

**MEYVE SİNEĞİNDE (*Drosophila melanogaster*)  
ÇEŞİTLİ ANESTEZİK AJANLARIN ÖMÜR  
UZUNLUĞU, FERTLİTE ve OKSİDATİF STRES  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Ümmügülsüm TÜKENMEZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı  
Yrd. Doç. Dr. Hakan AŞKIN  
2011**

**Her Hakkı Saklıdır.**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEYVE SİNEĞİNDE (*Drosophila melanogaster*) ÇEŞİTLİ  
ANESTEZİK AJANLARIN ÖMÜR UZUNLUĞU, FERTİLİTE ve  
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİ

ÜMMÜGÜLSÜM TÜKENMEZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2011

Her Hakkı Saklıdır.



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**MEYVE SİNEĞİ (*Drosophila melanogaster*)' de ÇEŞİTLİ ANESTEZİK  
AJANLARIN ÖMÜR UZUNLUĞU, FERTİLİTE, OKSİDATİF STRES  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Yrd. Doç. Dr. Hakan Aşkın danışmanlığında, Ümmügülüm TÜKENMEZ tarafından hazırlanan bu çalışma 25/07/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hakan AŞKIN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mesut TAŞKIN

İmza :

(imza)

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum  
**Enstitü Müdürü**

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 2010/30

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

# MEYVE SİNEĞİNDE (*Drosophila melanogaster*) ÇEŞİTLİ ANESTEZİK AJANLARIN ÖMÜR UZUNLUĞU, FERTİLİTE ve OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİ

Ümmügülsüm TÜKENMEZ

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hakan AŞKIN

Bu çalışmanın amacı, özellikle lokal anestezide sıklıkla kullanılan lidokain ve bupivakainin *Drosophila melanogaster*'de ömür uzunluğu, fertilitite ve oksidatif stres üzerine olası etkileşimlerini araştırmaktır. Daha önceki çalışmalarda lokal anestezi maddeleri *Drosophila melanogaster*'de çok az kullanılmıştır. Bu amaçla 72 saatlik larvalara lokal anestezi maddelerinin farklı dozları (%0,0625, %0,125, %0,25 ve %0,5) uygulandı. Kontrol ve deney gruplarından elde edilen veriler, bu maddelere maruz kalan larvalardan oluşan ergin sineklerin ömür uzunluğu ve fertilitelerinde değişikliklerin olduğunu gösterdi. Ayrıca oksidatif stresi belirlemek amacıyla biyokimyasal parametreler incelendi.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar lidokain ve bupivakain uygulamalarının dişi bireylerde ömür uzunluğunu kontrole göre doz artışına paralel olarak arttırdığını; fakat erkek bireylerde ise genelde ömür uzunluğunu azalttığını (BUPİ IV hariç) ortaya çıkarmıştır. Dişi bireylerin glutatyon redüktaz aktivitesi için elde edilen sonuçlar ömür uzunluğu ile ilgili deneylerden elde edilen bulguları destekler niteliktedir. Bu iki lokal anestezi maddenin karışımı ise ortalama ömür uzunluğu, maksimum ortalama ömür uzunluğu ve glutatyon redüktaz enzim aktivitesi üzerine olumsuz etki yapmıştır. LİDO II ve BUPİ III hariç incelenen lokal anestezi ajanlarının fertilitite üzerine etkisi genelde olumsuz olmuştur.

Bu çalışmada lidokain ve bupivakain tek başına kullanıldığında özellikle dişi bireylerde glutatyon redüktaz enzimi üzerinde zayıf aktivatör olarak davranarak ömür uzunluğunu arttırmış; ancak fertilitite üzerinde önemli değişikliklere neden olmamıştır. Ayrıca bu iki lokal anestezi maddenin karışımı enzim üzerinde inhibisyonun yanısıra ömür uzunluğu üzerinde negatif etki yapmıştır.

**2011, 58 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, fertilitite, lokal anestezi ajan, oksidatif stres, ömür uzunluğu.

## ABSTRACT

Master Thesis

### THE EFFECTS OF VARIOUS ANESTHETIC AGENTS ON LONGEVITY, FERTILITY and OXIDATIVE STRESS in FRUIT FLY (*Drosophila melanogaster*)

Ümmügülsüm TÜKENMEZ

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hakan AŞKIN

The scope of this study was to investigate the possible effect of lidocaine and bupivacaine, which are often used especially local anesthesia on longevity, fertility and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. In previous studies, local anesthetic agents were used very little in *Drosophila melanogaster*. For this purpose, different doses of the local anesthetic agents (0,0625%, 0,125%, 0,25% and 0,5%) were applied to 72-hour larvae. The data obtained from control and test groups showed that there were changes in the longevity and fertility of adults flies which grew from larvae to exposed to these agents. In order to determine oxidative stress biochemical parameters were investigated.

The present results elucidated that although lidocaine and bupivacaine applications increased life span in parallel with an increase in dose in female individuals compared to control, they generally reduced the life span in male individuals (except for BUPİ IV). The results obtained for glutathione reductase activities of female individuals seemed to support the findings obtained from the experiments related with life span. The mixture of these two local anesthetics affected adversely mean life span (MLS), maximum mean life span (MMLS) and glutathione reductase activity. The effect on fertility of examined local anesthetics was generally negative (except for LIDO II and BUPİ III).

In this study, it was determined that when lidocaine and bupivacaine are used alone, they increased longevity by acting as a weak activator on the glutathione reductase enzyme in especially female individuals, but did not cause significant changes in fertility. Whereas, the mixture of these substances caused a negative effect on the longevity as well as inhibition on the enzyme.

**2011, 58 pages**

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, fertility, local anesthetic agent, oksidative stres, longevity.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi 2010/30 nolu araştıma projesi kapsamında, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, deneylerimin yapılması ve tezimin yazılması esnasında her türlü yardım ve desteği esirgemeyen değerli hocam, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan Aşkın'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimyasal çalışmalarındaki yardım ve katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat ŞENTÜRK'e, bölümümüz öğretim elemanlarına, bilgi ve yardımlarından faydalandığım laboratuvar ve ev arkadaşlarıma, manevi desteğini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi çalışmalarım esnasında da beni teşvik eden ve her türlü desteği esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ümmüğülsüm TÜKENMEZ

Temmuz 2011

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Lokal Anestezikler .....	5
1.1.1. Lokal anestezik maddelerin etki mekanizmaları .....	6
1.1.1.a. Spesifik reseptör teorisi: .....	7
1.1.1.b. Yüzeysel şarj teorisi:.....	7
1.1.1.c. Membran ekspansiyonu teorisi:.....	7
1.1.2. Lokal anestezik maddelerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması .....	7
1.1.3. Çalışmada kullanılan lokal anestezik maddeler .....	8
1.1.3.a. Lidokain (xylocaine, lignocaine, 1948).....	8
1.1.3.b. Bupivakain (marcaine, carbostesin, sensorcaine, 1963).....	9
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi .....	9
1.2.1. Serbest radikaller .....	9
1.2.2. Antioksidan savunma sistemleri.....	12
1.2.2.a. Antioksidan sistemlerin sınıflandırılması.....	12
1.2.2.b. Glutasyon redüktaz (GR) enzimi (EC 1.8.1.7) ve Glutasyon.....	12
1.2.2.c. Antioksidan sistemlerin mekanizmaları .....	16
1.3. Oksidatif Stres .....	16
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>17</b>
<b>3. MATERYAL ve METOD.....</b>	<b>24</b>
3.1. Kullanılan Organizma .....	24
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> ' in yaşam döngüsü.....	25
3.2. Deney Koşulları.....	27
3.2.1. Çevre koşulları .....	27

3.2.2. Kimyasal bileşikler.....	28
3.3. Deneylerin Yapılışı.....	28
3.3.1. 72 saatlik (üçüncü evre) larvalara LİDO ve BUPİ'nin uygulanması .....	28
3.3.2. Ömür uzunluğu çalışmaları .....	29
3.3.3. Fertilite çalışmaları.....	29
3.3.4. Enzim aktivitelerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar .....	30
3.3.4.a. Homojenizasyon ve santrifügasyon.....	30
3.3.4.b. Enzim aktivite tayini .....	30
3.3.4.b.1. GR enziminin aktivite ölçümü .....	30
3.4. İstatistik Analizler .....	31
<b>4.ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>32</b>
4.1. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri .....	32
4.1.1. LİDO'nun ömür uzunluğu üzerine etkisi .....	32
4.1.2. BUPİ'nin ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	33
4.1.3. LİDO + BUPİ'nin ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	35
4.2. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Fertilite Üzerine Etkileri.....	39
4.2.1. LİDO'nun fertilite üzerine etkisi .....	40
4.2.2. BUPİ'nin fertilite üzerine etkisi .....	40
4.3. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Oksidatif Stres Direnci Üzerine Etkileri .....	42
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>44</b>
5.1. Sonuç .....	51
KAYNAKLAR .....	52
ÖZGEÇMİŞ	

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

g	Gram
K <sup>+</sup>	Potasyum İyonu
mg	Miligram
ml	Mililitre
Na <sup>+</sup>	Sodyum İyonu
rpm	Revolution per minute
%	Yüzde değer
♀♀	Dişi
♂♂	Erkek

### Kısaltmalar

<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet Oksijeni
2O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit Anyonu
BUPI	Bupivakain
CAT	Katalaz
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DNA	Deoksiribonükleik asit
EU	Enzim Ünitesi
GSH	İndirgenmiş Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GSH-Rd	Glutatyon Redüktaz
GSSG	Okside Glutatyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HO	Hidroksil Radikali
HOCl	Hipokloröz asit
IDM	Instant <i>Drosophila</i> Medium
LİDO	Lidokain
MIX	Lidokain + Bupivakain

MLS	Maximum Life Span = Ortalama Ömür Uzunluğu
MMLS	Maximum Mean Life Span = Maksimum Ortalama Ömür Uzunluğu
NO·	Nitrik Oksit
OH·	Hidroksil Radikali
OSS	Otonom Sinir Sistemi
PABA	Paraaminobenzoik Asit
RNA	Ribonükleik asit
ROO·	Peroksil Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDB	Standart <i>Drosophila</i> Besiyeri
SMART	Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SOD	Süperoksit Dismutaz
SSS	Santral Sinir Sistemi
W.t.	Wild type = Yabanıl tip

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Lidokainin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 1.2. Bupivakainin kimyasal yapısı.....	9
Şekil 1.3. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma mekanizması.....	11
Şekil 3.1. <i>Drosophila</i> 'nın gelişim evreleri.....	26
Şekil.4.1. Dişi ve Erkek bireyler için LİDO, BUPİ ve LİDO + BUPİ MLS karşılaştırması .....	37
Şekil.4.2. Dişi ve Erkek bireyler için LİDO, BUPİ ve LİDO + BUPİ MMLS karşılaştırması .....	37
Şekil.4.3. LİDO'nun erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi .....	38
Şekil.4.4. BUPİ' nin erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi .....	39
Şekil.4.5. LİDO + BUPİ' nin erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi .....	39
Şekil 4.6. LİDO ve BUPİ' nin dişi bireylerde fertilité üzerine etkisi .....	41
Şekil 4.7. LİDO ve BUPİ' nin erkek bireylerde fertilité üzerine etkisi .....	42

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Anti-oksidanların Sınıflandırması .....	13
Çizelge 3.1. Bu çalışma için kullanılan farklı besi ortamlarının içeriği .....	28
Çizelge 4.1. Farklı LİDO konsantrasyonları ile beslenen <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim.....	33
Çizelge 4.2. Farklı BUPİ konsantrasyonları ile beslenen <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim.....	34
Çizelge 4.3. Farklı LİDO + BUPİ konsantrasyonları ile beslenen <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim.....	36
Çizelge.4.4. Farklı LİDO konsantrasyonları ile beslenen <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerinin fertilitesindeki değişim.....	40
Çizelge.4.5. Farklı BUPİ konsantrasyonları ile beslenen <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireylerinin fertilitesindeki değişim.....	41
Çizelge 4.6. Lidokain ve bupivakain ilaçlarının <i>Drosophila melanogaster</i> GR enzimi üzerine <i>in vivo</i> inhibisyon ve aktivasyon sonuçları.....	43

## 1. GİRİŞ

Yaşlanma, çevresel faktörlerin etkisiyle canlı üzerinde yapısal ve işlevsel değişmelere yol açarak organizmayı ölüme götüren olaylar toplamı olarak tanımlanabilir. Yaşlanma olayını primer yaşlanma ve sekonder yaşlanma olarak ikiye ayırmak mümkündür. Primer yaşlanma, yaşlanma sürecine bağlı olarak yapı ve fonksiyonlardaki bozulmadır. Primer yaşlanma hızı, DNA'nın serbest radikallerden korunması mekanizmalarının etkinliğine bağlıdır. Çünkü DNA hücre ve dokuların yapısal ve işlevsel bütünlüğünün devam ettirilmesi için çalışan yönetici moleküldür. Sekonder yaşlanma ise çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan yaşlanmadır. Primer yaşlanmayı yavaşlatmak maksimal yaşam süresinde artmaya, sekonder yaşlanmayı yavaşlatmak ise ortalama yaşam süresinde artmaya sebep olmaktadır (Cankurtaran 2010).

Bugünkü bilgiler yaşlanmanın dinamik ve şekillendirilebilir bir süreç olduğunu, gelişme ve yaşlanma süresinin sadece genlerle değil aynı zamanda çevresel ve epigenetik etkilerle kontrol edildiğini göstermektedir (Helfand and Inouye 2002). Canlıların ömür uzunluklarının çevresel faktörlerinden etkilendiği (Parsons *et al.* 1973) ve stres faktörlerine karşı direncin artmasının popülasyonun yaşlanma sürecini uzattığı bilinmektedir (Bourg *et al.* 2001).

Yaşlanma, oldukça karmaşık bir olay olduğundan tek bir mekanizma ile açıklanması mümkün değildir. Bu yüzden, yaşlanmanın temel prensip ve özelliklerini açıklamaya çalışan biyolojik mekanizmalar genellikle teori seviyesindedir ve hiçbiri tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir (Nalbant 2006). Canlılarda yaşlanmayı açıklayan bu teorilerden bazıları, serbest radikal teorisi, somatik mutasyon teorisi, genetik yaşlanma teorisi, hücre yaşlanması teorisi, immünolojik teori, endokrin teori, nöroendokrin teori, mutasyon birikimi teorisi ve antagonistik pleiotropi teorisi şeklinde sıralanabilir (Ayar 2008).

Yaşlanma teorileri içerisinde en çok kabul gören ve incelenen teori serbest radikal teorisidir. Bu teori 1956 yılında Harman tarafından ortaya konmuştur. Bu teoriye göre yaşlanma, normal hayat boyunca meydana gelen serbest radikallerin dokularda ve hücrelerde oluşturduğu oksidatif hasarın birikimi sonucu meydana gelir. Serbest radikal teorisine göre yüksek metabolizma hızı, serbest radikallerin yüksek düzeyde üretilmesine ve dolayısıyla hızlı yaşlanmaya ve ömür uzunluğunun kısalmasına neden olur (Mair *et al.* 2004). Ayrıca endojen olarak üretilen yüksek reaktivitedeki bu serbest radikaller somatik mutasyonlara, protein ve genetik yapı (DNA) hasarına yol açar. Reaktif oksijen türevleri (ROT) yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak toksik olabilmektedir. Bunun sonucunda da metabolik, nörodejeneratif ve genetik bozukluklara, otoimmün, kardiyovasküler ve enfeksiyöz hastalıklara, kansere ve allerjik patolojilere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır (Droge 2002).

Yaşlanma teorilerinden bir diğeri somatik mutasyon teorisidir. Somatik hücrelerde yaşam boyu biriken mutasyonlar birçok hastalığa neden olur. Örneğin, onkojenik mutasyonların somatik hücrelerde yaşam boyu birikmesi kanser görülme oranını yaş ilerledikçe artırır (Curtis 1966). Somatik mutasyon teorisi mitokondrial DNA mutasyonlarını da kapsayacak şekilde genişletilmiştir.

Bir başka teori, bireylerin ömür uzunluğunu kalıtıma dayandıran genetik yaşlanma teorisidir. Örneğin, genel kanı olarak dişi bireylerin erkek bireylere göre beklenen yaşam süresi daha uzundur. Bu teoriyi savunan bilim adamları, yaşlanmanın nedeninin genetik şifrede yazılı olduğunu ileri sürmektedirler. Erken dönemdeki büyüme ve gelişme basamakları nasıl bir programı takip ediyorsa, yaşlanma ve ölüm de bir program izlemektedir (Jazwinski 1996).

Hücre yaşlanması teorisinde ise hücre proliferasyonunu kontrol eden genler yaşlanmanın sebebidir. Kromozom telomer bölgesindeki DNA kayıpları ve programlı hücre ölümü yani apoptoz da yaşlanma ile ilişkilidir (Hemann *et al.* 2001). Hücre ölümü ayrıca iskemi ya da toksinler gibi nedenlerle de olabilir. Buna "nekrotik hücre ölümü" adı verilir.

İmmünolojik teoriye göre yaşlanmanın nedeni yaşla birlikte bağışıklık sistemindeki zayıflamadır. T- lenfositlerin kalitesi ve miktarında azalma söz konusudur. Yaşlanma ile birlikte görülen birincil immün yanıt zayıflaması vücudu enfeksiyonlara duyarlı kılar. İmmün sistemin yaşlanmasıyla, vücut kendi dokuları ile yabancı maddeler arasındaki farkı tanıma yeteneğini kaybeder (Walford 1974).

Yaşlanma ile ilişkilendirilen bir başka teori ise endokrin teorisi. Bu teoriye göre, endokrin bezlerin hormon salgılamalarındaki anormallikler yaşlanmayı başlatmaktadır. Pineal bezden salgılanan, uyku-uyanıklık döneminin düzenlenmesinde önemli rolü olan ‘melatonin’ hormonu ve böbreküstü bezinden salgılanan ‘dehidroepiandrosteron’ (DHEA) hormonunun düzensizleşmesinin yaşlanmayı hızlandırdığı bildirilmiştir (Barrou *et al.* 1997).

Endokrin teoriye bir yönüyle benzeyen nöroendokrin teoride ise yaşlanma, vücudun kimyasalları engelleme ve vücuttan atma (negative feedback) mekanizmasının hassasiyetinin azalması neticesinde oluşmaktadır. Bu teoride hipofiz bezini kontrol eden beyin hipotalamus bölgesi önemlidir. Ayrıca otonom sinir sisteminde (OSS) meydana gelen birçok değişiklik beyin merkezlerindeki yavaşlamaya yol açmaktadır (Artur *et al.* 1992).

*Drosophila*, yaşlanma genetiği açısından en çok ilgilenilen organizmadır. Bu alandaki çalışmalarda, özellikle yaşlanmanın biyolojisi üzerine öne sürülen iki teori dikkat çekmektedir. Artan yaşla doğal seleksiyon baskısının azaldığı gerçeğine dayanan bu teorilerden en önde gelenleri, mutasyon birikimi teorisi (Medawar 1952) ve antagonistik pleiotropi teorileridir (Williams 1957).

Mutasyon birikimi teorisinde, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar, tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar 1952). Antagonistik pleiotropi teorisi ise, canlılık ve yumurta üretimini düzenleyen allellerin ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu üzerinde negatif bir etkiye sahip olduklarını ileri sürmektedir (Williams 1957). Başka bir ifadeyle, ömür uzunluğunun

gen allellerinin genç ve ileri yaşlardaki pleiotropik etkisi dolayısıyla ortaya çıkabileceği ve böylece erken yaşlarda yararlı etkisi olan genlerin sonraki dönemlerde zararlı etkilerinin görülebileceği ileri sürülmektedir (Partridge 2001).

*Drosophila*'da ömür uzunluğunu ve fertilitiyi etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörleri iç ve dış faktörler olarak iki büyük gruba ayırmak mümkündür. İç faktör olarak anasal yaş, yumurta üretimi, genetik yapı ve eşey tipi farklılığı sayılabilir. Dış faktörler ise beslenme, radyasyon, populasyon yoğunluğu, sıcaklık ve ışık başlıkları altında toplanabilir.

Dış faktörler arasında sayılan beslenme faktörü böceklerin ömür uzunluğunu önemli derecede etkilemektedir. Örneğin, besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulduğunda *Drosophila*'ların ömür uzunlukları kısalmıştır (Jordens *et al.* 1999). Pantotenik asit ise ömür uzunluğunu arttırmıştır (Strehler 1962). Biotin vitamini eksikliğinde *Drosophila*'da ömür uzunluğu ve fertilitede önemli düşüşler tespit edilmiştir (Landenberger *et al.* 2004). Sadece sukroz+agar'la beslenen *Drosophila subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ortalama ömür uzunluğuna sahip oldukları bulunmuştur (Bozcuk 1970). Bir liken türü olan *Usnea longissima*, *D. melanogaster* popülasyonlarında düşük konsantrasyonda ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonda ise ömür uzunluğunda bir azalma göstermiştir (Altun 2007). Başka bir çalışmada ise *Porphyra* (porphyran)'dan izole edilen polisakkaritlerin ömür uzunluğunu ve yaşam kabiliyetini arttırdığı belirlenmiştir (Zhao *et al.* 2008). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda da beslenmenin *Drosophila* üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Örneğin, dünya üzerinde nadir olarak bulunan Cerium elementinin *Drosophila*'da ortalama ömür uzunluğu, maksimum ömür uzunluğu ve fertilité üzerine etkileri incelenmiş ve Cerium'un artan konsantrasyonlarının her üç parametre içinde olumsuz etkileri rapor edilmiştir (Huang *et al.* 2010). Özellikle soya ve ürünlerinde bol miktarda bulunan ve östrojenik aktivitesinden dolayı alternatif tıpta da yaygın bir şekilde kullanılmakta olan genistein *D. melanogaster*'de artan konsantrasyonlarda ömür uzunluğunu önemli ölçüde azaltmıştır (Altun *et al.* 2011).

Beslenme yoluyla *D. melanogaster*'e anestezi maddelerinin ilk uygulaması 2009 yılında gerçekleşmiştir. Schneider *et al.* (2009), lidokain, prilonest ve septanest isimli anestezi maddelerin bir *in vivo* test sistemi olan somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile genotoksitelerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda yalnızca prilonestin somatik hücrelerde genotoksik aktivite sergilediği, lidokain ve septanest ise herhangi bir gen veya kromozomal mutasyona yol açmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmadan başka literatürde lokal anestezi maddelerin kullanıldığı benzer çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tıpta son derece önemli bir yeri olan anestezinin 5500 yıllık bir geçmişi bulunmaktadır. Ancak, modern anestezinin tarihi 1846 yılında, eterin anestezi özelliklerini tanıtan Thomas Gren Mortan ile başlamaktadır. Bunu daha sonra diğer anestezi ajanların ve morfin gibi maddelerin kullanılması izlemiştir (<http://www.turkiyehastanesi.com>).

Anestezi hem geleneksel tıpta hem de modern tıpta ayrıcalıklı bir yere sahip bulunmaktadır. Hemen her tür cerrahi müdahalede anestezi kullanılmaktadır. Kelime olarak anestezi; duyuların yokluğu, hissizlik anlamına gelmektedir. Genel anlamda ise hayati fonksiyonlarda değişme olmaksızın; bilinç kaybı ile beraber duyuların ve bazı reflekslerin geçici olarak kaybolması olarak tanımlanmaktadır.

### **1.1. Lokal Anestezikler**

Lokal anestezi maddeler, uygun dozlarda verildiklerinde uygulama yerinde sinir iletimini geçici olarak bloke eden maddelerdir. Bu anestezi maddelerin bu bloke etkileri geri dönüşümlüdür (Kayhan 2004).

Lokal anesteziğin ilki olan kokain, 1860'da Niemann tarafından izole edildikten yirmi yıl sonra 1884'de anestezide klinik olarak kullanıma sunulmuş ve yaklaşık otuz yıl kullanılmıştır (Kayhan 2004). Kokainin alışkanlık yapıcı merkezi sinir sistemi etkileri bulunduğundan sonra kokainin yerine kullanılacak maddelerin araştırılması süreci hızlanmıştır. Einhorn 1904'te paraaminobenzoik asit (PABA) derivelerinin

patentini almış ve bu bileşiklerden prokaini ilk defa etkin ve geniş bir şekilde kullanan bilim adamı olmuştur (Korfalı 2003). Ancak prokainin güçlü olmayışı ve allerjik potansiyelinin yüksek olması nedeniyle yeni arayışlar başlamıştır. 1948'de Löfgren tarafından lidokain, 1963'de de Ekenstein tarafından bupivakain sentezlenmiştir (Korfalı 2003; Kayhan 2004).

Günümüzde çok sayıda lokal anestezi geliştirilerek hekimliğin hizmetine sunulmuştur. Bunlar kokain, prokain, tetrakain, tutakain, butakain ester, lidokain, prilokain, bupivakain, mepivakain amid, fenokain ve dipiridon gibi çok sayıda olup anestezi amaçla kullanılmaktadır (Doğan 1999).

### **1.1.1. Lokal anestezi maddelerin etki mekanizmaları**

Sinir aksonlarının ve kalp kası membranı  $-90/-60$  mV arasında transmembran potansiyeline sahiptirler. Uyarılma sırasında, sodyum kanalları açılır ve hızla içeri doğru geçen sodyum, membranı sodyumun denge potansiyeline ( $+40$  mV) doğru depolarize eder. Bu depolarizasyon sonucunda, sodyum kanalları kapanır (inaktive olur) ve potasyum kanalları açılır. Potasyumun dışarı doğru akımı membranı potasyumun denge potansiyeline (yaklaşık  $-95$  mV) doğru repolarize eder. Repolarizasyon sodyum kanallarını istirahat durumuna döndürür. Transmembran iyonik gradientler sodyum pompası ile sağlanır. Bu özellikler kalp kasının özelliklerine benzer ve lokal anestezi iki dokuda da benzer etki gösterirler (Morgan *et al.* 2002). Lokal anestezi sodyum kanallarının intrasellüler ucuna yakın reseptörlere bağlanırlar ve kanalı zamana ve voltaja bağımlı şekilde bloke ederler (Morgan *et al.* 2002).

Lokal anestezi özellikle periferik sinirlerde olmak üzere tüm uyarılabilir dokularda depolarizasyon blokajı yaparak membran stabilizasyonu sağlar. Bu blokajı da, en çok kabul gören görüşe göre çoğu lokal anestezi  $\text{Na}^+$  kanallarının iç yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak kanalların aktivasyonu ve membran depolarizasyonuna bağlı  $\text{Na}^+$  geçişini önleyerek gerçekleştirir. Bu durum istirahat membran potansiyelini veya eşik düzeyini değiştirmez fakat depolarizasyon hızını yavaşlatır. Aksiyon potansiyeli

ilerleyemez, çünkü eşik düzeyine asla ulaşamaz. Bazı lokal anestezipler ise reseptöre bağlanmak yerine membrana penetre olup membranda genişleme ve kanalda bozulmaya yol açabilir. Yüzey gerilim teorisine göre ise axonal membrana lokal anesteziplerin parsiyel penetrasyonu transmembran potansiyelini yükseltir ve depolarizasyonu inhibe eder (Scholz 2002).

Lokal anesteziplerin hücre membranındaki etkileri üç ayrı teoriyle açıklanmaktadır (Kayhan 2004).

**1.1.1.a. Spesifik reseptör teorisi:** Sinirde membran potansiyelindeki değişiklikler  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  iyonlarının protein yapısındaki özel kanalların içinden geçişine bağlıdır. Lokal anestezipler muhtemelen  $\text{Na}^+$  kanallarında bulunan spesifik lokal anestezipler reseptörlerine bağlanarak  $\text{Na}^+$  geçişini inhibe ederler.

**1.1.1.b. Yüzeysel şarj teorisi:** Bu teoriye göre lokal anesteziplerin molekülü noniyonize lipolitik aromatik yüksüz ucu ile membrana bağlanır. Membran dış yüzündeki negatif yükleri nötralize eder ve membran potansiyeli artar. Transmembran potansiyelindeki bu artma yeterli düzeye ulaştığında, diğer sinir membranlarından gelen bir elektriksel akım membran potansiyelini eşik değere düşürmeye yeterli olmaz ve blok oluşur.

**1.1.1.c. Membran ekspansiyonu teorisi:** Lipofilik lokal anesteziplerin molekülü, membrandaki lipid moleküllerinin hareketlerini artırır ve membranda genişlemeye neden olur. Membran genişlemesi ile  $\text{Na}^+$  kanalları sıkışır.  $\text{Na}^+$  iyonları membranı geçemez. Bu durumda aksiyon potansiyeli oluşmaz ve blok oluşur.

## **1.1.2. Lokal anesteziplerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması**

Lokal anestezipler kimyasal yapılarına göre amid yapılı olanlar, ester yapılı olanlar, alkoller ve diğerleri şeklinde sınıflandırılır (Işık 2002). Ester yapılı olanlar, plazma kolinesterazı ve ayrıca karaciğer esterazları tarafından parçalandıklarından kısa etki süresine sahiptir. Amid yapılı olanlar ise karaciğerde mikrozomal enzimler tarafından

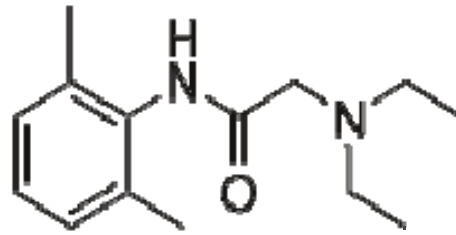
daha yavaş parçalanır; gerek lokal gerekse sistemik etkileri ester yapıda olanlara göre daha uzundur (Çelik vd 2008).

- **Ester Grubu (Benzoik Asit Esterleri):** Kokain, Prokain, Klorprokain, Tetrakain, Benzokain.
- **Amid Grubu:** Lidokain, Mepivakain (Carbocaine), Prilokain (Citanest), Bupivakain (Marcaine), Etidokain (Duranest), Dibukain (Nupercaine), Levobupivakain (Chirocaine).
- **Alkoller:** Etil alkol, Aromatik alkoller.
- **Diğerleri:** Kompleks sentetik bileşikler; Holokaine, Quinoline deriverleri; Eucupin. Klinikte lokal anestezi olarak yalnız amid ve ester grubu ajanlar kullanılır (Işık 2002).

### 1.1.3. Çalışmada kullanılan lokal anestezi maddeler

#### 1.1.3.a. Lidokain (xylocaine, lignocaine, 1948)

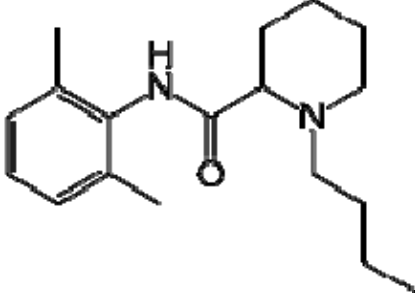
Lidokain klinik kullanıma ilk sunulmuş olan amid grubu lokal anestetiktir. Yüksek etki gücü, etkisinin hızlı başlaması ve orta uzunlukta sürmesi, topikal etkisi nedeniyle lokal anestezi en sık kullanılan lokal anestetiktir. Genellikle güvenilirdir, fakat geniş kullanım alanı nedeniyle aşırı doz kullanımı sıkça meydana gelebilir ve sistemik intoksikasyon gelişebilir. Bu durumlarda santral sinir sisteminde (SSS) (sersemlik, dilde ve ağız çevresinde uyuşma, ataksi, ajitasyon, konvülsiyon, solunum depresyonu, koma) ve kardiyovasküler sistemde toksisite gözlemlenebilir (Çelik vd 2008).



**Şekil 1.1.** Lidokainin kimyasal yapısı

### 1.1.3.b. Bupivakain (marcaine, carbostesin, sensorcaine, 1963)

Bupivakain amid grubu lokal anestetik olup, sentez edildiği 1963 yılından beri cilt altı infiltrasyonu, periferik sinir blokları, epidural ve spinal anestezi de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kayhan 1997). Bupivakain lokal anestetik ajanlar içinde en sık kullanılan, yan etkileri en iyi bilinen, uzun etki süreli ve kardiyovasküler toksisitesi en fazla olan lokal anestetiktir (Rachel and Markham 2000). Yüksek doz uygulandığında hipotansiyona, miyokard depresyonuna, dilde uyuşmaya, sersemlik haline, baş dönmesine, bulanık görmeye, tremor ve bunları takip eden uyku haline, bilinç kaybına ve solunum durması gibi yan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Mycek *et al.* 1998).



Şekil 1.2. Bupivakainin kimyasal yapısı

## 1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi

### 1.2.1. Serbest radikaller

Aerob organizmaların atmosferdekenden yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz kaldıklarında, oksijenin bu organizmalara karşı toksik olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu toksisitenin asıl sebebi ise, oksijenin serbest radikallere indirgenmesidir (Frank 1985).

İlk kez 1954 yılında, oksijenin biyolojik sistemlerde görülen toksik etkilerinin, oksijenin bazı reaktif türlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Bugün, oksijenin

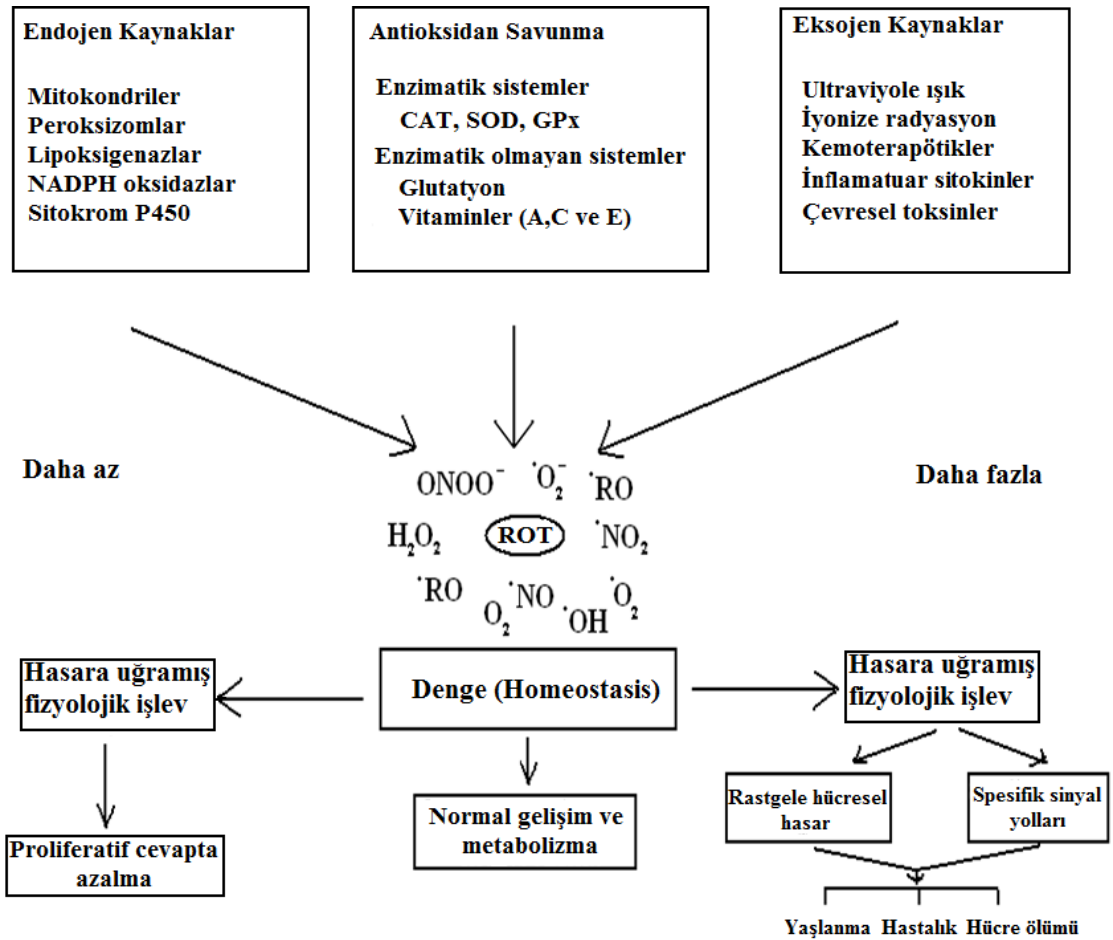
canlılardaki toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir (Kılınç ve Kılınç 2002).

Atomlar ve kimyasal bileşikler her bir orbitalde ikişer tane zıt yönlü elektron taşırlar. Orbitalerin bu şekilde zıt yönlü doyurulması atom ve moleküllerin stabilitesini artırır, reaktivitelerini azaltır. Herhangi bir atomun veya molekülün dış orbitalinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini artırır. Dış orbitalde paylaşılmamış elektron içeren ve dolayısıyla reaktivitesi fazla olan bileşikler serbest radikal olarak adlandırılır (Kılınç ve Kılınç 2003). Reaktivite kazanmış serbest radikaller DNA, protein, lipid, karbohidrat, koenzimler vb. birçok biyolojik moleküle zarar verebilmektedir. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock 1998).

Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (ROT) adı da verilmektedir (Gülbahar 2007).

Serbest radikaller, hücrelerde ekzojen ve endojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Özdem ve Sadan 1994). Endojen kaynaklar arasında ise hücrenin kendi mitokondri ve peroksizomları, lipoksigenazlar, NADPH oksidazlar ve sitokrom P-450 sayılabilir (Şekil 1.3).

Organizmada serbest radikal ve ROT'un oluşumunun ana kaynağı ksenobiyotikler ve ksenobiyotiklerin biyoaktivasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROT), süperoksit anyonu ( $2O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $HO^\bullet$ ), nitrik oksit ( $NO^\bullet$ ), peroksil radikali ( $ROO^\bullet$ ), ve radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dir (Babior 2000). Oksijen molekülü 1 elektron indirgendiğinde süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), 2 elektron indirgendiğinde hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), 3 elektron indirgendiğinde ise hidroksil radikali oluşmaktadır ( $OH^\bullet$ ) (Şekil 1.3). Süperoksit elektromanyetik radyasyona maruz kaldığında moleküler oksijen ile birleşip singlet oksijeni ( $^1O_2$ ) oluşturmaktadır (Ekici ve Sağdıç 2008). Şekil 1.3'de serbest radikal oluşum mekanizmaları ve bu radikallerin ortadan kaldırılması ile ilişkili antioksidan savunma mekanizması görülmektedir.



Şekil 1.3. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma mekanizması

Birçok maddenin serbest radikal oluşturarak oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kurşun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, glomerulonefritis, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon, Vit E eksikliği, kanser, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatitis ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogenezisinde etkili oldukları öne sürülmektedir (Özdem ve Sadan 1994).

### **1.2.2. Antioksidan savunma sistemleri**

Hücrelerde serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, bunları yakalama, stabilize etme ve yok etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Onat vd 2002). Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" olarak adlandırılır.

#### **1.2.2.a. Antioksidan sistemlerin sınıflandırılması**

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar şeklinde sınıflandırılabilirdiği gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılabilir (Çizelge 1.1.).

Çalışmamızda endojen antioksidan enzim olan glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi incelenmiştir.

#### **1.2.2.b. Glutatyon redüktaz (GR) enzimi (EC 1.8.1.7) ve Glutatyon**

Glutatyon redüktaz (GR) enzimi (EC 1.8.1.7) ilk defa 1951’de tanımlanmıştır. Bu enzim düşük veya yüksek molekül ağırlıklı disülfid substratları ile indirgenmiş piridin nükleotidleri arasında elektron transferini katalizler.

**Çizelge 1.1. Anti-oksidanların Sınıflandırması**

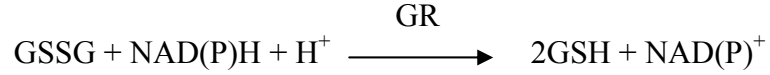
Endojen Antioksidanlar		Eksojen Antioksidanlar	
Enzim olan endojen antioksidanlar	Enzim olmayan endojen antioksidanlar	Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Melatonin	a-tokoferol (vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
Glutasyon peroksidaz (GSHPx)	Seruloplazmin	β-karoten	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar)
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Transferin	Askorbik asit (vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)	Miyoglobin	Folik asit (folat)	Trolox-C (vitamin E analogu)
6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD)	Hemoglobin		Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
Glutasyon redüktaz (GR)	Ferritin		Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
Katalaz	Bilirubin		Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi	Glutasyon		Nötrofil adezyon inhibitörleri
Hidroperoksidaz	Sistein		Sitokinler (TNF ve IL-1)
	Metiyonin		Barbitüratlar
	Ürat		Demir şelatörleri
	Laktoferrin		
	Albümin		

Glutasyon redüktaz (Glutasyon;  $\text{NADP}^+$  oksidoredüktaz, EC 1.8.1.7: GR) flavoenzimlerin piridin-nükleotid disülfid oksidoredüktaz ailesinin bir üyesidir. Bu enzim glutasyon disülfiti (GSSG) indirgenmiş glutasyona ( $\gamma$ -L-glutamil-L-sisteinil glisin;GSH) NADPH yada NADH'ı bir indirgeyici ajan gibi kullanarak indirgenmesini katalizler (Gül *et al.* 2000).

Glutasyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutasyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutasyon (GSH) eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Akkuş 1995). Glutasyon okside ve redükte olmak üzere iki formda bulunur. İndirgenmiş glutasyon enzimatik ya da enzimatik olmayan yollarla okside glutasyona (GSSG) dönüşür. Bu dönüşüm özellikle peroksitlerin parçalanmasında ve enzimatik transhidrojenasyon sonucu gerçekleşmektedir.

Glutasyon, yapısında bulunan -SH grupları ile oksitleyici ajanların bozucu etkilerine karşı hücreyi korumaktadır. Dolayısıyla glutasyonun düşük konsantrasyonunda bazı metabolik olumsuzluklar meydana gelebilir. Glutasyonun belirlenen görevlerinden bazıları şunlardır: Serbest radikallerin ve reaktif oksijen ürünlerinin inaktivasyonu, hemoglobin, spektrin gibi membran proteinlerini ve çeşitli enzim proteinlerinin tiyol gruplarının korunması, ksenobiyotiklerin, bazı antineoplastik ilaçların ve bazı metabolik son ürünlerin konjugasyonla detoksifikasyonu, DNA ve protein sentezi, amino asit transportu, insülin gibi bazı proteinlerin disülfür bağlarının koparılması ve böylece proteinlerin konformasyonunun değişmesi, hücre içerisinde sistein deposu olarak bulunması ve bazı enzimatik reaksiyonlarda rol oynamasıdır (Demir 1994; Knapen *et al.* 1999).

Glutasyon redüktaz (GR) enzimi, GSH-Px (glutasyon peroksidaz) vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyonu (GSH) dönüşümünü katalize eder.



Glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bu reaksiyonun en önemli hedeflerinden biri hücre ortamındaki GSH/GSSG oranını korumaktır. Bu oran kırmızı kan hücrelerinde yaklaşık olarak 500/1'dir. Eritrositlerde GSH eksikliği zorunlu metabolik işlemlerin ciddi bir şekilde bozulmasıyla sonuçlanır ve bu durum hemolize yol açar. Bu nedenle pentoz fosfat yolunun etkin olarak çalışabilmesi için 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimiyle beraber bu yolun enzim aktivitelerinin yeterli miktarda olması gerekir (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

Antioksidan enzim glutasyon redüktaz, çoğu organizmanın hücrel redoks metabolizmasında GSH indirgenmesinin düzenlenmesini katalizleyerek hayati bir rol oynar. GSH redoks homeostasisinde, deoksiribonükleotidlerin şekillendirilmesinde ayrıca peroksitlerin, 2-oksoaldehitlerin ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görev alır. Oksidatif strese karşı dayanıksız hücreler ve ek olarak hızlı poliferasyon hücrelerinin canlılığı nisbeten GSH'ın rejenerasyonuna bağlıdır. Bu sebepten, potansiyel GR inhibitörleri antitümör ve antiparaziter ilaçların geliştirilmesinde önemli rol oynar (Becker *et al.* 2001,2003).

Bu öneminden dolayı glutasyon redüktaz enzimi üzerine çok sayıda çalışma yapılmış, birçok kaynaktan saflaştırılmış ve biyokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bazı kaynaklardan elde edilen enzimin amino asit dizilimi ve aktif bölgeleri belirlenmiştir (Becker *et al.* 2001). İnsan eritrositi, fare karaciğeri, bazı bitki ve bakteri hücrelerinden GR cDNA'ları elde edilmiş ve bazı biyokimyasal çalışmalar yapılmıştır (Kelner and Montoya 2000).

### 1.2.2.c. Antioksidan sistemlerin mekanizmaları

Antioksidanlar mekanizmalarına göre ise, birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan CAT, SOD ve GSHPx gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücrel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock 1998). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran A, C ve E vitaminleri, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou *et al.* 2002).

### 1.3. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu serbest radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme olması durumunda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması durumunda oksidatif stres meydana gelir ve sonuçta doku hasarına yol açılır (Mercan 2004).

Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (Halliwell *et al.* 1992).

Bu çalışmada GR enzim aktivitesinin ölçülmesiyle *D. melanogaster* 'de ömür uzunluğu, fertilitate ve oksidatif stres direncindeki değişiklikler belirlenerek lokal anestetik maddelerden LIDO ve BUPİ'nin antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Lokal anestezi maddelerinin *Drosophila* gibi böcek sistemlerinde kullanılmasına ait literatürde fazla bir bilgiye rastlanılmamıştır. Ancak özellikle günümüze yakın tarihlerde yapılan birkaç araştırma mevcuttur.

Schneider *et al.* (2009), lidokain, prilonest ve septanest isimli anestezi maddelerinin *Drosophila*'da bir *in vivo* test sistemi olan somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile genotoksitelerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda yalnızca prilonestin somatik hücrelerde genotoksik aktivite sergilediği, lidokain ve septanestin ise herhangi bir gen veya kromozomal mutasyona yol açmadığını bildirilmiştir.

Song *et al.* (2011), hamam böceklerinde sodyum kanalları üzerine lidokainin etkilerini incelemişler ve sodyum kanallarının bloke olma mekanizması ile memelilerdeki mekanizmanın benzer olduğunu tespit etmişlerdir.

Günümüzde hemen hemen tüm cerrahi uygulamalarda kullanılmakta olan lokal anestezi maddeler hakkında birçok çalışma bulunmaktadır. Çalışmalar özellikle bu maddelerin toksik etkileri ve antioksidan özellikleri üzerinde yoğunlaşmıştır.

Lokal anestezi maddeler ile ilgili yaptığımız literatür çalışması sonucunda bu maddelerin yüksek doza bağlı olarak özellikle sinir sistemi hücreleri üzerine toksik etkili (Li *et al.* 1985; Rigler *et al.* 1991; Drasner *et al.* 1994; Auroy *et al.* 1997; Hashimoto *et al.* 1998; Sakura *et al.* 2005) olabileceği gibi bu maddelerin antioksidan (Akkuş 1995; Murphy *et al.* 1996; Yağmurdur *et al.* 2004) özelliklere de sahip olabilecekleri belirlenmiştir.

Anestezi uzmanları tarafından kullanılan bütün ajanların doza bağlı olarak potansiyel toksik etkili olduğu bilinmektedir (Naguib *et al.* 1998).

Gold *et al.* (1998), lidokain toksisitesini farelerin primer afferent nöronlarında incelemişlerdir. Dorsal kök gangliyon nöron kültürü 4 dakika süreyle 30 mM konsantrasyonda lidokaine maruz kaldıktan sonra lidokaine bağlı nöronal ölüm gözlenmiştir. Lidokain intrasellüler ortamda serbest  $Ca^{++}$  konsantrasyonunu artırmış ve böylece nöral ölüme katkıda bulunmuştur.

Kanai *et al.* (2000), *in vitro* olarak yaptıkları araştırmada lidokainin, 80 mM'lık yüksek konsantrasyonunun fare siyatik sinirinde, enzimlerin sitoplazmadan sızmasını kolaylaştırarak ve membran hasarına neden olarak nörotoksik etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Johnson *et al.* (2002), hücre kültürü modelinde %2,5'dan daha yüksek lidokainin sitoplazmik kalsiyumu ( $Ca^{+2}$ ) toksik seviyeye yükselttiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar yüksek konsantrasyonlarda bupivakain ve düşük konsantrasyondaki lidokainin ise kısa süreli uygulamalarda nörotoksik etkilerinin olmadığını rapor etmişlerdir. Ancak başka bir çalışma grubu yüksek konsantrasyonlarda lidokainin, sıçanlarda antioksidan enzimatik sistemleri ve redoks tepkimelerini etkileyerek oksidatif strese yol açabildiklerini rapor etmişlerdir (Cano-Europa *et al.* 2008).

Lokal anestezik maddelerin antioksidan özellikleri ile alakalı yayınlanmış eserlere de rastlamak mümkündür.

Zemel *et al.* (1995), albino ve renkli tavşanlarda LİDO ve BUPİ'yi araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre anestezi için etkili olan LİDO ve BUPİ'nin konsantrasyonları tavşan retinası için toksik olmadığını belirtmişlerdir.

Ramazzotto *et al.* (1985), Sprague Dawley sıçanlarında gebelik esnasında uygulanan lidokainin teratojenik ve toksikolojik etkilerini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda yüksek dozlarda dahi lidokainin belirgin bir toksikolojik veya teratojenik etki yapmadığını belirtmişlerdir.

Lesnefsky *et al.* 1989, köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada lidokainin, lipid peroksidasyon ürününün serbest bırakılmasını azaltarak miyokardiyal hücre membranı koruduğunu bildirmişlerdir.

Murphy *et al.* (1996), eritrositlerde serbest radikal aracılığı ile oluşan oksidatif stres üzerine propofol ve thopenton anesteziik maddelerin etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, hem propofol hem de thopenton serbest radikal temizleyicisi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, propofolün thopentona göre daha güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Lenfant *et al.* (2004), lidokain, bupivakain ve ropivakain lokal anesteziik maddelerin antioksidan potansiyellerini karşılaştırmalı olarak insan eritrosit hücrelerinde çalışmışlardır. *In vitro* olarak yapılan deneyde oksidatif strese maruz bırakılmış insan eritrosit hücre modelinde lidokainin antioksidan potansiyelinin diğer iki anesteziik maddeye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Tokgöz vd (2010), lidokain aşırı doz uygulamasında hastalarda konvülsiyon, kardiyak toksisite ve koma görüldüğünü rapor etmişlerdir. Bu çalışmada el bileğinde kitle çıkarılması için intravenöz rejyonel anestezi uygulaması amacıyla toplam 225 mg %2'lik lidokain uygulanması gerekirken, ambalajına dikkat edilemediği için, yanlışlıkla aynı hacimde ve benzer ampül formunda olan %10'luk lidokain'den toplam 1200 mg verildiği halde sadece hafif santral sinir sistemi bulguları gözlenen bir olgu sunulmuştur.

1910 yılından itibaren özellikle genetik denemelerde kullanılan *D. melanogaster* ve diğer model organizmalar son yıllarda ömür uzunluğu, fertilitte ve oksidatif stres çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarının özetleri aşağıda kronolojik sıraya göre verilmiştir:

Loeb and Northrop (1916), sıcaklık ve ömür uzunluğu arasındaki ilişkiyi araştırmış, sıcaklığın ömür uzunluğunu etkileyen stres faktörlerinden biri olduğunu bildirmişlerdir.

Pearl (1928), metabolik aktivite ile ömür uzunluğu arasında bir iliŐki olduğunu belirterek, dŐk metabolik aktiviteye sahip hayvanların daha az O<sub>2</sub> kullandığını ve bu hayvanların yüksek metabolik aktiviteye sahip hayvanlardan daha uzun süre yaŐadıklarını göstermiştir.

Bozcuk (1970), *Drosophila subobscura*'nın sadece sukroz+agar'la beslenen popülasyonunun standart ortamda beslenen populasyondan yaklaşık olarak %50 daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğunu belirtmiştir.

Samis *et al.* (1971), *D. melanogaster*'in erkek ve diŐilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri incelendiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

nl ve Bozcuk (1979), *Drosophila*'da ömür uzunluğunun, farklı türlerde, aynı türün eŐeylerinde ve mutantlar arasında farklılık gösterebileceği ve bunun gibi farklı çevresel koşullarda aynı genotipe sahip populasyonların farklı ömür uzunluklarına sahip olabileceğini göstermişlerdir.

Economus and Lints (1986), *Drosophila*'nın erginlerinde sıcaklık deęiŐiminin ömür uzunluğunu etkilediğini ve özellikle yüksek sıcaklığın daha kısa ömür uzunluğuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Ahmad and Pardini (1990), böceklerin memelilerle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda katalaz aktivitesine sahip olduklarını ve bu nedenle oksidatif stres oluşturan dış etkenlerin bu aktiviteyi nadiren deęiŐtirdięini, böceklerde katalaz aktivitesinin dış etkenlerden çok i etkenlere ve besinsel faktörlere bağlı olarak deęiŐebileceęini belirtmişlerdir.

Setsini *et al.* (1991), yüksek sıcaklıkta metabolik aktivite ve solunum hızının arttığını, bunun serbest radikal oluşumunu arttırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya sebep olduğunu göstermiştir.

Ames *et al.* (1993), canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranının sağlıklı yaşam ve verim açısından önemli olduğunu savunmaktadır. Buna göre, yaşam sürecinde sürekli serbest radikallere maruz kalınması halinde hücre hasarı oluşmakta sonuç olarak kanser veya ölüm meydana gelmektedir.

Zaman *et al.* (1994), *Musca domestica* türünde civa toksisitesinin neden olduğu oksidatif stres sonucu CAT ve SOD aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.

Lithgow *et al.* (1995), ömür uzunluğunun strese karşı direnç gösterme yeteneğine bağlı olduğunu ve strese cevap veren genlerin yaşlanma hızını etkilediğini belirtmişlerdir.

Jordens *et al.* (1999), *Drosophila*'ların besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulduğunda ömür uzunluklarının önemli derecede kısaldığını bulmuşlardır.

Landenberger *et al.* (2004), biotin vitamini eksikliğinde *Drosophila*'da ömür uzunluğu ve fertilitede önemli düşüşlerin olduğunu tespit etmişlerdir.

Altun (2007), *Usnea longissima* likeninin, *D. melanogaster* popülasyonlarında düşük konsantrasyonda ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonda ise ömür uzunluğunda bir azalma gösterdiğini belirtmiştir.

Uysal and Aşkın (2007), fenolün *D. melanogaster* gelişim sürecini uzattığını, fertilité üzerine olumsuz etkileri bulunduğu ve malformasyonlu bireylerin oluşmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra bu olumsuz etkilerin folik asit vitamininin kullanımı ile giderilebileceğini göstermişlerdir (Aşkın *et al.* 2007).

Uysal vd (2009), *Lobaria pulmonaria* likeninin metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırmışlardır. Çalışma sonucunda,

tüm ekstrelerin konsantrasyon artışına paralel olarak ömür uzunluğunu artırdığı, ancak metanol ekstresinin diğerlerine göre daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Zhao *et al.* (2008), *Porphyra* (porphyran)'dan izole edilen polisakkaritlerin *D. melanogaster*'de ömür uzunluğu ve yaşam kabiliyetini artırdığını belirtmiştir.

Dünya üzerinde nadir olarak bulunan Cerium elementinin *Drosophila*'da ortalama ömür uzunluğu, maksimum ortalama ömür uzunluğu ve fertilité üzerine etkileri incelenmiş ve Cerium'un artan konsantrasyonlarının her üç parametre içinde olumsuz etkileri rapor edilmiştir (Huang *et al.* 2010).

Altun *et al.* (2011), bitkisel östrojenlerden genisteinin ömür uzunluğu ve fertilité üzerinde olumsuz etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda oksidatif stresin oluşup oluşmadığı GR enzim aktivitesi ölçülerek belirlenmeye çalışılmıştır. Bu enzim aktiviteleri ile alakalı literatür bilgisi aşağıda verilmiştir.

Enzimin kendi substratı olan NADPH'a ilgisinin yüksek olduğu belirlenmiştir. GR'nin katalizlediği reaksiyon dönüşümlüdür. Fakat reaksiyonun ters yönde ilerlemesi için ortamda yüksek konsantrasyonda GSH ve NADP<sup>+</sup> olmalıdır. *In vitro* şartlarda NADH az bir afinite ile elektron ve proton sağlayıcı olarak kullanılabilirse de NADPH fizyolojik şartlarda aktiviteyi sağlayan tek koenzimdir. Fizyolojik şartlarda reaksiyon esas olarak tek yönlüdür ve GR bu yolla hücre içerisinde GSH/GSSG oranının yüksek tutulmasını sağlar (Açan 1990).

Hayes and McLellan (1999), bütün organizmaların oksidanları veya bu oksidanların sebep oldukları hasarları gideren enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmalarına sahip olduklarını belirtmişlerdir. Hasar verici oksijen ürünlerine karşı enzimatik savunmanın başlıca SOD, CAT ve glutatyon peroksidaz yoluyla yapıldığını belirtmişlerdir. SOD dismutasyon reaksiyonları ile süperoksit anyonlarını H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve

moleküler oksijene çevirmektedirler. CAT veya GSH-Px enzimleri aracılığıyla da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'lerin uzaklaştırılması sağlanmaktadır.

Enzimler üzerine yapılan çalışmaların büyük bir kısmını ilaçların enzim aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi ve bu çalışmalardan yararlanılarak yeni ilaçların geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalar oluşturmaktadır. İlaçlar enzim sistemleri üzerine inhibitör veya aktivatör olarak etki yaparlar. Yapılan araştırmalarda ilaçların çoğunun hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak benzer etkiyi gösterdiği ancak bazı ilaçlarda *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Beydemir *et al.* 2000).

Droge (2002), oksidatif stresin metabolik, nörodejeneratif ve genetik bozukluklara, otoimmün, kardiyovasküler ve enfeksiyöz hastalıklara, kansere ve allerjik patolojilere yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırdığını savunmuştur.

Glutasyon redüktaz enzimi insan eritrositi, domuz eritrositi, sığır eritrositi, sıçan karaciğeri, sığır karaciğeri, koyun beyini, koyun karaciğeri gibi memeli kaynaklardan, mantar, siyanobakteri gibi mikroorganizmalardan ve buğday, mısır, bezelye ve ıspanak gibi bitkisel kaynaklardan saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir (Uluslu *et al.* 2005).

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1.Kullanılan Organizma

Deneylelerimizde kullandığımız organizma *Drosophila melanogaster Oregon R* soyudur (Diptera: Drosophilidae). Bu soyun özellikleri; normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve herhangi bir mutant karakter taşımayan yabancı tip (w.t.=wild type) olarak bilinmektedir. Bu soy, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988 yılından bu yana kendileştirilmiş ve genetik olarak ileri derecede homojen bir laboratuvar stoğudur. ABD'nin *Oregon* eyaletinden köken alarak, ilk kez 1910 yılında Thomas Hunt Morgan tarafından genetik araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Halk arasında meyve sineği veya sirke sineği olarak bilinen bu tür, genetik çalışmalarda en çok kullanılan yabancı soylardan biridir.

Çeşitli kalıtım mekanizmalarının çalışılmasında ve anlaşılmasında, meyve sineklerinin kullanılmasının nedenlerini ve *Drosophila*'yı diğer organizmalara göre üstün kılan özellikleri şöyle sıralayabiliriz:

- 1) Çok çeşitli doğal ya da yapay varyasyonlar gösteren bir organizma olması,
- 2) Hayat devrinin çok kısa (9-10 gün) olması,
- 3) Bir nesilde elde edilen birey sayısının fazla olması,
- 4) Populasyonun laboratuvarında kolayca yetiştirilebilir olması,
- 5) Kontrollü çaprazlama yapılabilmesi,
- 6) Mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen ve özellikle larvaların tükrük bezi hücrelerinde görülebilen dev kromozomları (=politen kromozom) taşıması,
- 7) İşlevsel olarak uzmanlaşmış alt yapılarının bir dizisini içeren ve omurgalı merkezi sinir sisteminde olduğu gibi yaklaşık 200,000 sinir içeren bir beyne sahip olması,
- 8) Beynin fonksiyonel birimleri olan nöronların şekilleri, sinaptik bağlantıları (iletişimleri) ve biyokimyasal işaretleri insanlarınki ile çok benzer olması,

9) İnsan ve *Drosophila* arasındaki biyolojik benzerliklerin yanı sıra *Drosophila*'nın özellikle Alzheimer, Parkinson, Bipolar ve Huntington hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalık sahasında büyük bir başarı ile kullanılması, (Bu işlevsel ve yapısal benzerlikler *Drosophila*'nın biyofiziksel, moleküler biyoloji, nörobiyoloji ve davranış düzeyleri açısından insan hastalıklarının modellenmesine izin vermiştir),

10) Memeli ve böcek sodyum ve potasyum kanallarının benzer şekilde bloke olması,

11) *Drosophila*'nın homeotik seçici genlerinin – sineğin tüm vücut planını kontrol eden genler- memelilerdeki eş değer genlerle yakın ilişkili olduğunun keşfi, insan gelişim sürecinin çalışılmasında *Drosophila*'nın bir model olarak kullanılmasını sağlamıştır.

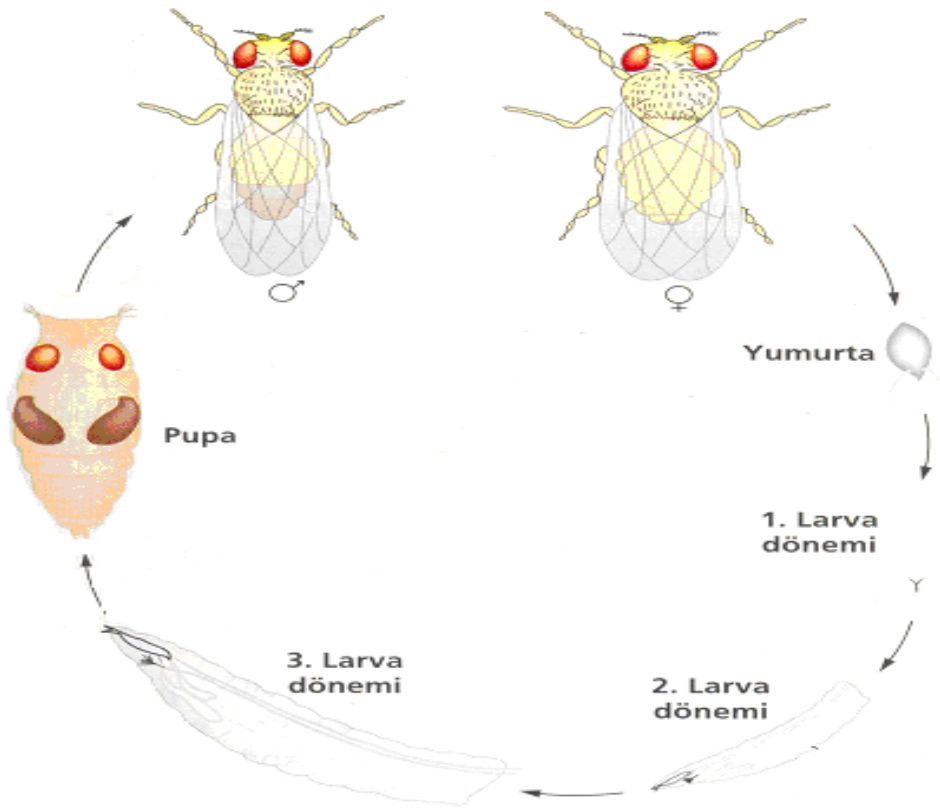
### 3.1.1. *Drosophila melanogaster*' in yaşam döngüsü

*Drosophila melanogaster*'in döllenme ve zigot oluşumunu takiben ergin hale gelmesi süre bakımından ortam sıcaklığına bağımlılık göstermektedir. 25°C'de bu süre 9-10 gündür. Bir ergin dişi sinek yaşamı boyunca 300'e kadar varan sayıda yumurta bırakabilir. Genelde bunların %95'i olgunlaşmış açılabilir. Optimum şartlarda bir genetikçi yılda maksimum 30 generasyon elde edebilir. Yumurtayı takiben holometabol başkalaşımdan dolayı embriyo, larva evreleri, prepuapa, pupa ve ergin dönemleri hayat döngüsünü oluşturur (Doane 1967). Diğer böceklerde olduğu gibi, *Drosophila*'da da gelişme iki aşamada olur.

Birincisi embriyonik dönemdir. Bu dönem, yumurtanın döllenmesi ile başlar ve birinci evre larvanın yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. Bütün embriyonik gelişmeler yumurta zarları içinde meydana gelir. İkinci dönem ise post-embriyonik dönemdir. Birinci evre larvadan ergin birey oluncaya kadar geçen süreyi içine alır.

Yumurtalar, yaklaşık 0,5 mm uzunluğunda olup beyaz renklidir. Yumurtanın dış tarafı korion adı verilen bir zarla kaplıdır. Anterior ucunda dorsalden uzanan bir çift filament, yumurtanın bırakıldığı yumuşak besin ortamına batmamasını sağlar (McMillan *et al.* 1970). Yumurta açılmasını takiben çıkan birinci evre larva, pupa oluşumuna kadar iki defa deri değiştirir ve böylece üç larva dönemi geçirilmiş olur. Larva üçüncü döneminde

yaklaşık 4-4,5 mm uzunluğunda olabilir. Larvanın her deri değişiminde kutikula özel yapıları ile (ağız dahil) birlikte değişir. İç organların büyümesi, deri değişimlerine bağlı olan tedrici ve sürekli şekilde devam eder (Demirsoy 1982). Üçüncü larva döneminin sonuna doğru larva içinde bulunduğu kabın duvarındaki kuru bir bölgeye kadar tırmanır ve burada koyu sarı-kahve renkte ilk önce prepupaya, yaklaşık 4 saat kadar sonrada pupaya gelişir. Gelişimin tamamlanması ile ergin sinekler pupa kılıfının anteriorunu delerek dışarı çıkarlar. Yeni çıkan ergin bireyler ilk önce açık renkli, uzun vücutludur. Fakat hemen birkaç saat içinde koyulaşırlar. Başlangıçta kırışık olan kanatları açılır ve normal ergin görünümüne ulaşırlar. Türler göre değişmekle birlikte bakire dişiler, pupadan çıktıktan 3,5-4 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişebilir ve 12 saat sonra ise yumurtlayabilirler. Erkekler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilirler (Ashburner and Thompson 1978). *Drosophila melanogaster*'in gelişim evreleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *Drosophila*'nın gelişim evreleri

*Drosophila*'da bütün böceklerde olduğu gibi vücut kaput (baş), toraks (göğüs) ve abdomen (karın) olmak üzere üç kısma ayrılır. Baş ve toraks büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) ile örtülüdür. Bunların her iki türü de duyu organı olarak görev yaparlar. Sayı ve şekilleri kalıtsal olarak değişir. Başın iki yanında birer bileşik (petek) göz, tepe kısmında üç basit göz bulunur. Baş bölgesinde ağız parçaları ve 1 çift anten bulunmaktadır. Toraksın her segmentinden bir çift bacak çıkar. İkinci toraks segmentinde bir çift kanat ve 3. toraks segmentinde bir çift halter organı taşır. Abdomen erkek ve dişi bireylerde farklılıklar gösterir. Dişi bireylerde abdomenin ucu uzun ve sivri, erkeklerde daha kısa ve yuvaraktır. Ayrıca dişilerin yaşlanmasıyla abdomenleri yumurtalarla dolar ve buna bağlı olarak genişler. Yabanıl tipler ve birçok mutant bireylerde abdomen segmentlerinde bulunan koyu renkli çizgiler, erkek ve dişilerin ayırımında kullanılan önemli bir kriterdir. Erkek bireylerde abdomenin arka segmentleri siyahtır. Dişide ise bu açık ve koyu çizgiler, abdomenin uç kısmına kadar devam eder. Dişinin abdomeninde 7, erkeğin abdomeninde ise 5 tane görülebilir segment mevcuttur. Mikroskopik incelemelerde dış genital yapıda da farklılıklar gözlenir. Erkeklerde, birinci çift bacağın birinci tarsus segmenti üzerinde siyah ve kalın bir kıl demetinden oluşan eşey tarağı (metatarsal tarak) bulunur. Dişilerde bu oluşuma rastlanmaz.

## **3.2. Deney Koşulları**

### **3.2.1. Çevre koşulları**

Deneyde kullanılan bütün stok kültürler ve kurulan deney sistemleri  $25\pm 1^\circ\text{C}$  sıcaklık ve %40-60 bağıl nem içeren ortamlarda ve sürekli karanlık koşullarda Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda tutuldu. Çalışmalar sırasında sinekler sadece çaprazlama, aktarma, virjin toplama ve larva toplama işlemleri için aydınlık ortama alındılar.

### 3.2.2. Kimyasal bileşikler

Lidokain [CAS No. 137-58-6, Jetmonal<sup>®</sup> (lidokain HCl %2,20 mg/ml NaCl 4,6 mg/ml)] ve Bupivakain [CAS No. 18010-40-7, Marcaine<sup>®</sup> (Bupivakain HCl %0,5, 5 mg/ml NaCl 8 mg/ml)] maddeleri Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji Bölümü'nden temin edildi. Instant *Drosophila* besiyeri Sigma<sup>®</sup> Şirketinden satın alındı. LİDO ve BUPİ bileşikleri %0,9 NaCl içeren fizyolojik su ile seyreltildi. Bu lokal anestezikler ve karışımları dört farklı konsantrasyonda (%0,0625; %0,125; %0,25; %0,5) test edildi. Hazırlanan tüm konsantrasyonlar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Bu çalışma için kullanılan farklı besi ortamlarının içeriği

Besiyeri No	Besi ortam içerikleri	
	LIDO (%)	BUPI (%)
Control (% 0,9 NaCl)	—	—
LIDO I	0,0625	—
LIDO II	0,125	—
LIDO III	0,25	—
LIDO IV	0,5	—
BUPI I	—	0,0625
BUPI II	—	0,125
BUPI III	—	0,25
BUPI IV	—	0,5
LIDO + BUPİ I	0,0625	0,0625
LIDO + BUPİ II	0,125	0,125
LIDO + BUPİ III	0,25	0,25
LIDO + BUPİ IV	0,5	0,5

### 3.3. Deneylerin Yapılışı

#### 3.3.1. 72 saatlik (üçüncü evre) larvalara LİDO ve BUPİ'nin uygulanması

Aynı yaşta sinekler elde etmek için ergin sinekler 25'erli gruplar halinde Standart *Drosophila* Besiyeri (SDB) içeren şişelere alındı. Yaklaşık olarak 9-10 gün sonra yeni

bireyler elde edildi. Virgin dişiler ve yeni nesil erkekler SDB içeren şişelerde ayrı ayrı toplandı. Daha sonra bu sinekler besiyerlerinde ayrı gruplar halinde çaprazlandı. Virgin dişilerle erkeklerin çaprazlanmasıyla elde edilen yumurtalar bira mayası ile zenginleştirilmiş standart bir ortamda 8 saat süreyle toplandı (Graf and van Schaik 1992). Standart çaprazlamadan elde edilen üç günlük larvalar 9'ar ml test solüsyonları ile sulandırılmış 4,5 g kuru Instant *Drosophila* Medium (IDM) içeren şişelere aktarıldı. Larvalar gelişimlerinin geri kalan kısmı için bu ortamda beslendiler (yaklaşık olarak 48 saat). Hayatta kalan larvaların pupa evresine geçişi ile beslenme sonlandı. Her bileşik ile üç deney yapıldı. Larvalar test bileşiklerinin farklı konsantrasyonları ile beslendi. Ayrıca, %0,9'luk fizyolojik su kontrol olarak 72 saatlik lavalara aynı şekilde uygulandı.

### 3.3.2. Ömür uzunluğu çalışmaları

Uygulama sonrasında sadece SDM içeren dört kültür şişesinin herbirine 25'er tane olmak üzere (dişi ve erkek sinekler için ayrı uygulanmış) her grup için 100 sinek yerleştirildi. Hem kontrol hem de uygulama grupları için deneyler aynı zamanda başlatıldı. Sineklerin sayısı her uygulama gününün hem başında hem de sonunda kontrol edildi ve ölü sineklerin sayısı kayıt edilerek kültür şişelerinden uzaklaştırıldı. Uygulamaya son birey ölünceye kadar devam edildi. Ortalama ömür uzunluğu (=Mean Life Span: MLS) hayatta kalan sineklerin sayısı %50'ye ulaştığı gün olarak, maksimum ortalama ömür uzunluğu (Maximum Mean Life Span: MMLS) ise yine hayatta kalan sineklerin sayısı %10'a ulaştığı gün olarak hesaplandı (Huang *et al.* 2010).

### 3.3.3. Fertilite çalışmaları

Bu amaçla, kontrol ve deney grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubu için yalnızca IDM + %0,9'luk NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Deney grubunu oluşturan besi ortamlarına ise IDM + farklı konsantrasyonlarda lokal anestetik eklenmiştir. 4 farklı konsantrasyonda LİDO (LİDO I- %0,0625, LİDO II- %0,125, LİDO III- %0,25, LİDO IV- %0,5) ve 4 farklı konsantrasyonda BUPİ (BUPİ I- %0,0625; BUPİ II- %0,125; BUPİ III- %0,25; BUPİ IV- %0,5) çözeltisi hazırlanarak aynı yaştaki 5 erkek 5 virgin dişi bu ortamlara

bırakılmıştır. Bu ebeveyn bireyler pupa görülünceye kadar bu besi ortamında tutuldu. Pupalar gözlemlendikten sonra ebeveynler salındı. Yeni oluşan F<sub>1</sub> bireyleri 8 gün boyunca cinsiyet farklılıkları göz önünde tutularak sayıldı. Sayımları yapılan sinekler ortamdan uzaklaştırıldı. Deneyler 3 kez tekrarlanarak sonuçların ortalamaları alındı.

### **3.3.4. Enzim aktivitelerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar**

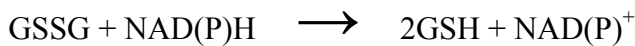
#### **3.3.4.a. Homojenizasyon ve santrifügasyon**

Her uygulama ve kontrol grupları için hayatta kalarak ergine gelişebilen erkek bireyler pupadan çıktıkları ilk 2-3 saat içerisinde toplanarak enzim çalışmaları için kullanılmak üzere derin dondurucuda -80°C’de saklanmıştır. Enzim aktivitelerinin belirleneceği bu ergin bireyler tartılmıştır. Tartılan sinekler 1/5 oranında PBS (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,8834 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,6 g, NaCl 8,2 g, pH:7) tamponuyla karıştırılarak, cam-teflon homojenizatörde (2000 rpm devirde) 10-15 vuruş ile, 30 sn. aralıklarla 2 kez homojenize edilmiştir. Homojenat eppendorf tüplerine alınarak, 0°C’ de 20 000 rpm’de 10 dk. santrifüj edildi. Tüm enzimatik çalışmalar buz içinde yapılmıştır. Elde edilen süpernatant mikropipet yardımı ile temiz eppendorf tüplerine alındıktan sonra -80°C’de derin dondurucuda enzim aktiviteleri ölçülene kadar saklanmıştır (Özata 2006).

#### **3.3.4.b. Enzim aktivite tayini**

Çalışmalarımızda GR enzim aktivitesi, homojenizasyon ve santrifügasyon sonucu elde edilen enzim kaynağımızdan spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Enzim aktivite ölçümleri için gerekli maddeler temin edilerek gerekli çözeltiler hazırlanmıştır.

##### **3.3.4.b.1. GR enziminin aktivite ölçümü**



Glutasyon redüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesi iki temel esasa dayanmaktadır. Birincisi; yukarıdaki reaksiyona giren NAD(P)H 340 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Reaksiyon ortamına katılan GR enzimi NAD(P)H'ın azalmasına sebep olmaktadır. Bu azalma spektrofotometrik olarak 340 nm'de takip edilmektedir (Carlberg and Mannervik 1985). İkincisi ise aynı reaksiyonda ürün olarak ortaya çıkan GSH'ın 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyonu sonucu oluşturduğu bileşiğin 412 nm'de verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak takip edilmesi esasına dayanır. GR enzimi GSH'ın zamanla artmasını sağlamakta, oluşan GSH da DTNB ile reaksiyona girerek absorbans artışına sebep olmaktadır (Smith *et al.* 1988). Bu iki yöntemden birincisi daha spesifik olduğu için tercih edilmektedir. Bu sebeple biz de bu çalışmada birinci yöntemi kullandık. Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi FAD'li ve FAD'siz olmak üzere iki değişik ölçüm yapılmaktadır. Bazen biri bazen de her iki türlü ölçüm yapılarak karşılaştırma yapılmaktadır. Çalışmamızda FAD'siz ölçüm yapıldı.

#### **3.4. İstatistik Analizler**

Kontrol ve uygulama gruplarının ortalama ömür uzunluğu değerlerini karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi ve Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde  $p < 0,05$  değeri dikkate alınmıştır. Bunun için SPSS (SPSS INC., USA) 16 programı kullanılmıştır. Enzim aktivitesinden elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde ise tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada lidokain ve bupivakain farklı konsantrasyonlarının *Drosophila melanogaster*'de ömür uzunluğu, fertilité ve oksidatif stres direnci üzerine etkileri incelenmiştir.

### 4.1. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri

Bölüm 3.3.2'de ömür uzunluğu çalışmasının nasıl gerçekleştirildiği ayrıntılı olarak açıklanmıştır. LİDO, BUPİ ve LİDO + BUPİ karışımının 4'er farklı konsantrasyonu değerlendirilmiştir.

#### 4.1.1. LİDO'nun ömür uzunluğu üzerine etkisi

Denelerimizde kullandığımız lidokain dişi sineklerde ortalama ömür uzunluğunu (MLS) konsantrasyon farklılığına göre değişik şekillerde etkilemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Sonuçlarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubu dişilerde MLS değeri 44 gün iken bu değer düşük konsantrasyonlar olan LİDO I ve LİDO II'de sırasıyla 42 ve 43 gün olarak tespit edilmiştir. Diğer iki konsantrasyonlarımız olan LİDO III ve LİDO IV (yüksek konsantrasyonlar) uygulama gruplarımızda MLS değerleri sırasıyla 49 ve 53 gün olarak belirlenmiştir. Yani önemli ölçüde kontrole göre MLS'de bir artış gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Benzer bulgular maksimum ortalama yaşamda da (MMLS) grülmüştür. Kontrol grubu dişilerde maksimum ortalama ömür uzunluğu 57 gün olurken bu değer lidokain uygulamasının en yüksek dozu olan %0,5 için 61 gün olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Erkek bireyler için lidokain uygulamasının sonuçları hem MLS hem de MMLS için dişi bireylerden farklıdır. Kontrol grubunda belirlenen MLS ile uygulama gruplarımızın en yüksek dozu olan %0,5'de 49 gün ile aynı olduğu belirlenmiştir. Diğer dozlarda ise MLS'de belirgin bir azalış söz konusudur. Örneğin LİDO III'de MLS 40 olarak

belirlenmiş bu da istatistiksel olarak önemli bir düşüş göstermiştir ( $p<0,05$ ). MMLS’de ise kontrol grubu ile uygulama grupları arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir.

Çalışmamızın lidokain kısmında özellikle dişi bireyler üzerinde belirgin bir etkinin olduğu Çizelge 4.1’de açıkça görülmektedir.

**Çizelge 4.1.** Farklı LIDO konsantrasyonları ile beslenen *D. melanogaster* erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim

Lidokain konsantrasyonu (%)	Sineklerin sayısı		Ortalama ömür uzunluğu (MLS) $\pm$ SD		Maksimum ortalama ömür uzunluğu (MMLS) $\pm$ SD	
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0 (Kontrol)	100	100	44,33 $\pm$ 2,08 <sup>a</sup>	49,33 $\pm$ 1,53 <sup>a</sup>	57,33 $\pm$ 4,72 <sup>a</sup>	55,67 $\pm$ 3,05 <sup>a</sup>
LIDO I (0,0625)	100	100	42,33 $\pm$ 2,89 <sup>a</sup>	47,33 $\pm$ 2,08 <sup>ab</sup>	55,33 $\pm$ 3,51 <sup>a</sup>	55,33 $\pm$ 1,53 <sup>a</sup>
LIDO II (0,125)	100	100	43,00 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>	44,33 $\pm$ 1,53 <sup>b</sup>	56,00 $\pm$ 2,00 <sup>a</sup>	53,33 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>
LIDO III (0,25)	100	100	49,33 $\pm$ 4,16 <sup>b</sup>	40,33 $\pm$ 3,05 <sup>c</sup>	58,33 $\pm$ 2,52 <sup>a</sup>	56,00 $\pm$ 3,00 <sup>a</sup>
LIDO IV (0,5)	100	100	53,33 $\pm$ 2,08 <sup>b</sup>	49,00 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	61,33 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>	57,33 $\pm$ 4,51 <sup>a</sup>

\*Farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark ömür uzunluğu için önemlidir ( $p<0,05$ ).

#### 4.1.2. BUPİ’nin ömür uzunluğu üzerine etkisi

Deneylerimizde kullandığımız ikinci madde olan bupivakainin dişi MLS üzerine etkisi incelendiğinde; en düşük doz olan BUPİ I’de MLS değeri, kontrol grubunun MLS değerine (44) göre azalmıştır. Diğer dozlarda ise konsantrasyon artışına göre MLS değerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.2’de görülmektedir. BUPİ’nin dişi bireylerin MMLS’ye etkisi MLS ile farklılık göstermiştir. Kontrol grubunun MMLS değeri 57 gün iken; BUPİ I ve BUPİ II de kontrole göre düşüş gözlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir.

BUPI nin erkek bireylerin MLS değerine etkisi incelendiğinde kontrol grubunun MLS sinin 49 gün olduğu belirlenmiştir. Uygulama grupların ilk üçünün (BUPİ I, BUPİ II, BUPİ III) MLS değerinde kontrol grubunun MLS değerine göre azalış gözlenmiştir. Ancak bu dozlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında konsantrasyon artışına bağlı

olarak MLS değerinde artış gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyona sahip deney grubumuzda (BUPI IV) ise MLS değeri kontrol grubu ve diğer gruplara göre belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Sonuçlar Çizelge 4.2’de görölmektedir.

BUPI’nin erkek bireylerin MMLS’sine etkisi incelendiğinde kontrol grubunun MMLS değerinin 56 gün olduğu görölmektedir. İlk iki uygulama grubunda (BUPI I, BUPI II) MMLS değeri kontrol grubuna göre azalmıştır ancak bu uygulama grupları kendi aralarında değerlendirildiklerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak MMLS değerinde artış görölmektedir. Üçüncü uygulama grubunun (BUPI III) MMLS değerinde kontrol ve diğer gruplara göre artış görölmektedir. En yüksek konsantrasyonda (BUPI IV) ise kontrol grubunun MMLS değerine göre artış gözlenmiştir ancak konsantrasyon arttığı halde bir önceki konsantrasyona göre azalış gözlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.2’de görölmektedir.

BUPI’nin MMLS’ye etkisi dişi ve erkek bireylerde karşılaştırıldığında, dişi ve erkek bireylerdeki en yüksek MMLS değerleri aynı uygulama grubuna ait olup bu uygulama grubunun konsantrasyonu %0,25 dir. Sırasıyla MMLS değerleri 58 ve 60 gündür.

**Çizelge 4.2.** Farklı BUPI konsantrasyonları ile beslenen *D. melanogaster* erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim

Bupivakain konsantrasyonu (%)	Sineklerin sayısı		Ortalama ömür uzunluğu (MLS) ± SD		Maksimum ortalama ömür uzunluğu (MMLS) ± SD	
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0 (Kontrol)	100	100	44,33±2,08 <sup>a,b</sup>	49,33±1,53 <sup>a,c</sup>	57,33±4,72 <sup>a</sup>	55,67±3,05 <sup>a,b</sup>
BUPI I	100	100	40,33±2,89 <sup>a</sup>	42,33±2,08 <sup>b</sup>	53,33±2,08 <sup>a</sup>	49,00±4,58 <sup>a</sup>
BUPI II	100	100	47,00±3,00 <sup>b</sup>	43,33±3,05 <sup>a,b</sup>	54,33±3,05 <sup>a</sup>	52,67±5,51 <sup>a,b</sup>
BUPI III	100	100	49,67±3,51 <sup>b,c</sup>	44,00±2,64 <sup>a,b</sup>	57,67±4,04 <sup>a</sup>	60,00±5,29 <sup>b</sup>
BUPI IV	100	100	53,67±3,78 <sup>c</sup>	53,00±6,24 <sup>c</sup>	56,33±2,52 <sup>a</sup>	58,33±4,16 <sup>b</sup>

\*Farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark ömür uzunluğu için önemlidir (p<0,05).

#### 4.1.3. LİDO + BUPİ'nin ömür uzunluğu üzerine etkisi

Deneylelerimizde son olarak LİDO ve BUPİ karışımının ömür uzunluğu üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Bu karışımın dişi bireylerdeki MLS'ye etkileri incelendiğinde kontrol grubunun MLS değerinin 44 gün olduğu gözlenmiştir. İlk uygulama grubunun (LİDO + BUPİ I) MLS değerinde kontrol grubuna göre düşüş gözlenmiştir. İkinci uygulama (LİDO + BUPİ II) dişi bireylerde MLS değerini diğer gruplara göre belirgin bir şekilde artırmıştır. Üçüncü uygulama (LİDO + BUPİ III) grubunun MLS değerinin kontrol grubu ile aynı olduğu gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyonda ise (LİDO + BUPİ IV) ise MLS değerini kontrol grubuna göre artırmıştır; ancak en olumlu etki ikinci uygulama grubunda (LİDO %0,125 + BUPİ %0,125) gözlenmiştir. Ayrıca bu karışımın dişi bireylerdeki MMLS değerine etkisi incelendiğinde ise etkinin yine benzer şekilde olduğu görülmüştür. MMLS'yi en olumlu etkileyen uygulama grubu LİDO + BUPİ II (%0,125 + %0,125) dir. Diğer uygulama gruplarında ise kontrol grubuna göre azalış gözlenmiştir sonuçlar Çizelge 4.3'te görülmektedir.

Bu karışımın erkek bireylerin MLS ve MMLS değerlerine etkisi incelendiğinde sonuçlar dişilere göre farklılık göstermektedir. Erkek bireylerde kontrol grubunda MLS 49 gün olup birinci uygulama grubunun (LİDO + BUPİ I) MLS değerinde kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde düşüş gözlenmiştir (44 gün). İkinci uygulama grubunun (LİDO + BUPİ II) MLS değeri kontrol grubuna ve bir önceki gruba göre azalmıştır (42 gün). Üçüncü uygulama grubunun MLS değeri (LİDO + BUPİ III) kontrol grubu ile aynıdır (49 gün). Son uygulama grubunun (LİDO + BUPİ IV) MLS değeri 44 gün olup kontrol grubuna göre düşüş gözlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.3'te görülmektedir.

Bu karışım MLS değerini erkek ve dişi bireylerde farklı şekillerde etkilemiştir. Dişi bireylerde en olumlu etki gösteren konsantrasyon (LİDO + BUPİ II) maksimum MLS değerine sahipken, erkek bireylerde bu konsantrasyon en düşük MLS değerine sahiptir.

LİDO ve BUPİ karışımının erkek bireylerin MMLS değerine etkileri incelendiğinde kontrol grubunun MMLS değerinin 56 gün olduğu gözlenmiştir. İlk iki uygulama grubunda (LİDO + BUPİ I ve LİDO + BUPİ II) kontrol grubuna göre düşüş olmuş ancak bu gruplar arasında fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Son iki uygulama grubunda (LİDO + BUPİ III ve LİDO + BUPİ IV) ise yine kontrol grubuna göre bir düşüş meydana gelmiştir ancak önceki iki uygulama grubuna göre artış söz konusudur. Yani konsantrasyon artışına bağlı olarak çok belirgin olmamak üzere artış gözlenmiştir.

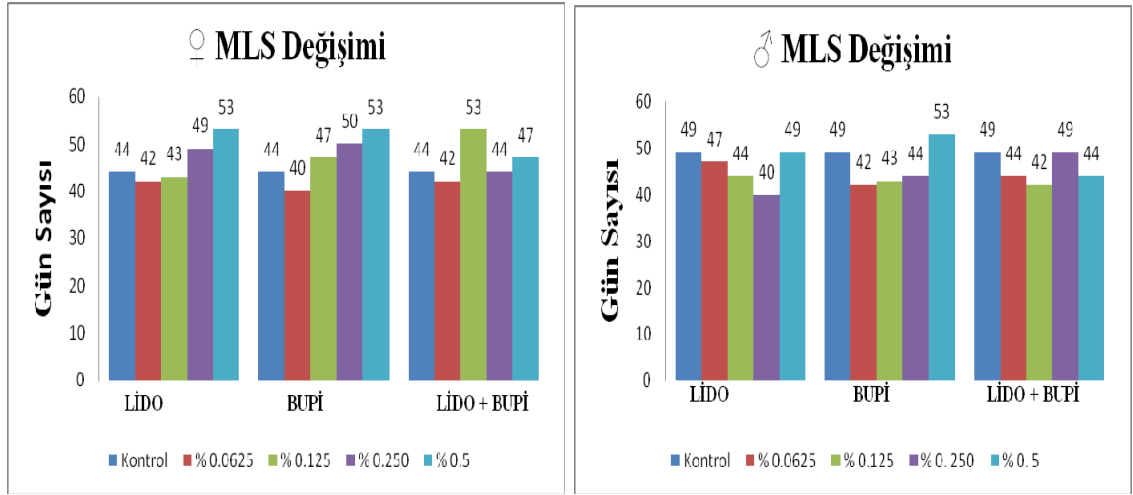
Bu karışımın MMLS değerine etkisi incelendiğinde dişi ve erkek bireylerde MLS ye benzer etki yaptığı belirlenmiştir. Dişi bireylerde maksimum MMLS ye sahip olan uygulama grubu LİDO + BUPİ II olup bu değer 58 gündür. Ancak erkek bireylerde bu doz en düşük MMLS değerine sahiptir. Sonuçlar Çizelge 4.3'te görülmektedir.

**Çizelge 4.3.** Farklı LİDO + BUPİ konsantrasyonları ile beslenen *D. melanogaster* erkek ve dişi bireylerinin ömür uzunluğundaki değişim

LİDO+BUPİ konsantrasyonu (%)	Sineklerin sayısı		Ortalama ömür uzunluğu (MLS) ± SD		Maksimum ortalama ömür uzunluğu (MMLS) ± SD	
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0 (Kontrol)	100	100	44,33±2,08 <sup>a</sup>	49,33±1,53 <sup>a</sup>	57,33±4,72 <sup>a</sup>	55,67±3,05 <sup>a</sup>
LİDO+BUPİ I	100	100	42,00±3,00 <sup>a</sup>	43,67±4,51 <sup>b,c</sup>	53,00±3,00 <sup>a</sup>	53,33±4,51 <sup>a</sup>
LİDO+BUPİ II	100	100	53,33±4,51 <sup>b</sup>	41,67±1,53 <sup>c</sup>	57,67±2,52 <sup>a</sup>	53,00±3,00 <sup>a</sup>
LİDO+BUPİ III	100	100	44,00±4,00 <sup>a</sup>	48,67±3,05 <sup>a,b</sup>	54,67±3,51 <sup>a</sup>	54,67±4,51 <sup>a</sup>
LİDO+BUPİ IV	100	100	47,33±5,51 <sup>a,b</sup>	44,33±3,51 <sup>a,b,c</sup>	56,33±1,53 <sup>a</sup>	55,33±1,53 <sup>a</sup>

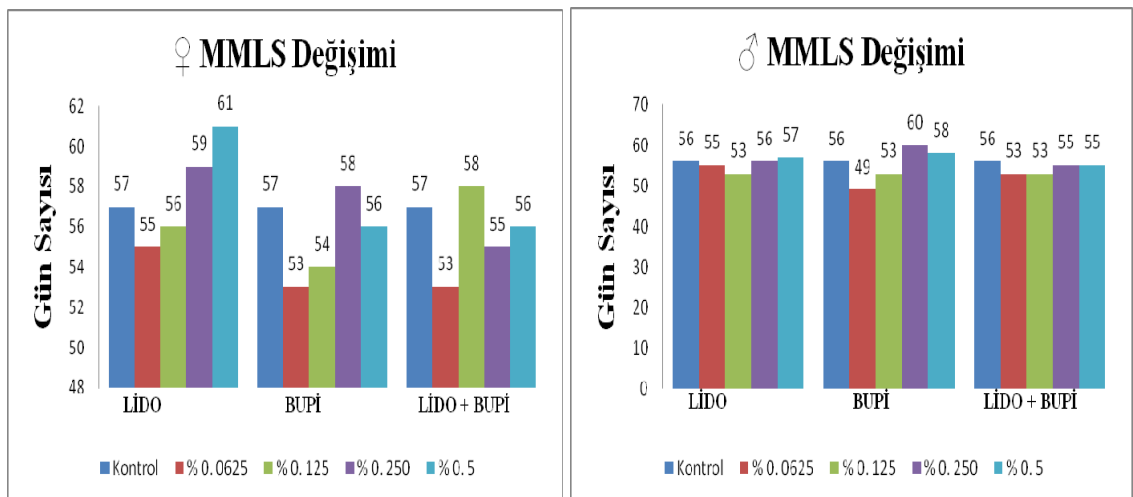
\*Farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark ömür uzunluğu için önemlidir ( $p<0,05$ ).

Lidokain, bupivakain ve lidokain + bupivakain uygulaması sonucu erkek ve dişi *Drosophila*' da elde edilen ortalama ömür uzunluğu (MLS) ve maksimum ortalama ömür uzunluğu (MMLS) verilerinin tümü Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de grafik şeklinde verilmiştir.



**Şekil 4.1.** Dişi ve Erkek bireyler için LIDO, BUPİ ve LIDO + BUPİ MLS karşılaştırması

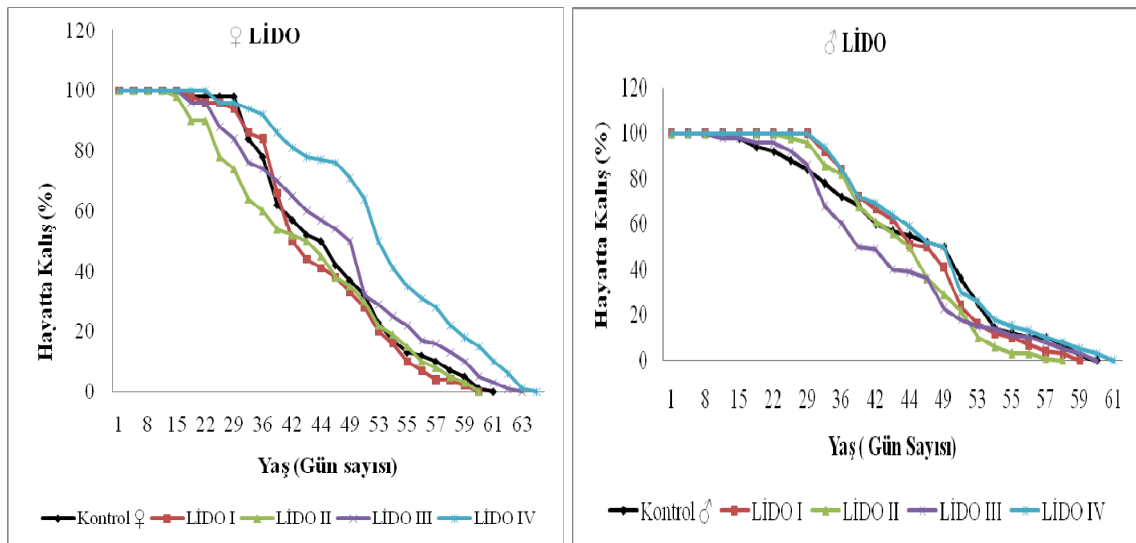
Şekil 4.1’de de görüldüğü gibi hem lidokain hem de bupivakain yalnız uygulandığında özellikle dişi bireylerde doz artışına paralel olarak MLS değerini arttırmışlardır. Dişi bireylere uygulanan karışımda ise en olumlu sonuç lidokain ve bupivakainin %0,125’lik konsantrasyonunda elde edilmiştir. Erkek birey uygulamalarında ise ne karışım sonuçlarında ne de lidokainin ve bupivakainin yalnız uygulandığı gruplarda (BUPİ %0,5 uygulaması hariç) kontrolün üzerinde bir sonuca rastlanılmamıştır (Şekil 4.1).



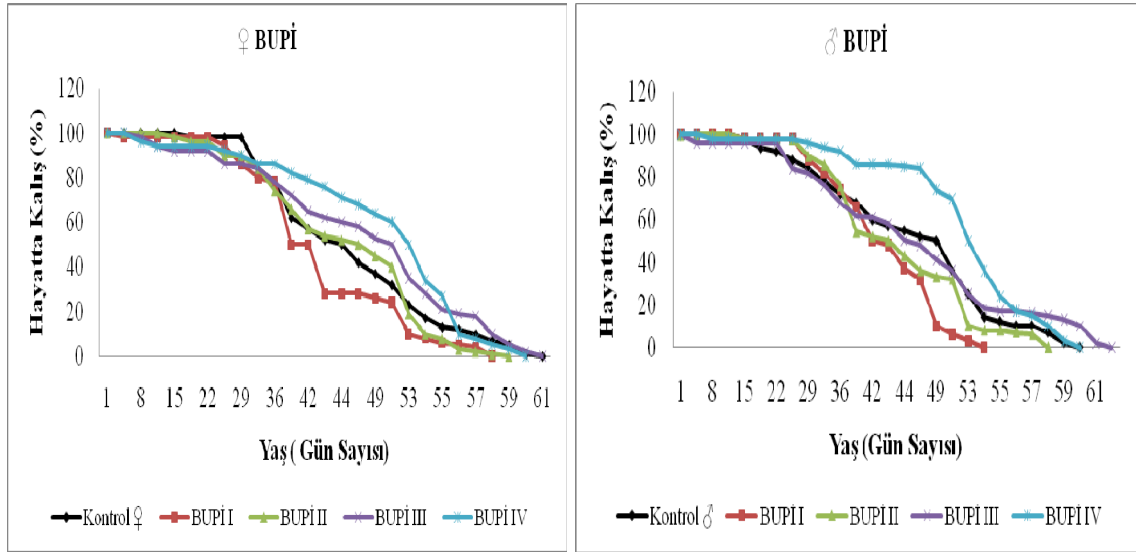
**Şekil 4.2.** Dişi ve Erkek bireyler için LIDO, BUPİ ve LIDO + BUPİ MMLS karşılaştırması

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi LİDO dişi bireylerde MMLS’yi ilk iki uygulama grubunda (LİDO I ve LİDO II) kontrol grubuna göre çok belirgin olmamak üzere düşürmüştür. Ancak son iki uygulama grubunda (LİDO III ve LİDO IV) kontrol grubuna göre MMLS değerinde artış belirlenmiştir. BUPİ uygulanan gruplarda ise BUPİ III hariç diğer tüm uygulama gruplarında MMLS değerinde kontrol grubuna göre bir düşüş tespit edilmiştir. Yine dişi bireylerde LİDO + BUPİ’nin MMLS ye etkisi kontrol ile karşılaştırıldığında sadece LİDO + BUPİ III grubunda kontrole göre bir artış diğer gruplarda se kontrole göre azalış gözlenmiştir (Şekil 4.2). LİDO’nun erkek bireylerdeki MMLS’ye etkisi incelendiğinde hiçbir uygulama grubunun MMLS’yi belirgin bir şekilde artırmadığı ve genelde bu değeri düşürdüğü görülmüştür. BUPİ’nin MMLS’ye etkisine bakıldığında ise ilk iki uygulama grubunun (BUPİ I ve BUPİ II) MMLS’yi kontrole göre düşürdüğü son iki uygulama grubunun ise (BUPİ III ve BUPİ IV) MMLS’yi kontrole göre artırdığı gözlenmiştir. Ancak aradaki fark çok belirgin değildir. LİDO + BUPİ’nin ise erkek bireylerde MMLS’yi tüm uygulama gruplarında kontrole göre çok belirgin olmamak üzere düşürdüğü belirlenmiştir (Şekil 4.2).

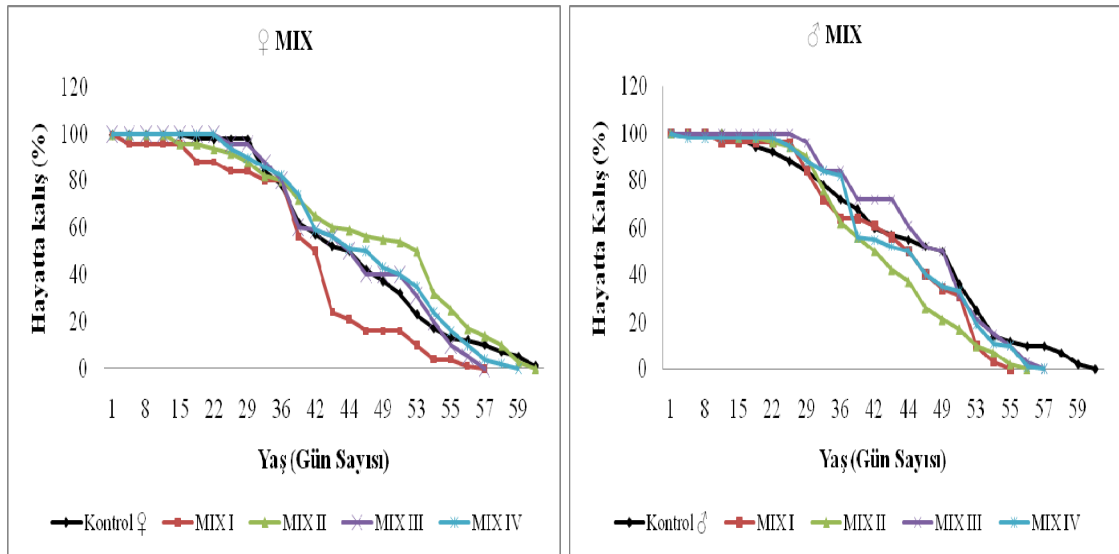
Aşağıdaki grafiklerde incelenen anestetik maddelerin *Drosophila melanogaster*’in erkek ve dişi yaşam yüzdesi üzerine etkileri gösterilmektedir (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5).



Şekil.4.3. LİDO’nun erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi



Şekil.4.4. BUPI' nin erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi



Şekil 4.5. LİDO + BUPI' nin erkek ve dişi bireylerde ömür uzunluğuna etkisi

#### 4.2. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Fertilité Üzerine Etkileri

Bölüm 3.3.3'te fertilité çalışmasının nasıl gerçekleştirildiği ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de elde edilen bulgular gösterilmiştir.

#### 4.2.1. LİDO'nun fertilité üzerine etkisi

LİDO' nun farklı konsantrasyonlarının *D. melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerinde fertilité üzerine etkileri incelenmiştir. Erkek ve dişi bireyler için kontrol grubundaki fertilité %100 olarak kabul edilip diğér gruplar ile karşılaştırılmıştır. Dişi bireylerden elde edilen bulgular kontrol ile karşılaştırıldığında sadece LİDO II konsantrasyonunda %3,32'lük bir artış gözlenirken diğér dozlarda (LİDO I, LİDO III ve LİDO IV) sırasıyla %10,3, %3,65 ve %7,64 oranında bir gerileme meydana gelmiştir (Çizelge 4.4). LİDO'nun erkek bireylerdeki fertilité üzerine etkileri incelendiğinde dişi bireylerde olduğu gibi sadece LİDO II konsantrasyonunda kontrole göre bir artış meydana gelmiştir. Fertilitede ki en büyük düşüş LİDO I'de oluşarak fertilitede ki azalış kontrole göre %12,70 olarak tespit edilmiştir. Diğér iki konsantrasyon olan LİDO III'de %8,89, LİDO IV'de ise %5,40'lık düşüş gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4.** Farklı LİDO konsantrasyonları ile beslenen *D. melanogaster* erkek ve dişi bireylerinin fertilitesindeki değışim

LİDO Konsantrasyonu (%)	Dişiler (♀)		Erkekler (♂)	
	F1 Sayıları/8 gündeki tek çift <i>D. melanogaster</i>	Fertilitedeki Değışim (%)	F1 Sayıları/8 gündeki tek çift <i>D. melanogaster</i>	Fertilitedeki Değışim (%)
KONTROL	60,20	100	63,00	100
LİDO I (0,0625)	54,00	89,70	55,00	87,30
LİDO II (0,125)	62,20	103,32	65,40	103,81
LİDO III (0,25)	58,00	96,35	57,40	91,11
LİDO IV (0,5)	55,60	92,36	59,60	94,60

#### 4.2.2. BUPİ'nin fertilité üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki BUPİ' nin *D. melanogaster*'in erkek ve dişi bireyleride fertilité üzerine etkileri araştırılmış kontrol grubundaki fertilité %100 kabul edilerek sonuçlar değılendirilmiştir.

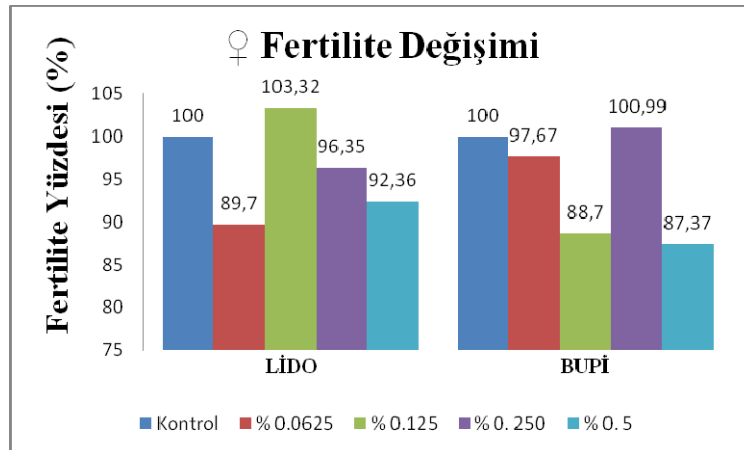
BUPİ' nin dişi bireylerde fertilité üzerine etkisi kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde BUPİ I'de %2,33'lük azalış, BUPİ II'de %11,30'luk azalış, BUPİ III'de %0,99'luk artış, BUPİ IV'de ise %12,63'lük azalış tespit edilmiştir.

BUPİ' nin erkek bireylerde fertilité üzerine etkisi yine kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Erkek bireylerin fertilitesinde BUPİ I'de %9,52'lik azalış, BUPİ II'de %6,35'lik azalış, BUPİ III'de %4,45'lik azalış, BUPİ IV'de ise %17,46'lık azalış belirlenmiştir.

**Çizelge 4.5.** Farklı BUPİ konsantrasyonları ile beslenen *D. melanogaster* erkek ve dişi bireylerinin fertilitesindeki değişim

BUPİ Konsantrasyonu (%)	Dişiler (♀)		Erkekler (♂)	
	F1 Sayıları/8 günde tek çift <i>D.melanogaster</i>	Fertilitedeki Değişim (%)	F1 Sayıları/8 günde tek çift <i>D.melanogaster</i>	Fertilitedeki Değişim (%)
KONTROL	60,20	100	63,00	100
BUPİ I (0,0625)	58,80	97,67	57,00	90,48
BUPİ II (0,125)	53,40	88,70	59,00	93,65
BUPİ III (0,25)	60,80	100,99	60,20	95,55
BUPİ IV (0,5)	52,60	87,37	52,00	82,54

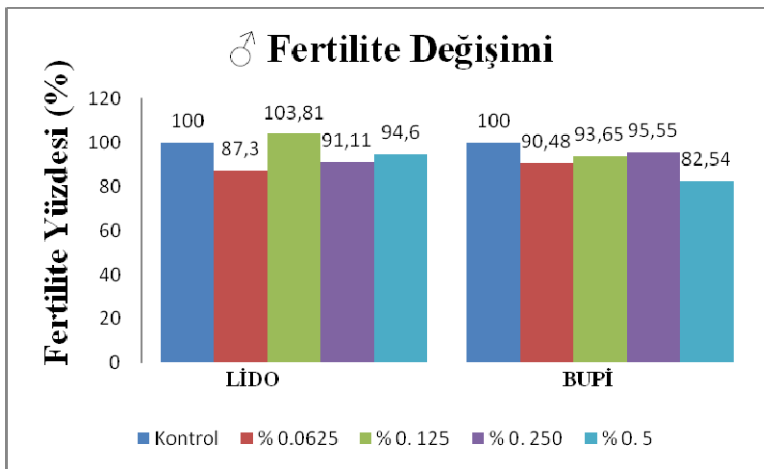
Aşağıdaki grafikte LİDO ve BUPİ' nin dişi *Drosophila melanogaster*' de fertilité üzerine etkileri gösterilmiştir.



**Şekil 4.6.** LİDO ve BUPİ' nin dişi bireylerde fertilité üzerine etkisi

Şekil 4.6' da görüldüğü gibi dişi bireylerde LİDO II ve BUPİ III fertilitiyi olumlu olarak etkilemiştir diğer uygulama grupları ise fertilitede kontrol grubuna göre düşüşe neden olmuştur.

Aşağıdaki grafikte LİDO ve BUPİ' nin erkek *Drosophila melanogaster*'de fertilité üzerine etkileri gösterilmiştir.



Şekil 4.7. LİDO ve BUPİ' nin erkek bireylerde fertilité üzerine etkisi

Şekil 4.7'de de görüldüğü gibi LİDO erkek *Drosophila* bireylerinde sadece üçüncü uygulama grubunda ( LİDO III) fertilitiyi kontrol grubuna göre artırmıştır. Ancak LİDO' nun diğer uygulama grupları (LİDO I, LİDO II ve LİDO IV) ve BUPİ' nin tüm uygulama grupları fertilitede kontrol grubuna göre düşüşe neden olmuştur.

#### 4.3. Çeşitli Lokal Anesteziklerin Oksidatif Stres Direnci Üzerine Etkileri

LİDO, BUPİ ve LİDO + BUPİ uygulamasının Glutatyon redüktaz (GR) enzimi üzerindeki etkileri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Çizelge 4.6 incelendiğinde sadece lidokain ve sadece bupivakain uygulamasının doz artışına bağlı olarak GR enzim aktivitesini arttırdığı görülür. Diğer uygulama grubumuz olan bu iki lokal anestezik maddenin karışımı ise tüm dozlarda GR enzim aktivitesini düşürmüştür.

**Çizelge 4.6.** Lidokain ve bupivakain ilaçlarının *Drosophila melanogaster* GR enzimi üzerine *in vivo* inhibisyon ve aktivasyon sonuçları (EU/mg protein).

Konsantrasyonlar (%)	GR	Konsantrasyonlar (%)	GR	Konsantrasyonlar (%)	GR
KONTROL	4,23±0,06	KONTROL	4,23±0,06	KONTROL	4,23±0,06
LİDO I	4,46±0,07	BUPİ I	4,13±0,05	MIX I	3,48±0,05
LİDO II	4,38±0,06	BUPİ II	4,18±0,06	MIX II	3,37±0,04
LİDO III	4,79±0,05	BUPİ III	4,33±0,05	MIX III	3,28±0,06
LİDO IV	4,84±0,06	BUPİ IV	4,38±0,06		

Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir.

LİDO için kontrol grubunda ölçülen enzim aktivite sonucu 4,23±0,06 (EU/mg protein) iken en yüksek LİDO uygulama grubu olan LİDO IV (%0,5) konsantrasyonunda bu sonuç 4,84±0,06 (EU/mg protein) olarak ölçülmüştür.

BUPİ ise GR enzim aktivitesini ilk iki doz olan BUPİ I (%0,0625) ve BUPİ II (%0,125) uygulamasında kontrole göre düşürmüş, BUPİ III (%0,25) ve BUPİ IV (%0,5)'de ise arttırmıştır.

LİDO + BUPİ ise GR enzim aktivitesini belirlenen tüm dozlarda önemli ölçüde düşürmüştür. MIX I (%0,0625 + %0,0625)'de GR enzim aktivitesi 3,48±0,05; MIX II (%0,125 + %0,125)'de GR enzim aktivitesi 3,37±0,04; MIX III (%0,25 + %0,25)'de GR enzim aktivitesi 3,28±0,06 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.6).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, lokal anestezi madde olan lidokain ve bupivakainin *Drosophila melanogaster*'de, ömür uzunluğu, fertilité ve oksidatif stres üzerine olası etkileri iki aşamada incelenmiştir. İlk aşamada oksidatif stres direnci ve ömür uzunluğu deneyleri, ikinci aşamada ise fertilité deneyleri yapılarak lidokain ve bupivakainin bu parametreler üzerine etkileri belirlenmiştir.

Çalışmalarımız esnasında ömür uzunluğu ve fertilitéyi etkileyebilecek iç ve dış faktörler sabit tutulmuştur. Bu şekilde aynı şartlarda yetiştirilen aynı genotipe sahip bireylerin ömür uzunluklarındaki sapmalara besi ortamına ilave edilen anestezi maddelerin neden olduğu söylenebilir.

Çalışmamızın ilk aşamasında, farklı konsantrasyonlarda anestezi madde içeren besi ortamlarına ekilen larvalardan oluşan ergin *Drosophila melanogaster*'in dişi ve erkek bireylerine ait ömür uzunluğundaki farklılıklar tespit edilmiştir. Deneylerden elde edilen sonuçlara göre ortalama ömür uzunluğu (MLS) ve maksimum ortalama ömür uzunlukları (MMLS) kontrol grubu ve diğer grupları arasında farklılık göstermektedir.

Kontrol grubuna ait dişilerde MLS 44 gün iken, en yüksek konsantrasyona sahip olan LİDO IV ün en yüksek MLS değerine (53 gün) sahip olduğu belirlenmiştir. Yani lidokain konsantrasyonu artışı dişi bireylerin ömür uzunluğuna olumlu yönde etkide bulunmuştur. Aynı dişi bireylerin kontrol grubunda MMLS değerinin 57 gün olduğu tespit edilmiştir. Lidokain uygulanan gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MLS'de olduğu gibi yine en yüksek konsantrasyona sahip olan LİDO IV'de MMLS değeri kontrol ve diğer gruplara göre artmıştır (61 gün). Erkek bireylerin MLS ve MMLS değerleri tüm dozlarda kontrol grubuna yakın değerler göstermiştir (LİDO III MLS'si hariç).

Çalışmamızda bu anesteziik maddelerin dişi bireylerde oksidatif stres direnci üzerine etkilerini araştırmak amacıyla Glutasyon Redüktaz (GR) enzim aktivitesinde ölçülmüştür.

Lidokain, GR enzimi için zayıf aktivatör gibi davranmıştır. Kontrol dişilerinden elde edilen GR enzim aktivitesi  $4,23\pm 0,06$  iken bu değer uygulama gruplarında  $4,38\pm 0,06$  (LİDO II) ila  $4,84\pm 0,06$  (LİDO IV) arasında değişmiştir. Yani dişi bireylerden elde edilmiş olan MLS ve MMLS değerlerindeki artışla GR enzim aktivitesindeki artış birbirine paralellik göstermiştir.

Çalışmamızda kullandığımız diğer lokal anesteziik ajan olan bupivakainin MLS ye etkisi incelendiğinde LİDO ile benzer şekilde olduğu görülmektedir. Yani dişi bireylerde konsantrasyon artışına bağlı olarak MLS değeri artmıştır. Kontrol grubunda MLS değeri 44 iken en yüksek BUPİ konsantrasyonunda (BUPİ IV) MLS değeri 53 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda MMLS değeri 57 gün iken BUPİ uygulanan gruplarda kontrole göre düşüş gözlenmiştir (BUPİ III hariç =58 gün). Erkek bireylerde kontrol grubu MLS değeri 49 iken BUPİ uygulanan gruplarda en yüksek konsantrasyon hariç (BUPİ IV) kontrole göre düşüş belirlenmiştir. BUPİ IV de ise MLS değeri 53 gün olup kontrole göre artmıştır. Erkek bireylerde kontrol grubu MMLS değeri 56 gündür. İlk iki konsantrasyonda MMLS değerinde düşüş (BUPİ I=49, BUPİ II=53), son iki konsantrasyonda ise artış (BUPİ III=60, BUPİ IV=58) gözlenmiştir.

Çalışmamızda bupivakain dişi bireylerde oksidatif stres direnci üzerine etkisini araştırmak amacıyla Glutasyon Redüktaz (GR) enzim aktivitesinde ölçülmüştür. Bupivakain, GR enzimi için zayıf aktivatör gibi davranmıştır. Kontrol dişilerinden elde edilen GR enzim aktivitesi  $4,23\pm 0,06$  iken bu değer uygulama gruplarında  $4,13\pm 0,05$  (BUPİ I) ile  $4,38\pm 0,06$  (BUPİ IV) arasında değişmiştir. Yani dişi bireylerden elde edilmiş olan MLS ve MMLS değerlerindeki artış ile GR enzim aktivitesindeki artış birbirine paralellik göstermiştir.

Çalışmamızda ayrıca lidokain ve bupivakain karışımının (MIX)'da MLS ve MMLS'ye etkisi incelenmiştir. Kontrol grubunun MLS değeri dişi bireylerde 44 gündür. Sadece

ikinci (LİDO+ BUPİ II) ve dördüncü (LİDO+BUPİ IV) uygulama gruplarında MLS değeri kontrole göre artmıştır. Ancak konsantrasyon artışı ile paralellik göstermemiştir. Bu uygulama grubunun dişi bireylerinin MMLS değeri incelendiğinde kontrol grubunu (57 gün) sadece ikinci uygulama grubu (LİDO+ BUPİ = %0,125) geçmiştir (58 gün). Erkek bireylerde kontrol grubu MLS değeri 49 gün olup hiçbir uygulama grubu bu değeri geçememiştir. Bu karışım erkek bireylerin MMLS sini de benzer şekilde etkilemiştir. Yani hiçbir grubun MMLS değeri kontrol grubunu (56 gün) geçememiştir.

Çalışmamızda bupivakain ve lidokain karışımının (MIX) dişi bireylerde oksidatif stres direnci üzerine etkisini araştırmak amacıyla Glutasyon Redüktaz (GR) enzim aktivitesi de ölçülmüştür. Bu karışım GR enzimi için inhibitör etki göstermiştir. Kontrol dişilerinden elde edilen GR enzim aktivitesi  $4,23 \pm 0,06$  iken bu değer uygulama gruplarında  $3,48 \pm 0,05$  (MIX I) ile  $3,28 \pm 0,06$  (MIX III) arasında değişmiştir. Yani dişi bireylerden elde edilmiş olan MLS ve MMLS değerlerindeki azalış ile GR enzim aktivitesindeki azalış birbirine paralellik göstermiştir.

Glutasyon hücrelerde bulunan önemli bir tripeptiddir. Glutasyon okside ve redükte olmak üzere iki formda bulunur. Glutasyon, hücrede ATP gerektiren iki ardışık reaksiyon ile sentezlenir. Bu reaksiyonları,  $\gamma$ -glutamil sistein sentetaz ( $\gamma$ -GSS) ve glutasyon sentetaz (GS) enzimleri katalizler (Misra and Griffith 1998). Glutasyon, yapısında bulunan -SH grupları ile oksitleyici ajanların bozucu etkilerine karşı hücreyi korumaktadır. Dolayısıyla glutasyonun düşük konsantrasyonunda bazı metabolik olumsuzluklar meydana gelebilir. Glutasyonun belirlenen görevlerinden bazıları şunlardır: Serbest radikallerin ve reaktif oksijen ürünlerinin inaktivasyonu, hemoglobin, spektrin gibi membran proteinlerini ve çeşitli enzim proteinlerinin tiyol gruplarının korunması, ksenobiyotiklerin, bazı antineoplastik ilaçların ve bazı metabolik son ürünlerin konjugasyonla detoksifikasyonu, DNA ve protein sentezi, amino asit transportu, insülin gibi bazı proteinlerin disülfür bağlarının koparılması ve böylece proteinlerin konformasyonunun değişmesi, hücre içerisinde sistein deposu olarak bulunması ve bazı enzimlerin reaksiyonlarında rol oynamasıdır (Knapen *et al.* 1999).

Glutasyon redüktaz (Glutasyon;  $\text{NADP}^+$  oksidoredüktaz, EC 1.8.1.7: GR) flavoenzimlerin piridin-nükleotid disülfid oksidoredüktaz ailesinin bir üyesidir. Bu enzim glutasyon disülfiti (GSSG) indirgenmiş glutatyona ( $\gamma$ -L-glutamil-L-sisteinil glisin; GSH) NADPH ya da NADH'ı bir indirgeyici ajan gibi kullanarak indirgenmesini katalizler (Gül *et al.* 2000). İndirgenmiş glutasyon enzimatik ya da enzimatik olmayan yollarla okside glutatyona (GSSG) dönüşür. Bu dönüşüm özellikle peroksitlerin parçalanmasında ve enzimatik transhidrojenasyon sonucu gerçekleşmektedir. Glutasyonun yükseltgenmesi, ortamda oluşan  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve diğer organik peroksitlerin indirgenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu reaksiyonun enzimi, glutasyon peroksidazdır. Okside glutasyonu indirgenmiş forma ise glutasyon redüktaz dönüştürmekte ve yüksek GSH/GSSG oranı sağlamaktadır. Bu dönüşüm reaksiyonları glutasyon redoks çevrimi olarak adlandırılmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2004). Yukarıda açıklanan sebeplerden dolayı GR enzimi antioksidan özellikte önemli bir enzimdir.

Süperoksit ve diğer reaktif oksijen türlerinin mitokondride normal aerobik metabolizmada kaçınılmaz yan ürün olarak üretildiği düşünülmektedir. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)'nin hücre sinyali gibi hücre fonksiyonlarında önemli rolleri olabilmesine karşın yüksek ROT seviyesinin hücre hasara neden olduğu açıktır (Beckman and Ames 1998). Oluşan reaktif oksijen türleri çevresindeki biyomoleküllere saldırabilir ve hasar verebilir; bu hasarın birikimi de bazı nörodejeneratif hastalıklara neden olabilir ve yaşlanma süreci ile bağlantılıdır (Halliwell and Gutteridge 1999). Örneğin; yaşlanma ile birlikte protein karbonilasyonu (Das *et al.* 2001), oksidatif mitokondrial DNA hasarı (Yan *et al.* 2000) ve mitokondrial lipid peroksidasyonun (Pamplona *et al.* 1999) arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, ömür uzunluğunun belirlenmesinde anahtar rol oynayabilen mitokondrial ROT üretim hızının memeli (Barja 1998) ve böcek türlerinde (Sohal *et al.* 1995) potansiyel maksimum ömür uzunluğu ile ters ilişkili olduğu ifade edilmiştir.

Hücrelerde serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, bunları yakalama, stabilize etme ve yok etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Onat vd 2002). Oksijenli solunum yapan bir organizmada, normal fizyolojik koşullarda

oluşan serbest oksijen radikallerinin toksik etkilerine karşı hücreleri koruyabilen, antioksidan enzimler mevcuttur (Pietta *et al.* 1998). İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar arasında NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestezipler, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar) de mevcuttur (Akkuş 1995). Antioksidan enzimleri içeren yiyecek ve ilaçları kapsayan antioksidan savunma sistemi birçok hastalığın önlenmesinde önemlidir (Yen and Hsieh 1998). *Drosophila melanogaster*'de yaşlanmayla birlikte antioksidan enzim aktivitelerinin ve toplam glutatyon miktarının azaldığı belirlenmiştir (Altun 2007).

Erkek ve dişi popülasyonu genel olarak değerlendirildiğinde incelenen bu anestezi maddeler *Drosophila melanogaster*' de ömür uzunluğunu yüksek konsantrasyonda genel olarak uzatmış düşük konsantrasyonda ise belirgin bir etki yapmamıştır. Yani incelediğimiz anestezi maddelerin genel olarak ömür uzunluğu üzerine olumsuz bir etki yapmadığı tespit edilmiştir.

Yaptığımız literatür taramalarında, lidokain ve bupivakainin *Drosophila melanogaster*' in ömür uzunluğu üzerine etkisiyle ilgili sonuçlara rastlanmamıştır. Bu nedenle bulgularımız, farklı organizmalardaki anestezi maddelerin etkileri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Deneylerden elde ettiğimiz bulgular, bazı araştırmacılar tarafından çeşitli organizmalar üzerinde yapılan bazı çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Örneğin, Schneider *et al.* (2009), lidokain, prilonest ve septanest isimli anestezi maddelerin *Drosophila*'da bir *in vivo* test sistemi olan somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile genotoksisitelerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda yalnızca prilonest somatik hücrelerde genotoksik aktivite sergilediğini, lidokain ve septanest ise herhangi bir gen veya kromozomal mutasyona yol açmadığını bildirmişlerdir. Ramazzotto *et al.* (1985), Sprague Dawley sıçanlarında gebelik esnasında uygulanan lidokainin teratojenik ve toksikolojik etkilerini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda yüksek dozlarda dahi lidokain belirgin bir toksikolojik veya teratojenik etki yapmamıştır.

Çalışmalarımızda kullandığımız lidokain ve bupivakaininde içinde bulunduğu anesteziik maddelerin antioksidan gibi davranabildikleri birçok araştırıcı tarafından rapor edilmiştir (Lesnefsky *et al.* 1989; Murphy *et al.* 1996; Günaydın 2000; Günaydın and Demiryürek 2003; Lenfant *et al.* 2004).

Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada lidokainin, lipid peroksidasyon ürününün serbest bırakılmasını azaltarak miyokardiyal hücre zarını koruduğu bildirilmiştir (Lesnefsky *et al.* 1989). Lenfant *et al.* (2004), ise lidokain, bupivakain ve ropivakain lokal anesteziik maddelerin antioksidan potansiyellerini karşılaştırmalı olarak insan eritrosit hücrelerinde çalışmışlardır. *In vitro* olarak yapılan bu deneyde oksidatif strese maruz bırakılmış insan eritrosit hücre modelinde lidokainin antioksidan potansiyelinin diğer iki anesteziik maddeye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu duruma benzer bir sonuç elde edilmiştir. Bu araştırcılar, bu tür etkilerin mekanizmalarının tam olarak açık olmadığını ve hücre metabolizmasında, membran akışkanlığı ve polaritesinde veya iyon kanal sisteminde ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) meydana gelebilecek modifikasyonlar gibi çeşitli mekanizmaları içerebileceğini bildirmişlerdir. Dahası lokal anesteziik ajanların antioksidan özellikleri kendilerinin doğallığına, fiziksel ve kimyasal özelliklerine veya güçlerine göre farklılık gösterebilir. Biz bu sebeplerle lidokain ve bupivakainin antioksidan özelliklerini karşılaştırmak için bu çalışmayı tasarladık.

Günaydın and Demiryürek (2003), ester yapılı bir lokal anesteziik madde olan tetrakain ile amid yapılı bir lokal anesteziik olan bupivakainin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amacıyla bu iki lokal anesteziik maddeyi insan lökosit hücrelerinde karşılaştırmışlardır. Bu araştırcılar çalışmalarının sonucunda, bupivakainin süperoksit, HOCl (hipokloröz asit) ve peroksinitriti temizleyici (süpürücü) etki gösterirken, tetrakainin süperoksit, hidroksil radikali, HOCl ve peroksinitritle etkileşime girerek bu moleküllerin inhibisyonuna yol açtığını bildirmişlerdir. Araştırcılar bupivakain ve tetrakainin lökositlerden salınan ekstraselüler enzimleri ve süperoksit üretimini önemli derecede azaltarak veya NADPH oksidaz enzimini inhibe ederek bu etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Bizim elde ettiğimiz sonuçların nedeni de bu sebepler olabilir.

Murphy *et al.* (1996), eritrositlerde serbest radikal aracılığı ile oluşan oksidatif stres üzerine daha çok genel anestezi olarak kullanılan propofol ve thopenton anestezi maddelerinin etkisini incelemiştir. Bu çalışmada, hem propofol hem de thopenton serbest radikal temizleyicisi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, propofolün thopentona göre daha güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Lenfant *et al.* (1999), 2,2-azobisdihydrochloride ile oluşturulmuş serbest radikal artışına karşı bupivakainin koruyucu bir etki sağladığını bildirmiştir. Ayrıca De Iuliis *et al.* (2001), bupivakainin rat karaciğer mikrozomlarının lipid peroksidasyonu üzerinde antioksidan özelliklere sahip olduğunu rapor etmiştir.

Lidokain eritrositlerin şekillerini de değiştirerek eritrositlerin oksidasyona karşı direncini artırabilir (Lenfant 2004). Eğer eritrositlerin şekli değişirse yüzeyin serbest radikallere maruz kalması azalabilir. Ayrıca lidokain eritrosit membranı ile elektrostatik etkileşime girerek (Yasuhara *et al.* 1982) çift zarlı membran içine girebilir ve akışkanlığını değiştirebilir (Spinedi *et al.* 1989). Gerçekte, eğer lokal anestezi membran akışkanlığını ve konformasyonunun değişimine neden olarak oksidatif strese karşı eritrositleri koruyabiliyorsa bu anestezi maddeler aynı etkiyi diğer hücreler içinde gösterebilirler. Klinik uygulamalarda bu özelliklerin etkilerini değerlendirmek için daha fazla araştırmaya gereksinim vardır. Diğer yandan bupivakainin de membran kutuplaşmasına neden olabilen membran stabilize edici özellikleri vardır (Seeman 1972). Bu mekanizma oksidatif strese karşı bupivakainin koruyucu etkisi olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer parametre bu iki anestezi maddenin fertilité üzerine olan etkileridir. Fertilité çalışmasında kontrol grubu sonuçlarını %100 olarak kabul edip uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Lidokain dişi bireylerde fertilitéyi genel olarak olumsuz etkilemiştir (LİDO II = %0,125 hariç). LİDO II uygulama grubunda kontrol grubuna göre %3,32 lik artış belirlenmiştir. BUPİ dişi bireylerde de genel olarak fertilitéyi olumsuz etkilemiştir (BUPİ III = %0,250 hariç). BUPİ III de kontrol grubuna göre %0,99 luk artış gözlenmiştir.

LİDO erkek bireylerde de fertilitiyi dişi bireylere benzer şekilde etkilemiştir. Yani sadece LİDO II de kontrol grubuna göre %3,81 lik artış belirlenmiştir. BUPİ erkek bireylerde ise tüm uygulama grubunu olumsuz etkilemiştir. Yani hiçbir uygulama grubu kontrol grubunu geçememiştir.

Yaptığımız literatür taramasında anesteziik maddelerin *Drosophila melanogaster*'de fertilitte üzerine etkileri ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır.

### 5.1. Sonuç

Mevcut çalışmamızın sonuçları, tek başına kullanılan lidokain ve bupivakainin özellikle dişi bireylerde glutatyon redüktaz enzimi üzerinde zayıf aktivatör olarak davranarak ömür uzunluğunu arttırdığını; ancak fertilitte üzerinde belirgin bir farklılık oluşturmadığını göstermiştir. Ayrıca bu iki lokal anesteziik maddenin karışımı enzim üzerinde kuvvetli inhibisyonla birlikte ömür uzunluğuna negatif etki yapmıştır. Günümüzde özellikle lokal anesteziik maddeler ile ilgili bu tür çalışmalar çok sınırlı düzeydedir. Bu konunun aydınlatılması için daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

**KAYNAKLAR**

- Açan, L., 1990. Koyun beyni glutatyon redüktazının saflaştırılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara.
- Ahmad, S. and Pardini, R.S., 1990. Mechanisms for Regulating Oxygen Toxicity in Pyhtophagous Insects. *Free Radic. Biol. Med.*, 8, 401-403.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- Altun, D., 2007. *Usnea longissima* Ach. Likenin *Drosophila melanogaster*' in Çeşitli Gelişim Parametreleri ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri. Y.Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Altun, D., Uysal, H., Aşkın, H., and Ayar, A., 2011. Determination of the effects of genistein on the longevity of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera; Drosophilidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86 (1), 120-123.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 7915-7922.
- Artur, Y., Herbeth, B., Guemori, L., Leconte, L., Jeandel, E., Siest, G., 1992. Age-related various of enzymatic defences against free radicals and peroxides. *Exs.*, 62, 359-367.
- Ashburner, M. and Thompson, J.R., 1978. The Laboratory Culture of *Drosophila*, In: The genetics and Biology of *Drosophila*, M.Ashburner, T.R.F. Wright, Academic Press/IMC. Ltd., vol 2a., 2-81, London.
- Aşkın, H., Uysal, H., Altun, D., 2007. Preventive role of folic acid on the developmental toxicity of phenol in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology and Industrial Health.*, 23, 591-598.
- Auroy, Y., Narchi, P., Messiah, A., Litt, L., Rouvier, B., Samii, K., 1997. Serious complications related to regional anesthesia: results of a prospective survey in France. *Anesthesiology*, 87, 479-86.
- Ayar, A., 2008. *Drosophila melanogaster*'in Oregon R Yabanıl ve *Vestigial* Mutant Soylarında Ekstrem Sıcaklık Şartlarının Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Y. Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Babior, B.M., 2000. Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine*, 109 (1), 33-44.
- Barja, G., 1998. Mitochondrial free radical production and aging in mammals and birds. *Ann. NY Acad. Sci.*, 854, 224-238.
- Barrou, Z., Charru, P., Lidy, C., 1997. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and ageing. *Arch. of Geront. and Geriart.*, 24, 233-241.
- Becker, K., Herold-Mende, C., Park, J.J., Lowe, G. and Schirmer, R. H., 2001. Human Thioredoxin Reductase is efficiently inhibited by (2,2':6',2"-Terpyridine) platinum (II) complexes. Possible implications for a novel antitumor strategy *J. Med. Chem.* 44, 2784-2792.

- Becker K., Rahlfs S., Nickel C. and Schirmer R. H., 2003. Glutathione-function and metabolism in the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. Biol. Chem. 384, 551-566.
- Beckman, K.B., and Ames, B.N., 1998, The free radical theory of aging matures, Physiological Reviews, 78 (2), 547-581.
- Beydemir Ş., Çiftçi M., Özmen İ., Büyükkuroğlu M.E., Özdemir H., Küfrevioğlu Ö.İ., 2000. "Effects of some medical drugs on enzyme activities of carbonic anhydrase from human erythrocytes *in vitro* and from rat erythrocytes *in vivo*". Pharmacol. Res., 42, 187-191.
- Bourg, E.L., Valenti, P., Lucchetta, P., Payer, F., 2001. Effects of mild heat shocks at young age on aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. Biogerontol., 2, 155-164.
- Bozcuk, A.N., 1970. Molecular turnover and ageing in *Drosophila subobscura*. D. Phil. Thesis, University of Sussex.
- Cankurtaran, M., 2010. Yaşlılık, yaşlanma mekanizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri. 7. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Antalya.
- Cano-Europa, E., López-Galindo, G.E., Hernández-García, A., Blas-Valdivia, V., Gallardo-Casas, C.A., Vargas-Lascari, M., Ortiz-Butrón, R., 2008. Lidocaine affects the redox environment and the antioxidant enzymatic system causing oxidative stress in the hippocampus and amygdala of adult rats. Life Sciences, 83, 681-685.
- Carlberg, C. and Mannervik B., 1985. Glutathione reductase assays. Methods in Enzymology, 113, 484-495. Academic Pres, Orlando, FL.
- Curtis, B. A., 1966. Ca fluxes in single twitch muscle fibers. J. Gen. Physiol., 50, 255.
- Çelik, M., Uysal Soyer, Ö., Şekerel, B.E., 2008. Lidokaine Bağlı Allerji veya Toksikite? Astım Allerji İmmünoloji, 6 (1), 22-24.
- Das, N., Levine, R. L., Orr, W. C., Sohal, R. S., 2001. Selectivity of protein oxidative damage during aging in *Drosophila melanogaster*. Biochem. J., 360, 209-216.
- De Iuliis, A., Zanatta, L., Vincenti, E., Galzigna, L., 2001. Differences of ropivacaine and bupivacaine relevant to anti-infl amatory activity platelet aggregation and anti oxidant activity *in vitro*. Farmaco., 56 (3), 153-157.
- Demir, E., 1994. Diabetlerde eritrosit glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz aktivitelerinin glikolize hemoglobin ve lipid peroksidasyonu ile değişimlerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Erzurum.
- Demirsoy, A., 1982. Yaşamın Temel Kuralları: Omurgasızlar, cilt II, Hacettepe Üniversitesi Yayını, 41, Ankara.
- Diplock, A., 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Doane, W.W., 1967. *Drosophila*: Methods in Developmental Biology, Edited by F.H. Wilt, N.K. Vessels, 214-219.
- Doğan, A., 1999. Farmakoloji ve Toksikoloji. KAÜ Sağlık Yüksekokulu Yay. No: 1, Kars.
- Drasner, K., Sakura, S., Chan, V.S., et al., 1994. Persistent sacral sensory deficit induced by intrathecal local anesthetic infusion in the rat. Anesthesiology, 80, 847-52.
- Droge, W., 2002. Free radicals in physiological control of cell functions. Physiol. Rev., 82, 47-95.

- Economus, A.C. and Lints, F. A., 1986. Developmental temperature and life span in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology*, 32 (1), 18-27.
- Ekici, L., Sağdıç, O., 2008. Serbest Radikaller ve Antioksidan Gıdalarla İnhibisyonu. *Gıda*, 33 (5), 251-260.
- Frank, L., 1985. Oxygen toxicity in eukaryotes. In: Superoxide dismutase, pathological states. Ed.Oberly, L.W. Boca Raton, CRC Pres, 3, 1-43.
- Gold, M., Reichling, D.B., Hampl, K.F., Drasner, K., Levine, J.D., 1998. Lidocaine toxicity in primary afferent neurons from the rat. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutic*, 285 (2), 413-421.
- Graf, U. and Van Schaik, N., 1992. Improved high bioaktivasyon cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 271, 59-67.
- Gül M., Kutay F.Z., Temocin S. and Hanninen O., 2000. Cellular and clinical implications of glutathione. *Indian J. Exp.Biol.* 38, 625-634.
- Gülbahar, Ö., 2007. Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1), 43-48.
- Günaydın, B., 2000. Lokal Anesteziklerin Antioksidan Aktivitelerinin Kemiluminans Yöntemiyle Araştırılması. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Günaydın, B. and Demiryürek, A.T., 2003. Effects of tetracaine and bupivacaine on chemiluminescence generated by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated human leukocytes and cell-free systems. *International Immunopharmacology* 3, 757-764.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., Cross, C.E., 1992. Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119 (6), 598-620.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 1999. Free radicals in biology and medicine, 3rd ed., Oxford University Press Inc., New York.
- Hashimoto, K., Sakura, S., Bollen, A.W., Ciriales, R. and Drasner, K., 1998. Comparative toxicity of glucose and lidocaine administered intrathecally in the rat. *Reg Anesth Pain Med*, 23, 444-50.
- Hayes, J.D. and McLellan, L.I., 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Rad. Res.*, 31, 273-300.
- Helfand, S.L. and Inouye, S.K., 2002. Rejuvenating views of the ageing process. *Nat Rev Genet.*, 3, 149-153.
- Hemann, M.T., Strong M.A., Hao, L.Y. and Greider, C.W., 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell*, 107, 67-77.
- Huang, S.F., Li, Z.Y., Wang, X.Q., Wang, Q.X., Hu, F.F., 2010. Cerium caused life span shortening and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 89-93.
- Işık G., 2002. Anesteziyoloji Ders Notları.
- Jazwinski, S.M., 1996. Longevity, genes, and aging. *Science*, 273, 54-59.
- Johnson, M.E., Saenz, J.A., DaSilva, A.D., Uhl, C.B., Gores, G.J., 2002. Effect of local anesthetic on neuronal cytoplasmic calcium and plasma membrane lysis (necrosis) in a cell culture model. *Anesthesiology* 97 (6), 1466-1476.

- Jordens, R.G., Berry, M.D., Gillot, C., and Boulton, A.A., 1999. Prolongation of life in an experimental model of aging in *Drosophila melanogaster*, *Neurochemical research*, 24 (2), 227-233.
- Kanai, Y., Katsuki, H., Takasaki, M., 2000. Lidocaine disrupts axonal membrane of rat sciatic nerve *in vitro*. *Anesthesia and Analgesia*, 91 (4), 944-948.
- Kayhan, Z., 1997. Klinik Anestezi. 2nd ed. Logos Yayıncılık, 447 s, İstanbul.
- Kayhan, Z., 2004. Lokal anestezi. Klinik Anestezi. 3.Baskı. Logos Yayıncılık, 503-523, Ankara.
- Keha, E.E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ., 2004. Biyokimya, Şafak Yayınevi, Erzurum.
- Kelner J. M. and Montoya M. A. 2000. Structural Organization of the Human Glutathione Reductase Gene: Determination of Correct cDNA Sequence and Identification of a Mitochondrial Leader Sequence *Biochemical and Biophysical Research Communications* 269, 366-368.
- Kılınç, K. ve Kılınç, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 (2), 110-118.
- Kılınç, A. ve Kılınç, K., 2003. "Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri". Palme Yayıncılık, 1-9, Ankara.
- Knapen, M. F.C.M., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M. and Steegers, E.A.P., 1999. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction. *Europan Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 82, 171-184.
- Korfalı, G., 2003. Lokal anestezi. Anestezi Temel Konular. 1. Baskı. Nobel Tıp Kitapevi, 117-127.
- Landenberger, A., Kabil, H., Harshman, L.G., Zemleni, J., 2004. Biotin deficiency decreases life span and fertility but increases stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 591-600.
- Lenfant, F., Lahet, J.J., Volot, F., Schafer, I., Freysz, M., Rochette, L., 1999. Effects of bupivacaine on human erythrocytes submitted to stress and evidence for an interaction between bupivacaine and flumazenil. *Br J Clin Pharmacol.*, 48, 826-828.
- Lenfant, F., Lahet, J.J., Courderot-Masuyer, C., Freysz, M., Rochette, L., 2004. Lidocaine has better antioxidant potential than ropivacaine and bupivacaine: *in vitro* comparison in a model of human erythrocytes submitted to an oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58, 248-254.
- Lesnefsky, E., VanBenthuisen, K., McMurtry, L., Shikes, R.H., Johnston, R.B., Horwitz, L.D., 1989. Lidocaine reduces canine infarct size and decreases release of a lipid peroxidation product. *J Cardiovasc Pharmacol*, 13, 895-901.
- Li, D.F., Bahar, M., Cole, G., Rosen, M., 1985. Neurological toxicity of the subarachnoid infusion of bupivacaine, lignocaine or 2-chloroprocaine in the rat. *Br J Anaesth*, 57, 424-9.
- Lithgow, G.J., White, T.M., Melov, S. and Johnsen, T.E., 1995. Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gen mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 7540-7544.
- Loeb, J. and Northrop, J.H., 1916. Is there a temperature coefficient for the duration of life? *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 2, 455-459.
- Mair, W., Sgro, C.M., Johnson, A.P., Chapman, T., Partridge, L., 2004. Lifespan extension by dietary restriction in female *Drosophila melanogaster* is not caused

- by a reduction in vitellogenesis or ovarian activity, *Experimental Gerontology*, 39, 1011-1019.
- McMillan, I., Fitz-Earl, M. and Rabson, D.S., 1970. Quantitative genetics of fertility !. Life time egg production of *Drosophila melanogaster*- Therotical. *Genetics*, 65, 349-353.
- Medawar, P. B., 1952. An unsolved problem of biology. H. K. Lewis, London, pp. 1-55.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 15 (1-2), 91-96.
- Misra, I. and Griffith, O.W., 1998. Expression and purification of human  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase. *Prot. Expr. Purific.* 13, 268-276.
- Morgan, G.A., Maged, S.M., Murray, M.J., 2002. Local Anesthetics. *Clinical Anesthesiology*. The McGraw-Hill Companies Inc., 233-241, NewYork.
- Murphy, P.G., Davies, M.J., Columb, M.O., Stratford, N., 1996. Effect of propofol and thopentone on free radical mediated oxidative stress of the erythrocyte. *Br J Anaesth*, 76, 536-43.
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., 1998. Lippincott's Illustrated review: Pharmacology. Çeviri Ed: Oktay S., Berkman K., Onat F., 2nd ed., Nobel Tıp Kitapevleri, 117-118, İstanbul.
- Naguib, M., Magboul, M.M., Samarkandi, A.H., Attia, M., 1998. Adverse Effects and Drug Interactions Associated with Local and Regional Anaesthesia. *Drug Safety Apr*; 18 (4), 221-250.
- Nalbant, S., 2006. Yaşlanmanın Biyolojisi. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg.*, 52 (Özel Ek A), A12-A17.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., 2002. İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, 711 s, Ankara.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (11), 3122-3128.
- Özata, L., 2006. Bazı tekstil boyalarının *Drosophila melanogaster* üzerine toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Özdem, S.S. ve Sadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.*, 11, 63-71.
- Pamplona, R., Portero-Otin, M., Riba, D., Ledo, F., Gredilla, R., Herrero, A. and Barja, G., 1999. Heart fatty acid unsaturation and lipid peroxidation, and aging rate, are lower in the canary and parakeet than in the mouse. *Aging (Milano)*, 11, 44-49.
- Parsons, P. A., Roman, H. L., Sandler, L. M., Campell, A., 1973. Annual review of genetics, vol.7, *Ann. Rev. Inc.*, 504 p, California.
- Partridge, L., 2001. Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Exp. Geront.*, 36, 641-650.
- Pearl, R., 1928. "The rate of living" Being on account of some experimental studies on the biology of life duration. Alfred, A. Knopf, New York.
- Pietta, P., Simonetti, P. and Mauri, P., 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J. Agric. Food. Chem.*, 46, 4487-4490.
- Rachel, H. and Markham, A., 2000. Levobupivacaine: A Review of its Pharmacology and Use as a Local Anaesthetic. 59, 551-579.

- Ramazzotto, L.J., Curro, F.A., Paterson, J.A., Tanner, P. and Coleman, M., 1985. Toxicological assessment of lidocaine in the pregnant rat. *J Dent Res.*, 64 (10), 1214-1218.
- Rigler, M.L., Drasner, K., Krejcie, T.C., Yelich, S.J., Scholnick, F.T., DeFontes, J., Bohner, D., 1991. Cauda equina syndrome after continuous spinal anesthesia. *Anesth Analg.*, 72, 275-81.
- Sakura, S., Kirihara, Y., Muguruma, T., Kishimoto, T., Saito, Y., 2005. The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg.*, 101, 541-7.
- Samis, H.V., Erk, F.C. and Baird, M.B., 1971. Senescence in *Drosophila*. *Exp. Geront.*, 6, 9-18.
- Schneider, L.E., do Amaral, V.S., Dihl, R.R., Lehmann, M., Reguly, M.L., de Andrade, H.H.R., 2009. Assessment of genotoxicity of Lidocaine, Prilonest and Septanest in the drosophila wing-spot test. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 205-208.
- Scholz, A., 2002. Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *Br J Anaesth.*, 89, 52.
- Seeman, P., 1972. The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. *Pharmacol Rev.*, 24, 583-655.
- Setsini, E. A., Carlson, J. C., Allsopp, R., 1991. The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Geront.*, 26, 385-395
- Smith, I.K., Vierheller, T.L. and Thorne, A.C., 1988. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*, 175, 408-413.
- Sohal, R. S., Sohal, B. H., Orr, W. C., 1995. Mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide generation, protein oxidative damage, and longevity in different species of flies. *Free Radic. Biol. Med.*, 19, 499-504.
- Song, W., Silver, K.S., Du, Y., Liu, Z., Dong, K., 2011. Analysis of the action of lidocaine on insect sodium channels. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41, 36-41.
- Spinedi, A., Pacini, L. and Luly, P., 1989. A study of the mechanism by which some amphiphilic drugs affect human erythrocyte acetylcholinesterase activity. *Biochem J*, 261, 569-73.
- Strehler, B.L., 1962. *Time, Cells and Ageing*. Academic Press. New York and London.
- Tokgöz, O., Beyaz, S.G., Arıkanoğlu Z., 2010. Damariçi bölgesel anestezi uygulaması sonrası gelişen, yüksek doz lidokaine bağlı toksik reaksiyon. *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*, 1 (2), 119-121.
- Ulus G., Erat M., Çiftçi M., Şakiroğlu H., Bakan E., 2005. Purification and characterization of glutathione reductase from sheep liver. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 29, 1109-1117.
- Uysal, H., Aşkın, H., 2007. The Effect of Chronic Phenol Exposure via Diet on Developmental Stages of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Fresenius Environmental Bulletin*. 16, (9a), 991-997.
- Uysal, H., Altun, D., Aslan, A., 2009. *Drosophila melanogaster*'de *Lobaria pulmonaria* (L.) hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisi. *TÜBAV Bilim*, 2(3), 271-276.

- Ünlü, H. and Bozcuk, A. N., 1979. Genetics of longevity in *Drosophila* I: The Effects of *w*, *m* and *f* mutant genes in various genotype combinations. *Exp. Geront.*, 14, 117-124.
- Walford, R.L., 1974. Immunologic theory of ageing: current status. *Fed. Proc.*, 33, 20-27.
- Williams, G.C., 1957. Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution*, 11, 398- 411.
- Yağmurdur, H., Cakan, T., Bayrak, A., 2004. The effects of etomidate, thiopental and propofol in induction on hypoperfusion-reperfusion phenomenon during laparoscopic cholecystectomy. *Acta Anaesthesiol Scand*, 48, 772-777.
- Yan, L. J., Levine, R. L., Sohal, R. S., 2000. Effects of aging and hyperoxia on oxidative damage to cytochrome *c* in the housefly, *Musca domestica*. *Free Radic. Biol. Med.*, 29, 90-97.
- Yasuhara, H., Wada, I., Sakamoto, K. and Kamijo, K., 1982. Effects of local anesthetics on monoamine oxidase, and their membrane effects. *Jpn J Pharmacol.*, 32, 213-9.
- Yen, G. C., Hsieh, C. L., 1998. Antioxidant activity of extracts from Du- Zhong (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models *in vitro*. *J. Agric. Food. Chem.*, 46, 3952-3957.
- Zaman, K., Macgill, R.S., Johnson, J.E., Ahmad, S. and Pardini, R.S., 1994. An Insect Model for Assessing Mercury Toxicity: Effect of Mercury on Antioxidant Enzyme Activities of the Housefly (*Musca domestica*) and the Cabbage Looper Moth (*Trichoplusia*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26 (1), 114-118.
- Zemel, E., Loewenstein, A., Lazar, M. and Perlman, I., 1995. The effects of lidocaine and bupivacaine on the rabbit retina. *Documenta Ophthalmologica*, 90, 189-199.
- Zhao, T., Zhang, Q., Qi, H., Liu, X., Li, Z., 2008. Extension of life span and improvement of vitality of *Drosophila melanogaster* by long-term supplementation with different molecular weight polysaccharides from *Porphyra haitanensis*. *Pharmacological Research*, 57, 67-72.
- <http://www.turkiyehastanesi.com>(01.10.2010).

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2005 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2009 yılında başlamış olduğu yüksek lisans öğrenimi 2011 yılında tamamladı.