert Opin Drug Discov*, **7**: 439–448.
- Reed, D.J, Fariss, M.W. (1994). Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol Rev.*, **36**: 235-335.
- Reznick, A.Z., Cross, C.E., Hu, M.L. (1992). Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem. J*, 286: 607-610.
- Riahi-Zanjani, B., Balali-Mood, M., Mohammadi, E., Badie-Bostan, H., Memar, B., Karimi, G. (2015). Safranin as a safe compound to mice immune system. *Avicenna J Phytomed*, **5 (5)** : 441-449.

- Roberts, R.A., Laskin, D.L., Smith, C.V., Robertson, F.M., Allen, E.M., Doorn, J.A., (2009). Nitrate and oxidative stress in toxicology and disease. *Toxicol Sci.*, **112**:4–16.
- Sadeghnia, H.R. Kamkar, M. Assadpour, E. Boroushaki, M.T. Ghorbani A. (2013). Protective effect of safranal, a constituent of *Crocus sativus*, on quinolinic acid-induced oxidative damage in rat hippocampus. *Iran J. Basic Med. Sci.*, **16**: 73–82
- Samarghandian, S. Shabestari, M.M. (2013). DNA fragmentation and apoptosis induced by safranal in human prostate cancer cell line. *J. Urol. Soc. India*, **29** (3): 177.
- Samarghandian, S. Shoshtari, M.E. J. Sargolzaei, H. Hossinimoghadam, J.A. Farahzad. (2014a). Anti-tumor activity of safranal against neuroblastoma cells. *Pharmacogn. Mag.* **10** (2):419.
- Samarghandian, S., Afshari, R., Sadati, A. (2014). Oxidative Stress Indices for Assessing the Preventing Effects of Safranal on Respiratory Distress in Diabetic Rats. *Hindawi Publishing Corporation Scientific World Journal* Article ID 251378, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/251378>.
- Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., & Samini, F. (2015). Preventive effect of safranal against oxidative damage in aged male rat brain. *Experimental Animals*, **64**(1): 65–71. <http://doi.org/10.1538/expanim.14-0027>.
- Schenker, M.B., Jacobs, J.A. (1996). Respiratory effects of organic solvent exposure. *Tuber Lung Dis.*, **77**(1):4-18.
- Serafini, M., Del Rio D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Report*, **9**(3): 145-152.
- Sharma, H. (1998). Hastalıklardan Kurtuluş. Çeviren: Erk Özkaya, Sistem Yayıncılık, İstanbul.
- Sies, H. (1991). Oxidative Stress: From Basic Research to Clinical Application. *Am. J. Med.*, **91**(3): 31-38.
- Sodergen, E. (2000). Lipid Peroxidation In vivo Evolution and Application of Methods for Measurements. Sweeden, Tryck&Medier.
- Somogy, M. (1930). A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. *J Biol Chem*, **86**: 55.
- Spandorfer, M., Curtiss, D., Snyder, J.W. (2001). Health hazards in drawing and painting. *Occup Med.*, **16**: 535-55.

- Stickney, J.A, Roberts, A.E, Silverman, D.M, Schatz, R.A. (1989). The effect of m-xylene on rat lung benzo [a] pyrene metabolism and microsomal membrane lipids. Comparison with p-xylene. *Toxicol*, **58**:155-165.
- Suleiman, S.A. (1987). Petroleum hydrocarbon toxicity in vitro: Effects of nalkanes, benzene and toluene on pulmonary alveolar macrophages and lysosomal enzymes of the lung. *Arch Toxicol*, **59**: 402-407.
- Şahin, T. (2008). Subkronik Tiner İnhalasyonunun Ratlarda Dna Hasarı, Proteinoksidasyonu, Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimleri Ve Bunlara A-Lipoikasinin Etkisinin Araştırılması Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Tabakoğlu, E., Durgut, R. (2013). Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri., *AVKAE Derg.*, **3 (1)**:69-75
- Tamaddonfard, E., Farshid, A.A., Eghdami, K., Samadi, F., Erfanparast, A. (2013). Comparison of the effects of crocin, safranal and diclofenac on local inflammation and inflammatory pain responses induced by carrageenan in rats. *Pharmacological Reports*, **65**: 1272-1280 ISSN 1734-1140.
- Tamaddonfarda, E., Farshidb,A.A., Maroufib, S., Kazemi-Shojaei,S., Erfanparast,A., Asri-Rezaei , S., Taati , M., Dabbaghi, M., Escort M. (2014). Effects of safranal, a constituent of saffron, and vitamin E on nerve functions and histopathology following crush injury of sciatic nerve in rats. *Phytomedicine*, **21**:717–723.
- Tee, R.D., Cullinan, J., Burge, S.P., Newman, Taylor, A.J. (1998). Specific IgE to isocyanates: a useful diagnostic role in occupational asthma. *J Clin Immunol*, **101**:709-15.
- Trantilis, P.A., Tsoupras, G., Polissiou, M. (1995). Determination of saffron (*Crocus Sativus* L.) components in crude plant extract using highperformance liquid chromatography- extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **699**: 107–118
- Tsuga, H., Haga, T., Honma, T. (2002). Effects of toluene on signal transduction: Toluene reduced via stimulation of human muscarinic acetylcholine receptor m2 subtypes in CHO cells. *Japan J Pharmacol*, **89**: 282-289.
- Türk Standartları Enstitüsü.(1992) Tiner-selülozik. TS 9720/Ocak.
- Ulakoğlu, E.Z., Saygı, A., Gümüstas, M.K., Öztekin, İ., Kökoğlu, E. (1998b) “Alterations in superoxide dismutase activities, lipid peroxidation and glutathione levels in thinner inhaled rat lung:relationship between histopathological properties”. *Pharmacol. Res*, **38**: (3) 209-214.

- Ulakoğlu, E.Z., Saygı, A., Gümüstas, M.K., Zor, E., Akaya, A., Kökoku, E. (1998 a). The effect of chronic thinner inhalation on lipid peroxidation in rat lung and liver. *Cerrahpaşa J Med*, **29**:75-8.
- Uzday, T.İ. (2009). Bağımlılık Yapan Maddeler ve Özellikleri. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, **6**:(18)16-33.
- Uzun, N., Karaali, S. F., Kızıltan, M.E. (2001). Peripheral nerve system damage in chronic toluene and n-hexane intoxication: electrophysiologic investigation. *Cerrahpaşa J Med.*, **32** (3): 142-150.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1-40
- Viaene, K.M. (2002). Overview of the neurotoxic effects in solvent-exposed workers. *Arch Public Health*, **60**: 217-232.
- Wikipedia. Erişim: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Safran>. Erişim tarihi : 25.03.2017.
- Vincent, A.M., Russel, J.W., Low, P., Feldman, E.L. (2004). Oxidative stres in pathogenesis of diyabetic neuropathy. *Endocrine Reviews*, **25**: 612-28
- Vural, M., Ögel, K. (2005). Uçucu maddelerin kalp üzerine etkileri. *Bağımlılık Dergisi*, **6**: 142-146.
- Vural, M., Ögel, K. (2007). Toluene maruziyeti sonucu gelişen uçucu madde koklamaya bağlı ani ölüm sendromunun muhtemel biyolojik mekanizmaları. *Bağımlılık dergisi*, **8**:(3)141-145.
- Vural, N. (1996). Toksikoloji (1. Baskı). Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 453-81.
- Vurdu, H., Şaltu, Z. ve Ayan, S. (2002). Safran (*Crocus sativus* L.)'un yetiştirme tekniği. Gazi Üniversitesi, *Kastamonu Orman Fakültesi Dergisi*, **2** (2): 175-187.
- Vurdu, N., Allahverdiev, S. ve Vurdu, H. (1997). Safranin (*Crocus sativus* L.) büyümesine hormonların etkisi. *Kastamonu Eğitim Derg.*, **4**: 85-89.
- Watson, J.M. (1980). Solvent abuse by children and young adults; A review. *Brit J Addict*, **75**: 27-36.
- WHO (2000). Regional Office for Europe, Chapter 5.14 Toluene, Copenhagen, Denmark.
- Williams, C.A., Harborne, J.B. And Colasante, M. (1998). Flavonoid and xanthon patterns in bearded Iris species and the pathway of chemical evolution in the genus. *Bichem Sys. Ecol*, **24**:(4) 309–325.

- Wu, D., Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol, oksidative stres and free radical damage. *Alcohol Res Health*, **27**: 277-84.
- Xiao, G., Pan, C., Cai, Y., Lin, H., Fu, Z. (2001). Effect of benzene, toluene, xylene on the semen quality and the function of accessory gonad of exposed workers. *Industrial Health*, **39**:206-210.
- Yalçın, A.S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, **11**: 342-46.
- Yamada, K. (1993). Influence of lacquer thinner and some organic solvent on reproductive and accessory reproductive organs in male rat. *Biol Pharm Bull*, **16(4)**:425-7.
- Ziaee, T., Razavi, B.M., Hosseinzadeh, H. (2014). Saffron Reduced Toxic Effects of its Constituent, Safranal, in Acute and Subacute Toxicities in Rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod. February*, **9(1)**: 3-8.

ÖZET

Subkronik Tiner İnhalasyonuna Maruz Kalan Ratların Bazı Dokularında Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişim ve Bunlara Safranalin Etkisi

Endüstriyel olarak yoğun bir şekilde kullanımının yanı sıra keyif verici ve uyuşturucu olarak kötüye kullanımı büyük boyutta olan tiner, vücutta serbest radikallerin aşırı üretilmesine neden olarak oksidatif stres tablosunun gelişmesine ve hücrel hasara neden olabilmektedir. Organizma, tiner toksikasyonu sonucu oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırmaktadır. Safranalin, safran çiçeğinde bulunan yüksek radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu bilinen bileşenlerden biridir. Bu tez çalışmasında; subkronik tiner inhalasyonuna maruz bırakılmış ratlarda, gastrik gavajla uygulanan safranalin söz konusu hayvanlarda beyin, karaciğer, akciğer, böbrek ve testis dokularında oksidatif stres parametreleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada kontrol grubu (K), safranalin grubu (S), Tiner grubu (T) ve Tiner+safranalin (T+S) grubu olmak üzere, her grupta 10 Wistar albino cinsi rat içeren dört grup oluşturulmuştur. 8 hafta süren bu çalışmada T ve T+S gruplarında bulunan ratlara günde 2 kez olmak üzere belli bir hacimde içinde NaOH tabletleri bulunan kapalı bir kaptaki tiner inhalasyonu uygulanmıştır. S ve T+S gruplarında bulunan ratlara ise 100 mg/kg/gün dozunda safranalin gastrik gavaj yoluyla verilmiştir. 8 hafta sonunda deney hayvanlarından analizler için karaciğer, akciğer, beyin, böbrek ve testis dokusu örnekleri alınmış ve dokular homojenize edilerek süpernatantlarda MDA, GSH, NOX, TAS ve TOS düzeyleri tespit edilmiştir. Elde edilen veriler SPSS paket programı kullanılarak ANCOVA testi ile analiz edilmiş, $p < 0.05$ anlamlı değeri kabul edilmiştir. Tiner inhale ettirilen gruplarda akciğer, karaciğer, böbrek, testis ve beyin dokularında oksidatif stres tablosu analizlerle tesbit edilmiştir. T+S grubunda, safranalin incelenen dokularda gelişen oksidatif stres tablosunu gerek MDA ve TOS düzeylerini azaltarak gerekse GSH ve TAS düzeylerini artırarak ortadan kaldırdığını veya hafiflettiği, tüm dokularda NOX düzeyinde anlamlı azalışa neden olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; incelenen dokuları safranalin subkronik tiner inhalasyonunun neden olduğu oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı tüm dokularda aynı düzeyde olmayan koruyucu bir potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. Koruyucu hekimlik açısından işçi sağlığının korunmasında ayrıca uçucu madde bağımlılığı ile mücadelede yeni modülasyonların geliştirilmesine bu verilerin katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tiner inhalasyonu, oksidatif stres, safranalin, TAS, TOS

SUMMARY

Investigation on The Changes of Oxidative Stress Parameters and The Effect of Safranal in The Tissues of Rats Exposed Subchronic Thinner Inhalation

Thinner, which is used industrially intensively as well as enjoyable and drug abuse, can cause excessive production of free radicals in the body, leading to oxidative stress and cellular damage. The organism balances and removes the harmful effects of free radicals with the activation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants result from thinner toxicity. Safranal is one of the components known to have high radical scavenging activity in saffron flowers. In this study, effects on oxidative stress parameters in brain, liver, lung, kidney and testicular tissues of rats treated safranal by using gastric gavage were investigated in rats exposed to subchronic thinner inhalation

In this study, rats (Winstar Albino) were divided into 4 groups as follow: Control (K), Safranal (S), Thinner (T), and Thinner+safranal (T+S). Each group was composed of 10 rats and study continued 8 weeks. Thinner inhalation was applied to T and T + S groups in a container with NaOH tablets twice a day. Safranal were given to S and T + S groups by using gastric gavage at a dose of 0.1 mL /kg/day. After 8 weeks liver, lung, brain, kidney and testicular tissues were taken for analysis from experimental animals and the tissues were homogenized and MDA, GSH, NOX, TAS ve TOS levels were detected in the supernatants. The obtained data were analyzed by ANCOVA test using SPSS packet program, $p < 0.05$ significant value was accepted.

The lung, liver, kidney, testis and brain tissues which are thinner-inhaled groups were observed oxidative stress table as expected. In the T + S groups, the effect of safranal eliminated or reduced oxidative stress with decreasing of the level MDA and TOS and increasing of the level GSH and TAS. In addition it was showed that the decreasing level of NOx was found statistically significant ($p < 0.05$)

As a result; It has been found that the protective effect of safranal is not same level in all tissues in the buffering of adverse effects and the prevention or alleviation of possible cell damage Thus, these data according to preventive medicine may contribute on worker's health prevention and the development of new modulations in combat with volatile substances.

Key Words : Thinner inhalation, oxidative stress, safranal, TAS, TOS

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Mürüvvet DÜZ
Doğum Yeri	Mersin
Doğum Tarihi	29.08.1986
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dili	İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	
Lise	Mersin 19 Mayıs Süper Lisesi (2000-2004)
Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (2004-2008)
Yüksek Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi (2009-2012)
İş Tecrübesi	
AKÜ/FEF	Araştırma Görevlisi (2009-)