



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**ANOSMİDE MELATONİN OLFAKTÖR FONKSİYONLARI
DÜZELTİR Mİ (ANOSMİK FARE MODELİNDE
DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Halit RÜZGAR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2023



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**ANOSMİDE MELATONİN OLFAKTÖR FONKSİYONLARI
DÜZELTİR Mİ (ANOSMİK FARE MODELİNDE
DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Halit RÜZGAR

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Özgür YİĞİT

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince en iyi şekilde yetişebilmem için uğraş veren, araştırma yapan, bilimsel ve kendini yenileyen bir hekim olma vizyonunu edindiğim, ülkemizde bilimin gelişmesine elinden gelen her türlü desteği veren ve yorulmadan ve bıkmadan çalışmanın nasıl olabileceğini öğreten saygıdeğer hocam Şişli-Hamidiye Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi Yöneticisi ve KBB-BBC Kliniği Eğitim ve İdari Sorumlusu Sayın Prof. Dr. Özgür Yiğit'e;

Asistanlık süresince yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Suat Bilici, Doc. Dr. Tolga Kirgezen, Doç. Dr. Ela Araz Server, Doç. Dr. Özlem Önerci Çelebi, Doç. Dr. Çiğdem Kalaycık Ertugay, Doç. Dr. Ahmet Volkan Sünter, Doc. Dr. Enes Yiğit, Doç. Dr. Nihal Seden Boyoğlu, Doç. Dr. Zehra Çınar, Op. Dr. Mahmut Noberi, Op. Dr. Müge Yürekli Altındağ, Op. Dr. Belit Merve Çağdaş, Op. Dr. Erdal Oltulu, Op. Dr. Ozan Özdemir, Op. Dr. Muzaffer İnan, Op. Dr. Burak Olgun, Op. Dr. Özgür Karameşe, Op. Dr. İrfan Rauf Aksoy'a;

Histopatolojik inceleme kısmında tezime yardımcı olan Uz. Dr. Kenan Barış Bingül'e

Eğitim sürecinde destek ve yardımlarını esirgemeyen, bu süreçte her daim yanımda olan sevgili asistan arkadaşlarıma;

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, değerli odyolog ve odyoloji teknisyeni arkadaşlarım, servisimizin ve ameliyathanemizin ve polikliniğimizin değerli hemşire ve personellerine;

Hayatımın her safhasında, bana her konuda destek olan ve olacağını bildiğim sevgili annem, babam, abim ve ablalarıma en büyük şansım olan eşim Seda Çakır Rüzgar'a

Sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım

Dr. Halit RÜZGAR

İstanbul 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. NAZAL EMBRİYOLOJİ.....	2
2.2. NAZAL ANATOMİ	5
2.3. OLFAKTÖR SİSTEM VE ANATOMİSİ.....	10
2.3.1. Duyusal Reseptörler ve Primer Nöronlar	10
2.3.2. Koku Ampulleri ve Projeksiyonları	12
2.3.3. Koku Korteksi	13
2.4. FARE KOKU ANATOMİSİ.....	14
2.5. KOKU ALMA TEORİLERİ.....	17
2.6. ANOSMİ TANIMI.....	20
2.7. ANOSMİNİN ETİYOLOJİSİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ	20
2.8. ANOSMİ TEŞHİSİ VE TEDAVİSİ	23
2.9. MELATONİN VE KİMYASAL YAPISI.....	24
2.9.1. Melatoninin Özellikleri	26
2.10. MELATONİNİN ANOSMİ ÜZERİNDEKİ OLASI FARMAKOLOJİK ETKİ YOLLARI	26

2.11. 3-METİL İNDOL VE ÖZELLİKLERİ.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. ETİK İZİN	30
3.2. FARELERİN SEÇİMİ	30
3.3. MELATONİNİN HAZIRLANIŞI.....	30
3.4. YİYECEK BULMA TESTİ.....	32
3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	34
3.6. İSTATİKSEL ANALİZ	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ	46
KAYNAKLAR	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Orta yüz ve burnun 5, 6, 7 ve 30. haftalardaki embriyolojik gelişimlerinin koronal tasvirleri.	3
Şekil 2.2: 8 haftalık bir embriyoda etmoturbinaller, maksilloturbinaller ve nazoturbinaller bölgeleri temsil eden sagittal şematik çizim.	3
Şekil 2.3: Alt konka (mor üçgen), orta konka (su dairesi), beyin (yeşil yamuk), sol göz (beyaz O) ve nazal septumun (mavi kare) erken gelişimini gösteren 8 haftalık embriyonun koronal histomikrografisi.....	4
Şekil 2.4: Nazal mimetik kaslar. (Jaye Schlesinger'ın izniyle, Ann Arbor, MI.)	6
Şekil 2.5: Burun boşluğunu sınırlayan kemik ve yumuşak doku yapıları.	9
Şekil 2.6: Koku alma (mavi) ve koku almayan mukozaya sahip yetişkin insanın yan burun duvarı belirtilmiştir	11
Şekil 2.7: Olfaktör sinir	13
Şekil 2.8: Sığır rinariumunun dış anatomisi	15
Şekil 2.9: Bir kemirgenin burun boşluğunun şematik gösterimi ve burun girişinin, nazoturbinatların, maksillotürbinatların ve etmotürbinatların görece konumu	16
Şekil 2.10: Melatonin kimyasal yapısı	25
Şekil 3. 1: Melatonin hazırlanışı.....	31
Şekil 3. 2: Melatonin enjeksiyonu	31
Şekil 3. 3: Yiyecek bulma testi için hazırlanan t şekilli labirent	33
Şekil 3.4: Yiyecek bulma testi sonrası histopatolojik inceleme için farelerin sakrifikasyonu.....	33
Şekil 4.2: Olfaktör epitelde fokal alanda silia kaybı.....	38
Şekil 4.3: Olfaktör epitelde fokal alanda intraepitelyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu	39

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1: Melatonin enjeksiyonu sonrası 1.haftada yiyecek bulma testi	35
Tablo 4.2: Melatonin enjeksiyonu sonrası 14.günde yiyecek bulma testi	36
Tablo 4.3: Melatonin enjeksiyonu sonrası 21.günde yiyecek bulma testi	37
Tablo 4.4: YBT istatistik sonuçları	38
Tablo 4.5: Histopatolojik incelemeler	40
Tablo 4.6: Histopatolojik incelemeler devamı	41

KISALTMALAR

3-MI	: 3-metil indol
AON	: Ön koku alma çekirdeği
BT	: Bilgisayarlı tomografi
COVID-19	: Corona virus disease
LD50	: %50 Letal doz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
NHANES	: Ulusal sağlık ve beslenme muayene anketi
NHANES	: Ulusal sağlık ve beslenme muayene anketi
SARS-CoV-2	: Severe acute respiratory syndrome-Corona virus 2
SMAS	: Yüzeysel musküloaponörotik sistemi
SSS	: Merkezi sinir sistemi
YBT	: Yiyecek bulma testi

ÖZET

ANOSMİDE MELATONİN OLFAKTÖR FONKSİYONLARI DÜZELTİR Mİ (ANOSMİK FARE MODELİNDE DENEYSEL ÇALIŞMA)

AMAÇ: 3-metil indol ile indüklenen kimyasal anosmi modelinde melatonin hormonunun koku hassasiyetini tekrar kazandırma potansiyelini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmada 16 fare denek olarak kullanılmıştır ve fare seçiminde, farelerin koku yeteneğinden emin olmak için yiyecek bulma testi uygulanmıştır. Fareler her grupta 8 fare bulunacak şekilde, melatonin grubu ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Deneklere intraperitoneal yolla 3-metil indol enjekte edilmiş ve anosmi oluşturulmuştur. Bir hafta sonra, melatonin grubundaki farelere melatonin enjeksiyonu uygulanırken, kontrol grubundaki farelere topikal salin uygulanmıştır. Deneklere melatonin enjeksiyonu sonrası 7., 14., ve 21. günlerde yiyecek bulma testi uygulanmıştır ve çalışmanın 21. gününde fareler kurban edilmemiş ve olfaktör nöroepitel histopatolojik olarak incelenmiştir.

BULGULAR: Çalışmadan elde ettiğimiz veriler, melatonin tedavisinin koku fonksiyonlarının iyileştirilmesinde etkili olduğunu ve bu etkinin 7., 14. ve 21. günlerde daha belirgin hale geldiğini göstermektedir ($<0,001$). Melatonin grubu ve kontrol grubu arasında histopatolojik özellikler açısından farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu farklılıklar, deneklerin dokularında görülen hasarın derecesini ve türünü göstermektedir. Melatonin grubundaki deneklerin histopatolojik skorları ve epitel kalınlıkları kontrol grubuna kıyasla farklılık göstermektedir.

SONUÇ: Bu çalışma, melatonin tedavisinin koku fonksiyonlarını düzeltebileceği ve farelerin yiyecek bulma yeteneklerini iyileştirebileceği yönünde güçlü bir kanıt sunmaktadır.

ANAHTAR KELİMELELER : Anosmi, Olfaktör, 3-Metil indol, Melatonin

DOES MELATONIN REPAIR OLFACTOR FUNCTIONS IN ANOSMIA (EXPERIMENTAL STUDY IN ANOSMIC MOUSE MODEL)

ABSTRACT

AIM: The aim of this study is to investigate the potential of melatonin hormone to restore olfactory sensitivity in a chemical anosmia model induced by 3-methylindole.

MATERIALS AND METHODS: Sixteen male mice were used as subjects in the study. In the selection of mice, a food-finding test was applied to ensure their olfactory ability. The mice were divided into two groups: the melatonin group and the control group, with 8 mice in each group. The subjects were intraperitoneally injected with 3-methylindole to induce anosmia. One week later, the melatonin group received melatonin injection while the control group received topical saline application. The subjects underwent food-finding tests on the 7th, 14th, and 21st days. On the 21st day of the study, the mice were sacrificed, and olfactory neuroepithelium was histopathologically examined.

RESULTS: Data obtained from our study indicate that melatonin treatment is effective in improving olfactory functions, and this effect becomes more pronounced on the 7th, 14th, and 21st days (<0.001). The results also reveal differences in histopathological features between the melatonin and control groups, reflecting the degree and type of damage observed in the subjects' tissues. Histopathological scores and epithelial thickness of the subjects in the melatonin group differ from those in the control group.

CONCLUSION: This study provides strong evidence that melatonin treatment can improve olfactory functions and enhance food-finding abilities in mice.

KEYWORDS : Anosmia, Olfactory, 3-Methylindole, Melatonin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koku, hayatımızda önemli bir rol oynayan duyuşsal bir deneyimdir. Ancak bazı durumlarda, çeşitli nedenlerle koku kaybı yaşanabilir (1). Anosmi, kokunun tamamen kaybedildiği bir durumu ifade eder. Anosmi, kişinin günlük yaşamını etkileyebilen bir sorundur ve yemeklerin tadını alamama, güvenlik riskleri ve sosyal etkileşimlerde zorluklar gibi pek çok olumsuz sonuçları olabilir (2,3).

Anosminin çeşitli nedenleri olabilir ve bunlar arasında sinüzit, travma, nazal polipler ve bazı ilaçlar sayılabilir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar, kimyasal maddelerin de anosmiye neden olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmalardan biri, 3-metil indolün bir kimyasal ajan olarak anosmiye yol açtığını göstermiştir (4,5).

3-metil indol, endüstriyel kimyasallar, pestisitler ve tarımsal ürünlerde bulunan bir bileşiktir (6). Solunması veya temas etmesi durumunda, sinir sistemini etkileyebilir ve koku kaybına neden olabilir (7,8). Bu nedenle, 3-metil indol ile indüklenmiş kimyasal anosmi üzerinde araştırmalar yapılırken, olası tedavi yöntemleri üzerinde de çalışılmaktadır.

Bu bağlamda, melatonin hormonunun anosmi üzerinde olumlu etkileri olduğunu gösteren araştırmalar yapılmıştır. Melatonin, vücutta doğal olarak salgılanan bir hormondur ve uyku düzenini düzenlemekle bilinir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, melatonin hormonunun sinir hücreleri üzerinde de etkili olduğunu ve nöroprotektif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (9,10).

Bu çalışmada, 3-metil indol ile indüklenmiş kimyasal anosmi modelinde intraperitoneal olarak uygulanan melatonin hormonunun anosmi üzerine etkilerini inceleyeceğiz. İntraperitoneal uygulama, melatoninin doğrudan karın boşluğuna enjekte edilerek sistemik dolaşıma hızlı bir şekilde geçmesini sağlar.

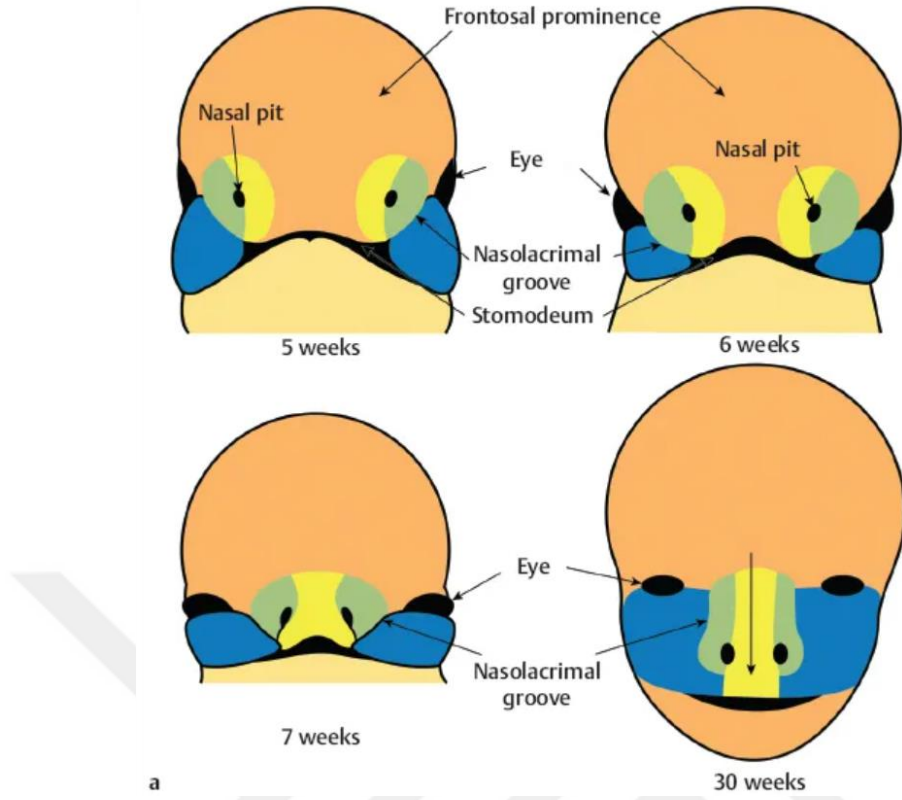
Araştırmanın amacı, melatonin hormonunun 3-metil indol ile indüklenmiş kimyasal anosmi modelinde kokuya olan duyarlılığı geri kazandırma potansiyelini değerlendirmektir. Bu çalışma, kokunun kaybedildiği durumlarda tedavi seçeneklerini artırabilir ve koku duyusunun geri kazanılması için umut verici bir yaklaşım sunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

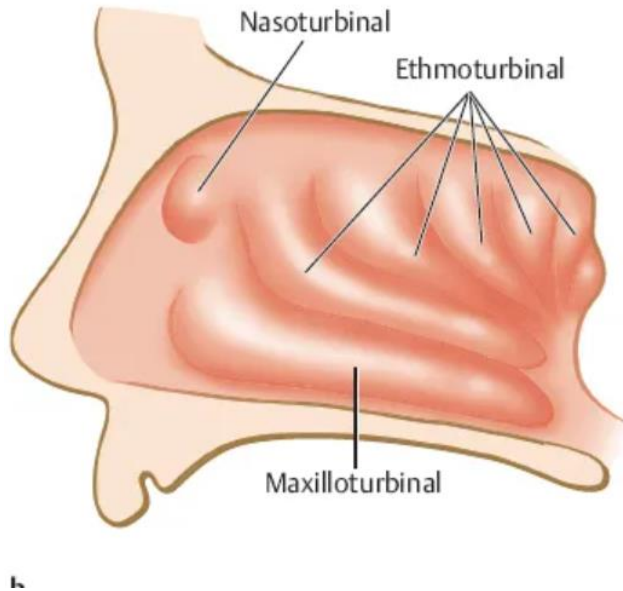
2.1. NAZAL EMBRİYOLOJİ

Fetal gelişimin dördüncü haftasının sonunda, nöral krest orijinli mezenkimal hücreler orta yüzdeki fasiyal çıkıntıları oluşturmak üzere toplanmaya başlar. Frontonazal çıkıntıların her iki tarafında, yüzey ektoderminin iki taraflı kalınlaşması olan nazal plakodlar oluşur. Beşinci hafta boyunca nazal plakodlar nazal çukurları oluşturmak için invajine olur ve çukurları çevreleyen doku çıkıntıları lateral ve medial nazal çıkıntıları oluşturur. Takip eden 2 hafta içinde maksiller çıkıntılar medial olarak genişlemeye devam ederek medial nazal çıkıntıları orta hatta doğru kaydırır. İki medial nazal çıkıntı sonunda birleşerek üst dudağın ve ön damağın medial kısmını oluşturur (Şekil 2.1). Yarık dudak, maksiller çıkıntılar ile intermaksiller segment arasındaki yetersiz temas ile ilişkilidir. Yarık damak, lateral damağın uygun şekilde kaynaşmaması nedeniyle ikincil olarak ortaya çıkar. Lateral nazal çıkıntı ile maksiller çıkıntı arasındaki yarık, nazolakrimal kanala dönüşür. Sonuçta, dış burun beş farklı yüz çıkıntısından elde edilir; frontal çıkıntı nazal köprüyü oluşturur, kaynaşmış medial nazal çıkıntılar ucu oluşturur ve lateral nazal çıkıntılar olur (11,12).

Lateral nazal duvar ve paranasal sinüslerin kesin embriyolojisi literatürde biraz tartışmalıdır (12-16). Ancak, geleneksel öğretisi, lateral nazal duvarda, gebeliğin sekizinci haftasında ortaya çıkan etmoturbinaller adı verilen bir dizi kıvrım olduğu yönündedir (Şekil 2.2).

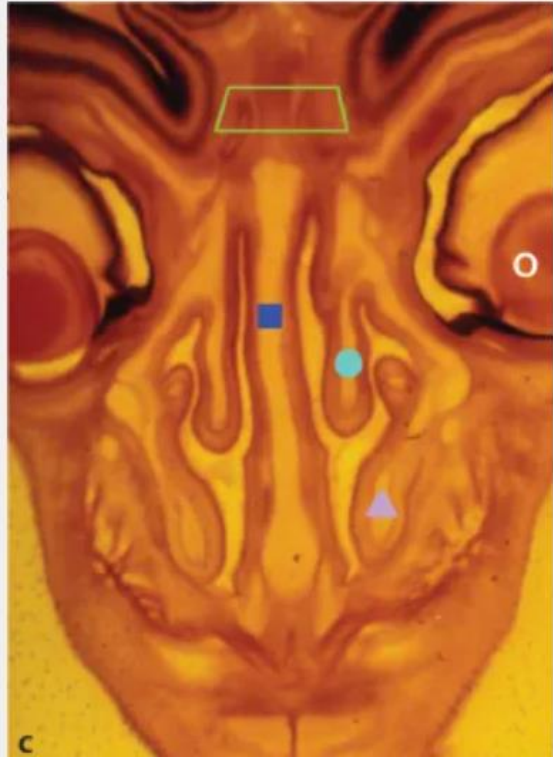


Şekil 2.1: Orta yüz ve burnun 5, 6, 7 ve 30. haftalardaki embriyolojik gelişimlerinin koronal tasvirleri. Sarı, medial burun çıkıntısı; yeşil, yan burun çıkıntısı; mavi, maksiller çıkıntı; açık ten rengi, çene çıkıntısı.



Şekil 2.2: 8 haftalık bir embriyoda etmoturbinaller, maksilloturbinal ve nazoturbinal bölgeleri temsil eden sagittal şematik çizim.

Başlangıçta etmoturbinaller beş ile yedi kat görünür, ancak bir füzyon ve regresyon sürecinden sonra, 15. haftaya kadar üç veya dört kat kalır. Bu kıvrımların etmoid kökenli olduğu kabul edilir ve sonunda lateral nazal duvarda üst konkalar haline regrese olur (17). İlk etmoturbinal regresyon gelişme döneminde ve ilkel haliyle kalır; yükselen kısım agger nasi olur ve inen kısım uncinatı oluşturur. İkinci etmoturbinal sonunda orta konkaya dönüşür ve üçüncü etmoturbinal üst konkayı oluşturur. Dördüncü ve beşinci etmoturbinallerin birleştiği ve suprem konka haline geldiği düşünülmektedir. Maksilloturbinal olarak bilinen maksiller kökenli ayrı bir sırt, etmoturbinallerin altında oluşturulur ve alt konkanın nihai şekli oluşur. İlginç bir şekilde, bazı araştırmacılar alt, orta ve üst konkaların 8. haftada tanımlanabileceğini ve bunların doğrudan kıkırdaklı burun kapsülünden geliştiğini düşünüyor; bu nedenle, yukarıda kullanılan embriyolojik terimlerin gereksiz olduğunu önermektedir (14) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 :Alt konka (mor üçgen), orta konka (su dairesi), beyin (yeşil yamuk), sol göz (beyaz O) ve nazal septumun (mavi kare) erken gelişimini gösteren 8 haftalık embriyonun koronal histomikrografisi. (Carnegie Collection etap 23, Dr. David H. Henick'in izniyle.)

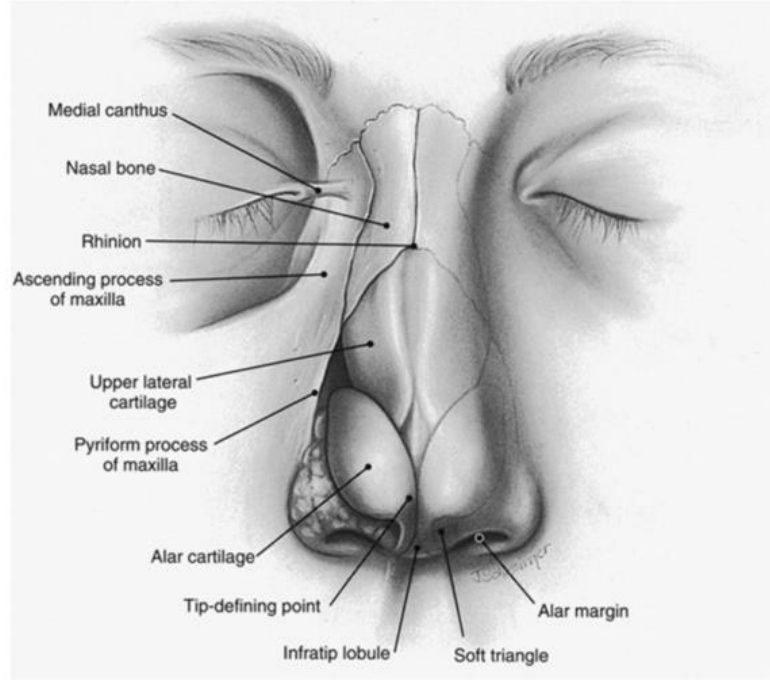
Etmoturbinaler arasında oluşan birincil oluklar, nihayetinde çeşitli meatuslara ve girintilere yol açar. Birinci birincil yarık, birinci ve ikinci etmoturbinaler arasında oluşturulur. İlk birincil oluğun inen kısmı etmoid infundibulum, hiatus semilunaris ve orta meatusu oluşturur. Yükselen kısım, ön girintinin oluşumuna katılır. İkinci ve üçüncü birincil oluklar, sırasıyla üst ve suprem meatus haline gelir.

Paranasal sinüsler, sırt ve oluklardan gelişimine ek olarak, burun boşluğunu çevreleyen kıkırdaklı bir kapsülden de katkı alır. Bazı araştırmacılar bu kıkırdaklı nazal kapsülün paranasal sinüslerin ve lateral nazal duvar yapılarının gelişiminde ana rolü oynadığını ve çıkıntılarının ve olukların gelişiminin ikincil bir fenomen olduğunu öne sürdüler (14). Paranasal sinüslerin gelişiminin ayrıntılı mekanizması hala tartışılmaktadır, ancak tüm paranasal sinüslerin etmoid bölgeden kaynaklandığı açıktır (18).

2.2. NAZAL ANATOMİ

Burun Geleneksel olarak, yüzün yaklaşık olarak eşit uzunluktaki estetik üçte birlik kısımlara bölündüğü düşünülür: üst, orta ve alt kısımlar. Orta üçlü, glabella'dan kolumella'nın üst dudağa geçiş yaptığı orta hat noktası olan subnasale'ye kadar olan yapıları kapsar. Yüzün alt üçte biri, burun altı ile mentum arasındaki bölümü ifade eder. Mentum çenenin en aşağı noktasıdır (19).

Dış burun yüzün orta hattında piramidal bir yapıdır. Burnun oranları cinsiyete, yaşa ve etnik kökene göre değişebilir (20). Yüz analizinde yüz dikey beşli ve yatay üçlü olarak ikiye ayrılır. Burun, yüzün orta dikey beşinci ve orta yatay üçte birlik kısmının birleştiği yeri işgal eder. Burun, burun kemiklerinin frontal kemiğe veya nazofrontal suture (yani nasion) bağlanmasıyla başlar ve burun ucuna kadar uzanır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Nazal mimetik kaslar. (Jaye Schlesinger'ın izniyle, Ann Arbor, Mİ.)

Burun Boşluğunun Çatısı: Burun boşluğunun çatısının mukozası, kribriform plaka ile iletişim kuran açıklıklar içerir. Bu deliklerin içinde koku aksonları bulunur (21).

- Anterior: frontal kemiğin burun omurgası ve burun kemiği
- Posterior: etmoidin kribriform plakası ve sfenoidin gövdesi

Burun Boşluğunun Tabanı: Burun boşluğunun tabanı çatıya göre daha geniştir (21).

- Anterior: maksillanın palatin parçası
- Posterior: palatin kemiğinin yatay plakası

Kesici Kanal: Bu kanal burun boşluğunun tabanında, merkezi kesici dişin arkasında ve burun septumunun yan tarafında bulunur. Bu yapı nazopalatin siniri ağız boşluğuna, büyük palatin arteri ise burun boşluğuna iletir (21).

Nazal septum: Burun boşluğunu iki eşit fakat ayrı bölmeye ayırır. Kıkırdak ve kemik nazal septumu oluşturur. Burun boşluğunun yan duvarlarından farklı olan

skuamöz epitel ile kaplıdır. Ön septumun bir kısmı erektıl dokuyıa kaplıdır. Ayrıca burnun orta üçte birlik kısmını oluşturan üst yan kıkırdak adı verilen yan çıkıntılara da katkıda bulunur. Septumun kemikli kısmı havalanır ve aşırı genişlediğinde hava akışını engelleme potansiyeline sahiptir. Aşağıda septumun bileşenleri verilmiştir (21).

Septal kıkırdak: Bu, septumun en ön kısmıdır. Kiesselbach pleksusunu içerir (22).

Ekler:

- Superior: burun kemiğı
- Inferior: maksillanın anterior nazal spini
- Posterior-Superior: etmoidin dikey plakası
- Posterior- Inferior: vomer ve maksiller kret

Etmoid Dik Plakası: Etmoidin kribriform plakasından altta septal kıkırdağı doğru dikey bir çıkıntıdır (23).

Vomer: Etmoid kemiğın dikey plakasının altında ve biraz arkasında bulunur. Altta maksillanın nazal kretine ve palatin kemiğine yapışıkır (60).

Maksillanın Nazal Tepesi ve Palatine Kemiğı: Bu kemikler birlikte septal kıkırdak için alt desteğı oluşturur (23).

Maksillanın Ön Omurgası(spın): Maksiller kemiklerin oluşturduğu kemikli bir çıkıntıdır. Piriform açıklığın önünde yer alır ve üst dudağın filtrumunun üst kısmında ele gelir (Şekil 2.5 D,E) (23).

Burun Boşluğunun Yan Duvarı: Burun boşluğunun yan duvarında, konka adı verilen, medial olarak çıkıntı yapan, aşağıya doğru kavisli üç kemik bulunur. Orta ve üst konka etmoid kemiğın bir parçasıdır, alt konka ise tamamen ayrı bir kemiktir. suprem konka adı verilen normal bir varyant vardır. Bu konkalar mukoza ile kaplıdır (Şekil 2.5 B). Konkalar, havayı nemlendirme, ısıtma ve nemlendirme işlevlerine yardımcı olmak için burun boşluğunun yüzey alanını artırır. Konkalar dört kanal oluşturur. Bu kanalların üçüne meatus adı verilir ve dördüncüsü sfenoetmoidal girintidir (21,23-25).

Yan duvarın kemikleri:

- Etmoid kemik
- Palatin kemiğinin dik plakası
- Sfenoid kemiğın pterygoid sürecinin medial plakası
- Lakrimal ve maksiller kemiklerin medial yüzeyi
- İnförior konka

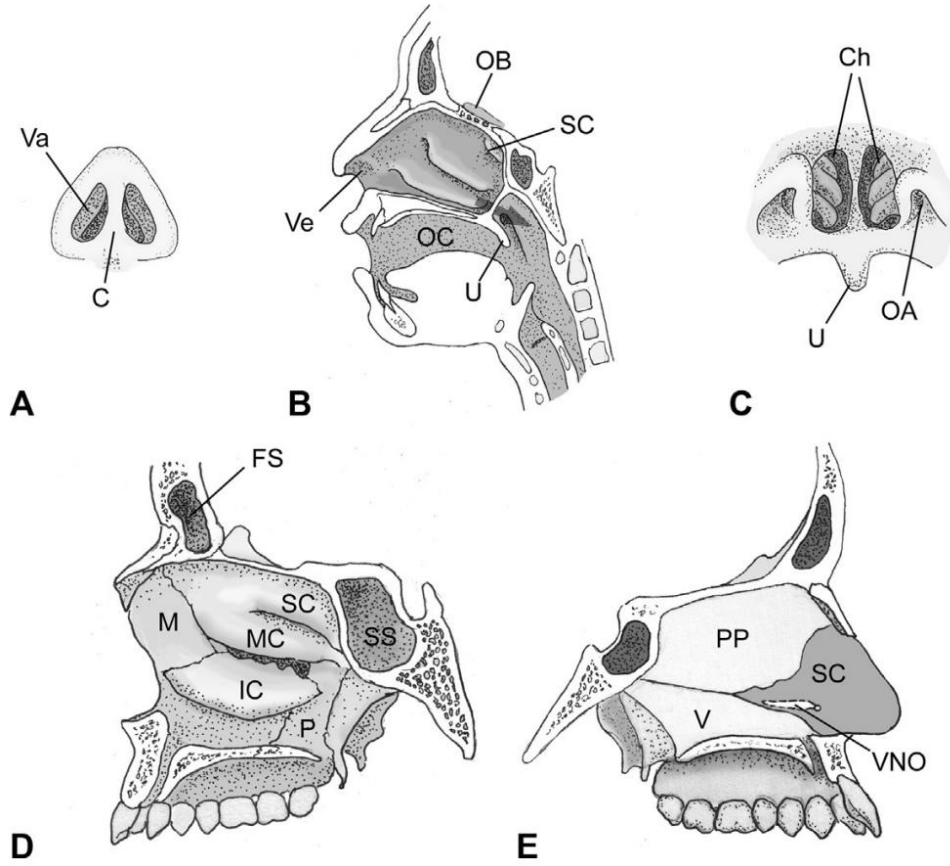
Sfenoetmoidal Reses: Üst konkanın üstünde ve sfenoid sinüsün drenaj alanı olan burun boşluğu çatısının altında yer alır (21,23-25).

Meatuslar:

Superior Meatus: Üst konkanın altında ve orta konkanın üstünde yer alır; burası posterior etmoid sinüsün drenaj bölgesidir.

Middle Meatus: Orta konkanın altında ve alt konkanın üstünde yer alır - bu etusun içinde çeşitli yapılar vardır. Burası frontal, anterior etmoid ve maksiller sinüslerin drenaj bölgesidir.

Inferior Meatus: Alt konkanın altında ve burun boşluğu tabanının üstünde yer alır. Nazolakrimal kanal, gözün orta kısmındaki lakrimal keseden gelen gözyaşlarını, Hasner valfi aracılığıyla bu kanalın ön kısmına boşaltır (21,23-25).



Şekil 2.5: Burun boşluğunu sınırlayan kemik ve yumuşak doku yapıları. (A) Aşağıdan ön burun delikleri, aynı zamanda nazal valfi (Va) ve kolumellayı (C) göstermektedir. (B) Hava ön burun deliklerinden geçtikten sonra giriş deliğine (Ve) girer ve ardından yan burun duvarında üç çift konkanın gösterildiği ana odaya girer. Üst konka (SC) sürekli olarak koku alma mukozasına sahiptir. Hava ana burun odasından koana yoluyla çıkar (ok sağ taraftaki koanadan geçmektedir). (C) Eşleştirilmiş koananın (Ch) arkadan görünüşü. Konkaların ana burun odasının içinde görülebilir. (D ve E) Burun boşluğunun kemik sınırları yan (D) ve orta (E) duvarlar için gösterilmiştir. Maksilla (M), lakrimal, palatin (P), alt burun konkaları (IC) ve etmoid kemik yan duvarı oluşturur. Üst ve orta burun konkaları (SC, MC) etmoid kemiğin çıkıntılarıdır. Etmoid kemiğin (PP) dikey plakası, her burun boşluğunun medial sınırını oluşturmaya yardımcı olur. Altta vomer kemiği (V) ve önde septal kıkırdak (SC) ile eklem yapar. Körelmiş vomeronazal organın (VNO) konumu belirtilmiştir. FS, frontal sinüs; OB, koku alma ampulü; OA, işitsel tüpün açılması; OC, ağız boşluğu; U, küçük dil (26).

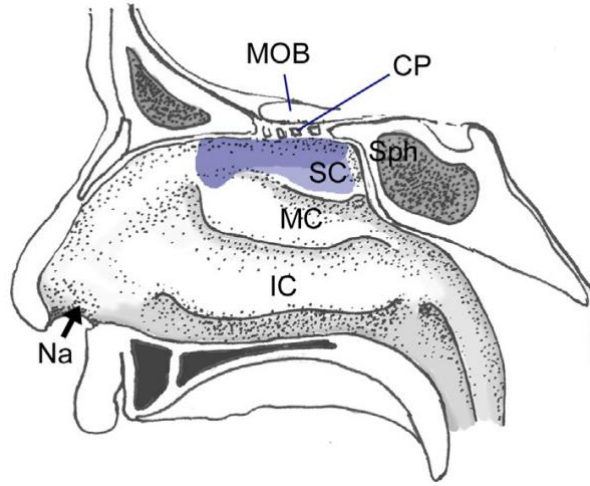
2.3. OLFAKTÖR SİSTEM VE ANATOMİSİ

2.3.1. Duyusal Reseptörler ve Primer Nöronlar

Koku alma sisteminin periferik elemanları, hücre gövdeleri, dendritleri ve ilk akson segmentleri, Nazal piramit çatısındaki koku alma nöroepitelyumu içinde yer alan 6 milyon bipolar reseptör hücreden oluşur (27). Bu psödostratifiye kolumnar epitel, oldukça vaskülarize kribriiform plakayı, superior septumu ve hem üst hem de orta konka sektörlerini kaplayan lamina propriayı kapsar (28). Reseptör hücre aksonları, etmoid kemiğin kribriiform plakasından çıkıntı yapar ve demetler oluşturduktan sonra olfaktör ampulün glomerüler tabakası içinde sinaps yapar. Hücre başına 3 ile 50 arasında reseptör taşıyan silyalar, reseptör hücrelerinin dendritik uçlarından üstteki mukusa doğru uzanır ve bazı durumlarda 30 mm'den fazla yayılır. İnsanda silyaların yüzey alanı 25 Mm²'dir (29).

Bipolar reseptör nöronları birkaç yönden benzersizdir. İlk olarak, hasar gördükten sonra bazal hücrelerden yeniden üretilebilirler. İkincisi, her hücre hem alıcı hücre hem de birinci dereceden bir nöron olarak hizmet eder ve bir aksonu burun boşluğundan beyine araya sinaps olmadan doğrudan yansıtır. Geniş yüzey alanları ve minimum ksenobiyotik metabolize etme kapasitelerinin yanı sıra dış çevreye oldukça doğrudan maruz kalmaları, onları çeşitli ksenobiyotik ajanların beynine birincil istila yolu haline getirir. Gerçekten de, birçok nörovirulent virüs, koku alma reseptör hücreleri aracılığıyla beyne nüfuz etme yeteneğine sahiptir (30). Son olarak, bu tür hücreler, koku veren ligandların yalnızca belirli elementlerine yanıt veren, bireysel olarak eksprese eden reseptörler oldukça gelişmiştir (31).

Koku iletimindeki ilk adım, koku moleküllerinin burun boşluğunun hava fazından koku alma mukusunun sulu fazına hareketidir (Şekil 2.6). Çoğu hidrofobik olan koku maddeleri daha sonra sulu ortamdan silyalarla koku alma reseptör proteinlerine dağılır veya taşınır, sonuçta reseptör hücrelerinde aksiyon potansiyellerini indükler. Nazal mukoza, nazal farenks veya ağız boşluğunda dağıtılan bu tür bir uyarım, öncelikle sıcaklık, soğukluk, keskinlik ve tahriş gibi "ortak kimyasal duyu"nun somatosensoriyel duyumlarını içerir (32).



Şekil 2. 6: Koku alma (mavi) ve koku almayan mukozaya sahip yetişkin insanın yan burun duvarı belirtilmiştir. Lateral burun duvarında, üst burun etlerinin (SC) bir kısmı ve orta burun etlerinin (MC) üst kısmı genellikle koku mukozasını taşır. Üst konkanın geri kalanına ne kadar uzandığı değişir (açık mavi). Ayrıca burun boşluğunun çatısında, olfaktör ampulün (OB) dayandığı kribiform plakanın (CP) karşısında bulunan koku mukozası da vardır ve son olarak nazal septum (gösterilmemiştir), burada yan duvar için gösterilenin hemen hemen tersi olan koku mukozasını taşır. Na, ön burun delikleri; Sph, sfenoid kemik (26)

Koku alma reseptörlerinde belirgin bir genetik çeşitlilik vardır. 1000 genlik büyük bir multigen kemirgen ailesinin, yedi transmembran alana sahip koku reseptörü proteinlerini kodladığı görülmektedir (33). İnsanlarda, bu reseptör gen ailesinin yarısından fazlası psödojendir, bu da fonksiyonel reseptör sayısının 500.18'den az olduğunu gösterir. Reseptör hücresi yalnızca bir tip koku alma reseptörü ifade eder, bu tür hücreler çok çeşitli koku maddelerine yanıt verir. Bununla birlikte, belirli bir reseptör, bir "genelci" olmasına rağmen, başka bir reseptörün yanıt verdiği tüm uyarılara yanıt vermez ve böylece nöronlar arası kalite kodlamasına izin verir (31).

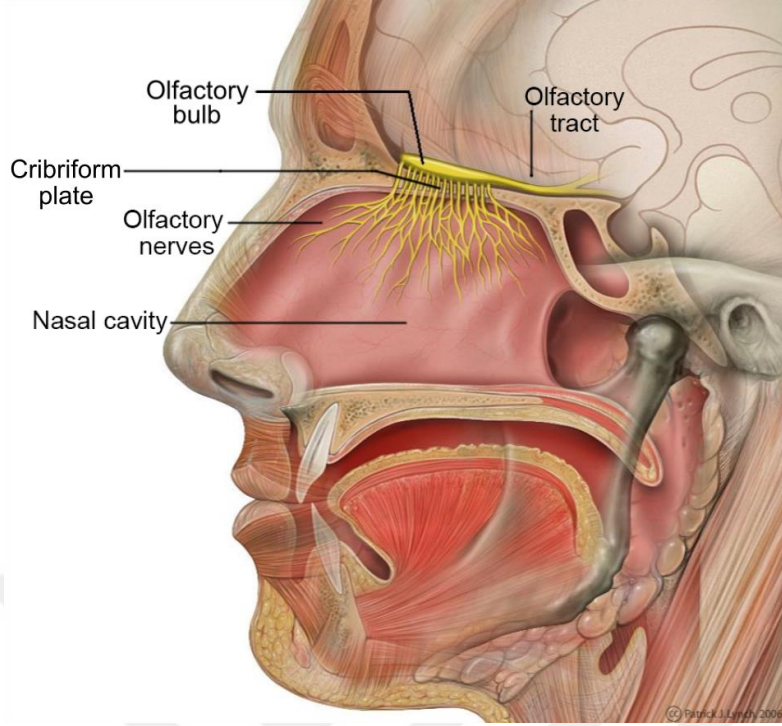
Olfaktör reseptör hücreleri, olfaktör nöroepitelyum içinde destek hücreleri veya destekleyici hücreler tarafından fiziksel olarak birbirlerinden izole edilir (28). Sonucu hücreler, mukusa mukopolisakkaritler salgılar, koku maddelerini detoksifiye eder ve bozar ve bazı molekülleri epitel boyunca nakleder. Bununla birlikte, koku alma epitelinin yüzeyini kaplayan mukusun çoğu, yalnızca koku alma epitelinde bulunan özelleşmiş bezler olan Bowman bezlerinden gelir. Bu epitel içindeki diğer hücre tipleri arasında bazal kök hücreler (epiteldeki tüm ana hücre tiplerinin öncüleri) ve insanlarda

sayıları 600.000 olan ve nazal mukusa mikrovillus demetleri gönderen, tam olarak anlaşılamayan mikroviller hücreler bulunur.

2.3.2. Koku Ampulleri ve Projeksiyonları

Her bir oval koku soğancığı (olfaktör bulbus), etmoid kemiğin cribriform plakasının üzerinde uzanan frontal lobun tabanında bulunur (Şekil 2.7). Koku ampulleri, tümü ince bir pia-araknoid hücre tabakasıyla çevrelenmiş nöronlar, afferent ve efferent sinir lifleri, çoklu internöronlar, mikrogliya, astrositler ve kan damarlarından oluşur (34). Ampulün hücresel ögeleri altı eşmerkezli katman halinde düzenlenmiştir: koku alma siniri tabakası, glomerüler tabaka, dış pleksiform tabaka, mitral hücre tabakası, iç pleksiform tabaka ve granül hücre tabakasından oluşur. İkinci katman, tüm ampulün hacminin yaklaşık yarısını oluşturur. Reseptör hücre aksonları, tek veya çift katmanlar halinde düzenlenen küresel koku ampulü glomerülleri içinde sinaps yapar. Bu yapıların sayısı genç kişilerde binlercedir ve koku alma sisteminin tanımlayıcı bir özelliğidir. Bununla birlikte, yaşla birlikte, glomerüllerin sayısı ve bütünlüğü büyük ölçüde azalır ve yaşlı kişilerde neredeyse yoktur (35). Glomerüllerin gelişimi ve devamlılığı, reseptör hücrelerin uyguladığı trofik etkilere bağlıdır. Belirli bir reseptör hücresi yalnızca bir veya iki glomerüle çıkıntı yaptığından, glomerüller aslında reseptör tiplerinin fonksiyonel temsilleridir (31).

Ampulün birincil çıkış nöronları olan ana ikinci derece nöronlar, mitral ve püsküllü hücrelerdir. Bu hücrelerin apikal dendritleri sadece koku alma sinir uçlarından değil, aynı zamanda çoğu GABAerjik veya dopaminerjik olan ara nöronlar ve santrifüj liflerinden de etkilenir (36). Granül hücreleri de dahil olmak üzere birçok bulbar ara nöron, subventriküler içinde olan progenitörlerle değiştirilir. Bu hücreler rostral göç akımı boyunca koku ampulüne göç ederler (37).



Şekil 2. 7: Olfaktör sinir (Patrick J. Lynch, medical illustrator'den alınmıştır)

2.3.3. Koku Korteksi

Mitral ve püsküllü hücre aksonları, ön koku alma çekirdeği (AON), piriform korteks, amigdalanın ön kortikal çekirdeği, periamigdaloid kompleksi dahil olmak üzere toplu olarak birincil koku alma korteksi olarak adlandırılan yapılar üzerinde sinaps yapmak için lateral koku alma yolu yoluyla ve rostral entorhinal korteks ampulü terk eder. Koku alma korteksinin bileşenleri, birbirleriyle ve birkaç yüksek beyin yapısıyla zengin (ve karşılıklı) ilişkilere sahiptir. Örneğin, entorhinal korteks, hipokampusun tüm uzunluğu boyunca afferent lifler sağlar. AON'nin piramidal hücrelerinin aksonları, sektörleri her ampulün arka segmentinde ve koku pedinkülünün rostral kısmında yer alır, ipsilateral ve kontralateral (anterior komissür aracılığıyla) rostral koku alma beyin yapılarına çıkıntı yaparak önemli bir rol oynar (38). Koku alma sistemi, lifleri talamusta sinaps yapmadan doğrudan kortikal bölgelere göndermede duyu sistemleri arasında benzersiz olsa da, birincil koku alma korteksi (örn. entorhinal korteks) ve ikincil arasındaki bağlantılar koku alma korteksi (örneğin, orbitofrontal korteks) dorsal medial talamus aracılığıyla gerçekleşir.

Genel olarak piriform korteks, koku kalitesi, kimliği ve aşinalığının üst düzey temsillerini kodlar ve koku alma, görme ve tat alma arasındaki koordinasyon bilgisinin yanı sıra kokuların öğrenilmesi ve hatırlanması ile ilişkilidir (39). Amigdalanın yalnızca duygusal olarak anlamlı yani hoş veya hoş olmayan kokuların yoğunluğu ilişkilidir. Entorhinal korteks, hipokampa giren bilgileri önceden işler, öğrenme ve hafıza ile yakından ilgilidir (39). Kaudal orbitofrontal korteks koku algılama ile ilişkilendirilirken, daha rostral bölgeler çalışma hafızası, koku tanıma hafızası, çağrışımsal öğrenme ve kısa ve uzun vadeli süreçlerle ilgilidir (39). Medial orbitofrontal korteks ve ventromedial prefrontal korteks hoş kokular tarafından aktive edilirken, lateral orbitofrontal korteks ve komşu inferior prefrontal korteks hoş olmayan kokular tarafından aktive edilir (40). Bu medial: hoş ve nahoş uyarılara karşı yanal tepki, diğer duyular için oluşur aynı zamanda, bu bölgelerin genel duyuşal haz işleme için önemli olduğu gösterilir.

2.4.FARE KOKU ANATOMİSİ

Farelerde burun ve nazal sistem, solunum, koku alma ve bazı davranışsal işlevler için önemli bir rol oynar. Fareler, burun deliklerinden hava alırken, bu havayı koku alma reseptörleriyle birleştirerek çevrelerindeki kokuları algırlar (41).

Farelerin burun delikleri, havanın içeri girmesine izin veren iki küçük açıklıktır. Bu delikler aracılığıyla havayı çekerler ve burun boşluklarına yönlendirirler. Burun boşlukları, koku alma reseptörlerine ev sahipliği yapan özel yapılar olan koku epiteli ile kaplıdır. Koku epiteli, burun boşluğunun iç yüzeyinde yer alır ve binlerce koku reseptör hücresi içerir (41). Farelerin koku alma yetenekleri, bu koku reseptör hücrelerinin çeşitliliği ve hassasiyeti sayesinde oldukça gelişmiştir.

Memelilerin burun boşlukları arasındaki tüm benzerliklere rağmen, farklı türler arasında, özellikle her birindeki burnun birincil işlevi konusunda belirgin farklılıklar vardır. Köpek gibi diğer türlerde olduğu gibi kemirgenlerde de burun koku alma işlevinde önemli bir rol oynar ve bu hayvanlar makrosmatik olarak adlandırılır (42). Makrosmatik hayvanlar, daha geniş bir koku alma bölgesi ve daha karmaşık konkalarla daha doğru bir koku alma kapasitesine sahiptir (43). Dışarıdan, burnun rinarium olarak bilinen en kraniyal bölgesi (Şekil 2.8), burun delikleri (Nares) adı verilen, kaudolateral olarak yönlendirilmiş, burun tüberkülleri ile birbirinden ayrılmış

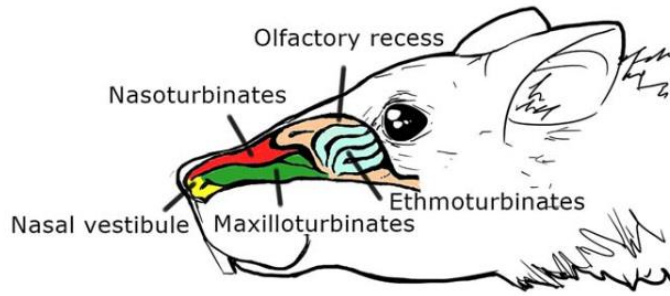
iki doğal açıklıktan oluşur. Ortanca bir oluk (sulcus medianus) veya philtrum ile birbirinden ayrılan nazal tüberküller belirgindir ve parmak izleri gibi her hayvanın özelliği olan küçük tepelerle kaplıdır.



Şekil 2. 8: Sıçan rinariumunun dış anatomisi

Rinaria'nın daha kraniyal kısmında, burun delikleri yarım daire şeklindedir ve yanal ve dorsal olarak alar kıvrımlarla çevrilidir. Daha kaudal olarak bir daralma meydana gelir ve burun boşluğuna erişim dar bir yarıktan sağlanır (44). Sıçan ve fare burun boşluklarının (Cavum nasi) makroskopik özellikleri aynıdır. Boşluk, burun deliklerinden nazofarenkse kadar uzanır ve nazal septum tarafından aynı ve simetrik iki odaya ayrılır (Septum nasi, 45). Septumun kıkırdaklı kısmı daha kraniyaldir ve doğrudan burun deliklerinin kıkırdakları ile eklemelenir; septumun kemikli ve daha küçük kısmı burun boşluğunun kaudal kısmında bulunur ve karın ile eklem yapar vomer, kaudalde etmoidal kemik ve dorsalda frontal ve nazal kemikler ile birliktedir (46,47). Nazofarenksin hemen kraniyalinde bir nazal septumda iki nazal odacık arasında bir ventral pencere oluşturan açıklık gözlenir (48). Nazal kavite, kraniyalden kaudala doğru dört bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2.9): vestibül nazal valv veya ostium, nazal odacık ve nazofarenks. Septumun kıkırdaklı kısmı daha kraniyaldir ve doğrudan burun deliklerinin kıkırdakları ile eklem yapar; septumun kemikli ve daha küçük kısmı burun

boşluğunun kaudal kısmında bulunur ve ventral olarak eklem yapar vomer, kaudalde etmoidal kemik ve dorsalda frontal ve nazal kemikler ile (46,47). Nazofarenksin hemen kranialinde, nazal septumda iki nazal odacık arasında bir ventral pencere oluşturan bir açıklığın varlığı gözlenir (48). Nazal kavite, kraniyalden kaudala doğru dört bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2.9): vestibül (Vestibulum nasi), nazal valv veya ostium, nazal odacık ve nazofarenks.



Şekil 2.9: Bir kemirgenin burun boşluğunun şematik gösterimi ve burun girişinin, nazotürbinatların, maksillotürbinatların ve etmotürbinatların göreceli konumu

2.4.1. Nazal Vestibül ve Ostium

Giriş, nazal kamaranın hemen önünde bir dilatasyon oluşturur ve esasen elastik kıkırdak ile çevrilidir; bu kıkırdak atriotürbinatlarda dorsal ve ventral bölgelerde farklılık gösterir (49). Atrioburninat, vestibülü sagittal düzleme 45° açıyla geçer. Kaudal yönde uzandığında maksillo-kranium ile devamlılık gösterir (44). Kemirgenlerde nazolakrimal kanallar ve lateral nazal bezlerin kanalları (Steno bezleri) vestibülde ventral ve dorsal olarak açılır. seröz ve seromukoz salgıların rezervuarı (50). Bu bölümün işlevi, solunan havayı alt solunum yoluna girmeden önce ısıtmak veya soğutmak, nemlendirmek ve filtrelemektir. Nazal girişte bulunan seyrek vaskülarizasyon göz önüne alındığında, filtrasyon derecesi kondisyonlamadan daha fazladır. Atrio-türbinatların varlığı, girişin boyutlarını önemli ölçüde azaltır, büyük hacimlerde havayı saptırır, parçacıkların çarpması yoluyla havanın filtrelenmesine yardımcı olur ve koku vericilerin koku alma girintisine doğru yönüne müdahale eder (51). Böylece nazal vestibül, öncelikle solunan havanın burun boşluğuna dağıtılmasından ve ayrıca dışarı verilen havanın yönlendirilmesinden sorumludur (47).

2.5.KOKU ALMA TEORİLERİ

Tüm duyuşal sistemler yaşıla birlikte değışikliklere uğrarken, koku alma sisteminde gözlenen değışikliklerin sağıık için benzersiz sonuçları olduğı kadar benzersiz nedenleri de vardır. Koku alma çok yönlüdür ve genellikle duyuşal algılama eşikleri, koku nitelikleri arasında ayırım yapma ve günlük kokuları doğru bir şekilde eşleştirme ile değeriendirilir (52,53). Günlük kokuların tanımlanması, bilişsel olarak zahmetli bir görev olan koku tanımlama (koku adlandırma) sağlanmadan da değeriendirilebilir (54,55). Çok sayıda çalışma, yaşılanmada koku alma fonksiyonlarının bozulduğunu göstermiştir (56-58). Yaşıla bağılı bozulma, koku kalitesi ayrımcılığında (57,59,60) ve koku yoğunluğu derecelendirmelerinde belirgi olduğunu gözlemlemiştir (61). Azalan koku yoğunluğu algısının yanı sıra belirgin koku alma adaptasyonu ve adaptasyondan daha yavaşı iyileşme, yaşılanma ve koku alma üzerine yapılan ilk çalışmalarda gösterilmiştir (62-66). Psikofiziksel araştırmalar, koku yoğunluğu ve kalite ayrımcılığının yanı sıra koku giderme ve kalite ayrımcılığının büyük ölçüde bağımsız, paralel işlenmesini önermektedir (67-70).

Diğer duyularda da geçerli olduğı gibi, koku alma yetenekleri hem duyuşal hem de bilişsel süreçlere dayanır. Duyusal yeteneklerden yararlanan görevler olarak uyarıda bulunulur ve algılanan koku yoğunluğu, uyarının büyüklüğü tarafından yönlendirilirken, aynı zamanda duyuşal keskinliğin bir yansımasını da sağlar. Kokunun tanımı, bazı algılama hassasiyeti, tanıma belleğı, koku-görsel entegrasyon gibi bilişsel veya transmodal yetenekler gerektirmektedir (57,71,72), ve koku algısı insanın günlük rutinleri için önemlidir (73). Azalan koku alma yeteneklerine bağılı olarak beklenebileceğı gibi, yaşılanan kişiler koku algılama yeteneğini kaybetmektedir (57,74,75). İşaretili koku tanımlamasına dayalı koku alma bozukluğu yaygınlık oranları orta yaşılı bireylerde %11'den %24'e, 70 yaşıında ise %37'den %70'e çıkmaktadır (76,77). Yaşılanmada bozulan diğer hususlar bilişsel koku alma işlevleri, epizodik koku tanıma belleğı, kokuya aşinalık algısı ve yenilebilirlik yargılarıdır (78-81). Bu nedenle koku alma, çoğı yaşılanma süreçleri tarafından zorlanan birçok yönü içerir.

Ortonazal koku alma ile ilgili sonuçlara göre, retronazal koku almada yaşılanmaya bağılı bozulmalar, deteksiyon, kalite ve yoğunluk, algılanan yoğunluk ve tanımlamada gözlenmektedir. Ayrıca, yaşılanan yetişkinlerin, ortalama olarak, yüksek yiyecek tat konsantrasyonlarını genç yetişkinlere göre daha az yoğun olarak

algıladıkları ve tatların optimal hoşluk konsantrasyonlarının yaşlılıkta daha yüksek olduğu bildirilmiştir (61,82-85).

Koku alma işlevlerinde azalma olan kişiler genellikle yaşam kalitesinde azalma, kişilerarası ilişkileri olumsuz etkiler, toksik maddeleri algılamama, kişisel hijyen üzerinde zayıf kontrol, günlük rutinlerde zorluklar ve buna bağlı depresyon belirtilmektedir (73,85).

Yapılan koku alma işlevine bağlı değişiklikler, koku alma reseptör hücrelerinin sayısında azalma, koku ampulü, amigdala, piriform korteks, ön koku alma çekirdeği ve ön kutuplar gibi koku alma beyin bölgelerinin hacminde azalma gibi anatomik ve fizyolojik değişikliklere bağlıdır (86-88). Yaşa bağlı nörokimyasal değişikliklerle ilgili olarak, asetilkolin, koku alma sistemi için kritik bir nörotransmitter olduğundan ve yaşlanan beyinde eksiklik gösterdiğinden özellikle ilgi çekicidir (87). Ayrıca, nigrostriatal dopaminerjik dejenerasyon ve putamenlerdeki striatal dopamin taşıyıcı için bağlanma potansiyelindeki yaşa bağlı azalmalar (89), yaşlanmadaki koku alma düşüşüyle bağlantılı olabilir.

Koku alma sistemi ne zaman yemeye başlayacağımıza, ne kadar yiyeceğimize ve ne yiyeceğimize karar vermemizde kilit rol oynar. Başlangıç, kısmen açlık ve yemek istekleri ile belirlenir. Gıda kokuları, örneğin kan-glikoz seviyesini düşüren ve açlık hissi yaratan insülin salgılayarak gıda alımını öncülük eder. Kokular ayrıca tükürük, mide asitleri ve enzimlerin salgılanmasını ve ayrıca metabolizasyona hazırlanmak için kardiyovasküler ve termal tepkileri tetikleyebilir (90). Edinsel duyuşsal kontrol, klasik koşullanma tarafından gıda isteklerinin uyandırıldığı bir yemeğin başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir (91). Bir yemek sırasında, bazı mekanizmalar sürekli yemeyi artırırken, diğerleri yemeyi sonlandırmayı artırır (92). Orbitofrontal korteks, insula ve amigdala bu bağlamda önemli roller oynar. Öğrenilmiş duyuşsal kontrol yemeğin sonlandırılmasına katkıda bulunabilir. Örneğin, kalori içeriğinin tada göre tahmin edilebileceği ve öğün boyutunun tada bağlı olarak ayarlanabileceği erken gösterilmiştir (93). Son olarak, klasik koşullanma ile bir öğeyi yenilebilirliği açısından tanımlamayı yaşamın erken dönemlerinde, öncelikle koku alma ipuçlarına dayanarak öğreniriz (94). Tercihler, annenin besin alımından kaynaklanan amniyotik sıvıdaki tatlarla daha doğumdan önce oluşmaya başlar (95,96).

Koku alma sürecini, insanların ve diğer hayvanların kokuları nasıl algılayıp işlediklerini açıklamaya çalışan birkaç teori vardır. İşte bazı temel koku alma teorileri aşağıda verilmiştir.

- Şekil Teorisi: Bu teori, koku veren moleküllerin burundaki koku alma reseptörlerine uyan belirli şekillere sahip olduğunu öne sürer. Her bir koku molekülü, belirli bir reseptör kombinasyonunu aktive eder ve reseptör aktivasyon modeli, farklı kokuları tanımlamak için beyin tarafından tanınır (97).
- Titreşim Teorisi: Bu teoriye göre koku molekülleri, koku alma reseptörleri tarafından algılanan belirli titreşimler üretir. Reseptörler bu titreşimleri beyin tarafından farklı kokular olarak yorumlanan nöral sinyallere dönüştürür (98).
- Kilit ve Anahtar Teorisi: Bu teori, belirli koku moleküllerinin, belirli koku alma reseptörlerinin kilidini açmak için "anahtarlar" görevi gören moleküler yapılara sahip olduğunu öne sürer. Bir koku molekülü bir reseptöre sığındığında, beyin tarafından belirli bir koku olarak işlenen bir nöral sinyali tetikler (99).
- Odotopt Teorisi: Odotopt teorisi, koku algısının, koku moleküllerinin benzersiz uzamsal düzenlemesi ve bunların koku alma reseptörleri ile etkileşimleri tarafından belirlendiğini öne sürer. Her koku molekülü, reseptörler tarafından tanınan ve beyin tarafından kodu çözülen belirli bir üç boyutlu modele veya odotopa sahiptir (100).
- Reseptör Çeşitliliği Teorisi: Bu teori, koku alma reseptörlerinin geniş bir hassasiyet aralığına sahip olduğunu ve her reseptörün, değişen afinitelere sahip birden fazla kokuyu algılayabildiğini varsayar. Beyin daha sonra kokuların algısal bir temsili oluşturmak için farklı reseptörlerin aktivasyon modellerini birleştirir (99).

Koku alma alanının hala aktif olarak araştırıldığını ve arkasındaki mekanizmalara ilişkin anlayışın gelişmeye devam ettiğini not etmek önemlidir. Bu teoriler, koku almanın nasıl çalıştığına dair farklı bakış açıları sağlar, ancak bu karmaşık duyuşal süreç hakkındaki bilgimizi geliştirmek ve genişletmek için devam eden tartışmalar ve araştırmalar vardır.

2.6. ANOSMİ TANIMI

Koku, kemosensasyonun %95 ile %99'unu oluştururken, tat kemosensasyonun geri kalanını oluşturmaktadır. Anosmi, koku algılayamama durumudur ve geçici ya da kalıcı olabilir. Anosmi, birçok etmene bağlı olarak olabilir; edinsel veya doğuştan olabilir. Örneğin, kokuların koku alma sinirlerine ulaşmasını engelleyen herhangi bir mekanik tıkanıklık, koku duyusunun kaybına neden olabilir (101). Bu tıkanıklık, mukus tıkaçlarına veya nazal poliplere neden olan basit enfeksiyonlar gibi enflamatuar süreçlerden kaynaklanabilir. Nörolojik nedenler, koku ampulünü oluşturan duyuşal sinirlerde veya koku sinyalinin beyne iletilmesi sırasında herhangi bir noktada rahatsızlıkları içerebilir (101,102).

İnsanların kokuyu nasıl algıladıklarını daha iyi anlamak için, kokunun algılanma sürecini anlamak önemlidir. Havada koku molekülleri olan bir parçacık bulunduğunda, burun kanallarından geçerek burun boşluğuna ulaşır. Burada, koku alma reseptörü nöronları, beynin cribriform plakasında bulunan koku ampulünden uzanır. Her burun boşluğu yaklaşık olarak 5 milyon alıcı hücre veya nöron içerir. Koku alma reseptör hücrelerinin yüzeyinde 500 ile 1000 farklı koku bağlayıcı proteini bulunur ve her bir koku alıcı hücre yalnızca bir tür bağlayıcı protein ifade eder. Bu koku alma nöronları (kranial sinir I), kimyasal bir sinyali (havadaki parçacıkları) elektrik sinyaline dönüştürür ve bu sinyal daha sonra iletilerek beyin tarafından algılanır. Koku ampulünden gelen sinyal, piriform korteks, entorhinal korteks, amigdala ve hipokampus gibi beyin yapıları tarafından daha fazla işlenir. Kokunun iletilip işlendiği yol üzerindeki herhangi bir tıkanıklık veya hasar, anosmiye (koku kaybına) neden olabilir (101-104).

2.7. ANOSMİNİN ETİYOLOJİSİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ

Anosmi, farklı etiyolojik faktörlerden kaynaklanabilir. Anosmiye yol açan bazı genel etiyolojik faktörler enfeksiyonlar, kafa travmaları, sinir sistemi hastalıkları, genetik faktörler, ilaçlar ve yaşlanmadır (105).

Enflamatuar ve obstrüktif bozukluklar anosmi vakalarının %50 ile %70'ini oluşturmaktadır. Bunlar, anosminin en yaygın nedenleridir ve bunlar arasında nazal ve paranasal sinüs hastalığı (rinosinüzit, rinit ve nazal polipler) bulunur. Bu bozukluklar,

doğrudan tıkanmanın yanı sıra mukozanın iltihaplanması yoluyla anozmiye neden olur (105).

Kafa travması, burun veya sinüslerde mekanik bir tıkanıklığa yol açabilecek hasara neden olabileceğinden, kafa travması anosminin başka bir yaygın nedenidir. Bir yaralanmanın anosmiye neden olabileceği diğer yollar, kribriiform plakada bulunan koku alma aksonlarının travması veya yıkımı, koku ampulünün hasar görmesi veya serebral korteksin koku alma alanlarının doğrudan yaralanmasıdır. Anosmiye yol açan merkezi sinir sistemi (SSS) travması, yaralanmanın alanı ve boyutuna bağlı olarak geçici veya kalıcı olabilir. Koku alma nöronları, vücuttaki diğer SSS sinirlerinin sahip olmadığı rejeneratif yeteneklere sahiptir. Bu benzersiz yetenek, kök hücre ile ilgili mevcut araştırmaların çoğunun merkezi olmuştur (105).

Pek çok araştırma, ilerleyen yaşla birlikte insanlarda koku alma yeteneğinde bir azalma olduğunu göstermiştir (52,62,106-110). Araştırmacılar, koku tespiti (eşik), kalite ayrımı ve koku tanımlama dahil olmak üzere birkaç farklı psikofiziksel ölçüm kullanarak bu kaybı belgelemiştir. Eşik üstü kokuların algılanması da yaşla birlikte azalıyor gibi görünmektedir (111). Koku alma yeteneğindeki bu düşüşler, 69 yaşından sonra her iki cinsiyette de görülmektedir; ancak kadınlar her yaşta kokuları belirlemede erkeklerden daha iyidir (76,111,112).

Bir hastalığın altında yatan genleri anlamak çok önemlidir. Konjenital körlük ve sağırılık gibi diğer kalıtsal duyu kusurlarının genetik temeli iyi araştırılmıştır ve bu bozukluklar için, hatalı genin çalışan bir genle değiştirildiği hücre ve gen terapilerinin geliştirilmesinde etkili olmuştur. Anozminin genetik temeli ise tam olarak anlaşılamamıştır. Kallmann sendromu gibi sendromik anosmi vakalarında yer alan genlerin tanımlanmasında bazı ilerlemeler kaydedilmiştir (113,114), ağrıya kayıtsızlık (115-117), ve CHARGE sendromu (118,119).

Anosmi ile ilişkili konjenital durumlar Kallmann sendromu ve Turner sendromunu içerir. Anozminin COVID-19 enfeksiyonunun erken belirtilerinden biri olduğu söylenmektedir (120).

İlaçlardan kaynaklanan kemosensiyel şikayetler, acı veya metalik tatlar, azalmış keskinlik ve algısal bozulmalar gibi olumsuz duyuları içerir. Bununla birlikte, ilaçlardan ve diğer nedenlerden kaynaklanan bu olumsuz duyuların sınıflandırılması, tıp literatüründe küresel olarak standardize edilmemiştir.

Kemosensör bozuklukları için en yaygın terimler şunlardır: ageusia (tat almanın tamamen kaybı), hypogeusia (azalmış tat duyusu), hypergeusia (tat duyusunda artış), disguzi (bozuk tat duyusu), fantogeusia (oral uyarı olmadan ortaya çıkan tat), anosmi (koku almanın tamamen kaybolması), hiposmi (koku alma duyusunda azalma), hiperozmi (kokuya karşı artan hassasiyet), disozmi (bozuk koku alma duyusu) ve fantosmi (uyarılma olmadan ortaya çıkan koku). Bilimsel literatürde belirtilen ilaçlardan kaynaklanan tat alma bozukluğunun çoğu, hipoguzi veya tat alma bozukluğunu içerir. İlaçlardan kaynaklanan koku alma şikayetlerinin çoğu hiposmi, hiperosmi ve disozmiyi içerir. Bu tat ve koku alma bozuklukları sadece bir rahatsızlık değildir, özellikle yaşlılarda ilaç kullanımına uyumu ve yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltabilir ve gıda alımını ve beslenme durumunu da etkileyebilir (121-123).

Anosminin etiyolojisi oldukça çeşitlilik gösterir ve her bireyde farklı olabilir. Anosmiye neden olan faktörler karmaşık ve çeşitli olabilir, bu nedenle kesin bir nedenin tespit edilmesi bazen zor olabilir. Anosmiye yol açabilecek pek çok potansiyel etken vardır. Birçok anosmi vakası, üst solunum yolu enfeksiyonları gibi geçici durumlarla ilişkilidir ve zamanla kendiliğinden düzelebilir. Ancak, bazı durumlarda, anosmi kalıcı olabilir ve daha ciddi bir altta yatan nedeni işaret edebilir. Sinir hasarı, beyin tümörleri, sinir sistemini etkileyen hastalıklar veya doğuştan gelen genetik bozukluklar gibi daha karmaşık durumlar, kalıcı anosmiye yol açabilir (124,125).

Anosminin kesin prevalansı hakkında net bir veri bulmak zordur, çünkü birçok anosmi vakası hafif veya geçici olabilir ve tıbbi yardım aramadan geçirilebilir. Ancak, yapılan araştırmalar, toplumda anosmi sıklığının %5 ile %20 arasında olduğunu göstermektedir. Bu oranlar yaş, cinsiyet ve coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterebilir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde anosmi, 40 yaşından büyük yetişkin nüfusun %3'ünü etkilemektedir. Bozulmuş koku alma prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. 2016 yılında, Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayene Anketi (NHANES), 1818 katılımcının dahil olduğu koku alma bozukluğunu ölçmüştür. Veriler, koku alma bozukluğunun 40-49 yaşlarında %4, 50-59 yaşlarında %10, 60-69 yaşlarında %13, 70-79 yaşlarında %25 ve 80 yaşın üzerinde %39 olduğunu göstermiştir. Anosmi, 60 yaşın üzerindeki kişilerin %14 ile %22'sini etkilemektedir (126).

2.8. ANOSMİ TEŞHİSİ VE TEDAVİSİ

Yeni başlayan anosminin prognozu, altta yatan nedene bağlıdır. Altta belirli bir tıbbi tetikleyici olduğunda, bu tetikleyicinin kesilmesi genellikle iyi bir iyileşme sağlar (yani sigara ve ilaçlar). Travmatik koku alma bozukluğu olan hastaların yaklaşık %30'u çoğunluğu 12 hafta içinde olmak üzere iyileşme bekleyebilir (127). Viral enfeksiyon sonrası anosmi, %35 ile %67 arasında olduğu tahmin edilen daha geniş bir iyileşme aralığına sahiptir (128). Şu anda COVID-19 ile ilişkili koku kayıplarının hastaların %90'ında 4 hafta içinde önemli ölçüde iyileştiği bildirilmektedir (129).

Muayene, koku bozukluğunun potansiyel nedenlerini ortaya çıkarabilir. Muayenelerin sıklıkla negatif olduğunu ve bu nedenle iyi bir hasta öykünün çok önemli olduğunu vurgulamakta önem vardır. Burun akıntısı, deviye nazal septum, büyük nazal polipler veya kitleler, yabancı cisimler veya rinit gibi bulgular sebep olabilir. Nörolojik muayene anamnez rehberliğinde yapılmalıdır. Genel olarak, optik sinir, trigeminal sinir ve fasiyal sinire odaklanan bir kraniyal sinir muayenesi yararlıdır. Optik disk, artmış kafa içi basınç belirtileri açısından incelenebilir. Anamnezde şüphe varsa hafıza değerlendirmesi ve Parkinson hastalığının belirtileri için muayene gerekebilir (127). Koku alma duyusunun daha ayrıntılı kantitatif değerlendirmesi, standartlaştırılmış koku tanımlama testleri ile yapılabilir. Bunlar, üstlenilmesi gereken kaynaklar nedeniyle genellikle yalnızca ikinci basamaktaki özel koku kliniklerinde gerçekleştirilir (130).

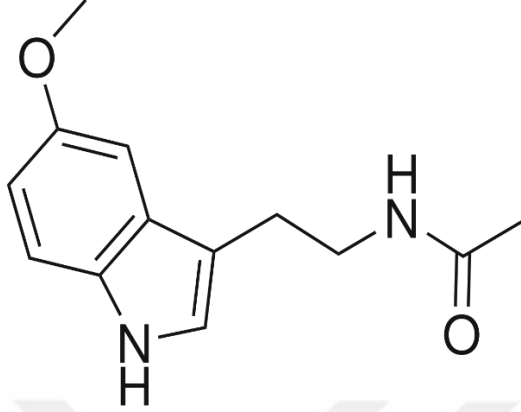
Olfaktör fonksiyon bozukluğu olan hastaların büyük bir kısmı birinci basamakta tedavi edilebilir. İkinci merkeze sevk endikasyonları, herhangi bir "tehlike işareti" semptomu olan veya 6 haftadan uzun koku alma bozukluğu olan hastaları içerir. Bu, semptomların COVID-19 enfeksiyonu semptomlarıyla çakışması durumunda farklılık gösterir. Bu durumda spontan düzelmeyi gözlemlemek için 3 ay sonra sevk yapılmalıdır (131). Ayrıca, hastanın atipik bir prezentasyonu varsa veya ilk tedaviye yanıt vermemişse, bu ikinci basamak bir sağlık kuruluşuna sevk için bir endikasyon olacaktır. Tedavi birincil patolojiyi hedef almalıdır. Birinci basamakta bunun çoğunluğu primer nazal patolojiyle (kronik rinosinüzit, alerjik rinit, akut sinüzit ve yakında) ilişkilidir. Hastalığa özgü tedavilere ek olarak, intranazal kortikosteroidler bu hastalar için tedavinin temel dayanağıdır (110,127,128,132). En son öneriler, 2 haftadan uzun süren anozmi vakalarında intranazal kortikosteroid denemesinin

başlatılması gerektiğini belirtmektedir. Bu, klinisyenin takdirine bağlı olarak daha güçlü steroid damlaları ve nazal salin duşu ile artırılabilir. Oral kortikosteroidlerin kronik rinosinüzitte ve bir dereceye kadar post-viral anozmide koku üzerinde olumlu bir etkisinin olduğu gösterilmiştir (ancak bu vakada kanıtlar daha az güçlüdür) (128,132). COVID19 tedavisi için öneriler ilişkili anosmi, COVID-19 ile ilgili diğer semptomların düzelmesini takiben, kalıcı semptomlar için 2 hafta sonra kısa bir yüksek doz oral steroid kürü düşünülmelidir (131). Herhangi bir neden belirlenemezse ve anosminin idiyopatik veya post-viral olduğu düşünülürse, çeşitli farklı diyet takviyelerinin önerileri olmuştur. Bunlar çinko, alfa lipoik asit, a vitamini ve omega 3.5'i içerir. İkinci basamakta değerlendirilecek ve şüphelenilen nedene göre belirlenecektir. Örneğin, nazal polipler gibi koku iletiminin bozulduğu nedenler için bir BT taraması yapılabilir. Hiçbir nedenin belirlenemediği veya sensörinöral bir nedenin düşünüldüğü durumlarda, anterior kranial fossa tümörleri veya demiyelinizan durumlar gibi intrakraniyal patolojileri dışlamak için Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yapılabilir (127). Cerrahi tedavi gerekli değilse ve tıbbi tedavi başarısız olursa, koku alma eğitimi için özel bir koku kliniğine sevk etmek mümkündür. Bu kliniklerden elde edilen sonuçlar, özellikle enfeksiyon sonrası kayıplarda umut vericidir (127). Anozmili hastaların yarısında, izolasyon, depresyon ve ilişkilerde zorluklarla birlikte ruh sağlığı sorunları vardır (128). Bu nedenle, bütüncül bir yaklaşım almayı hatırlamak önemlidir. Koku alma duyumuz aynı zamanda gaz kaçağı, bozulmuş yiyecek gibi tehlikelere karşı korunmak için bir uyarı sistemi olarak gereklidir. Anosminin tedavisi altta yatan nedenlere bağlıdır ve her birey için farklı olabilir.

2.9. MELATONİN VE KİMYASAL YAPISI

Melatonin, epifiz bezi tarafından üretilen ve gece serbest bırakılan bir uyku düzenleyici hormondur (133). Bitkilerden hayvanlara ve mikroorganizmalara kadar neredeyse tüm canlı organizmalarda biyolojik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Düşük moleküler ağırlığı ve amfifilik doğası nedeniyle melatonin, hızla hücrelere

bilipid tabakası aracılığıyla girebilir ve oksijen serbest radikallere karşı arındırıcı aktivite gösterebilir, aynı zamanda antioksidan özelliklere sahiptir (Şekil 2.10) (134).



Şekil 2.10: Melatoninin kimyasal yapısı

Çevresel dokuların bu hormona (melatonin) yüksek afinitesi olduğu ve dolayısıyla reseptörlere ve bağlanma sitelerine etki ettiği görülmüştür (135,136). Tan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar, melatonin'in mitokondride de üretilebileceğini ve bu nedenle doku düzeyindeki melatonin seviyelerinin serum seviyelerinden daha yüksek olduğunu göstermektedir, bu nedenle mitokondriye hedef olan bir molekül olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (137). Melatonin'in temel fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri arasında uyku indüklemeye etkileri (138,139), antioksidan davranış (140-143), anti-inflamatuar aktivite (142-145), anti-apoptotik etkiler (146) ve nörokoruyucu (140,141,147) etkiler bulunur. Ayrıca, beynin çeşitli fizyolojik fonksiyonlarını düzenler. Melatonin, kan-beyin bariyerini hızla geçebilme yeteneği sayesinde beyin yaralanmalarının tedavisinde etkili bir şekilde kullanılır (139,142,148). Hızlı göz hareketi uyku bozukluğu hastaları, melatonin ve klonazepam kombinasyon tedavisi ile yönetilir (149-151). Melatonin'in anti-inflamatuar bağırsak hastalığında antikolitik etkilerde yer alan bakterilerin Toll-benzeri reseptör-4 yoluyla algılanması ve bakterilerin değişen goblet hücreleri ve antimikrobiyal peptitler aracılığıyla düzenlenmesi rol oynar (152). Melatonin, yaşlanma sürecinde, ergenlik dönemine yönelik büyüme ve kan basıncının modülasyonunda yer alır (153). Bu çok yönlü bileşik, tümör karşıtı ilaçlar olan doketaksel ve vinorelbin tarafından tetiklenen pro-angiyojenik ve anti-angiyojenik

etkileri engeller ve bu ilaçların tümörle savaşma davranışını artırır (154). Bu molekül, sıçan pankreatik stellat hücrelerinin redoks durumunu değiştirebilir. Önemli bir antioksidan ve anti-enflamatuar etkiye sahip olduğundan uygun maliyetli ve güvenlidir. Kimyasal olarak N-asetil-5-metoksitriptamin olan melatonin, triptofan türevidir, çok sayıda fizyolojik etkiye sahiptir ve özellikle solunum yolu hastalıkları gibi virüs enfeksiyonlarıyla ilişkili birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilir. Sindirim komplikasyonlarına sahip COVID-19 hastalarında melatoninin olumlu etkileri vardır (155). Dolayısıyla melatonin, mevcut bir antiviral tedavi olmaması nedeniyle yardımcı veya hatta düzenli bir tedavi olarak kullanılabilir. Melatonin salınımının yaşla birlikte azaldığını gösteren elektrokimyasal ölçümler bulunmaktadır (156). Melatonin tedavileri, Salvia türlerinde esansiyel yağ üretiminin artırılmasına neden olmaktadır (157).

2.9.1. Melatoninin Özellikleri

Melatonin, özellikle epifiz bezinde sentezlenen bir hormondur ve uyku üzerinde önemli bir rol oynar (158,159), bu da insan vücudunun fizyolojisinin iyileşmesi için hayati bir öneme sahiptir. Sirkadiyen ritimdeki değişiklikler, melatonin seviyelerindeki dengesizlik tarafından tetiklenebilir ve bunun sonucunda uyku bozukluğuna neden olabilir, bu da homeostazı düzensizleştirir (158-160). Sirkadiyen ritm dengesi dışındaki rolünün ötesinde, melatonin, düzenleyici sinyalleme yollarının karmaşık etkileşiminde immunomodülatör, metabolik ve endokrinolojik süreçlere katılır (161,162). Sirkadiyen ritmin bozulması ve melatonin seviyelerindeki değişiklikler tarafından tetiklenen uyku bozukluğunun, hipofiz-hipotalamus eksenini modülasyonu nedeniyle koku semptomlarını (özellikle anosmi) teşvik ettiği olasıdır. Melatonin, melatonin reseptörleri içerdiği için doğrudan koku bulbunu etkileyebilir; ancak bu reseptörlerin sirkadiyen ritim ve anosmi bağlamında katılımı henüz net değil ve daha fazla dikkat gerektiriyor. Koku bulbunda bulunan melatonin reseptörlerinin türü, en iyi karakterize edilmiş melatonin hedefleridir ve çeşitli dokularda işlev görebilir (163,164).

2.10. MELATONİNİN ANOSMİ ÜZERİNDEKİ OLASI FARMAKOLOJİK ETKİ YOLLARI

Anosmi için henüz spesifik bir ilaç bulunmamış olması, gelecekteki çalışmaların, COVID-19 ile ilişkili anosmanın yönetimi de dahil olmak üzere, ilaç

tedavileri için yeni seçenekleri değerlendirmesi gerektiği anlamına gelmektedir. Endojen melatonin seviyelerinin anosminin şiddeti ve yoğunluğuyla doğrudan ilişkili olup olmadığı hala tartışma konusudur. Melatonin, sirkadiyen ritimde kritik bir rol oynamasının yanı sıra oksidatif stres modülasyonunda da önemli bir yere sahip olduğundan, bu hormonun nöronal rejenerasyon üzerinde etki edebileceği düşünülmektedir (165).

Literatürde bulunan bazı çalışmalar, bu hipotezi desteklemekle birlikte, daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Sıçanlarla gerçekleştirilen bir çalışmada, melatoninin oksidatif stresi azaltarak, koku hasarını önleme ve iyileştirmede koruyucu bir madde olabileceğini bildirilmiştir (165). Bu, olfaktif epitelyumda rinovirüs enfeksiyonunda bulunan enflamatuar durumun melatonin adlı antioksidan ajan ile serbest radikal seviyelerini azaltarak ve koku nöron hücresi apoptozunu inhibe edebilme yeteneği nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Bu deneysel çalışma, melatoninin umut verici bir sitoprotektif madde olduğunu ve rinopatilerde anosmiyi önlemek veya iyileştirmek için yardımcı tedavi olarak düşünülebileceğini öne sürmüştür (165). Hayvan modelleri kullanarak yapılan başka bir çalışma, pinealektomi geçirmiş hayvanlara enjekte edilen minimum melatonin dozunun (1 mg), anosmilerini geri çevirdiğini göstermiştir (166).

Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada, melatonin üretiminin öncüsü olan serotonin eksikliğinin COVID-19 ile ilişkili anosmide bir rol oynayabileceğini öne sürülmüştür. Çalışma, bu hormonun anti-enflamatuar, immunomodülatuar ve antioksidan özellikleri nedeniyle SARS-CoV-2 enfeksiyonu tarafından tetiklenen sitokin fırtınasının azalan inhibisyonunu etkileyebileceğini ve bu durumun viral hastalığın şiddetini etkileyebileceğini öne sürmüştür (167).

Melatonin, sadece COVID-19'deki koku sonuçları açısından etkili bir tedavi olmakla kalmayabilir, aynı zamanda daha geniş olumlu etkilere sahip olabilir. Son zamanlarda yazılan bir derlemede, melatoninin dolaylı antiviral özellikleri nedeniyle COVID-19 için umut verici bir tedavi seçeneği olabileceğini vurgulamıştır (158)(178). Başka bir çalışmada ise melatoninin, virüs yükünün azalmasına ve enfeksiyonun bazı klinik özelliklerinin hafiflemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (168).

2.11. 3-METİL İNDOL VE ÖZELLİKLERİ

3-metilindol (3-MI), doğada sivet kedisi ve belirli ağaçlardan (169) elde edilir ve aynı zamanda L-triptofanın ruminal metabolik bir ürünü olarak da bulunur (167). Temel ticari kullanımı parfümeridir. 3-MI'nin farelerde geniş çapta koku epitelyal hücre kaybına (172) ve sıçanlarda akut ilerleyici pnömonitise (170) neden olduğu, 400 mg/kg ve daha yüksek dozlarda etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu etkiler, görünüşe göre, kısmen monooksijenazların aktivasyonu (162) ile iletilir ve 3-MI'nin hücresel makromoleküllere bağlanabilen yüksek reaktif bir serbest radikale metabolize olabileceği (171-173) dair kanıtlar vardır. 3-MI'nin sıçanda oral LD50 değeri 3450 mg/kg'dır (174). Bileşik, atmosferik kirlilik bileşeni olarak bulunan bir diğer bilinen koku toksin olan 3-metilfuranla (175,176) yapısal olarak ilişkilidir (177).

3-metilindol, fare çalışmalarında kullanılmasının nedeni, koku disfonksiyonunun incelenmesi ve araştırılması için oluşturulan bir model olarak hizmet etmesidir (178)(200-208). Bu madde, koku sistemine zarar veren bir toksinant olarak bilinir ve farelerde oluşturulan koku disfonksiyonu modellerinde kullanılabilir. Bu çalışmalar, koku reseptör nöronlarının işlevini ve yapısal değişiklikleri anlamak, olfaktif hasarın mekanizmalarını keşfetmek ve potansiyel tedavi stratejilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilir.

3-metilindol, farelerde nazal mukozada belirgin hasara neden olabilen bir toksinant olarak bilinir. Bu toksin, farelerde özellikle olfaktif sistemde nöroepitelyal hasar oluşturabilir ve buna bağlı olarak koku disfonksiyonu indükleyebilir. Farelerde 3-metilindol kullanarak yapılan çalışmalar, koku reseptör nöronlarının işlevini, hücresel tepkimeleri ve olfaktif hasarın biyolojik mekanizmalarını incelemek için kullanılır (179,180).

Çalışmamızda, 3-metilindol ile indüklenmiş kimyasal anosmi (koku kaybı) üzerine intraperitoneal olarak uygulanan melatoninin etkileri araştırılmıştır. 3-metilindolün kullanılması, koku disfonksiyonunu modellenmesi ve araştırılması için bir yöntem olarak geçerlidir. Bu çalışmanın amacı, 3-metilindolün oluşturduğu kimyasal anosmi üzerine melatonin gibi bir bileşiğin etkilerini incelemektir. Melatonin, birçok biyolojik süreçte rol oynayan bir hormon ve antioksidan olarak da bilinir. Bu nedenle, melatoninin 3-metilindol ile indüklenen anosmi üzerindeki etkileri, koku disfonksiyonunun tedavisi veya önlenmesi açısından potansiyel olarak

önemli olabilir. 3-metilindol kullanımı, olfaktör hasarın oluşturulması ve koku disfonksiyonunun modellenmesi için bir yol sağlar. Bu çalışmada ise, melatonin gibi bir bileşğin bu tür bir koku disfonksiyonu üzerine etkilerini değerlendirmek amaçlanmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ETİK İZİN

Araştırmanın etik izni 07.06.2022 tarihinde Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik komitesinden “2022-71” no’lu kararıyla alınmıştır.

3.2. FARELERİN SEÇİMİ

Çalışmamızda 9-10 haftalık ve 19-20 gram ağırlığında 16 adet Balb-c soylu fare kullanılmış ve çalışma için hormonal değişimler göz önünde bulundurularak, erkek fareler tercih edilmiştir. Seçilen fareler sıcaklık 21-23 santigrat derece olacak şekilde 12 saatlik gündüz-gece döngüsüyle uyumlu bir ortamda tutulmuştur. Farelerin koku alma yeteneğinin kontrolü için, farelere yiyecek bulma testi (YBT) uygulandı. Fareler her grupta sekiz fare bulunacak şekilde iki gruba ayrıldı. Melatonin uygulanacak farelere Melatonin Grubu denirken, salin uygulanacak farelere Kontrol Grubu adı verildi ve her fareye karışıklık yaşanmaması için bir numara verildi. Anosmi oluşturmak için farelere intraperitoneal olarak 300 µg/g 3-metil indol (3-MI) 1 ml salin içinde verildi. Bir hafta sonra yapılan 3-MI enjeksiyonu ile hayvanlarda anosmi geliştiği tespit edildi. Melatonin hazırlığı için farelere genel anestezi uygulandı. Melatonin grubundaki farelere Melatonin enjeksiyonu uygulanırken, Kontrol grubundaki farelere ise salin uygulandı ve sonra 1 er hafta aralıklarla Melatonin enjeksiyonu tekrarlandı. Fareler 3.doz melatonin enjeksiyonu sonrası 1.hafta sakrifiye edildi, histopatolojik olarak olfaktör epitel incelendi ve epitel kalınlıkları ölçüldü. Yiyecek bulma sonuçları, olfaktör epiteldeki dejenerasyon ve epitel kalınlığı açısından her iki grup karşılaştırıldı.

3.3. MELATONİNİN HAZIRLANIŞI

Sigma Aldrich firmasından temin edilen Melatonin (CAS numarası: # 73-31-4) %99.9 saf etanolün içerisinde çözdürüldü. Daha sonra serum fizyolojik ile %5 etanol olacak şekilde seyreltildi (Şekil 3.1). Melatoninin enjekte edildiği görüntü Şekil 3.2’deki gibidir.



Şekil 3. 1: Melatoninin hazırlanışı



Şekil 3. 2: Melatonin enjeksiyonu

3.4. YİYECEK BULMA TESTİ

Farelerde yiyecek bulma testi, farelerin doğal arama ve bulma yeteneklerini değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu test, farelerin koku alma ve hafıza becerilerini ölçmek için tasarlanmıştır. Test için bir labirent veya açık bir alanda bir dizi yiyecek parçası yerleştirilir. Farelerin açlık düzeyi artırılır ve ardından test başlar. Farelerin, koku izlerini takip ederek ve hafıza kullanarak yiyecekleri bulmaları beklenir. Testin zorluk seviyesi kademeli olarak artırılır, böylece fareler daha karmaşık ve gizli yerlere yerleştirilen yiyecekleri bulmak zorunda kalır.

Çalışmamızda ilk olarak bir grup fare, peynirin kokusu ve tadına alışması için, bir hafta boyunca aynı türde, renkte ve kokuda peynirle beslenmiş ve seçilmiştir. Test, "T" şeklinde düzenlenmiş ve "T" harfi her iki koluna doğru eğimli koridorlar olan bir labirentle örtülmüş ve her test sırasında bu koridorlar yenilenmiştir (Şekil 3.3). Her bir bacağın son noktasına rastgele olarak peynir yerleştirilmiş ve koridorların altına saklanmıştır. Yiyecek saklandıktan sonra fareler, labirentin başlangıç noktasından serbest bırakılmıştır. Fareler bırakıldığında kronometre başlatılmış ve peyniri bulduklarında durdurulmuştur. Yiyecek bulma testi hayvan seçimi sırasında uygulanmıştır ve farelerin koku aldıklarını kontrol etmek için yapılan ilk testte, üç dakika içinde peyniri bulan fareler deneye dahil edilecektir. Anosmi geliştiğini göstermek için yapılan ikinci test, 3-MI enjeksiyonundan sonraki yedinci günde gerçekleştirilecektir. Üç dakika ve üzerinde peyniri bulamayan fareler anosmik olarak kabul edilmiştir. Böylece anosmi tespit edilen 16 fare, rastgele iki gruba ayrılmıştır. Melatonin grubuna propilen glikol, 1,2 pyrolidionone ve %25 saf su içinde çözülerek intraperitoneal olarak 10 mg/kg melatonin enjekte edilmiştir. Kontrol grubuna ise salin enjeksiyonu yapılmıştır. Sonraki yiyecek bulma testleri, melatonin ve salin enjeksiyonundan 1 hafta sonra tekrarlanmıştır. Yapılan farklı yiyecek bulma testi sonuçları; 1. farelerin seçimi sırasında, 2. 3-MI (3-metil indol) enjeksiyonundan sonraki 7. gün, 3. melatonin ve salin enjeksiyonundan sonraki 7. gün, 4. melatonin ve salin enjeksiyonundan sonraki 14. gün, 5. Melatonin ve salin enjeksiyonundan sonraki 21. gün olarak numaralandırılmıştır. Yiyecek bulma testi sonrası histopatolojik inceleme için farelerin sakrifikasyonu Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3. 3: Yiyecek bulma testi için hazırlanan t şekilli labirent



Şekil 3.4: Yiyecek bulma testi sonrası histopatolojik inceleme için farelerin sakrifikasyonu

3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Fareler, histopatolojik inceleme için 3-MI enjeksiyonundan sonraki dördüncü haftada yüksek doz anestetik enjeksiyonu (ketamin için 200 mg/kg üzeri, xylazin içinse 10 mg/kg üzeri dozla)sonrası sakrifiye edilmiştir. Dekapitasyon yapıldıktan sonra beyin ve damaklar çıkarılmış ve geriye kalan dokular oda sıcaklığında %10 nötral tamponlu formaldehit çözeltisinde 48 saat boyunca sabitlenmiştir (Sigma-Aldrich, Missouri, ABD). Sabitleme işleminden sonra doku örnekleri su altında yıkanmış ve ardından gün aşırı değiştirilen %10 luk formik asit çözeltisi içinde sekiz gün boyunca dekalsifikasyona tabi tutulmuştur (Merck Millipore, Darmstadt, Germany). Dekalsifikasyon işleminden sonra doku örnekleri akan çeşme suyu altında yıkanmış ve artan derecelerdeki %50, %70, %80, %96 ve %99,9 etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon uygulanmıştır. Doku örnekleri daha sonra ksilen solüsyondan geçirilmiş ve erimiş parafin içine infiltrasyonuna tabi tutulmuştur. (62°C). Infiltrasyon işleminden sonra dokular, parafin blokların içine gömülmüştür. Parafin bloklardan mikrotom ile altı mikron kalınlığında kesitler alınmış ve lam üzerine yerleştirilmiştir. Alınan kesitlere Hematoksilen-Eosin (H-E) boyaması uygulanmıştır. Histopatolojik inceleme 4 parametre üzerinden semitantitatif olarak incelendi. Epitel kalınlığı, vakuolizasyon, silya kaybı, nekroz ve intraepitelyal hücre infiltrasyonu skorlandı (yok:1,hafif:2,orta:3,şiddetli:4). Yiyecek bulma testi sonuçları, olfaktör epitelin dejenerasyon ve epitelyum kalınlığı açısından her iki grup arasında karşılaştırılmıştır.

3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 22.0 Windows yazılımı kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma ve medyan olarak sunuldu. Parametrik test koşullarının sağlanmadığı durumlarda, sayısal değişkenler arasındaki bağımsız grup karşılaştırmaları Mann Whitney U testi kullanılarak yapılırken, bağımlı birden fazla grup arasındaki karşılaştırmalar Friedman Analizi ile gerçekleştirildi. Kategorik değişkenlerin bağımsız gruplardaki oranları Ki Kare Analizi ile test edildi. Koşulların sağlanmadığı durumlarda Monte Carlo simülasyonu uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

4.BULGULAR

Tablo 4.1 melatonin grubu ve kontrol grubundaki farelerin yiyecek bulma testlerindeki performanslarını göstermektedir. Test sonuçlarına göre, her iki grup arasındaki farklılıkların belirgin bir şekilde ortaya çıktığı görülmektedir. Melatonin grubundaki farelerin yiyecek bulma testlerindeki sonuçları incelediğinde, işaretlenen denek numaralarıyla birlikte koku fonksiyonlarının geri dönme eğilimi gösterdiği gözlenmektedir. Başlangıçta daha uzun sürelerde yiyecek bulan denekler, melatonin uygulaması sonrasında sürelerin kısalma eğiliminde olduğu görülmektedir. Kontrol grubundaki farelerin yiyecek bulma testi sonuçlarına baktığımızda ise, melatonin grubuna kıyasla genel olarak daha uzun sürelerde yiyecek buldukları görülmektedir.

Tablo 4.1: Melatonin enjeksiyonu sonrası 1.haftada yiyecek bulma testi

<u>İşaretlenen</u> <u>Denek Numarası</u>	Melatonin Grubu	Kontrol Grubu
<u>1</u>	120 sn.	Başarısız
<u>2</u>	110 sn.	Başarısız
<u>3</u>	85 sn.	Başarısız
<u>4</u>	96 sn	Başarısız
<u>5</u>	41 sn.	Başarısız
<u>6</u>	162 sn.	Başarısız
<u>7</u>	80 sn.	Başarısız
<u>8</u>	168 sn.	Başarısız

*Süreler sn üzerinden verilmiştir.

Tablo 4.2, melatonin enjeksiyonunun farelerin koku fonksiyonları üzerindeki etkisini 14. günde yapılan yiyecek bulma testleri sonuçlarıyla değerlendirmektedir. Tablodaki veriler, melatonin grubu ve kontrol grubu farelerin yiyecek bulma performansını karşılaştırmaktadır. Bu grupta yer alan denek numaraları incelendiğinde, melatonin enjeksiyonunun farelerin koku fonksiyonlarını olumlu bir şekilde etkilediği görülmektedir. İşaretlenen denek numaraları 1, 2, 3, 4, 6,7 ve 8 2.doz

melatonin enjeksiyonu sonrası 1.haftada yapılan yiyecek bulma testlerinde başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu, melatonin tedavisinin koku fonksiyonlarını iyileştirmede etkili olabileceğini göstermektedir. Denek numarası 7 için ise 80 sn. gibi daha uzun bir sürede yiyeceği bulmuş olmasına rağmen bu sonuç olumlu olarak kabul edilmiştir.

Kontrol grubundaki denek numaraları için ise durum farklıdır. Tüm denekler yapılan yiyecek bulma testlerinde başarısız sonuçlar elde etmişlerdir. İşaretlenen denek numarası 7 hariç, diğer denekler yiyeceği belirtilen süre içerisinde bulamamışlardır. Denek numarası 7, 166 sn. gibi uzun bir süre sonunda yiyeceği bulmuş olmakla birlikte, melatonin grubunda olduğu gibi başarılı sonuç olarak kabul edilmiştir.

Tablo 4.2: Melatonin enjeksiyonu sonrası 14.günde yiyecek bulma testi

<u>İşaretlenen Denek Numarası</u>	Melatonin Grubu		Kontrol Grubu	
<u>1</u>	35 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn
<u>2</u>	45sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>3</u>	27 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>4</u>	40 sn	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>5</u>	45 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>6</u>	48 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>7</u>	80 sn.	Başarılı	<u>Başarılı</u>	<u>166 sn`de buldu.</u>
<u>8</u>	64 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.

*Süreler sn üzerinden verilmiştir.

Tablo 4.3, melatonin enjeksiyonunun farelerin koku fonksiyonları üzerindeki etkisini 21. günde yapılan yiyecek bulma testleri sonuçlarıyla değerlendirmektedir. Tablodaki veriler, melatonin grubu ve kontrol grubu farelerin yiyecek bulma performansını karşılaştırmaktadır. Bu grupta yer alan denek numaraları incelendiğinde, melatonin enjeksiyonunun farelerin koku fonksiyonlarını olumlu bir şekilde etkilediği görülmektedir. İşaretlenen denek numaraları 1, 2, 3, 4, 5 ve 6, melatonin enjeksiyonu sonrası 21. günde yapılan yiyecek bulma testlerinde başarılı

sonuçlar elde etmişlerdir. Denek numarası 7 için ise 55 sn. gibi daha kısa bir sürede yiyeceği bulmuş olması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Denek numarası 8 için ise 60 sn. gibi başarılı bir sürede yiyeceği bulmuş olması dikkat çekicidir. Tüm denek numaraları, 21. günde yapılan yiyecek bulma testlerinde başarısız sonuçlar elde etmişlerdir. İşaretlenen denek numarası 7 hariç, diğer denekler yiyeceği belirtilen süre içerisinde bulamamışlardır. Denek numarası 7, 160 sn. gibi kısa bir süre sonunda yiyeceği bulmuş olmasıyla olumlu bir sonuç elde etmiştir.

Tablo 4.3: 3.doz melatonin enjeksiyonundan 1 hafta sonraki yiyecek bulma testi

<u>İşaretlenen Denek Numarası</u>	<u>Melatonin Grubu</u>		<u>Kontrol Grubu</u>	
<u>1</u>	59 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>2</u>	31 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>3</u>	15 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>4</u>	92 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>5</u>	72 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>6</u>	110 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.
<u>7</u>	55 sn.	Başarılı	<u>Başarılı</u>	<u>160sn. buldu.</u>
<u>8</u>	60 sn.	Başarılı	Başarısız	+180sn.

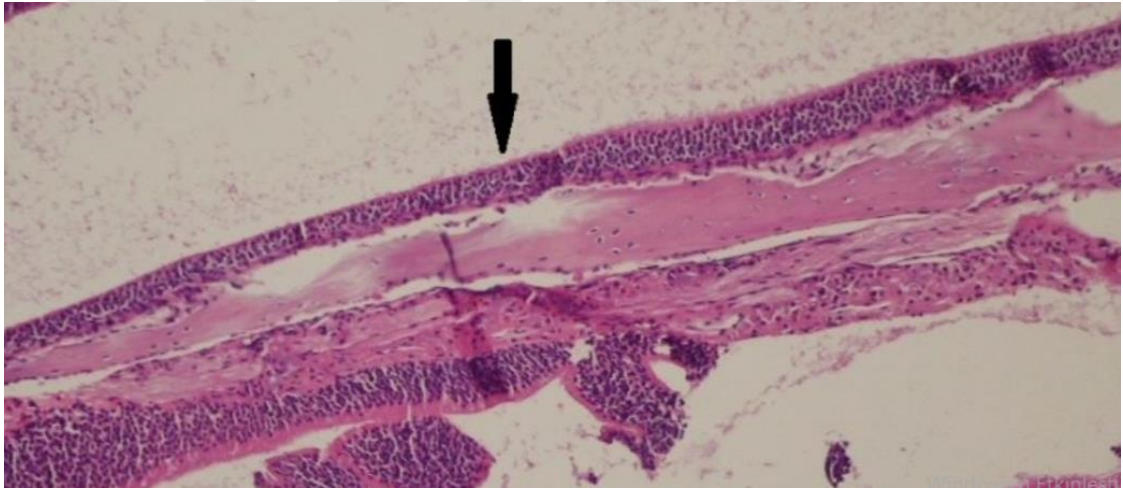
*Süreler sn üzerinden verilmiştir.

Tablo 4.4, YBT istatistik sonuçlarını melatonin grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırmaktadır ve farklı zaman noktalarındaki başarısız ve başarılı sonuçları yüzdelik oranlarla göstermektedir. Ayrıca, istatistiksel analizlerin sonuçlarını p değerleri ile de sunmaktadır. Melatonin tedavisinin koku fonksiyonlarının iyileştirilmesinde etkili olduğunu ve bu etkinin 7., 14. ve 21. günlerde daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Melatonin grubundaki farelerin başarılı sonuçlar elde etme oranı kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksektir.

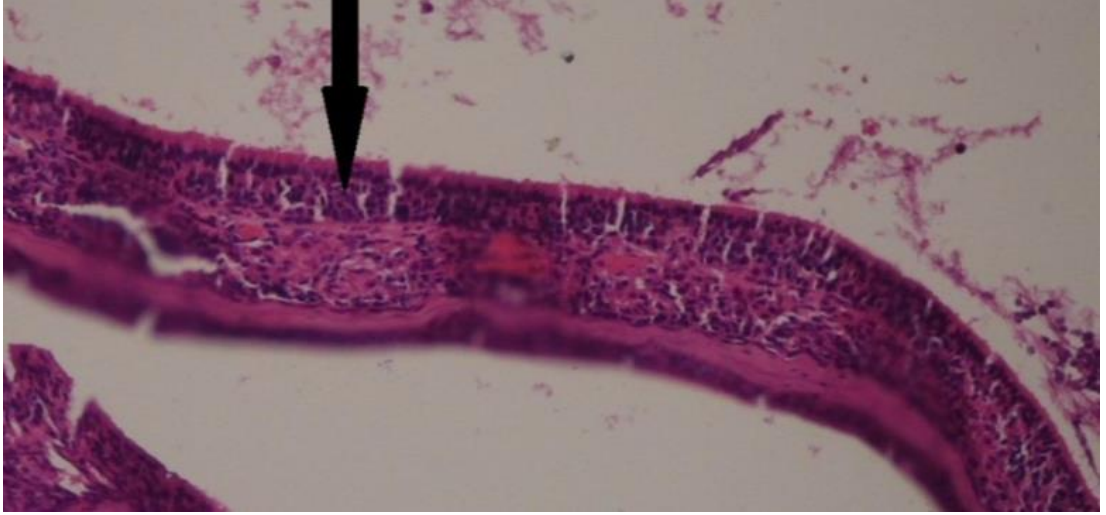
Tablo 4.4: YBT istatistik sonuçları

		Melatonin Grubu		Kontrol Grubu		p
		n	%	n	%	
Anosmi	Başarısız	8	100	8	100	1,000*
	Başarılı	0	0	0	0	
Melatonin sonrası 7. Gün	Başarısız	0	0	8	100	0,001*
	Başarılı	8	100	0	0	
Melatonin sonrası 14. gün	Başarısız	0	0	7	87,5	0,001*
	Başarılı	8	100	1	12,5	
Melatonin sonrası 21.gün	Başarısız	0	0	7	87,5	0.001*
	Başarılı	8	100	1	12,5	
		p <0,001**		p < 0.083**		

n: Sayı, * Mann Whitney U, ** Ki-kare test



Şekil 4. 1: Olfaktör epitelde fokal alanda silya kaybı(ok ile gösterilmiştir)(H&E-X40)



Şekil 4.2:Olfaktör epitelde fokal alanda intraepitelyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu(oklar)(H&E-X40)

Tablo 4.5, histopatolojik incelemeler sonucunda elde edilen bulguları melatonin grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırmaktadır. Tablo 4.5, her denek için farklı parametrelerin (infiltrasyon, vakuolizasyon, silya hasarı) değerlerini içermekte ve bu değerlerin toplam skorlarını göstermektedir. Ayrıca, epitel kalınlıkları da her iki gruptaki deneklerin ortalama ve standart sapma değerleriyle verilmektedir. Melatonin grubu ve kontrol grubu arasında histopatolojik özellikler açısından farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu farklılıklar, deneklerin dokularında görülen hasarın derecesini ve türünü göstermektedir. Melatonin grubundaki deneklerin histopatolojik skorları ve epitel kalınlıkları kontrol grubuna kıyasla farklılık göstermektedir. Bu sonuçlar, melatonin tedavisinin dokularda iyileşmeyi destekleyebileceğini ve hasarı azaltabileceğini düşündürebilir. Ancak, daha kapsamlı analizler ve daha geniş örneklem grupları ile desteklenen çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tablo 4. 5: Histopatolojik incelemeler

<u>Denek</u>	<u>Melatonin Grubu</u>					<u>Kontrol Grubu</u>				
	İnfiltrasyon	Vakuolizasyon	Silya hasarı	Total Skor	Epitel Kalınlıkları (µm)	İnfiltrasyon	Vakuolizasyon	Silya hasarı	Total Skor	Epitel Kalınlıkları (µm)
<u>1</u>	0	0	1	1	0.04	1	0	0	1	0.04
<u>2</u>	1	0	0	1	0.03	1	0	0	1	0.03
<u>3</u>	2	1	0	3	0.02	1	0	0	1	0.09
<u>4</u>	2	0	1	3	0.015	0	0	0	0	0.075
<u>5</u>	1	0	1	2	0.95	0	0	1	1	0.12
<u>6</u>	2	0	1	3	0.07	2	0	1	3	0.03
<u>7</u>	1	0	1	2	0.015	0	1	1	2	0.03
<u>8</u>	1	0	0	1	0.07	2	0	0	2	0.0375
	Ort.±SS = 2.2 ±0.9				Median= 2.1	Ort.±SS = 1.1 ±0.54				Median= 1.4

SS: Standart Sapma

Tablo 4.6 melatonin grubu ve kontrol grubu arasındaki infiltrasyon vakuolizasyon silya hasarı ve epitel kalınlığı farklılıklarını göstermektedir. İnfiltrasyon, vakuolizasyon, silya hasarı ve epitel kalınlığı gibi parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış fakat melatonin grubu deneklerinin epitel kalınlıklarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür($p<0.001$).

Tablo 4. 6: Grupların epitel kalınlık ölçümleri

<u>İşaretlenen Denek Numarası</u>	Kontrol Grubu Epitel Kalınlığı	Melatonin Grubu Epitel Kalınlığı
<u>1</u>	0.04 mm	0.04 mm
<u>2</u>	0.03 mm	0.03 mm
<u>3</u>	0.09 mm	0.02 mm
<u>4</u>	0.075 mm	0.015 mm
<u>5</u>	0.12 mm	0.95 mm
<u>6</u>	0.03 mm	0.07 mm
<u>7</u>	0.03 mm	0.015 mm
<u>8</u>	0.0375 mm	0.07 mm
Ortalama $\pm$ SD, Median	0.056 $\pm$ 0.03, 0.0375	0.15 $\pm$ 0.32, 0.03
p < 0.001		

5. TARTIŞMA

Koku bozuklukları, olfaktör sistemin nasal kaviteden santral sinir sistemine kadar herhangi bir aşamasında ortaya çıkan patolojiler sonucu gelişebilir. En sık etyolojik faktör sinonazal patolojilerken; non-sinonazal patolojiler içerisinde sıklıkla postinfeksiyöz ve posttravmatik bozukluklar görülür (182).

Olfaktör epitel, hem epitel yapısından dolayı hem de içerisinde gömülü olan nöronlardan dolayı nöroepitel olarak adlandırılmaktadır. Olfaktör nöroepitelde dört farklı hücre tipi vardır : Matür, immatür, bazal hücreler ve destek hücreleri. Bazal hücreler en alt katmandaki epiteltabakasında bulunurlar ve bu hücreler sayesinde diğer duyu organlarının aksine rejenerasyon imkanı olan tek nöronal hücredir (186, 187).

Bu yüzden anosmi genellikle geçici olsa da bazal membrandaki rejenerasyon potansiyellerine rağmen bazı durumlarda kalıcı anosmi görülebilir. Ancak bu olgularda dahi bazal membrandaki rejenerasyon potansiyeli kullanılarak tedavi imkanı sağlanabilir.

Anosmi ve hiposmi, dejenerasyonun derecesine göre geçici ya da kalıcı olabilir. Bu durumların tedavisinde sistemik steroidlerin işe yaradığı söylene de henüz tanımlanmış net bir medikal tedavi seçeneği yoktur (4). Bu nedenle, koku bozukluklarıyla mücadele eden kişilere genellikle semptomların yönetimi odaklı tedaviler önerilir. Bu tedaviler arasında burun spreyleri, burun irrigasyonu (yıkama), koku eğitimi ve alternatif duysal uyarıcılar gibi yöntemler yer alabilir (183). Yakın geçmişimizde dünya çapında sağlık problemlerine yol açan SARS-CoV-2 pandemisinde enfekte kişilerde koku bozukluklarının gözlenmesi araştırmacılar ve hekimlerin ilgilerini anosmi ve hiposmiye yönlendirmelerine neden olmuştur.

İdiyopatik anosmilerde kesin bir tedavi modalitesinin olmaması araştırmacıları deneysel çalışmalara itmiştir. Bu çalışmalarda da genellikle anosmi oluşturulan hayvan modelleri kullanılır. Lee ve arkadaşlarının 24 fare üzerinde yaptıkları çalışmada 3-MI ile anosmi modeli oluşturulmuştur(4). Yine benzer şekilde Nota ve

arkadaşlarının 18 fare üzerinde yaptıkları çalışmada da 3-MI ile anosmi oluşturulmuştur (186).

Hayvan modeli için bir çok olfaktotoksik ajan vardır. Bunlar topikal uygulananlar ve sistemik olarak iki gruba ayrılabilir. Çinko sülfat, sülfür dioksit, metil bromid topikal olartak anosmi oluşturan ajanlar arasında sayılabilir (188-190). Sistemik ajanların başlıcaları ise 3-MI, metimazol ve diklobenildir (191-193). Bunların içinde sıklıkla tercih edilen 3-MI, intraperitoneal uygulandığında sistemik dolaşıma karıştıktan sonra olfaktör mukozada selektif olarak doz bağımlı dejenerasyona sebep olur. Olfaktotoksik etkisini 300 veya 400 µg/g dozunda ağır hiposmi veya anosmi yaparak gösterir (194). 3-MI enjeksiyonundan 48 saat sonra hücrelerde şişme,olfaktör epitelde ve subepitelde nekroz görülebilir (7).

Sitokrom p450 sistemi tarafından metabolize edilen 3-MI ; 3-metileneindolenin gibi ara metabolitler sayesinde olfaktotoksik etkisini gösterir (195). Anosmi oluşturmada kullanılan 3-MI'in etkisinin 1. haftadan itibaren azalması ve literatürde 3-MI ile yapılan modellemelerde ortalama sürenin 4 hafta olmasından dolayı çalışmamızda aynı süre kullanılmıştır (196-197). 4. haftadan sonraki yapılacak testlerde bu etkinin 3-MI'in olfaktör epiteldeki etkisinin azalmasına mı bağlı olduğunu ya da melatoninin pozitif etkisi mi olduğunu belirlemek zor olacaktı. 2. gruptaki YBT'de başarılı olan bir deneğin başarısı aynı genetik özellikte olmayan deneklerde anosmik ajanın vücuttaki eliminasyon süresi ve olfaktör epitelin rejenerasyon kapasitesinin değişken olması düşünülebilir.

Anosmi oluşturulmasında ve tedavi takibinde deneysel modellemelerde YBT değerli bir yöntemdir (7). Anosmi modellemesi çalışmalarında YBT çoğu laboratuvarıda uygulanabilen kolay ve ucuz bir test olarak öne çıkmaktadır. Biz de çalışmamızda 3-MI ile oluşturulan anosmi modelinde klinik sonuçları YBT ile değerlendirdik. Koku fonksiyonları cinsiyet hormonları ve gebelikle değişiklik gösterebileceğinden çalışmamızda sadece erkek fareler kullanıldı.

Epifiz bezi tarafından üretilen ve gece serbest bırakılan bir uyku düzenleyici hormon olan melatoninin daha önce yapılan çalışmalarda santral sinir sistemi ve periferik

nöronlar üzerinde koruyucu etkisi (140,141,147) ve ayrıca antioksidan (164) ve antienflamatuar etkinliği saptanmıştır. Melatonin, biyolojik ritimleri düzenleyen bir hormon olmasının yanı sıra, antioksidan, anti-inflamatuar ve neuroprotektif özelliklere de sahiptir. Bu çalışmada, kimyasal olarak oluşturulan anosmide koku alma fonksiyonunun iyileştirilmesinde melatoninin olası etkileri araştırılmaktadır.

Yapılan YBT'lerde, melatonin uygulanan grup yiyecek bulma testlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha başarılı sonuçlara sahip olmuştur. Bu, melatonin tedavisinin dejeneratif anosmilerde de koku fonksiyonlarını iyileştirebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, melatonin tedavisi alan farelerin burun mukozasında daha yüksek epitel kalınlığına sahip olduğu gözlemlenmiştir, bu da melatonin tedavisinin epitel hücrelerinin büyüme ve gelişmesini destekleyebileceğini düşündürmektedir.

SARS-CoV-2 pandemi sürecinde bir çok tedavi yöntemi de gündeme gelmiştir. Enfekte hastalardaki anosmi mekanizması tam olarak belirlenememekle birlikte çoğu zaman anosmi ve hiposmi gelişimi tek semptomdur. Melatonin reseptörlerinin koku ampullerinde bulunduğu ve SARS-CoV-2 virüsünün yol açtığı anosmi problemlerinde de rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Bu bağlamda, melatonin'in oksidatif stresi azaltarak nöronal rejenerasyonu destekleyebileceği düşünülmektedir. Ellen ve arkadaşları Haziran 2022 de yaptığı bir veri tabanı incelemesi şeklinde olan bir çalışmada (184), COVID-19'a bağlı anosminin melatonin eksikliği nedeni ile olabileceği belirtse de, yaptığımız bu çalışma kimyasal anosmi modeli üzerine melatonin enjeksiyonu yapılarak sonuçların irdelendiği ilk çalışmadır.

2016 yılında S.Koç ve ark yaptığı bir çalışmada deneysel olarak oluşturulan sinüzit modelinde, olfaktör epitelde rinovirüs enfeksiyonu kaynaklı inflamasyonun indüklediği apoptozise karşı melatonin kullanılmış; antioksidan bir madde olan melatoninin, serbest radikallerin düzeylerini belirgin olarak azalttığı ve olfaktör nöronal hücre apoptozunu inhibe edebildiğini göstermişler (165). Bu model çalışmamızdan farklı olarak kimyasal anosmi değil inflamatuvar anosmi modelidir.

Chen ve arkadaşlarının fare kullanarak yaptıkları başka bir çalışmada, olfaktör bulbus rezeksiyonu ile anosmik yapılan fare modellerinde minimum dozda uygulanan melatoninin kalıcı olarak oluşturulan anosmiyi iyileştirmese de, anosminin antigonadotropik etkilerini tersine çevirebildiği gösterilmiştir (166).

Sen'in 2021 yılında yayımladığı makalesinde, COVID-19 ile ilişkilendirilen anosmi ve tat bozukluğunda triptofan ve serotonin eksikliğinin rol oynayabileceğini öne sürülmüştü. Serotoninin melatonin üretiminin öncüsü olduğu göz önüne alındığında, anosmi semptomu hariç COVID-19 hastalığının genel şiddeti üzerinde etkisi olabileceği öne sürüldü. Bunun nedeni, melatoninin anti-inflamatuvar, immünomodülatör ve antioksidan özelliklere sahip olmasıdır ve bu özellikler sayesinde SARS-CoV-2 enfeksiyonu tarafından tetiklenen sitokin fırtınasının inhibisyonuna katkı sağlayabileceği düşünülmüştür (167).

Anosmi oluşturulmasında ve tedavi takibinde ise YBT değerli bir yöntemdir (7, 196). Biz de çalışmamızda anosmi oluşturmak için 3-MI kullandık ve sonuçları YBT ile değerlendirdik. Melatonin sonrası yapılan 7.,14. ve 21.günlerdeki her üç YBT'de melatonin uygulanan grupta yiyecek bulma süresinde istatistiksel olarak anlamlı iyileşme görüldü. Salin uygulanan sekiz farenin sadece biri başarılı olabildi ancak yiyecek bulma süresi melatonin uygulanan grubun ortalamasından çok daha uzundu. Melatonin grubundaki tüm fareler YBT'de yedinci günden itibaren başarılı oldular.

Bizim çalışmamızda, histopatolojik değerlendirmelerde melatonin tedavisi sonrası farelerin burun mukozasında genel olarak daha yüksek epitel kalınlığına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgu, melatonin tedavisinin epitel hücrelerinin büyüme ve gelişmesini artırabileceği ihtimalini ortaya koymaktadır. Epitel kalınlığındaki bu artış, melatonin'in hücresel düzeyde etkilerini yansıtabilir ve burun mukozasının yenilenmesine yardımcı olabileceğini düşündürebilir. Bu çalışmanın sonuçları, melatoninin koku fonksiyonunun iyileştirilmesinde potansiyel bir terapötik ajan olarak düşünülebileceğini göstermektedir

6. SONUÇ

Anosmi, koku alma yeteneğinin tamamen kaybedilmesi anlamına gelmektedir ve bu durum kişinin yaşam kalitesini ciddi anlamda etkileyebilir. Bu çalışmada, melatonin tedavisinin anosmi üzerindeki olası etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular, melatoninin koku alma fonksiyonunun iyileştirilmesinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Ancak, melatoninin etkilerini tam olarak anlamak ve klinikte kullanıma sunabilmek için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Şu ana kadar elde edilen bulgular umut verici olsa da, melatoninin dozajı, kullanım süresi, olası yan etkileri ve etki mekanizması gibi konularda daha fazla bilgi edinilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma, koku bozukluklarının tedavisinde yeni ve etkili yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Ancak, melatonin tedavisinin klinikte kullanıma sunulabilmesi için daha fazla deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu alanda yapılacak olan çalışmalar, anosmi tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine ve hasta yaşam kalitesinin artırılmasına büyük katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Khurana K, Singh CV. Management of Anosmia in COVID-19: A Comprehensive Review. *Cureus* 2022;14(10):e30425.
2. Coelho DH, Reiter ER, Budd SG, Shin Y, Kons ZA, Costanzo RM. Quality of life and safety impact of COVID-19 associated smell and taste disturbances. *Am J Otolaryngol* 2021;42(4):103001.
3. Blomkvist A, Hofer M. Olfactory Impairment and Close Social Relationships. A Narrative Review. *Chem Senses* 2021;46:bjab037.
4. Lee CH, et al. Effect of ginkgo biloba and dexamethasone in the treatment of 3-methylindole induced anosmia mouse model. *Am J Rhinol* 2008;22:292–296
5. Slotnick B. Olfactory Performance of Rats after Selective Deafferentation of the Olfactory Bulb by 3-Methyl Indole. *Chemical Senses* 2007;32(2):173–181
6. Hu H, Li L, Gao F, Diao W, Ma H, Feng F, Quan S, Xiang L and Zhang X (2022) Screening, identification, and degradation characteristics of 3-methylindole degrading bacteria. *Front. Environ. Sci.* 10:1028699.
7. Kim J-W, Hong S-L, Lee CH, Jeon E-H, Choi A-R. Relationship between olfactory function and olfactory neuronal population in C57BL6 mice injected intraperitoneally with 3-methylindole. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* 2010;143(6):837-842.
8. Bray TM, Kirkland JB. The metabolic basis of 3-methylindole-induced pneumotoxicity. *Pharmacol Ther.* 1990;46(1):105-18.
9. Li B, et al. Melatonin promotes peripheral nerve repair through Parkin-mediated mitophagy, *Free Radical Biology and Medicine* 2022;185:52-66
10. Altunkaynak BZ, Delibaş B, Altun G, Deniz ÖG. Melatonin and sciatic nerve injury repair: a current perspective. *Journal of Neurorestoratology* 2018;6:49-60
11. Sadler TW. Head and neck. In: Sadler TW, ed. *Langman’s Medical Embryology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010:265–291
12. Lang J. *Clinical Anatomy of the Nose, Nasal Cavity and Paranasal Sinuses*. Stuttgart, Germany: Thieme Medical Publishers; 1989

13. Neskey D, Eloy JA, Casiano RR. Nasal, septal, and turbinate anatomy and embryology. *Otolaryngol Clin North Am* 2009;42(2):193–205, vii
14. Bingham B, Wang RG, Hawke M, Kwok P. The embryonic development of the lateral nasal wall from 8 to 24 weeks. *Laryngoscope* 1991;101(9):992–997
15. Kim CH, Park HW, Kim K, Yoon JH. Early development of the nose in human embryos: a stereomicroscopic and histologic analysis. *Laryngoscope* 2004;114(10):1791–1800
16. Killian G. Zur Anatomie der Nase Menschlicher Embryonen. *Arch Laryngol Rhin.* 1895;3:17–47
17. Bolger WE. Anatomy of the paranasal sinuses. In: Kennedy DW, ed. *Disease of the Sinuses: Diagnosis and Management*. Hamilton, ON: BC Decker; 2001:1–11
18. Libersa C, Laude M, Libersa JC. The pneumatization of the accessory cavities of the nasal fossae during growth. *Anat Clin* 1981;2:265–273
19. Larrabee WF Jr. Facial analysis for rhinoplasty. *Otolaryngol Clin North Am* 1987;20(4):653–674
20. Standring S. Nose, nasal cavity and paranasal sinuses. In: Standring S, ed. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 41st ed. New York, NY: Elsevier; 2016:xviii, 1562
21. Oneal RM, Beil Jr RJ, Schlesinger J. Surgical anatomy of the nose. *Otolaryngol Clin North Am* 1999;32(1):145-81.
22. Converse JM. The cartilaginous structures of the nose. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1955;64(1):220-9.
23. AlJulaih GH, Sharma P, Lasrado S. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Aug 8, 2022. Anatomy, Head and Neck, Nose Bones.
24. Cappello ZJ, Minutello K, Dublin AB. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Feb 11, 2023. Anatomy, Head and Neck, Nose Paranasal Sinuses.
25. Galarza-Paez L, Marston G, Downs BW. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Jul 25, 2022. Anatomy, Head and Neck, Nose.
26. Smith TD, Bhatnagar KP. Anatomy of the olfactory system. *Handb Clin Neurol* 2019;164:17-28.

27. Moran DT, Rowley JC III, Jafek BW, Lovell MA. The fine structure of the olfactory mucosa in man. *J Neurocytol* 1982;11:721–746
28. Menco BPM, Morrison EE. Morphology of the mammalian olfactory epithelium: form, fine structure, function, and pathology. In: Doty RL, ed. *Handbook of Olfaction and Gustation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 2003:17–49
29. Doty RL, Bromley SM. Olfaction and taste. In: Crockard A, Hayward R, Hoff JT, eds. *Neurosurgery: The Scientific Basis of Clinical Practice*. London: Blackwell Science; 2000:347– 365
30. Doty RL. The olfactory vector hypothesis of neurodegenerative disease: Is it viable? *Ann Neurol* 2008;63:7–15
31. Johnson BA, Leon M. Chemotropic odorant coding in a mammalian olfactory system. *J Comp Neurol* 2007;503:1–34
32. Doty RL, Cometto-Muniz JE, Jalowayski AA, Dalton P, Kendal-Reed M, Hodgson M. Assessment of upper respiratory tract and ocular irritative effects of volatile chemicals in humans. *Crit Rev Toxicol* 2004;34:85–142
33. Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 1991;65(1):175–187
34. Kratskin IL, Belluzzi O. Anatomy and neurochemistry of the olfactory bulb. In: Doty RL, ed. *Handbook of Olfaction and Gustation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 2003:139–164
35. Smith CG. Age incident of atrophy of olfactory nerves in man. *J Comp Neurol* 1942;77:589–594
36. Shepherd GM. Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. *Physiol Rev* 1972;52(4):864–917
37. Gritti A, et al. Multipotent neural stem cells reside into the rostral extension and olfactory bulb of adult rodents. *J Neurosci* 2002;22(2):437–445
38. Brunjes PC, Illig KR, Meyer EA. A field guide to the anterior olfactory nucleus (cortex). *Brain Res Brain Res Rev* 2005;50(2):305–335
39. Gottfried JA, Deichmann R, Winston JS, Dolan RJ. Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 2002;22(24):10819–10828

40. Gottfried JA, O'Doherty J, Dolan RJ. Encoding predictive reward value in human amygdala and orbitofrontal cortex. *Science* 2003;301(5636):1104–1107
41. Eiting TP, Smith TD, Perot JB, Dumont ER. The role of the olfactory recess in olfactory airflow. *J Exp Biol* 2014;217: 1799– 1803.
42. Reece WO, Rowe EW. 2017. *Functional anatomy and physiology of domestic animals*. USA: Wiley.
43. Andres KH. The fine structure of the olfactory region of macrosmatic animals. *Z Zellforsch mikrosk Anat* 1966;69: 140– 154.
44. Haidarliu S, Golomb D, Kleinfeld D, Ahissar E. Dorsorostral snout muscles in the rat subserve coordinated movement for whisking and sniffing. *Anat Rec* 2012;295: 1181– 1191.
45. Reznik GK. Comparative anatomy, physiology, and function of the upper respiratory tract. *Environ Health Perspect* 1990;85: 171.
46. Sankaran S, Khot LR, Panigrahi S. Biology and applications of olfactory sensing system: a review. *Sens Actuators B* 2012;171–172: 1– 17.
47. Evans HE, De Lahunta A. 2013. *Miller's Anatomy of the Dog-E-Book*. USA: Elsevier Health Sciences.
48. Harkema JR, Morgan KT. 1996. Normal morphology of the nasal passages in laboratory rodents. In: TC Jones, DL Dungworth, U Mohr, editors. *Monographs on pathology of laboratory animals. Respiratory System*. 2nd ed. New York; Tokyo: Springer, Berlin Heidelberg. p 3– 17.
49. Nowack C, Wöhrmann-Repenning A. New ways to go—nasal floor structures as channelling system for vomeronasal stimuli in the shrew (*Sorex araneus*, Mammalia). *Acta Theriol* 2011;56: 359– 365.
50. Bojsen-Møller F. Topography of the nasal glands in rats and some other mammals. *Anat Rec* 1964;150: 11– 24.
51. Chamanza R, Wright J. A review of the comparative anatomy, histology, physiology and pathology of the nasal cavity of rats, mice, dogs and non-human primates. relevance to inhalation toxicology and human health risk assessment. *J Comp Pathol* 2015;153: 287– 314.
52. Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, et al. Smell identification ability: changes with age. *Science* 1984;226(4681):1441–3

53. Oleszkiewicz A, Schriever VA, Croy I, Hähner A, Hummel T. Updated Sniffin' sticks normative data based on an extended sample of 9139 subjects. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2019;276(3):719–728.
54. Larsson M, Hedner M, Papenberg G, Seubert J, Bäckman L, Laukka EJ. Olfactory memory in the old and very old: Relations to episodic and semantic memory and APOE genotype. *Neurobiology of Aging* 2016;38:118–126.
55. Olofsson JK, Rogalski E, Harrison T, Mesulam MM, Gottfried JA. A cortical pathway to olfactory naming: evidence from primary progressive aphasia. *Brain: a journal of neurology*, 2013;136(Pt 4):1245–1259.
56. Choi JS, Hur K, Chow M, Shen J, Wrobel B. Olfactory dysfunction and cognition among older adults in the United States. *International Forum of Allergy & Rhinology* 2018;8(5):648–654.
57. Hedner M, Larsson M, Arnold N, Zucco GM, Hummel T. Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 2010;32(10):1062–1067.
58. Schubert CR, Fischer ME, Pinto AA, Klein BEK, Klein R, Cruickshanks KJ. Odor detection thresholds in a population of older adults. *The Laryngoscope* 2017;127(6):1257–1262.
59. Choudhury ES, Moberg P, Doty RL. Influences of age and sex on a microencapsulated odor memory test. *Chemical Senses*, 2003;28(9):799–805.
60. Kaneda H, Maeshima K, Goto N, Kobayakawa T, Ayabe-Kanamura S, Saito S. Decline in taste and odor discrimination abilities with age, and relationship between gustation and olfaction. *Chemical Senses* 2000;25(3):331–337.
61. Koskinen S, Tuorila H. Performance on an odor detection and identification test as a predictor of ortho- and retronasal odor intensity ratings in the young and elderly. *Food Quality and Preference* 2005;16(5):383–392.
62. Stevens JC, Cain WS. Old-age deficits in the sense of smell as gauged by thresholds, magnitude matching and odor identification. *Psychol Aging* 1987;2:26–42
63. Stevens JC, Cain WS. Age-related deficiency in the perceived strength of six odorants. *Chemical Senses* 1985;10(4):517–529.
64. Stevens JC, Plantinga A, Cain WS. Reduction of odor and nasal pungency associated with aging. *Neurobiology of Aging* 1982;3(2):125–132.

65. Stevens JC, Cain WS, Schiet FT, Oatley MW. Olfactory adaptation and recovery in old age. *Perception* 1989;18(2):265–276.
66. Wysocki CJ, Gilbert AN. National geographic smell survey. Effects of age are heterogenous. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1989;561:12–28.
67. Cain WS, de Wijk RA, Nordin S, Nordin M. Independence of odor quality and absolute sensitivity in a study of aging. *Chemosensory Perception* 2008;1(1):24–33.
68. Rawson NE, Gomez G, Cowart B, Restrepo D. The use of olfactory receptor neurons (ORNs) from biopsies to study changes in aging and neurodegenerative diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1998;855(1):701–707.
69. Savic I, Gulyas B, Larsson M, Roland P. Olfactory functions are mediated by parallel and hierarchical processing. *Neuron* 2000;26(3):735–745.
70. de Wijk RA, Cain WS. Odor quality: Discrimination versus free and cued identification. *Perception & Psychophysics* 1994;56:12–18.
71. Larsson M, Öberg C, Bäckman L. Odor identification in old age: Demographic, sensory and cognitive correlates. *Neuropsychology, Development, and Cognition. Section B, Aging, Neuropsychology and Cognition* 2005;12(3):231–244.
72. Olofsson JK., Gottfried JA. The muted sense: Neurocognitive limitations of olfactory language. *Trends in Cognitive Sciences* 2015;19(6):314–321.
73. Croy I, Nordin S, Hummel T. Olfactory disorders and quality of life—An updated review. *Chemical Senses* 2014;39(3):185–194.
74. Makowska I, Kloszewska I, Grabowska A, Szatkowska I, Rymarczyk K. Olfactory deficits in normal aging and Alzheimer's disease in the polish elderly population. *Archives of Clinical Neuropsychology* 2011;26(3):270–279.
75. Wehling EI, Nordin S, Espeseth T, Reinvang I, Lundervold AJ. Unawareness of olfactory dysfunction and its association with cognitive functioning in middle aged and old adults. *Archives of Clinical Neuropsychology* 2011;26(3):260–269.
76. Murphy C, Schubert CR, Cruikshanks KJ, et al. Prevalence of olfactory impairment in older adults. *J Am Med Assoc* 2002;288:2307–12.
77. Brämerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M. Prevalence of olfactory dysfunction:

The Skövde population-based study. *The Laryngoscope* 2004;114(4):733–737.

78. Larsson M, Bäckman L. Semantic activation and episodic odor recognition in young and older adults. *Psychology and Aging* 1993;8(4):582–588.

79. Larsson M, Bäckman L. Age-related differences in episodic odour recognition: The role of access to specific odour names. *Memory* 1997;5(3):361–378.

80. Murphy C, Nordin S, Acosta L. Odor learning, recall, and recognition memory in young and elderly adults. *Neuropsychology* 1997;11(1):126–137.

81. Wehling EI, Wollschlaeger D, Nordin S, Lundervold AJ. Longitudinal changes in odor identification performance and neuropsychological measures in aging individuals. *Neuropsychology* 2016;30(1):87–97.

82. Cain WS, Reid F, Stevens JC. Missing ingredients: Aging and the discrimination of flavor. *Journal of Nutrition for the Elderly* 1990;9(3):3–15.

83. Duffy VB, Cain WS, Ferris A. Measurement of sensitivity to olfactory flavor: Application in a study of aging and dentures. *Chemical Senses* 1999;24(6):671.

84. Stevens JC, Cain WS. Changes in taste and flavor in aging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1993;33(1):27–37.

85. Boesveldt S, et al. Anosmia—A clinical review. *Chemical Senses* 2017;42(7):513–523.

86. Attems J, Walker L, Jellinger KA. Olfaction and aging: A mini-review. *Gerontology* 2015;61(6):485–490.

87. Doty RL, Kamath V. The influences of age on olfaction: A review. *Frontiers in Psychology*, 2014;5:1–20.

88. Rawson NE. Olfactory loss in aging. *Science of Aging Knowledge Environment* 2016;2006(5), pe6.

89. Larsson M, Farde L, Hummel T, Witt M, Lindroth NE, Bäckman L. Age-related loss of olfactory sensitivity: association to dopamine transporter binding in putamen. *Neuroscience* 2009;161(2):422–6

90. Richardson CT, Walsh JH, Cooper KA, Feldman M, Fordtran JS. Studies on the role of cephalic-vagal stimulation in the acid secretory response to eating in normal human subjects. *J Clin Invest* 1977;(2):435–41.

91. De Houwer J, Thomas S, Baeyens F. Associative learning of likes and dislikes: a review of 25 years of research on human evaluative conditioning. *Psychol Bull* 2001;127(6):853-69.
92. Davis JD, Levine MW. A model for the control of ingestion. *Psychol Rev* 1977;84(4):379-412.
93. Birch LL, Deysher M. Caloric compensation and sensory specific satiety: Evidence for self regulation of food intake by young children. *Appetite* 1986;7(4):323-331.
94. Schaal B, Marlier L, Soussignan R. Olfactory function in the human fetus: evidence from selective neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluid. *Behav Neurosci* 1998;112(6):1438-49.
95. Mennella JA, Beauchamp GK. The effects of repeated exposure to garlic-flavored milk on the nursing's behavior. *Pediatr Res* 1993;34(6):805-8.
96. Mennella JA, Johnson A, Beauchamp GK. Garlic ingestion by pregnant women alters the odor of amniotic fluid. *Chem Senses* 1995;20(2):207-9.
97. Yan X, Joshi A, Zang Y, Assunção F, Fernandes HM, Hummel T. The Shape of the Olfactory Bulb Predicts Olfactory Function. *Brain Sci* 2022;12(2):128.
98. Block E, et al. Implausibility of the vibrational theory of olfaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(21):E2766-74.
99. Rinaldi A. The scent of life. The exquisite complexity of the sense of smell in animals and humans. *EMBO Rep* 2007;8(7):629-633.
100. Pinto JM. Olfaction. *Proc Am Thorac Soc* 2011;8(1):46-52.
101. Caminiti F, Ciurleo R, De Salvo S, Galletti F, Bramanti P, Marino S. Olfactory event-related potentials in a functionally anosmic patient with arrested hydrocephalus. *J Int Med Res* 2019;47(3):1353-1358.
102. Damm M, Schmitl L, Müller CA, Welge-Lüssen A, Hummel T. Diagnostics and treatment of olfactory dysfunction. *HNO* 2019;67(4):274-281.
103. Ciprandi G, Gelardi M. Open and clean: the healthy nose. *Acta Biomed* 2019;90(2-S):4-6.
104. Hendrix P, et al. Perioperative olfactory dysfunction in patients with meningiomas of the anteromedial skull base. *Clin Anat* 2019;32(4):524-533.
105. Raj A, Singh AK. Anosmia: A Clinic Based Review. *Indian Journal of Public Health Research*

& Development 2023;14(2), 23–27.

106. Schemper T, Voss S, Cain WS. Odor identification in young and elderly persons: sensory and cognitive limitations. *J Gerontol* 1981;36(4):446–52.

107. Cain WS, Gent JF. Olfactory sensitivity: reliability, generality and association with aging. *J Exp Psychol* 1991;17:382–91.

108. de Wijk RA, Cain WS. Odor identification by name and by edibility: lifespan development and safety. *Hum Factors* 1994;36:182–7.

109. Leopold DA, Bartoshuk L, Doty RL, et al. Aging of the upper airway and the senses of taste and smell. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;100(4):287–9.

110. Doty RL, Shaman P, Dann M. Development of the University of Pennsylvania smell identification test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav* 1984;32(3):489–502.

111. Duncan HJ, Smith DV. Clinical disorders of olfaction. In: Doty RL, ed. *Handbook of olfaction and gustation*. New York: Marcel-Dekker; 1995. p. 345–65.

112. Cain WS, Goodspeed RB, Gent J, et al. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Research Center. *Laryngoscope* 1988;98(1):83–8.

113. Franco B, et al. A gene deleted in Kallmann's syndrome shares homology with neural cell adhesion and axonal path-finding molecules. *Nature* 1991;353:529–536.

114. Moya-Plana A, Villanueva C, Laccourreye O, Bonfils P, de Roux N. PROKR2 and PROK2 mutations cause isolated congenital anosmia without gonadotropic deficiency. *Eur J Endocrinol* 2013;168:31–37.

115. Goldberg YP, et al. Loss-of-function mutations in the Nav1.7 gene underlie congenital indifference to pain in multiple human populations. *Clin Genet* 2007;71:311–319

116. Nilsen KB, Nicholas AK, Woods CG, Mellgren SI, Nebuchennykh M, Aasly J. Two novel SCN9A mutations causing insensitivity to pain. *Pain* 2009;143:155–158.

117. Weiss J, et al.. Loss-of-function mutations in sodium channel Nav1.7 cause anosmia. *Nature* 2011;472:186–190.

118. Vuorela PE, Penttinen MT, Hietala MH, Laine JO, Huoponen KA, Kääriäinen HA. A familial CHARGE syndrome with a CHD7 nonsense mutation and new clinical features. *Clin Dysmorphol*

2008;17:249–253.

119. Jongmans MC, et al. CHD7 mutations in patients initially diagnosed with Kallmann syndrome – the clinical overlap with CHARGE syndrome. *Clin Genet* 2009;75:65–71.
120. Carpio-Orantes LD, Garcia-Mendez S, Diaz JSS, Solis-Sanchez I, Aguilar-Silva A. Anosmia and dysgeusia as markers of severity and prognosis in COVID-19. *Brain Circ* 2023;9(1):50-51.
121. Schiffman S.S. Taste and smell in disease. *N Engl J Med* 1983;308:1275–1279. 1337-1343.
122. Schiffman S.S. Taste and smell losses in normal aging and disease. *JAMA*. 1997;278:1357–1362.
123. Deems DA, Doty RL, Settle RG. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania smell and taste center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;117:519–528.
124. Nasr MJ, Alizadeh Khatir A, Babazadeh A, Ebrahimpour S. The Role of ACE2 Receptors of the Olfactory System in Anosmia in COVID-19: An Overview. *Neurol Res Int* 2021;2021:5776801.
125. Pouga L. Encephalitic syndrome and anosmia in COVID-19: Do these clinical presentations really reflect SARS-CoV-2 neurotropism? A theory based on the review of 25 COVID-19 cases. *J Med Virol* 2021;93(1):550-558. doi:10.1002/jmv.26309
126. Li X, Lui F. Anosmia. [Updated 2022 Dec 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482152/>
127. Watkinson JC, Clarke RW. Scott-Brown’s otorhinolaryngology and head and neck surgery: volume 1: basic sciences, endocrine surgery, rhinology. Boca Raton, FL: CRC Press, 2018.
128. Scangas GA, Bleier BS. Anosmia: differential diagnosis, evaluation, and management. *Am J Rhinol Allergy* 2017; 31(1): e3–e7
129. Borsetto D, et al. Selfreported alteration of sense of smell or taste in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis on 3563 patients. *Rhinology* 2020; 58(5): 430–436.
130. Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS. University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *Laryngoscope* 1984; 94(2 Pt 1): 176–178.
131. ENT UK. Management of new onset anosmia in the COVID pandemic: BRS consensus

guidelines. London: ENT UK, 2020. [https:// www.entuk.org/sites/default/files/BRS%20COVID%20anosmia%20guidelines%20-%20 recommendations%20only.pdf](https://www.entuk.org/sites/default/files/BRS%20COVID%20anosmia%20guidelines%20-%20recommendations%20only.pdf) (accessed 5 Feb 2021).

132. Fong KJ, et al. Olfactory secretion and sodium, potassium-adenosine triphosphatase: regulation by corticosteroids. *Laryngoscope* 1999; 109(3): 383–388.

133. Stehle JH, et al. A survey of molecular details in the human pineal gland in the light of phylogeny, structure, function and chronobiological diseases. *J Pineal Res* 2011;51:17–43.

134. Hardeland R., Pandi-Perumal SR. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr Metab* 2005;2:22.

135. Sugden D. Melatonin: binding site characteristics and biochemical and cellular responses. *Neurochem Int* 1994;24:147–157.

136. Vaněček J, Pavlík A, Illnerová H. *Brain Res* 1987;435:359–362.

137. Tan DX, Manchester LC, Qin L, Reiter RJ. Melatonin: a mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics. *Int J Mol Sci* 2016;17:2124.

138. Doghramji K. Melatonin and its receptors: a new class of sleep-promoting agents. *J Clin Sleep Med* 2007;3(5 Suppl):S17-23.

139. Prater WT, Swamy M., Beane MD, Lester DB. Examining the effects of common laboratory methods on the sensitivity of carbon fiber electrodes in amperometric recordings of dopamine. *J Behav Brain Sci* 2018;08:117–125.

140. Pappolla MA, Chyan YJ, Poeggeler B, Frangione B, Wilson G, Ghiso J, Reiter RJ. An assessment of the antioxidant and the antiamyloidogenic properties of melatonin: implications for Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2000;107(2):203-31. doi: 10.1007/s007020050018

141. Sharma R, McMillan CR, Niles LP. Neural stem cell transplantation and melatonin treatment in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J Pineal Res* 2007;43(3):245-54.

142. Sharma R, McMillan CR, Tenn CC, Niles LP. Physiological neuroprotection by melatonin in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Brain Res* 2006;1068(1):230-6. doi: 10.1016/j.brainres.2005.10.084.

143. Barlow KM, Esser MJ, Veidt M, Boyd R. Melatonin as a Treatment after Traumatic Brain Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Pre-Clinical and Clinical Literature. *J Neurotrauma* 2019;36(4):523-537. doi: 10.1089/neu.2018.5752.

144. Golabchi A, Wu B, Li X, Carlisle DL, Kozai TDY, Friedlander RM, Cui XT. Melatonin improves quality and longevity of chronic neural recording. *Biomaterials* 2018;180:225-239. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.026
145. Esposito E, Cuzzocrea S. Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. *Curr Neuropharmacol* 2010;8(3):228-42. doi: 10.2174/157015910792246155.
146. Liu S, Madu CO, Lu Y. The role of melatonin in cancer development. *Oncomedicine* 2018;3:37-47.
147. Tan DX. Melatonin and brain. *Curr Neuropharmacol* 2010;8(3):161. doi: 10.2174/157015910792246263.
148. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJ, Esquifino AI, Hardeland R, Cardinali DP. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. *Neurotox Res* 2005;7(4):293-318. doi: 10.1007/BF03033887.
149. McCarter SJ, et al. Treatment outcomes in REM sleep behavior disorder. *Sleep Med* 2013;14(3):237-42. doi: 10.1016/j.sleep.2012.09.018.
150. Collet J, Ftouni S, Clough M, Cain SW, Fielding J, Anderson C. Differential Impact of Sleep Deprivation and Circadian Timing on Reflexive Versus Inhibitory Control of Attention. *Sci Rep* 2020;10(1):7270. doi: 10.1038/s41598-020-63144-y.
151. Gendy MNS, Lagzdins D, Schaman J, Le Foll B. Melatonin for Treatment-Seeking Alcohol Use Disorder patients with sleeping problems: A randomized clinical pilot trial. *Sci Rep* 2020;10(1):8739. doi: 10.1038/s41598-020-65166-y.
152. Kim SW, Kim S, Son M, Cheon JH, Park YS. Melatonin controls microbiota in colitis by goblet cell differentiation and antimicrobial peptide production through Toll-like receptor 4 signalling. *Sci Rep* 2020;10(1):2232. doi: 10.1038/s41598-020-59314-7.
153. Bagheri H., Afkhami A., Hashemi P., Ghanei M. Simultaneous and sensitive determination of melatonin and dopamine with Fe₃O₄ nanoparticle-decorated reduced graphene oxide modified electrode. *RSC Adv* 2015;5:21659-21669.
154. González-González A, et al. Usefulness of melatonin as complementary to chemotherapeutic agents at different stages of the angiogenic process. *Sci Rep* 2020;10(1):4790. doi: 10.1038/s41598-020-61622-x.
155. Reiter RJ, Ma Q, Sharma R. Treatment of ebola and other infectious diseases: melatonin ‘goes

viral' Melatonin Res 2020;3(1):43–57.

156. Diss LB, Robinson SD, Wu Y, Fidalgo S, Yeoman MS, Patel BA. Age-related changes in melatonin release in the murine distal colon. *Chem. Neurosci* 2013;4:879–887.

157. Bidabadi SS, Vanderweide J, Sabbatini P. Exogenous melatonin improves glutathione content, redox state and increases essential oil production in two *Salvia* species under drought stress. *Sci Rep* 2020;10

158. Kennedy DW. Olfactory loss in chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2017;7(6):549–550. <https://doi.org/10.1002/alr.21969>

159. Landis BN, Hsieh J. W, and Coppin G. Circadian anosmia: a rare clinical presentation. *Laryngoscope* 2018;128(7):1537–1539. <https://doi.org/10.1002/lary.27106>

160. Fidan V, Alp HH, Gozeler M, Karaaslan O, Binay O, Cingi C. Variance of melatonin and cortisol rhythm in patients with allergic rhinitis. *American Journal of Otolaryngology* 2013;34(5):416–419.

161. Slominski AT, et al. Metabolism of melatonin in the skin: Why is it important? *Experimental Dermatology* 2017;26(7):563–568.

162. Touitou Y, Reinberg A, Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption. *Life Sciences* 2017;173:94–106.

163. Cecon E, Liu L, Jockers R. Melatonin receptor structures shed new light on melatonin research. *Journal Pineal Research* 2019;67(4):e12606.

164. Corthell JT, Olcese J, Trombley PQ. Melatonin in the mammalian olfactory bulb. *Neuroscience* 2014;261:74–84.

165. Koc S, Cayli S, Aksakal C, Ocakli S, Soyalic H, Somuk BT, Yüce S. Protective effects of melatonin and selenium against apoptosis of olfactory sensory neurons: A rat model study. *American Journal of Rhinology and Allergy* 2016;30:e62–e66.

166. Chen HJ and Reiter RJ. Influence of subcutaneous deposits of melatonin on the antigonadotrophic effects of blinding and anosmia in male rats. A dose-response study. *Neuroendocrinology* 1980;30:169–173

167. Sen A. Does serotonin deficiency lead to anosmia, ageusia, dysfunctional chemesthesis and

increased severity of illness in COVID-19? *Med Hypotheses* 2021;153:110627.

168. Zhang R, Wang X, Ni L, di X, Ma B, Niu S, Liu C, Reiter RJ. COVID-19: Melatonin as a potential adjuvant treatment. *Life Sciences* 2020;250:117583.

169. Givaudan Index (1949). Givaudan-Delwanna, New York.

170. Kiorpes AL, Keith IM, Dubielzig RR. Pulmonary changes in rats following administration of 3-methylindole in cremophore EL. *Histol Histopathol* 1988;3:125-132.

171. Hammond AC, Carlson J, Willett J. The metabolism and disposition of 3-methylindole in goats. *Life Sci* 1979;25:1301- 1306

172. Bray TM, and Kubow S. Involvement of free radicals in the metabolism of 3-methylindole-induced pulmonary toxicity: An example of metabolic activation in chemically induced lung disease. *Environ. Health Perspect* 1985;64:61-61.

173. Ravindranath V, Burka L, Boyd M. Reactive metabolites from bioactivation of toxic methylfurans. *Science* 1984;224:884-886.

174. Opdyke DL. Monographs on fragrance raw materials. *Food Cosmet Toxicol* 1976;14(5):443-481. doi: 10.1016/s0015-6264(76)80184-8.

175. Morse CC, Boyd M, Witschi H. The effect of 3-methylfuran inhalation exposure on the rat nasal cavity. *Toxicolpg* 1984;30:195-204.

176. Haschek WM, Morse C, Bo~D'M, Hakkinen P, Witschi H. Pathology of acute inhalation exposure to 3-methylfuran in rat and hamster. *Exp. Mol. Pathol* 1983;39:342-354.

177. Saunders R, Griffith J, Saalfeld F. Identification of some organic smog components based on rain water analysis. *Biomed Mass Specfrom* 1974;1:192- 194.

178. Slotnick B, et al. Accessory olfactory bulb function is modulated by input from the main olfactory epithelium. *Eur J Neurosci* 2010;31:1108 –16.

179. Vedin V, Slotnick B, Berghard A. Zonal ablation of the olfactory sensory neuroepithelium of the mouse: effects on odorant detection. *Eur J Neurosci* 2004;20:1858 – 64.

180. Youngentob SL, et al. Odorant threshold following methyl bromide-induced lesions of the olfactory epithelium. *Physiol Behav* 1997;62:1241–1252.

181. Mann NM. Management of smell and taste problems. *Cleve Clin J Med* 2002;69(4):329–336.

182. Fonteyn S, Huart C, Deggouj N, Collet S, Eloy P, Rombaux P. Non-sinonasal related olfactory dysfunction: A cohort of 496 patients. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2014;131(2):87-91.
183. Jafari A, Holbrook EH. Therapies for Olfactory Dysfunction - an Update. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2022 Mar;22(3):21-28. doi: 10.1007/s11882-022-01028-z
184. Xerfan EMS, et al. Could melatonin have a potential adjuvant role in the treatment of the lasting anosmia associated with COVID-19? A review. *Int J Dev Neurosci* 2022;82(6):465-470.
185. Cakan D, Usaklioglu S. The Effect of Melatonin on Nasal Septal Wound Healing in an Experimental Animal Model. *Facial Plast Surg* 2023; 39(02): 148-154.
186. Nota J, Takahashi H, Hakuba N, Hato N, Gyo K. Treatment of Neural Anosmia by Topical Application of Basic Fibroblast Growth Factor–Gelatin Hydrogel in the Nasal cavity. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013; 139(4):396-400.
187. Beites CL, Kawauchi S, Crocker CE, Calof AL. Identification and molecular regulation of neural stem cells in the olfactory epithelium. *Exp Cell Res.* 2005; 306(2):309-16.
188. Slotnick B, Restrepo D, Schellinck H, et al. Accessory olfactory bulb function is modulated by input from the main olfactory epithelium. *Eur J Neurosci* 2010; 31:1108-16.
189. Min YG, Kim JW, Hong SC, et al. Pathogenetic mechanism of olfactory cell injury after exposure to sulfur dioxide in mice. *Laryngoscope* 2003; 113:2157– 62.
190. Jang W, Kim KP, Schwob JE. Nonintegrin laminin receptor precursor protein is expressed on olfactory stem and progenitor cells. *J Comp Neurol* 2007; 502:367– 81.
191. Kratskin IL, Kimura Y, Hastings L, et al. Chronic dexamethasone treatment potentiates insult to olfactory cells produced by 3-methylindole. *Brain Res* 1999; 847:240-6.
192. Bergström U, Giovanetti A, Piras E, et al. Methimazole-induced damage in the olfactory mucosa: effects on ultrastructure and glutathione levels. *Toxicol Pathol* 2003; 31:379–87.
193. Yoon H, Enquist LW, Dulac C. Olfactory inputs to hypothalamic neurons controlling reproduction and fertility. *Cell* 2005; 123:669–82.
194. Shirley DM, Williams SA, Santos PM. Brain-derived neurotrophic factor and peripheral nerve regeneration: a functional evaluation. *Laryngoscope* 1996; 106:629–632.
195. Thornton-Manning J, Appleton ML, Gonzalez FJ, et al. Metabolism of 3-methylindole by vaccinia-expressed P450 enzymes: correlation of 3-methyleneindolenine formation and protein-

binding. J Pharmacol Exp Ther 1996; 276:21–9.

196. Dawson PA, Steane SE, Markovich D. Impaired memory and olfactory performance in NaSi-1 sulphate transporter deficient mice. Behav Brain Res. 2005;159(1):15-20. doi:10.1016/j.bbr.2004.09.020

197. McBride K, Slotnick B, Margolis FL. Does intranasal application of zinc sulfate produce anosmia in the mouse? An olfactometric and anatomical study. Chem Senses. 2003;28(8):659-670. doi:10.1093/chemse/bjg053

