

## 1.GİRİŞ

İnsan var oluşundan günümüze doğada üstünlük kurmaya yönelik arayışlar içine girmiş, bilim ve teknik imkânların yaygın bir şekilde kullanımı ile birlikte doğa sınırsızca kullanılmıştır. Bunun sonucu olarak içinde yaşadığı çevre ile arasında var olması gereken uyumu bozmuştur. Uzun yıllar doğa üzerinde yapmış olduğu tahribi umursamayan insanoğlu, XIX. yüzyılda çevre ile olan ilişkilerinde birçok sorunla karşı karşıya kaldıktan sonra geleceğini güvence altına alabilmek için doğa ile uyum içinde yaşamaya mecbur olduğunu anlamıştır. Hava, su ve toprağın kirlenmesi ile birlikte kirlilik unsurları besin zinciri ile çeşitli düzeylerde bitki ve hayvan topluluklarına taşınmış ve onların yaşamlarını tehdit eder bir hal almıştır. Hızlı nüfus artışı, kırsal alandan kentlere göçün artışı ve sanayileşme, kirlenmenin yaygınlaşması ve artmasına neden olmuştur (Yücel, 1998).

Çevre kirliliğine neden olan kimyasal kirleticiler, hücresel gelişim üzerine uzun süreli bir etkiye sahiptir (Köse, 2005). Nörotoksik maddeler arasında metallerin yeri ayrı bir önem taşımaktadır. Çünkü, beyin korteksine verildiklerinde uzun süre parçalanmadıklarından, lokal olarak enjeksiyon alanında kalmakta ve etki süreleri daha da uzun olmaktadır (Tan, 2003).

Marangoz ve arkadaşları (1990) intrakortikal yoldan çinko sülfat (500µg/kg) verilerek oluşturulan nöronal hiperaktivite sonucu tavşanların hipokampusundaki piramidal hücre sayısında azalma gözlendiğini ve çinkonun merkezi sinir sisteminde toksik etkiye sahip olabileceğini rapor etmişlerdir.

Son yıllarda yeni yeni üzerinde çalışılmaya başlanan bir metal de kadmiyumdur (Cd). Sigara dumanında ve kirli havada bulunan ayrıca sanayii ve endüstri alanında da yaygın olarak kullanılmaya başlanan kadmiyum, özellikle pil yapımında, diş tedavisinde kullanılan dolgu maddelerinde, jetlerin ve uzay mekiklerinin dış yüzeylerinin kaplanması gibi pek çok sahada tercih edilmektedir. Kadmiyumun kullanım alanının genişliği, araştırmacıları sinir sistemi üzerindeki etkilerini incelemeye yöneltmiştir (Tan, 2003).

Kadmiyum, hiçbir biyolojik yararı olmayan fakat insanlar ve hayvanlar için yüksek derecede toksik etkiye sahip ve gittikçe artış gösteren endüstriyel çevre kirleticilerinin başında gelmektedir. Çeşitli endüstriyel faaliyetler sonucu yiyeceklerine

kurşun ve kadmiyum bulaşan büyükbaş hayvanların kanlarındaki kurşun ve kadmiyum seviyelerinde artışlar olduğu ifade edilmiştir (Swarup ve ark., 2007).

Afrika kökenli bir balık türü olan *Tilapia nilotica* ile yapılan bir çalışmada, farklı kadmiyum konsantrasyonlarında dokularda biriken kadmiyum düzeyleri incelenmiş ve incelenen dokularda biriken toplam kadmiyumun %48'inin beyin dokusunda, %36'sının kemik dokusunda, %16'sının ise kas dokusunda biriktiği görülmüştür (Kalay ve ark., 1998).

Sigara dumanındaki çok sayıda toksik bileşenden biri olan kadmiyumun, 20'lik bir paket sigaranın içilmesiyle vücuda alınan miktarı ortalama 16µg civarındadır. Bu da sigara içen bir insanın yaşamı boyunca oldukça önemli miktarlarda kadmiyumu vücuduna alması anlamına gelmektedir. Güncel yayınlar kadmiyumun kardiyovasküler hastalıklarla da ilişkili olduğunu göstermektedir (Kolluru ve ark., 2006).

Kadmiyum insanlarda güçlü bir kanserojen etkiye sahip olup, kanser patogenezi için neden olan birçok faktöre bağlı olarak böbrek, pankreas, prostat ve akciğer kanserlerine neden olabilir (Waisberg, 2003). Kadmiyum karakteristik akciğer kanserojeni olmasından dolayı Amerika'da ulusal toksikoloji programı çerçevesinde uluslararası kanser araştırmaları kurumu tarafından birinci derecede insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (Waisberg, 2003).

Kadmiyum oksidatif strese neden olmaktadır, fakat bunun neden olduğu oksidatif stres mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Kadmiyum her ne kadar serbest radikallerin ortaya çıkışına doğrudan sebep olmasa da bazı enzimlerin antioksidan aktivitelerindeki değişiklikler ile dokularda lipid peroksidasyonuna neden olur (Patrick 2003; El-Demerdash ve ark., 2004; Antonio ve ark., 2003; Carageorgiou ve ark., 2004). Ayrıca insanlar ve hayvanlarda çeşitli patolojik durumların başlaması ve DNA, protein ve lipidlerin oksidatif bozulmasıyla sonuçlanan serbest radikal üretimini uyardığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Manca ve ark., 1991; Sarkar ve ark., 1997). Serbest radikal üretiminde rol oynayan kadmiyum, çeşitli stoplazmik ve membran proteinlerin yapısında (ferritin, apoferritin gibi) bulunan demir ve bakır ile yer değiştirebilir, bu nedenle Fenton reaksiyonları ile oksidatif reaksiyon zincirine katılabilir (Casalino, 1997).

Mendez-Armenta ve arkadaşları (2003) beş gün boyunca intraperitoneal olarak kadmiyum verilen (1 mg/kg/gün) sıçanlarda, beynin pariyetal korteks, striatum ve

serebellum bölgelerindeki lipid peroksidasyonunda önemli derecede artış olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca erkek sıçanların hipotalamus, striatum ve prefrontal korteks gibi farklı beyin bölgelerinde kadmiyumun amino asit metabolizması üzerine farklı etkiler oluşturduğunu gösteren bulgular mevcuttur (Lafuente ve ark., 2001).

Tan ve ark., (1999) intrakortikal olarak sıçan beynine kadmiyum sülfat ( $CdSO_4$ ) uygulandığında (0,0021 mg/kg) serebellumun Lobulus Simplex bölgesindeki purkinje hücrelerinin sayısında önemli derecede azalmalar olduğunu rapor etmişlerdir.

Kadmiyumla yapılan bir başka çalışmada, beyinlerine kadmiyum verilen (0,0021 mg/kg) sıçanlarda beyin ve beyincikte kadmiyum nörotoksitesinin oldukça etkili olduğu ve hem beyin hem de beyincikte toplam lipid ve protein miktarlarını azalttığı belirtilmiştir (Köse, 2005).

Yapılan literatür çalışmaları sonunda, kadmiyumun serebellum üzerindeki dokularda yol açtığı değişikliklerin mekanizmasının nasıl olduğu hakkında yeterli bilgi vermemiştir.

Son yıllarda artan atmosferik kirlilikle birlikte dikkati çeken bir diğer bileşik de Nitrik Oksit (NO) tir. Bir serbest radikal olan NO (*azot monoksit*), azotun birçok oksitinden biridir. Özellikle 1987 yılından sonra NO ile ilgili 40,000 den fazla yayın yapılmış, 1992 yılında Science dergisi NO'ı yılın molekülü seçmiştir. İlerleyen yıllarda NO'in hem hücrenel hem de bütün vücuda ait fizyolojik olaylarda, ayrıca inflamasyon ve uzun süreli dejeneratif hastalıklar gibi çoğu hastalığın patolojisinde önemli roller üstlendiği anlaşılmıştır (Bruckdorfer, 2005).

NO, renksiz bir gazdır. Yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterirken, düşük konsantrasyondaki NO oksijen varlığında dahi stabildir. Havadaki NO, kısa sürede oksijen gazıyla ( $O_2$ ) oksitlenerek nitrojen dioksit ( $NO_2$ )'e dönüşür.  $NO_2$  dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. NO hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçer. Aynı zamanda NO, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle bir radikal molekül olarak isimlendirilebilir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliğini kazanmaktadır (Türköz ve Özerol, 1997).

Nörotoksisite halen üzerinde çok çalışılan bir konu olmaya devam etmektedir. Kadmiyum, endokrin sistemde oldukça yüksek nörotoksisiteye sahip bir metaldir. Kadmiyum bu toksik etkisini mitokondrial membran potansiyelini azaltarak ve reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak gösterir. NO sentezinin engellenmesi durumunda kadmiyumun mitokondrial membran potansiyelini azaltıcı etkisinde artış gözlenmiştir. NO'in düzenleyici rol oynadığı sistemlerde, Kadmiyum Sülfat'ın meydana getirdiği toksik etki, mitokondriyi oksidatif stresten koruyarak NO tarafından azaltılır (Poliandri ve ark., 2005) .

NO ile yapılan bir diğer çalışmada, serebellumda Kadmiyum Sülfat nörotoksisitesinin oldukça etkili olduğu, spesifik Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzim inhibitörü olan Aminoguanidin (AG)'in sıçan serebellumunda Kadmiyum Sülfat nörotoksisitesinden kaynaklanan hücre ölümlerinde tedavi edici bir rol oynadığı, non-spesifik ya da Kompetitif NOS enzim inhibitörü olan L-Arginin'in ise Kadmiyum Sülfat nörotoksisitesinden kaynaklanan hücre ölümlerini daha da artırdığı stereolojik yöntemle tesbit edilip rapor edilmiştir (Tan, 2003).

Yapılan literatür taramaları sonucunda, Kadmiyum Sülfat toksisitesi ile NO arasındaki ilişkinin biyokimyasal sonuçları ve bu değişikliklerin mekanizmalarının nasıl olduğu hakkında yeterli çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, beyin ve beyincikte hücre kayıplarına neden olan Kadmiyum Sülfat toksisitesi ile NO arasındaki ilişkinin biyokimyasal olarak, hücrelerdeki toplam lipid ve protein miktarları üzerine olan etkilerini araştırmak, NO ve NO inhibitörlerinin etki mekanizmalarıyla toplam lipid-protein miktarları arasında bir ilişki olup olmadığı konusuna açıklık getirmektir.

## 2. NİTRİK OKSİT SENTAZ (NOS) İNHİBİTÖRLERİ

NOS inhibitörleri L-arjinin/NO yolağını araştırmada önemli araçlardır, ancak terapötik amaçla kullanımları sınırlıdır. NO'nun aşırı yapımının eşlik ettiği patolojilerde yararlı olup olmadıkları hala tartışmalıdır.

Temelde NOS aktivitesinin inhibisyonu, enzim aktivitesinin direkt inhibitörleri olarak tanımlanan yapıcı birbirine benzer olan maddeler arasında L-arjinin'in kimyasal analoglarıdır. NOS enzim inhibitörleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

### 2.1 Non-spesifik ya da Kompetitif NOS Enzim İnhibitörleri

- N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)
- N-monometil-L-arjinin (L-NMMA)
- N-nitro-L-arjinin (NNA)
- N-amino-L-ornitin (L-NIO)
- N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO)
- 1-(2-triflorometilfenil) imidazol (TRIM)
- N-N-dimetil-L-arjinin (L-ADMA)
- S-metil-L-tiositrülin

### 2.2 Spesifik NOS Enzim İnhibitörleri

- Aminoguanidin (AG) —————> iNOS
- S-(2-aminetil) izotioüre —————> iNOS
- 2-amino-4-metilpiridin —————> iNOS
- amino-5,6-dihidro-6-metil-4H-,3-tiazin (AMT)—————> iNOS
- L-2-amino-4-(guanidooksi) bütirik asid (L-Caanvanine) —————> iNOS
- S-etilizotioüre (EIT) —————> iNOS
- 2-iminopiperidin —————> iNOS
- S-izopropil izotioüre —————> iNOS
- S-metil izotioüre —————> iNOS
- N-(1-iminoetil)-L-lizin —————> iNOS
- 7-nitroindazol (7-NI) —————> nNOS

- Delta-S-metil izotioüreido-L-norvalin (L-MIN) → nNOS
- 3-bromo-7-nitroindazol → nNOS
- 7-nitroindazol monosodyum tuzu (7-NINA) → nNOS
- 6-nitroindazol → nNOS
- n-(1-iminoetil)-L-ornitin → eNOS

### 3.MATERYAL VE METOD

#### 3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneyleyler, ağırlıkları 150-250 gram arasında değişen 2-3 aylık Wistar tipi erkek albino sıçanlarda yapıldı. Sıçanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Grupların hepsi aynı laboratuvar şartlarında beslendi. Operasyon öncesi hayvanların ağırlıkları tesbit edilerek kaydedildi. Her hayvana ayrı numara verilerek etiketlendi. Deneyleyler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Deneyleyler başlamadan önce laboratuvarında kullanılacak olan tüm malzemeler steril edildi. Deneyleyler ise semisteril şartlar altında gerçekleştirildi. Deneyley hayvanları, her biri 7'şer hayvandan oluşan 5 gruba ayrıldı. Bu gruplarda deneyley alınan toplam 35 hayvanın 7'si saf grup dediğimiz hiçbir işleme tabi tutulmayan grup, 7'si kontrol grubu ( Serum Fizyolojik verilen grup), 7'si kadmiyum grubu (0.0021 mg/kg CdSO<sub>4</sub>), 7'si kadmiyum + Aminoguanidin-100 mg/kg grubu ve son olarak 7'si de kadmiyum + L-Arjinin-1000 mg/kg grubuna aittir.

Hayvanlar, operasyondan 12 saat önce aç bırakıldı. Ketamin hidroklorür (100 mg/kg, i.p.) ile anesteziye alındı. Bu çalışmada kullanılan CdSO<sub>4</sub> ve Aminoguanidin, Sigma Chem Co (St Louis)'dan, L-Arjinin ise Merck Darmstadt (Germany)'den sağlanmıştıyır.

##### 3.1.1. Operasyon

Operasyon masasına yüzüstü yatırılan hayvan, üst çenesinden operasyon masasına (David Kopf) tesbit edildi. Baş bölgesi tıraş edildikten sonra, batikon ile silindi ve kafa derisi orta hat boyunca önden arkaya doğru bisturi ile 3-3.5 cm. kesildi. Kafa kemiği üzerindeki yumuşak doku hassas bir şekilde sıyrılarak kaldırıldı. Böylece kraniotomi yapılacak bölgenin ve Bregma hattının rahatça görülmesi sağlandı. Daha sonra hayvan anestezi altındayken sol serebral korteks üzerindeki kemik, bregmanın 1.5 mm sol lateralinde diş hekimliğinde kullanılan tur motoruyla (BM 9 Tipi) inceltilerek 1.5-2 mm çapında delik açıldı. Hayvanlarda herhangi bir kanama olmamasına dikkat edildi. Kafatası kemiğini delme işlemine dura belirgin hale gelinceye kadar devam edildi. Duranın zarar görmemesine azami derecede dikkat edildi.

Kemiği kaldırma işlemi sırasında bölgedeki sıcaklık artışını önlemek için sahaya sık sık 36-37°C sıcaklıkta serum fizyolojik damlatıldı. Daha sonra ince bir pensle dura

kaldırıldı. Korteks görünür hale getirildi. Deney gruplarından kadmiyum grubuna açılan bu delikten, 1.2 mm derinliğe Hamilton mikroenjektör ile 0.0021 mg/kg (1µlt hacim içinde) (Tan, 2003) kadmiyum sülfat (CdSO<sub>4</sub>) uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı hacimde serum fizyolojik verildi.

Kadmiyum + Aminoguanidin-100 mg/kg grubuna, aynı yöntemle aynı miktarda kadmiyum enjekte edildikten sonra operasyonu takiben 5. dakikada 100 mg/kg aminoguanidin (Tan, 2003) intraperitoneal (i.p) ilk doz olarak verildi.

Kadmiyum + L-Arjinin- 1000 mg/kg grubuna ait hayvanlara 0.0021 mg/kg kadmiyum enjekte edildikten sonra operasyonu takiben 5. dakikada 1000 mg/kg L-Arjinin (Tan, 2003) (i.p) ilk doz olarak verildi. Saf grup adını verdiğimiz gruba ise işlem yapılmadı ve hiçbir madde verilmedi.

Bu işlemler esnasında Harward Homeothermic Blanket Sistemi yardımıyla hayvanın vücut sıcaklığı 36.5-37.5°C arasında sabit tutuldu. Daha sonra kesilmiş olan kafa derisi usulüne uygun olarak silikonize cerrahi ipek 4/0 iplik ile dikilerek kapatıldı. İntrakraniyal herhangi bir enfeksiyona sebebiyet verilmemesi için oldukça steril şartlarda çalışıldı ve operasyon sonrası dikiş mahali ve yara bölgesi anti-septik solusyon ile temizlendi. Her enjeksiyon işlemi için ayrı ve steril bir enjektör kullanıldı.

Kadmiyum + Aminoguanidin grubundaki tüm hayvanlara 15 gün boyunca günde iki kez (sabah 09<sup>00</sup>-akşam17<sup>00</sup>) 100 mg/kg spesifik İNOS enzim inhibitörü olan AG, (i.p) verildi. Kadmiyum + L-Arjinin grubu hayvanlara da yine aynı şekilde 15 gün boyunca günde iki kez (sabah 09<sup>00</sup> - akşam 17<sup>00</sup>) 1000 mg/kg L-Arjinin (i.p) verildi. Her enjeksiyon işlemi için ayrı ve steril bir enjektör kullanıldı. Enjeksiyon yapılacak peritoneal alan her seferinde batikon ile silindi. Deney gruplarının hepsinde hayvanlar aynı tür besinle beslendiler.

Ratlar 15 gün sonra az miktarda eter ile sedasyona alındı ve servikal dislokasyon ile dekapite edilerek öldürüldü. Daha sonra beyin çıkarma işlemine geçildi. Kafatasının beyin ve kas kısmı uzaklaştırıldı. Beyin ve beyinciğin çıkartılması için kafatası kemikleri kemik makasıyla (Guj) kırıldı. Beyin ve beyinciğin hasar görmemesine azami derecede dikkat edildi. Çıkartılan beyin ve beyincik sağ ve sol olmak üzere ayrılarak, toplam yağ ağırlıkları hassas elektronik terazi ile tartılıp kaydedildi. Daha sonra 100 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde 5 mM, pH 7,5 potasyum fosfat tamponu (Potasyum fosfat tamponu: 174,2 mg K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 136,1 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 ml saf suda

çözülür) içeren etiketli tüpler içerisine ayrı ayrı konulan parçalar analiz edilinceye kadar  $-80^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuda saklandı.

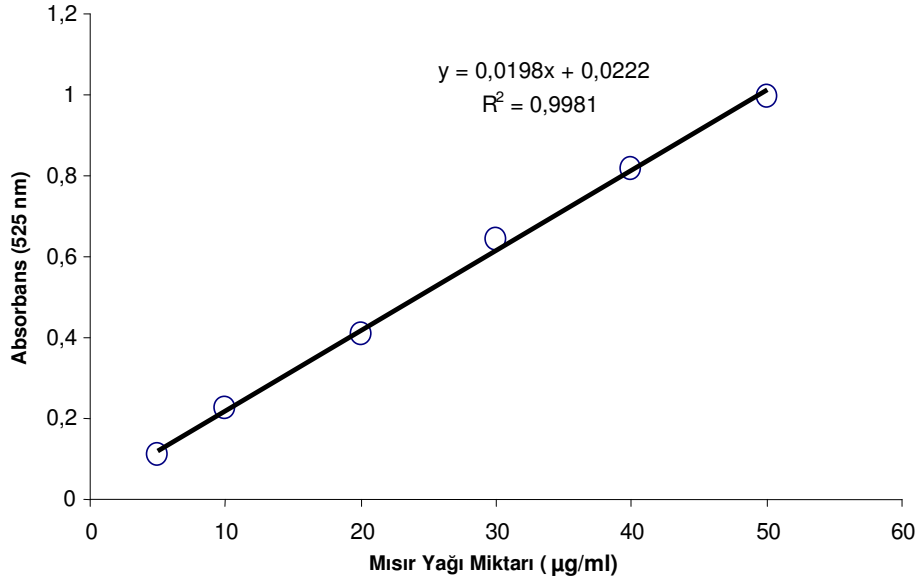
### **3.1.2. Biyokimyasal Analizler**

#### **Homojenizasyon**

Biyokimyasal analizleri yapmak için dondurucudan çıkartılan beyin ve beyincik kısımlarının bulunduğu tüpler, Ultra-Turrax T-25 marka bir homojenizatör kullanılarak,  $0^{\circ}\text{C}$ 'de ve 4000 devir/dakikada 3 dakika homojenize edildi.

#### **3.1.2.a. Total Lipid Analizi**

Lipid miktarının belirlenmesi için önce lipid standart grafiği çizildi. Standart grafik çizimi için %0,1'lik mısır yağı kullanıldı. Stok standart çözelti konsantrasyonunun 1 mg/ml olması sağlandı. Elde edilen bu stok çözülden lipid konsantrasyonu 5, 10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g/ml}$  olan çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin 200 $\mu\text{l}$ 'si boş bir tüpe aktarıldı. Bu tüpler, içlerindeki çözeltilerin tamamen buharlaşması için,  $90^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda ısıtıldı. Tüplerde kalan lipid çökeleğinin içine 40 $\mu\text{l}$  konsantre sülfirik asit çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı. Bu işlemin ardından tüpler tekrar  $90^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda iki dakika ısıtıldı. Daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuyan her bir tüp içerisine Van Handel (1985)'in yöntemiyle hazırlanmış 960 $\mu\text{l}$  vanilin-fosforik asit reaktifi ilave edildi. Tüpler renk oluşumunun sağlanması için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Son olarak tüpler karıştırılıp 525 nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometrede okunarak absorbans değerleri tespit edildi. Bu işlemler her bir standart çözelti konsantrasyonu için üçer kez tekrarlandı. Tespit edilen absorbans değerleri kullanılarak standart lipid grafiği çizildi (Şekil 1).

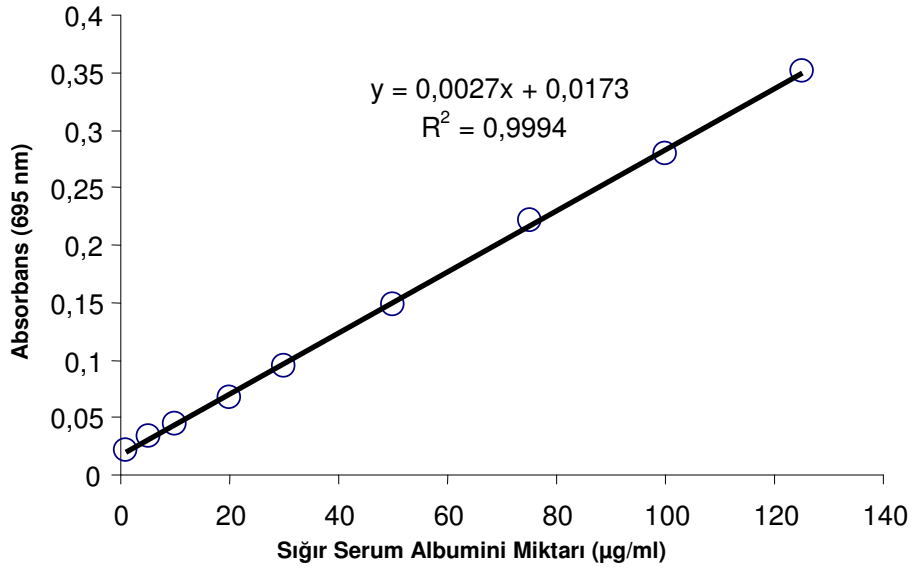


**Şekil 1:** Total Lipid Standart Grafiği

Toplam lipid miktarının belirlenmesinde Olson ve ark. (2000) Van Handel (1985; 1988) den modifiye ettikleri yöntem kullanıldı. Analiz aşamasına kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan homojenat, buz içerisine alınarak sıcaklığın yükselmesi için bir süre beklendi. Daha sonra homojenattan 20 µl alınıp üzerine 100µl fosfat tamponu eklendi. Elde edilen 120µl seyreltik homojenattan bir ependorf içerisine 50µl alınıp üzerine 50µl %2'lik sodyum sülfat çözeltisi ilave edildi. Ardından ependorfa 450µl kloroform-metanol (1:2) karışımı ilave edildi. Ependorflar karıştırıldıktan sonra, 14000 devir/dakikada iki dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan süpernatanttan 200µl alınarak bir tüpe aktarıldı. Bu tüpler, içlerindeki çözeltilerin tamamı buharlaşmaya kadar  $90^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda ısıtıldı. Tüplerde kalan lipid kalıntısının üzerine 40µl konsantre sülfirik asit çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı ve iki dakika  $90^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra buzda soğutulan her bir tüp içerisine 960µl vanilin-fosforik asit reaktifi ilave edilerek, tüpler 30 dakika oda sıcaklığında bırakıldı ve renk oluşumu sağlandı. Son olarak tüpler karıştırılıp absorbans değerleri spektrofotometrede 525nm dalga boyunda köre karşı okundu. Total lipid standart grafiği kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

### 3.1.2.b. Total Protein Analizi

Öncelikle, protein miktarının belirlenmesinde kullanılacak protein standart grafiği çizildi. Protein standart grafiğinin hazırlanmasında %0,1'lik Sığır Serum Albumin çözeltisi kullanıldı. Stok standart çözelti konsantrasyonunun 1 mg/ml olması sağlandı. Bu çözülden seri sulanma ile protein konsantrasyonu 1, 5, 10, 20, 30, 50, 75, 100 ve 125µg/ml olan standart çözeltiler elde edildi. Elde edilen çözeltiler Lowry metoduna tabi tutuldu. Daha sonra spektrofotometrede 695 nm dalga boyunda köre karşı okutularak absorbans değerleri elde edildi. Bu işlemler her bir standart çözelti konsantrasyonu için üçer kez tekrarlandı. Elde edilen verilerle standart protein grafiği çizildi (Şekil 2).



**Şekil 2:** Total Protein Standart Grafiği

Protein analizinde Lowr ve ark., (1951)'nın geliştirdiği yöntem esas alındı. Analiz için -80<sup>0</sup>C'de bekletilen homojenat, buz içerisine alınarak sıcaklığın yükselmesi için bir süre beklendi. Daha sonra bir ependorf içerisine 5µl homojenat alınarak üzerine 125µl fosfat tamponu ilave edildi. Ardından ependorflar +4<sup>0</sup>C'de 3500 devir/dakikada 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüpte oluşan süpernatanttan 100µl alınarak Lowry metodu uygulandı. Spektrofotometrede 695nm dalga boyunda köre karşı

okundu. Okunan absorbans değerleri total protein standart grafiğinden yararlanılarak değerlendirildi.

### **3.1.3. Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi**

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows (ver. 11.5) software paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Bu testten elde edilen sonuçların önemli olması durumunda ortalamalar “Tamhane Testi” kullanılarak değerlendirildi. Sonuçların değerlendirilmesinde  $\alpha=0,05$  güven sınırı esas alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Genel Gözlemler

Kontrol grubuna ait deney hayvanlarında operasyon sonrası herhangi bir davranış değişikliği gözlenmedi. Operasyona alınan hayvanlardan ölen olmadı.

Kadmiyum verilen hayvanların hepsinin beyinlerinde enjeksiyon bölgelerinde lezyon gözlemlendi. Deney grubundaki hayvanlarda ilk 7. ve 10. günler arasında besini tanımada ve bulmada zorluk, hareketlerinde yavaşlama, zaman zaman şiddetli saldırganlık gözlemlendi. 10. günden sonra davranışlarında gözle görülür düzelmeler olsa da belirli zaman aralıklarında şiddetli bir şekilde aşırı bilinçsiz hareketler ve epileptik nöbete benzer davranışlar gözlemlendi.

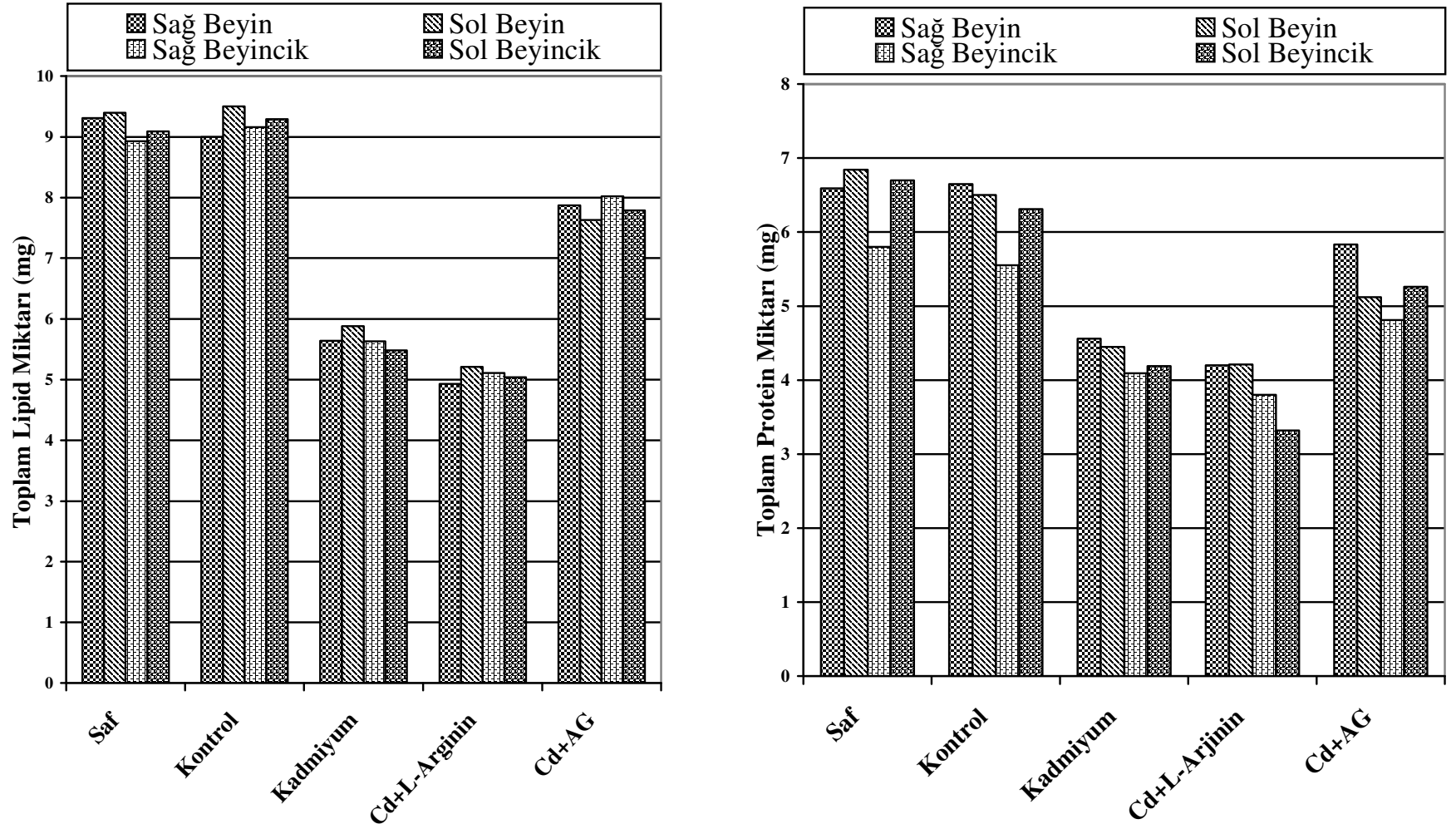
Kadmiyum verilen bütün gruplarda enjeksiyon bölgelerinden başlayıp boyunlarına kadar uzanan bir alanda oldukça fazla tüy dökülmesi gözlemlendi. Bu dökülmeye saf ve kontrol gruplarında rastlanmadı.

Kadmiyum + L-Arjinin grubuna ait 7 hayvanın, (i.p) enjeksiyona başlanan ilk günden itibaren 3. gün 4 adet, 4. gün 2 adet ve 5. gün 1 adet olmak üzere öldüğü gözlemlendi. Ölen hayvanların çoğunda (i.p) enjeksiyon bölgesinde nekroza rastlandı. Bu grup için yeniden 7 adet hayvanla işlemler aynı şekilde tekrarlandı. İkinci tekrarda her bir hayvan 15 gün boyunca ayrı kafeslerde muhafaza edildi. 15 gün sonunda herhangi bir ölüm olayı gözlenmedi. Deneyler sonucu yapılan lipid ve protein analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

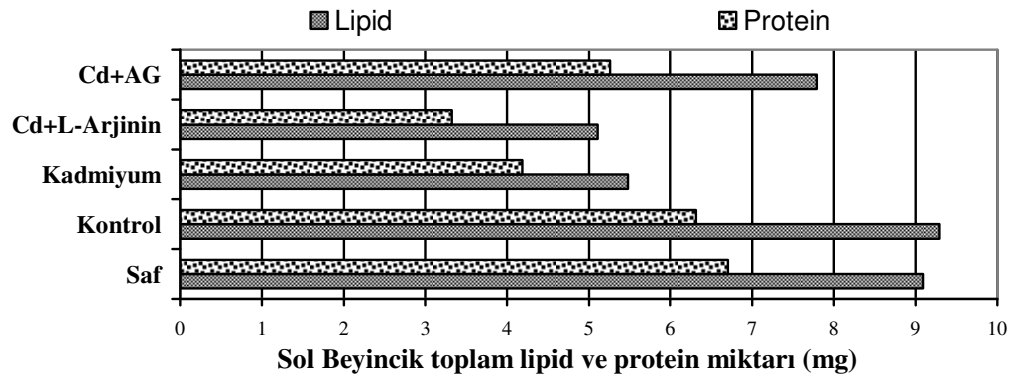
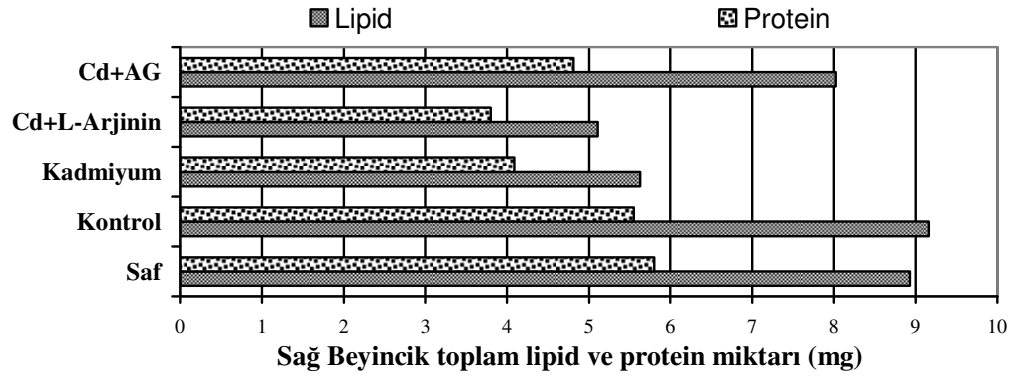
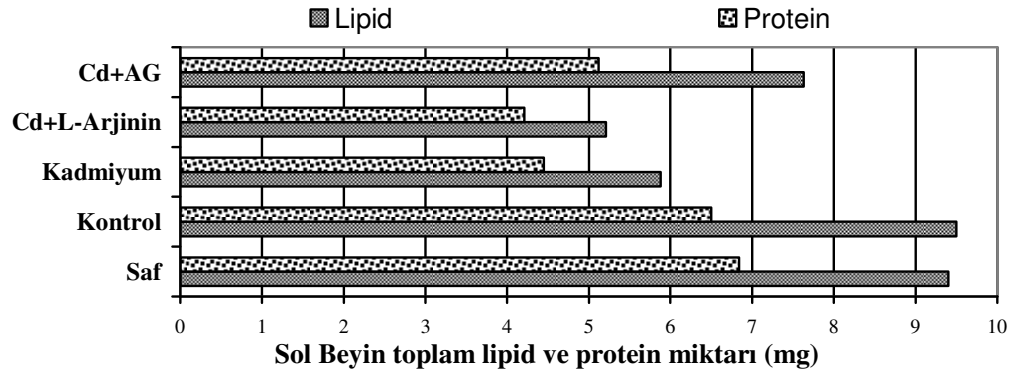
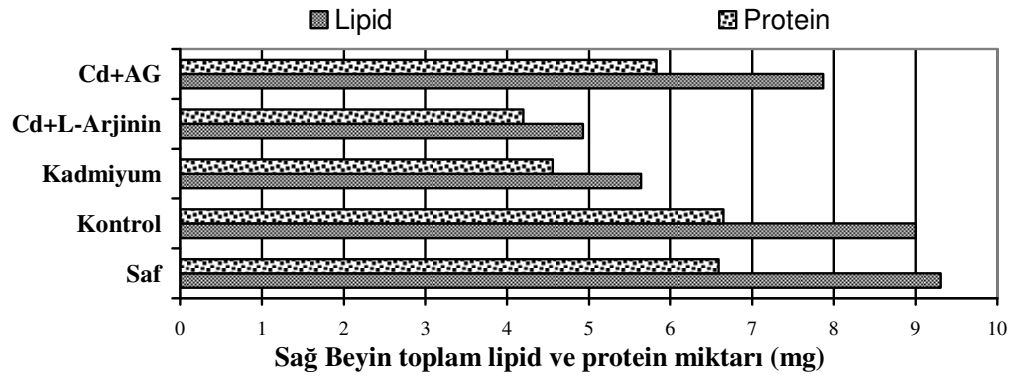
**Tablo 1.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam lipid ve protein miktarları

<b>Deney Grupları*</b>		<b>Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg)</b>	<b>Toplam Protein Miktarı (mg/100mg)</b>
Saf Grup	Sağ Beyin	9,31 ± 0,30	6,59 ± 0,35
	Sol Beyin	9,40 ± 0,33	6,84 ± 0,50
	Sağ Beyincik	8,93 ± 0,23	5,80 ± 0,61
	Sol Beyincik	9,09 ± 0,28	6,70 ± 0,52
Kontrol Grubu	Sağ Beyin	9,00 ± 0,38	6,65 ± 0,42
	Sol Beyin	9,50 ± 0,27	6,50 ± 0,61
	Sağ Beyincik	9,16 ± 0,52	5,55 ± 0,56
	Sol Beyincik	9,29 ± 0,25	6,31 ± 0,42
Kadmiyum Grubu	Sağ Beyin	5,64 ± 0,33	4,56 ± 0,52
	Sol Beyin	5,88 ± 0,20	4,45 ± 0,23
	Sağ Beyincik	5,63 ± 0,17	4,09 ± 0,23
	Sol Beyincik	5,48 ± 0,42	4,19 ± 0,16
Cd+L-Arjinin Grubu	Sağ Beyin	4,93 ± 0,48	4,20 ± 0,27
	Sol Beyin	5,21 ± 0,53	4,21 ± 0,48
	Sağ Beyincik	5,11 ± 0,38	3,80 ± 0,35
	Sol Beyincik	5,04 ± 0,37	3,32 ± 0,68
Cd+AG Grubu	Sağ Beyin	7,87 ± 0,48	5,83 ± 0,24
	Sol Beyin	7,63 ± 0,47	5,12 ± 0,16
	Sağ Beyincik	8,02 ± 0,43	4,81 ± 0,23
	Sol Beyincik	7,79 ± 0,43	5,26 ± 0,45

\* Grupların oluşturulma şekli için Materyal ve Metod bölümüne bakınız.



Şekil 3. Deneysel gruplarında kullanılan sıçanların gruplara göre beyin ve beyincikteki toplam lipid ve protein miktarları



**Şekil 4.** Deney gruplarında kullanılan sıçanların gruplara göre sağ-sol beyin ve beyinciklerindeki toplam lipid ve protein miktarları

**Tablo 2.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam lipid miktarlarının birbirleriyle karşılaştırılması

Deney Grupları (n=7)		Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg) [N ± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Saf Grup Sağ Beyin	Saf Grup Sol Beyin	9,31 ± 0,30	9,40 ± 0,33	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyin		9,00 ± 0,38	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		5,64 ± 0,33	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,93 ± 0,48	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		7,87 ± 0,48	<0,01
Saf Grup Sol Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	9,40 ± 0,33	9,50 ± 0,27	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		5,88 ± 0,20	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin		5,21 ± 0,53	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		7,63 ± 0,47	<0,01
Saf Grup Sağ Beyincik	Saf Grup Sol Beyincik	8,93 ± 0,23	9,09 ± 0,28	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyincik		9,16 ± 0,52	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		5,63 ± 0,17	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		5,11 ± 0,38	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		8,02 ± 0,43	<0,01
Saf Grup Sol Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	9,09 ± 0,28	9,29 ± 0,25	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		5,48 ± 0,42	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik		5,04 ± 0,37	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		7,79 ± 0,43	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	9,00 ± 0,38	9,50 ± 0,27	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		5,64 ± 0,33	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,93 ± 0,48	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		7,87 ± 0,48	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

Tablo 2'nin devamı

Deney Grupları (n=7)		Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg) [N ± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Kontrol Grubu Sol Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	9,50 ± 0,27	5,88 ± 0,20	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin		5,21 ± 0,53	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		7,63 ± 0,47	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	9,16 ± 0,52	9,29 ± 0,25	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		5,63 ± 0,17	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		5,11 ± 0,38	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		8,02 ± 0,43	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	9,29 ± 0,25	5,48 ± 0,42	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik		5,04 ± 0,37	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		7,79 ± 0,43	<0,01
Kadmiyum Grubu Sağ Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	5,64 ± 0,33	5,88 ± 0,20	>0,05
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,93 ± 0,48	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		7,87 ± 0,48	<0,01
Kadmiyum Grubu Sol Beyin	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	5,88 ± 0,20	5,21 ± 0,53	>0,05
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		7,63 ± 0,47	<0,01
Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	5,63 ± 0,17	5,48 ± 0,42	>0,05
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		5,11 ± 0,38	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		8,02 ± 0,43	<0,01
Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	5,48 ± 0,42	5,04 ± 0,37	>0,05
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		7,79 ± 0,43	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

**Tablo 2'** nin devamı

<b>Deney Grupları (n=7)</b>		<b>Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg)</b> <b>[N ± (SEM)]</b>		<b>P</b>
<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	
Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	4,93 ± 0,48	5,21 ± 0,53	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		7,87 ± 0,48	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	Cd+AG Grubu Sol Beyin	5,21 ± 0,53	7,63 ± 0,47	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	5,11 ± 0,38	5,04 ± 0,37	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		8,02 ± 0,43	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	Cd+AG Grubu Sol Beyincik	5,04 ± 0,37	7,79 ± 0,43	<0,01
Cd+AG Grubu Sağ Beyin	Cd+AG Grubu Sol Beyin	7,87 ± 0,48	7,63 ± 0,47	>0,05
Cd+AG Grubu Sağ Beyincik	Cd+AG Grubu Sol Beyincik	8,02 ± 0,43	7,79 ± 0,43	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

**Tablo 3.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam protein miktarlarının birbirleriyle karşılaştırılması

Deney Grupları (n=7)		Toplam Protein Miktarı (mg/100mg) [N ± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Saf Grup Sağ Beyin	Saf Grup Sol Beyin	6,59 ± 0,35	6,84 ± 0,50	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyin		6,65 ± 0,42	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		4,56 ± 0,52	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,20 ± 0,27	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		5,83 ± 0,24	<0,01
Saf Grup Sol Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	6,84 ± 0,50	6,50 ± 0,61	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		4,45 ± 0,23	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin		4,21 ± 0,48	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		5,12 ± 0,16	<0,01
Saf Grup Sağ Beyincik	Saf Grup Sol Beyincik	5,80 ± 0,61	6,70 ± 0,52	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyincik		5,55 ± 0,56	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		4,09 ± 0,23	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		3,80 ± 0,35	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		4,81 ± 0,23	<0,01
Saf Grup Sol Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	6,70 ± 0,52	6,31 ± 0,42	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		4,19 ± 0,16	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik		3,32 ± 0,68	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		5,26 ± 0,45	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	6,65 ± 0,42	6,50 ± 0,61	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		4,56 ± 0,52	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,20 ± 0,27	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		5,83 ± 0,24	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

Tablo 3'ün devamı

Deney Grupları (n=7)		Toplam Protein Miktarı (mg/100mg) [N ± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Kontrol Grubu Sol Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	6,50 ± 0,61	4,45 ± 0,23	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin		4,21 ± 0,48	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		5,12 ± 0,16	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	5,55 ± 0,56	6,31 ± 0,42	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		4,09 ± 0,23	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		3,80 ± 0,35	<0,01
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		4,81 ± 0,23	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	6,31 ± 0,42	4,19 ± 0,16	<0,01
	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik		3,32 ± 0,68	<0,01
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		5,26 ± 0,45	<0,01
Kadmiyum Grubu Sağ Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	4,56 ± 0,52	4,45 ± 0,23	>0,05
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin		4,20 ± 0,27	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		5,83 ± 0,24	<0,01
Kadmiyum Grubu Sol Beyin	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	4,45 ± 0,23	4,21 ± 0,48	>0,05
	Cd+AG Grubu Sol Beyin		5,12 ± 0,16	<0,01
Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	4,09 ± 0,23	4,19 ± 0,16	>0,05
	Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik		3,80 ± 0,35	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		4,81 ± 0,23	<0,01
Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	4,19 ± 0,16	3,32 ± 0,68	>0,05
	Cd+AG Grubu Sol Beyincik		5,26 ± 0,45	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

**Tablo 3**'ün devamı

<b>Deney Grupları (n=7)</b>		<b>Toplam Protein Miktarı (mg/100mg)</b> <b>[N ± (SEM)]</b>		<b>P</b>
<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	
Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyin	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	4,20 ± 0,27	4,21 ± 0,48	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyin		5,83 ± 0,24	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyin	Cd+AG Grubu Sol Beyin	4,21 ± 0,48	5,12 ± 0,16	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sağ Beyincik	Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	3,80 ± 0,35	3,32 ± 0,68	>0,05
	Cd+AG Grubu Sağ Beyincik		4,81 ± 0,23	<0,01
Cd+L-Arjinin Grubu Sol Beyincik	Cd+AG Grubu Sol Beyincik	3,32 ± 0,68	5,26 ± 0,45	<0,01
Cd+AG Grubu Sağ Beyin	Cd+AG Grubu Sol Beyin	5,83 ± 0,24	5,12 ± 0,16	>0,05
Cd+AG Grubu Sağ Beyincik	Cd+AG Grubu Sol Beyincik	4,81 ± 0,23	5,26 ± 0,45	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

#### 4.2. Saf Grup İle Diğer Grupların Karşılaştırılması

Saf grup ile kontrol grubu arasında lipid ve protein miktarları açısından önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ), (Tablo 2, 3).

Kadmiyum grubunda saf grup ve kontrol gruplarındakine göre lipid miktarının yaklaşık % 39, protein miktarının ise yaklaşık % 46 oranında azaldığı ve aradaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu bulundu ( $p<0,01$ ), (Tablo 2, 3).

Cd+L-Arjinin grubu saf gruba göre hem lipit hem de protein miktarı açısından en fazla kaybın olduğu grubu oluşturmuştur. L-Arjiinin grubunda saf gruba göre lipid miktarının yaklaşık % 45, protein miktarının ise yaklaşık % 40 oranında azaldığı ve aradaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi (Tablo 2, 3), ( $p<0,01$ ).

Cd+AG grubundaki lipid ve protein miktarlarının kadmiyum grubundan daha fazla olduğu, iki grup arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu bulundu (Tablo 2, 3), ( $p<0,01$ ).

#### 4.3. Kontrol Grubu İle Diğer Grupların Karşılaştırılması

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $9,00 \pm 0,38$ , saf grup sağ beyine ait lipid miktarının  $9,31 \pm 0,30$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarının  $6,65 \pm 0,42$ , saf grup sağ beyine ait protein miktarının  $6,59 \pm 0,35$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyin ile saf grup sağ beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Kontrol grubunda sol beyine ait lipid miktarı  $9,50 \pm 0,27$ , saf grup sol beyine ait lipid miktarı  $9,40 \pm 0,33$  (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarı  $6,50 \pm 0,61$ , saf grup sol beyine ait protein miktarı da  $6,84 \pm 0,50$  olarak tespit edildi (Tablo 1, 3). Kontrol grubundaki sol beyin ile saf grup sol beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarı  $9,16 \pm 0,52$ , saf grup sağ beyinciğe ait lipid miktarı  $8,93 \pm 0,23$  (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarı  $5,55 \pm 0,56$ , saf grup sağ beyinciğe ait protein miktarı  $5,80 \pm 0,61$  olarak tespit edildi (Tablo 1, 3). Kontrol grubu sağ beyincik ile saf grup sağ beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $9,29 \pm 0,25$ , saf grup sol beyinciğe ait lipid miktarının  $9,09 \pm 0,28$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol

beyinciğe ait protein miktarının  $6,31 \pm 0,42$ , saf grup sol beyinciğe ait protein miktarının  $6,70 \pm 0,52$  olduğu tespit edildi (Tablo 1, 3). Kontrol grubu sol beyincik ile saf grup sol beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $9,00 \pm 0,38$ , kadmiyum grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $5,64 \pm 0,33$  olduğu (Tablo1, 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarının  $6,65 \pm 0,42$ , kadmiyum grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,56 \pm 0,52$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyin ile kadmiyum grubu sağ beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarının  $9,50 \pm 0,27$ , kadmiyum grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,88 \pm 0,20$  olduğu (Tablo1, 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarının  $6,50 \pm 0,61$ , kadmiyum grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,45 \pm 0,23$  olduğu tespit edildi (Tablo1, 3). Kontrol grubu sol beyin ile kadmiyum grubu sol beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $9,16 \pm 0,52$ , kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,63 \pm 0,17$  olduğu (Tablo1, 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $5,55 \pm 0,56$ , kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,09 \pm 0,23$  olduğu tespit edildi (Tablo1, 3). Kontrol grubu sağ beyincik ile kadmiyum grubu sağ beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $9,29 \pm 0,25$ , kadmiyum grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,48 \pm 0,42$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $6,31 \pm 0,42$ , kadmiyum grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $4,19 \pm 0,16$  olduğu tespit edildi (Tablo 1, 3). Kontrol grubu sol beyincik ile kadmiyum grubu sol beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $9,00 \pm 0,38$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $4,93 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarının  $6,65 \pm 0,42$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,20 \pm 0,27$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyin ile Cd+L-Arjinin

grubu sağ beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında ileri düzeyde anlamlı farkın olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarının  $9,50 \pm 0,27$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,21 \pm 0,53$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarının  $6,50 \pm 0,61$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,21 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sol beyin ile Cd+L-Arjinin grubu sol beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $9,16 \pm 0,52$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,11 \pm 0,38$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $5,55 \pm 0,56$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $3,80 \pm 0,35$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyincik ile Cd+L-Arjinin grubu sağ beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında ileri düzeyde anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $9,29 \pm 0,25$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,04 \pm 0,37$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $6,31 \pm 0,42$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $3,32 \pm 0,68$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sol beyincik ile Cd+L-Arjinin grubu sol beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $9,00 \pm 0,38$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $7,87 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarının  $6,65 \pm 0,42$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait protein miktarının  $5,83 \pm 0,24$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyin ile Cd+AG grubu sağ beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarının  $9,50 \pm 0,27$ , Cd+AG grubu sol beyine ait lipid miktarının  $7,63 \pm 0,47$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarının  $6,50 \pm 0,61$ , Cd+AG grubu sol beyine ait protein miktarının  $5,12 \pm 0,16$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sol beyin ile Cd+AG grubu sol beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında ileri düzeyde anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $9,16 \pm 0,52$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $8,02 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $5,55 \pm 0,56$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,81 \pm 0,23$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sağ beyincik ile Cd+AG grubu sağ beyincik arasındaki lipid ve protein miktarları arasında ileri düzeyde anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p < 0,01$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $9,29 \pm 0,25$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $7,79 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $6,31 \pm 0,42$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $5,26 \pm 0,45$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kontrol grubu sol beyincik ile Cd+AG grubu sol beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,01$ ).

#### **4.4. Kadmiyum Grubu İle Diğer Grupların Karşılaştırılması**

Kadmiyum grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $5,64 \pm 0,33$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $4,93 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,56 \pm 0,52$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,20 \pm 0,27$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sağ beyin ile Cd+L-Arjinin grubu sağ beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ).

Kadmiyum grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,88 \pm 0,20$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,21 \pm 0,53$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,45 \pm 0,23$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,21 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sol beyin ile Cd+L-Arjinin grubu sol beyin arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında az bir farkın olduğu ve bu farkın anlamlı olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ).

Kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,63 \pm 0,17$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,11 \pm 0,38$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,09 \pm 0,23$ , Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $3,80 \pm 0,35$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sağ beyincik ile Cd+L-Arjinin grubu sağ beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ).

Kadmiyum grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,48 \pm 0,42$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,04 \pm 0,37$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $4,19 \pm 0,16$ , Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $3,32 \pm 0,68$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sol beyincik ile Cd+L-Arjinin grubu sol beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Kadmiyum grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $5,64 \pm 0,33$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $7,87 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,56 \pm 0,52$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait protein miktarının  $5,83 \pm 0,24$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sağ beyin ile Cd+AG grubu sağ beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kadmiyum grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,88 \pm 0,20$ , Cd+AG grubu sol beyine ait lipid miktarının  $7,63 \pm 0,47$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,45 \pm 0,23$ , Cd+AG grubu sol beyine ait protein miktarının  $5,12 \pm 0,16$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sol beyin ile Cd+AG grubu sol beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,63 \pm 0,17$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $8,02 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,09 \pm 0,23$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,81 \pm 0,23$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sağ beyincik ile Cd+AG grubu sağ beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında ileri düzeyde anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Kadmiyum grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,48 \pm 0,42$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $7,79 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), kadmiyum grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $4,19 \pm 0,16$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $5,26 \pm 0,45$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Kadmiyum grubu sol beyincik ile Cd+AG grubu sol beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri düzeyde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

#### 4.5. Kadmiyum + L-Arjinin Grubu İle Diğer Grupların Karşılaştırılması

Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $4,93 \pm 0,48$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $7,87 \pm 0,48$  olduğu (Tablo 1, 2), Cd+L-Arjinin grubu sağ beyine ait protein miktarının  $4,20 \pm 0,27$ , Cd+AG grubu sağ beyine ait protein miktarının  $5,83 \pm 0,24$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Cd+L-Arjinin grubu sağ beyin ile Cd+AG grubu sağ beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri derecede anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait lipid miktarının  $5,21 \pm 0,53$ , Cd+AG grubu sol beyine ait lipid miktarının  $7,63 \pm 0,47$  olduğu (Tablo 1, 2), Cd+L-Arjinin grubu sol beyine ait protein miktarının  $4,21 \pm 0,48$ , Cd+AG grubu sol beyine ait protein miktarının  $5,12 \pm 0,16$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Cd+L-Arjinin grubu sol beyin ile Cd+AG grubu sol beyin arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri derecede anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $5,11 \pm 0,38$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $8,02 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), Cd+L-Arjinin grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $3,80 \pm 0,35$ , Cd+AG grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $4,81 \pm 0,23$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Cd+L-Arjinin grubu sağ beyincik ile Cd+AG grubu sağ beyincik arasında lipid ve protein miktarları arasındaki farkın ileri derecede anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $5,04 \pm 0,37$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait lipid miktarının  $7,79 \pm 0,43$  olduğu (Tablo 1, 2), Cd+L-Arjinin grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $3,32 \pm 0,68$ , Cd+AG grubu sol beyinciğe ait protein miktarının  $5,26 \pm 0,45$  olduğu (Tablo 1, 3) tespit edildi. Cd+L-Arjinin grubu sol beyincik ile Cd+AG grubu sol beyincik arasında hem lipid hem de protein miktarları arasında ileri derecede anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Gruplar içinde, sağ beyin ile sol beyin ve sağ beyincik ile sol beyincik arasında yapılan karşılaştırmalarda hem lipid miktarları hem de protein miktarları arasındaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu görüldü (Tablo 2, 3), ( $p>0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, kadmiyum sülfat'la ( $\text{CdSO}_4$ ) birlikte verilen Nitrik Oksit Sentaz (NOS) spesifik enzim inhibitörlerinden aminoguanidin (AG) ve non-spesifik enzim inhibitörlerinden L-Arjininin sıçan beyin ve beyincisindeki toplam lipid ve protein miktarları üzerine olan etkileri araştırıldı.

Araştırmada kullanılan hayvanların tümünün aynı yaş grubundan erkek sıçanlar olmasına, aynı laboratuvar, beslenme ve çevresel ortama sahip olmalarına dikkat edildi. Böylece yaşa ve cinsiyete bağlı hücre farklılığı olmaması sağlandı.

Kendilerine madde enjekte edilen hayvanların post-operatif davranışları 0-10 gün arasında gözlemlendi. Hayvanların davranışlarında gözlenen hareketlerde yavaşlama, besin ve suyu tanıyamama, yön bulmada zorluk, nadirde olsa şiddetli saldırganlık metal grubu bir element olan çinko ile yapılan çalışmalarda tarif edilen davranışlara benzemektedir (Marangoz ve ark., 1990). Onuncu günden sonra ise aşırı bilinçsiz hareketler ve epileptik nöbetlere benzer (ön ekstremitelerde çekilme, yuvarlanma gibi) davranışlar görülmüştür.

Merkezi sinir sistemi elemanlarından beyin ve beyincikte kadmiyumun hücre ölümlerine neden olduğu bilinmektedir (Tan ve ark., 1999; Bağırıcı ve ark., 2001; Genç ve ark., 2001; Tan, 2003). Demir ve arkadaşları (1996)'nın çinko için ileri sürdükleri gibi kadmiyum da tıpkı çinko gibi aşırı nöron aktivitesine sebep olarak, muhtemelen güçlü bir eksitator transmitter olan glutamat reseptörlerinden NMDA'yı aktifleme yoluyla etkisini gösterebilir. Chvapil ve arkadaşları (1972) proteinlerin tiyol ve imidazol kısımlarıyla reaksiyona giren bazı metallerin proteinin yapı ve fonksiyonunu değiştirdiğini, neticede hücre ölümünü başlattığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmalarımızdaki lipid ve protein miktarı ile ilgili sonuçlar da, muhtemelen kadmiyumun neden olduğu hücre ölümleri sonucu beyin ve beyincikteki söz konusu maddelerin azalmasından kaynaklanmış olabilir.

Kadmiyumla yapılan bir başka çalışmada, beyinlerine kadmiyum verilen (0,0021 mg/kg) sıçanlarda beyin ve beyincikte kadmiyum nörotoksitesinin oldukça etkili olduğu ve hem beyin hem de beyincikte toplam lipid ve protein miktarlarını azalttığı belirtilmiştir (Köse, 2005). Gebelik sırasında kadmiyum ve kurşuna maruz bırakılan ratların yavrularının beyinlerindeki toplam lipid miktarlarında yeni doğan yavrularda % 11, beş günlük yavrularda ise % 23 oranında bir azalma olduğu, toplam protein

miktarlarında yeni doğan yavrularda % 17, beş günlük yavrularda ise % 31 oranında azalma olduğu rapor edilmiştir (Antonio ve ark., 1999). Bu sonuçlar bizim kadmiyum ile ilgili sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Oksidatif stres ve özellikle glutamat gibi aracı moleküllerin gereğinden fazla salgılanmasının merkezi sinir sisteminde patolojik nöron ölümünün nedenleri olabileceği ifade edilmiştir (Choi, 1998; Alberts ve ark., 1992). Kadmiyum ve kurşun maddelere uzun süre maruz kalanlarda, oksidatif stresin ortaya çıkacağı ileri sürülmüştür (Abdollahi ve ark., 2003; Abdollahi ve ark., 2004).

Serbest radikaller hücrelerde normal metabolizma ürünü olarak üretilirler. Serbest radikaller fazla üretildiğinde, kolesterolün ve yağ asitlerinin doymamış bağlarına bağlanır ve membran lipid peroksidasyonuna (MLP) neden olarak plazma membranının bütünlüğünü bozar (Boje, 1996). Plazma membran bütünlüğünün bozulması, ekstrasellüler ortamda bulunan ve membrandan geçebilen iyonların hücre içine girermesine sonuçta iyon gradientlerinin bozulmasına neden olur (Robb ve ark., 1999). Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Cochranc, 1991). Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen molekülü, yapısındaki iki adet çiftlenmemiş elektron sayesinde hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşumuna yol açar. Lipid peroksitlerden de kimyasal reaksiyonlar sonucunda serbest lipid grupları oluşur. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid peroksitler hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, direkt olarak doku hasarı meydana getirirler. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksisite, metabolik fonksiyon bozukluğu ve kalsiyumun hücre içi dengesinde bozulma gibi mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler. (Facchinetti ve ark., 1998; Güven ve ark., 2003; Kaya ve ark., 1998; Mates, 2000; Halliwell, 1991).

NO ve nörotoksisite ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur (Chao ve ark., 1992; Dawson ve ark., 1993; Dawson, 1994; Marangoz ve ark., 1994; Dawson ve ark., 1991; Satarug ve ark., 2000). Buna karşılık NO'nun nöroprotektif mi yoksa nörotoksik mi

olduğu kesin bir şekilde ifade edilmemiştir. Çelişkili sonuçlar muhtemelen nörotoksik ve epileptik modelin, çalışılan beyin bölgesinin, NO sistemi ile ilgili maddelerin verilmiş yollarının, uygulanan dozların ve deney metodunun farklı olmasına, ayrıca diğer maddelerin NO sistemini etkilemesine ve sonuçta mikro çevreye ait olan farklı redoks durumuna bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (Marangoz, 1996).

Sentezlenen ya da ortamda bulunan NO miktarı bunun etkisinin fizyolojik ya da patolojik olmasını belirleyebilir. Normal fizyolojik ortamda sürekli olarak, küçük miktarlarda üretilen NO, guanilat siklazın uyarılması, hücre içindeki cGMP düzeyinin artımı, kan damarlarının gevşemesi, trombositlerin yapışmasının engellenmesi, iyon kanallarının açılması ve kapanması gibi etkilere sahiptir. Buna karşılık sürekli olarak, çok miktarda NO üretimi, hücre solunumu, enerji üretimi ve hücre çoğalmasıyla ilişkili demire bağımlı enzimlerin aktivasyonuna yol açmaktadır (Çakmakçı, 1999).

İndüklenebilen NOS, NO'yu toksik etki ortaya çıkarabilecek düzeylere kadar üretebilen bir enzimdir (Gross ve Volin, 1995). Beyindeki mikroglial hücreler, indüklenebilen tip NOS sentez edebilmektedirler.

Glutamat ve aspartat gibi uyarıcı aminoasitlerin normalden fazla salınımı nörotoksositeye neden olmaktadır (Lynch ve Dawson, 1994). Bu aminoasitlerin reseptörleri uyarması NOS'un aktif hale geçmesine neden olur. NOS'un aktif hale geçmesinin aşırı miktarda NO sentezlenmesine neden olacağı ileri sürülmektedir (Dawson, 1995).

Nitrik oksit (NO), sahip olduğu eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle kısa ömürlü serbest radikal özellik gösterir ve oksijen, süperoksit radikalleri veya demir, bakır, kobalt, manganez gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girer (Stamler ve ark., 1992). Diğer radikallerden farklı olarak NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol oynamaktadır. Ancak yüksek miktarda NO hücreler üzerine zararlı etkiler ortaya çıkarmaktadır (Steven, 1995). NO oksijen varlığında hızla nitrite ve nitrata dönüşerek inaktif hale geçer. İnaktif NO moleküllerin biyolojik aktiviteleri yoksa da düzeyleri endojen NO düzeyi hakkında bilgi verir (Taha ve ark., 1992).

Memelilerde, sitozolik bir enzim olan NOS L-arjinin'den NO ve sitrüllin oluşumunu katalize eder (Dinerman ve ark., 1994). NO'in nörokimyasal sistemimizin önemli bir parçası olduğu kesindir. Bir felç (inme) halinde, NOS içeren hücreler, büyük ihtimalle bir aşırı uyarılma sonucu toksik etkiye yol açabilecek miktarda nitrik

oksit salıp komşu hücreleri öldürmektedirler. Bununla birlikte bu hücrelerin kendine bir şey olmamaktadır. Deney hayvanlarında ve doku kültürlerinde NO inhibitörleri bu hasarı önemli oranda azaltabilmektedirler (Çakmakçı, 1999).

**L-arjinin**, nitrik oksit dengesini değiştirebilen başka bir farmakolojik ajandır. Merkezi sinir sisteminin normal ve patolojik fonksiyonları için NOS izoformlarının oldukça önemli olduğu bilinmektedir (Paakkari ve Lindsberg, 1995).

Kardiyovasküler sistem hastalıklarında da L-arjinin- NO yolundaki bozukluğun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Çünkü, bu koruyucu yolağın aktivitesindeki bir azalma, damar düz kasındaki gevşetici tonusta azalmaya ve buna sekonder olarak da vazokonstriksiyon ve lokal kan akımında azalmaya neden olur. L-arjinin'in terapötik amaçlı kullanımına ilişkin çalışmalar çelişkilidir. L-arjinin'in normal insanlarda hipotansif etki gösterdiği bildirilmiştir (Koşay, 1996).

NO'nun masif aşırı üretimi durumunda hastaya L-NMMA veya aminoguanidin gibi NOS enzim inhibitörleri verilebilir. Bu bakımdan, NO düzeyinin kontrol edilmesi, spesifik farmakolojik girişimle hastanın NO dengesinin normal durumuna döndürülmesi demektir. Eğer hastada NO yetmezliği varsa hastaya nitratlar verilmeli veya doğal substrat olan L-arginin uygulanarak vücut NO üretimi için stimüle edilmelidir (Koşay, 1996).

Nöronal ölüm aktif bir süreçtir ve nörotrofik faktörler bu süreci baskılamak için uğraşırlar (Jhonson ve ark., 1989). İn vivo ve in vitro olarak yapılan deneysel çalışmalar öldürücü proteinler olarak adlandırılan bazı maddelerin bu süreci başlattıkları ve nöronal hasarı takiben hücre ölümünden sorumlu olduklarını ortaya koymuştur (Wu ve Li, 1993). Lezyona bağlı motornöron dejenerasyonu ve ölümü üzerinde yapılan başka bir çalışmada 6. hafta sonunda bazı hasarlı motornöronların NOS enzimi içermelerine rağmen büyük çoğunluğunun morfolojik olarak canlılıklarını yitirmedikleri saptanmıştır. Bu çalışmanın en önemli sonucu travmatik lezyon sonucu ortaya çıkan NOS'un nörotoksik düzeyde NO üreten bir öldürücü protein gibi etki edebileceğidir. NOS enzimi normal şartlar altında spinal motor nöronlarda mevcut değildir. Hasara uğramış nöronlarda NOS enziminin bulunması hasarlı nöronların ölümü ile uyumlu olup, NOS inhibisyonu ile ölüm oranı azalmakta ya da kısıtlanmaktadır (Jhonson ve ark., 1989).

Bu çalışmada kadmiyuma bağlı hücre ölümlerinin NO ile ilişkisi konusuna biyokimyasal açıdan açıklık getirmek için spesifik NOS inhibitörlerinden aminoguanidin ile non-spesifik NOS inhibitörlerinden L-Arjinin kullanıldı.

Cd+AG grubundaki hayvanlarda, kadmiyumun meydana getirdiği toplam lipid ve protein miktarındaki azalmanın, kadmiyum grubuna göre %20 oranında daha az olduğu bulundu. Burada guanidin türevi bir NOS inhibitörü olan aminoguanidinin nöroprotektif etki gösterdiği ancak bu koruyucu etkinin lipid ve protein miktarındaki azalmayı tamamen durdurmadığı görülmektedir.

Cd+L-Arjinin grubunda ise toplam lipid ve protein miktarlarındaki azalmada kadmiyum grubuna göre az da olsa bir artış gözlenmiştir. Bu sonuca göre; NO sentezinden sorumlu olan L-Arjinin aminoguanidinin tam tersine NO sentezini arttırmış ve sonuçta fazla sentezlenen NO, beyin ve beyincikte toplam lipid ve protein miktarını azaltıcı etki göstermiştir. Yani bu grupta fazla sayıda gerçekleşen toplam lipid ve protein miktarı kaybından NO sorumludur diyebiliriz.

AG ile yapılan bir çalışmada, ratlarda iNOS tarafından üretilen aşırı NO'in neden olduğu nöronal ölümler ve beyin hasarı, günlük olarak (i.p) AG (100 mg/kg) uygulamasından sonra ortadan kalkmış ve AG, histopatolojik ve davranışsal bozuklukları belirgin derecede iyileştirmiştir (Lu ve ark., 2002). AG'nin düşük dozlarda verildiğinde sinir akson çapındaki daralmanın kısmi olarak iyileştiği, genelde tercih edilen iyileştirme dozunda (100 mg/kg) ise sinir liflerindeki atrofinin tam olarak düzeldiği gözlenmiştir (Ino-ue ve ark., 1998). Bizim çalışmamızda elde etmiş olduğumuz verilere baktığımızda, tedavi gruplarından olan Cd+AG-100 mg/kg grubunda toplam lipid ve protein miktarındaki azalmanın en az olduğu dikkat çekicidir. Dolayısıyla, literatürdeki tercih edilen 100 mg/kg lık miktar, bizim çalışmamız tarafından da desteklenmektedir.

Bu değerlendirmelerden sonra, kadmiyuma bağlı hücre ölümünde ve toplam lipid ve protein miktarında meydana gelen azalmada aminoguanidinin muhtemel koruyucu mekanizması şu şekilde açıklanabilir:

Akut enflamatuar değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan sitokinler ve uyarıcı maddeler de tıpkı immünolojik ya da inflamatuvar uyarılarda olduğu gibi iNOS enzim aktivasyonuna katkıda bulunarak patolojik uyarıyı takip eden birkaç gün boyunca

nanomol ile ifade edilebilen toksik düzeylerde NO üretebilmekte ve sonuçta hücre ölümüne kadar gidebilecek hasarı arttırmaktadır (Brüne ve ark., 1995).

Bu şekilde aşırı olarak üretilen NO nun redükte formu artmaktadır. Artmış redükte NO, süperoksid ( $O_2^-$ ) ile reaksiyona girip peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) ve serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Artan serbest radikaller hücre zarındaki lipidlerden elektron çalarak lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve bu da nöron ölümünü hızlandırmaktadır (Marangoz, 1996). AG spesifik olarak iNOS enzimini inhibe etmek suretiyle histopatolojik ve davranışsal bozukluklarda iyileştirici yönde etkili olmaktadır (Lu ve ark., 2002). Literatürdeki bu veriler ile bizim çalışmamızın verileri arasında benzerlik olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz bu verilere göre, L-Arjinin'in toplam lipid ve protein miktarını azaltıcı etkisi şu şekilde ortaya çıkmış olabilir:

iNOS ve cNOS enzimatik sistem N-monometil-L-arjinin (L-NMMA), N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ya da N-nitro-L-arjinin (L-NNA) gibi L-arjinin analogları tarafından inhibe edilebilir. Bu enzim izoformları aynı hücrede birlikte de bulunabilir. Örneğin; endotel hücreleri nitrik oksit üretimi açısından TNF- $\alpha$  ile uzun süreli uyarılırken bir kalsiyum agonisti olan bradikinin ile de kısa sürede uyarabilir. Ya da, sinir hücreleri ve makrofajlar TNF- $\alpha$  ya da LPS ile uyarılırsa, indüklenebilen NOS aktif hale gelirken yapısal NOS'un mesajcı RNA'sı baskılanır (Çakmakçı, 1999). Bu baskılama protein miktarını düşürür.

Cd+L-Arjinin grubunda da toplam lipid ve protein miktarlarındaki azalmanın yukarıda anlatılan şekilde olduğu sanılmaktadır.

Çalışmamızdaki L-Arjinin grubunda meydana gelen toplam lipid ve protein miktarlarındaki azalma literatürdeki verilerle uygunluk göstermektedir (Brüne ve ark., 1995; Marangoz, 1996; Tan, 2003). Dolayısıyla bu çalışma ile elde edilen sonuçlar ışığında, L-Arjininden fazla miktarda sentezlenen NO'in toksik etki yaptığı ve literatürdeki sonuçlarla örtüştüğü tespit edilmiştir.

Elde ettiğimiz tüm bu sonuçlar kadmiyumdan kaynaklanan; serebellumdaki purkinje hücrelerinin ölümünde ve ayrıca beyin ve beyincikteki toplam lipid ve protein miktarındaki azalmada NO'nun rolü olduğunu göstermektedir. Diğer spesifik ve non-spesifik NOS inhibitörleri ile ileri düzeyde daha gelişmiş teknik ve metodlarla yapılacak çalışmalar fizyopatolojik ve biyokimyasal olayların aydınlığa kavuşmasını ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada sıçan merkezi sinir sistemi elemanlarından beyin ve beyincikte kadmiyum nörotoksitesinin oldukça etkili olduğu, hem beyin hem de beyincikte toplam lipid ve protein miktarlarını önemli ölçüde azalttığı, ayrıca AG'in bu toksisitede tedavi edici bir rol oynayarak, kadmiyumdan kaynaklanan toplam lipid ve protein miktarlarındaki kaybı azalttığı, L-Arjininin ise kadmiyum nörotoksitesini ve dolayısıyla toplam lipid ve protein miktarlarındaki kaybı daha da arttırdığı biyokimyasal yöntemlerle tesbit edilmiştir.

Elde ettiğimiz verilen daha iyi anlaşılabilmesi için, mikro çevre ile nöronlarda meydana gelen değişimlerin elektron mikroskopuyla, kadmiyum odağında ve ayrıca daha uzak bölgelerde meydana gelebilecek biyokimyasal ve moleküler düzeydeki değişimlerin ise immünohistokimyasal ve biyokimyasal metodlarla araştırılması gerekmektedir. Böylece çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçların hücresel ve biyokimyasal mekanizmaları daha iyi anlaşılabilir.

## 6. KAYNAKLAR

**Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafarriet, K., 2003.** Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 135: 331–336.

**Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., 2004.** Pesticides and oxidative stress : a review. *Med. Sci. Monit.*, 10: 141-147.

**Alberts, GW., Goldberg, MP., Choi, DW., 1992.** Do NMDA antagonists prevent neuronal injury? Yes. *Arch. Neurol.*, 49, 418-420.

**Antonio, M.T., Corpas, I., Leret, M.L., 1999.** Neurochemical changes in newborn rat's brain after gestational cadmium and lead exposure. *Toxicology Letters* 104: 1–9.

**Antonio, M.T., Corredor, L., Leret, M.L., 2003.** Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology Letters* 143: 331–340.

**Bağrırcı, F., Genç, H., Tan, F., Demir, Ş., 2001.** Neuroprotective Effect of Nicardipine on Cadmium-Induced Purkinje Cell Death in Rat Cerebellum. *Neuroscience Research Communications*, Vol. 29, No.2.

**Bruckdorfer, R., 2005.** Nitric oxide in physiology and pathology. *Molecular Aspects of Medicine* 26: 1–2.

**Brüne, B., Mebmer, U.K., Sandau, K., 1995.** The role of nitric oxide in cell injury. *Toxicology Letters* 82/83: 233–237.

**Boje, K.M.K., 1996.** Inhibition of nitric oxide synthase attenuates blood-brain barrier disruption during experimental meningitis. *Brain Research* 720: 75–83.

**Carageorgiou, H., Tzotzes, V., Patnos, C., Mourouzis, C., Zarros, A., Tsakiris, S., 2004.** *In vivo* and *in vitro* Effects of Cadmium on Adult Rat Brain Total Antioxidant Status, Acetylcholinesterase, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and Mg<sup>2+</sup>-ATPase Activities: Protection by L-Cysteine. *Basic&Clinical Pharmacology&Toxicology* 94: 112–118.

**Casalino, E., Sblano, S., Landriscina, C., 1997.** Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 346: 171–179.

**Cendan, J.C., Topping, D.L., Pruitt, J., Snowdy, J., Copeland, E.M., Lind, D.S., 1996.** Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer line. *J Surg Res. USA* 6: 602: 248-88.

**Chao, C.C., Hu, S., Molitor, T.W., Shaskan, E.G., Peterson, P.K., 1992.** Activated microglia mediate neuronal cell injury via a nitric oxide mechanism. *J Immunol* 149: 2736–2741.

**Choi, D.V., 1988.** Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *Neuron* 1, 623.

**Chvapil, M., Elias, S.L., Ryan, J.N., Zukoski, C.F., 1972.** Pathophysiology of zinc. In: Pfeiffer CC ed. *Neurobiology of Trace Metals Zinc and Copper* 2<sup>nd</sup> ed. Vol 1. New York, Academic Press. 105-124.

**Cochrane, C.G., 1991.** Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*, 92: 235-305.

**Çakmakçı, M., 1999.** Zehirli molekülden haberci maddelerin kraliçeliğine; Nitrik Oksit. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi* 374: 58-62.

**Dawson, D.A., 1994.** Nitric oxide and focal cerebral ischemia: multiplicity of actions and diverse outcome. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 6: 299–324.

**Dawson, V.L., Dawson, T.M., London, E.D., Brecht, D.S., Snyder, S.H., 1991.** Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 6368.

**Dawson, V.L., Dawson, T.M., Bartley, D.A., Uhl, G.R., Snyder, S.H., 1993.** Mechanisms of nitric oxide-mediated neurotoxicity in primary brain cultures. *J. Neuroscience* 13: 2650–2661.

**Dawson, V.L., 1995.** Nitric oxide: role neurotoxicity. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Australia* 224:305–8.

**Demir, Ş., Genç, O., Bağırıcı, F., Ayyıldız, M., Korkmaz, A., Marangoz, C., 1996.** Beyinde çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne verapamilin etkisi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 13 1: 19–25.

**Dinerman, J.L., Dawson, T.M., Schell, M.J., Snowman, A., Snyder, S.H., 1994.** Endothelial nitric oxide synthase localized to hippocampal pyramidal cells: implications for synaptic plasticity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 4214–4218.

**El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I, Kedwany, F.S., Baghdadi, H.H., 2004.** Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical

parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and  $\beta$ -carotene. Food and Chemical Tox. 42: 1563–1571.

**Facchinetti, F., Dawson, V.L., Dawson, T.M., 1998.** Free radicals as mediators of neuronal injury. Cell. Mol. Neurobiol. 18: 667–682.

**Genç, H., Bağırıcı, F., Çakır, A., Demir, Ş., Tan, F., 2001.** Effect of Flunarize On Cadmium-Induced Purkinje Cell Loss in Rats. Neuroscience Research Communications, Vol. 28, No.2.

**Gross, S.S., Volin, M.S., 1995.** Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. Annu. Rev. Physiol. 57: 737–769.

**Güven, A., Erginsoy, S., Kaya, N., 2003.** Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg., 9: 131-136.

**Halliwell, B., 1991.** Drug antioxidant effects. Drug 424: 569–605.

**Ino-ue, M., Ohgiya, N., Yamamoto, M., 1998.** Effect of aminoguanidine on optic nerve involvement in experimental diabetic rats. Brain. Res. 800: 319–322.

**Jhonson, E.M., Chang, J.Y., Kioke, T., Martin, D.P., 1989.** Why do neurons die when deprived of trophic factor? Neurobiol. Aging 10: 549–552.

**Kalay, M., Karataş, S., 1998.** Kadmiyumun *Tilapia nilotica* L.'da Kas, Beyin ve Kemik Omurga Kemiği Dokularındaki Birikimi. Tr. J. Of Zoology 233: 985–991.

**Kaya, S., Pirinççi, İ., Bilgili, A., 1998.** Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35, Ankara, s. 222, 232, 273, 276, 355.

**Knowles, R., 1994.** Nitric Oxide Synthases. The Biochemist Pp 3–6.

**Kolluru, G.K., Tamilarasan, K.P., Priya, S.G., Durgha, N.P., Chatterjee, S., 2006.** Cadmium induced endothelial dysfunction: Consequence of defective migratory pattern of endothelial cells in association with poor nitric oxide availability under cadmium challenge. Cell Biology İnt. 30: 427–438.

**Koşay, S., 1996.** Nitrik oksidin hastalıklardaki fizyopatolojik rolü. Ege Üniv Tıp Fak Ayın Kitabı Dergisi 83: 1–89.

**Köse, L.** Sıçan *Wistar albino* Merkezi Sinir Sisteminde Total Lipid ve Protein Miktarı Üzerine Kadmiyum Sülfatın CdSO<sub>4</sub> Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2005.

**Lafuente, A., Fenaández-Rey, E., Seara, R., Pe´rez-Lorenzo, M., Esquifino, A.I., 2001.** Alternate cadmium exposure differentially affects amino acid metabolism

within the hypothalamus, median eminence, striatum and prefrontal cortex of male rats. *Neurochemistry International* 39: 187–192.

**Lowry, O.H., Rose Brough, N.J., Farr, A.L., Randall, V.J., 1951.** Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.

**Lu, J., Moochhala, S., Shirhan, M., Chye, K., Teo, A.L., Tan, M.H., Moore, X.L., Wong, M.C., Ling, E.A., 2002.** Neuroprotection by aminoguanidine after lateral fluid-percussive brain injury in rats: a combined magnetic resonance imaging, histopathologic and functional study. *Neuropharmacology* 44: 253–263.

**Lynch, D.R., Dawson, T.M., 1994.** Secondary mechanism in neuronal trauma. *Curr. Opin. Neurol. USA* 76:510–6.

**Manca, D., Ricard, A.C., Trottier, B., Chevalier, G., 1991.** Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride. *Toxicology* 67: 303–323.

**Marangoz, C., Genç, H., 1990.** Tavşanda intrakortikal çinko sülfattan uygulamasından sonra purkinje hücreleri sayısında azalma. *T.KL. Tıp Bil. Araş. Dergisi* 8:67–74.

**Marangoz, C., Ayyıldız, M., Açar, E., 1994.** Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport* 5: 2454–2456.

**Marangoz, C., 1996.** Nitrik Oksit ve Epilepsi. *OMÜ Tıp Dergisi* 133: 165–183.

**Matés, J.M., 2000.** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83–104.

**McCord, J.M., 1985.** Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl. J. Med.* 312: 159–163.

**Me´ndez-Armenta, M., Villeda-Herna´ndez, J., Barroso-Moguel, R., Navarri´z, C., Jim´enez-Capdeville, M.E., Ri´os, C., 2003.** Brain regional lipid peroxidation and metallothionein levels of developing rats exposed to cadmium and dexamethasone. *Toxicology Letters* 144: 151–157.

**Olson, D.M., Fadamiro, H., Lundgren, J.G., and Heimpel, G.E., 2000.** Effects of Sugar Feding on Carbonhydrate and Lipid Metabolism in a Parasitoid Wasp. *Physiol. Entomol.*, 25, 17-26.

**Paakkari, I., Lindsberg, P., 1995.** Nitric oxide in the central nervous system. *Ann. Med. England* 273:369–77.

**Patrick, L., 2003.** Toxic metals and antioxidants. Part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern. Med. Rew.* 8: 106–128.

**Poliandri, A.H.B., Velardez, M.O., Cabilla, J.P., Bodo, C.C.A., Machiavelli, L.I., Quinteros, A.F., Duvilanski, B.H., 2004.** Nitric Oxide Protects Anterior Pituitary Cells From Cadmium-Induced Apoptosis. *Free Radical Biology & Medicine* 379: 1463–1471.

**Robb, S.J., Robb-Gaspers, L.D., Scaduto, R.C., Thomas, Jr. A.p., Connor, J.R., 1999.** Influence of calcium and iron on cell death and mitochondrial function in oxidatively stressed astrocytes. *J. Neurosci. Res.* 556, 674–686.

**Sarkar, S., Yadav, P., Bhatnagar, D., 1997.** Cadmium-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in rat erythrocytes: the role of antioxidants. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 11: 8–13.

**Satarug, S., Baker, J.R., Reilly, P.E.B., Esumi, H., Moore, M.R., 2000.** Evidence for a Synergistic Interaction between Cadmium and Endotoxin Toxicity and for Nitric Oxide and Cadmium Displacement of Metals in the Kidney. *NITRIC OXIDE: Biology and Chemistry* 44: 431–440.

**Swarup, D., Patra, R.C., Naresh, R., Kumar, P., Shekhar, P., 2005.** Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; transfer of lead in to milk. *The Science of the Total Environment* 347: 106–110.

**Swarup, D., Naresh, R., Varshney, V.P., Balangatharathilagar, M., Kumar, P., Nandi, D., Patra, R.C., 2007.** Changes in plasma hormones profile and liver function in cows naturally exposed to lead and cadmium around different industrial areas. *Research in Veterinary Science* 82: 16–21.

**Stamler, J. S., Singel, D. J., Loscalzo, J., 1992.** Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science.* 258: 1898–1902.

**Steven, S., 1995.** Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 737–769.

**Taha, Z., Kiechle, F., Malinski, T., 1992.** Oxidation of nitric oxide by oxygen in biological systems monitored by porphyrinic sensor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 188: 734–739.

**Tan, F., Bağırcı, F., Demir, Ş., Gökçe, F., Genç, H., Marangoz, C., 1999.** Kadmiyumun Sıçan Serebellumu Purkinje Hücre Yoğunluğuna Etkisi. O.M.Ü. Tıp Dergisi 162: 128–132.

**Tan, F., 2003.** Sıçan Wistar albino serebellumunda kadmiyumun neden olduğu hücre ölümüne nitrik oksit sentaz NOS inhibitörlerinin etkisi. Doktora Tezi, Mayıs 2003.

**Türköz, Y., Özerol, E., 1997.** Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini. Journal of Turgut Özal Medical Center 44: 453- 458.

**Van Handel, E., 1985.** Rapid determination of Total Lipids in Mosquitoes. J. Amer. Mosq. Cont. Assoc., 1, 302-304.

**Van Handel, E. And Day, J.F., 1988.** Assay of Lipids, Glycogen and Sugars in Individual Mosquitoes: Correlations with Wing Length in Field-collected *Aedes vexans*. Journal of the American Mosquito Control Association. 4: 549-550.

**Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003.** Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. Toxicology 192: 95–117.

**Wu, W., Li, L., 1993.** Inhibition of nitric oxide synthase reduces motoneuron death due to spinal root avulsion. Neuroscience Letters 153: 121–124.

**Yücel, E.,** Canlılar ve Çevre 3-27.

[www.aof.edu.tr/kitap/IOLTP/2281/unite05.pdf](http://www.aof.edu.tr/kitap/IOLTP/2281/unite05.pdf)

## 7. ÖZGEÇMİŞ

1980 Samsun-Bafra doğumluyum. İlköğrenimimi Bafra Atatürk İlköğretim Okulu'nda, ortaöğrenimimi Bafra Lisesi'nde tamamladım. 1997 yılında kazandığım Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nden Haziran-2001 tarihinde mezun oldum. İlk olarak Van'ın Saray İlçesi'nde (2002-2003) başladığım öğretmenlik görevime, 2003 yılından bu yana Samsun'un Bafra İlçesi'nde devam etmekteyim. 2004 yılı Şubat ayında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü'nde Yüksek Lisans eğitimime başladım.