



**SIÇANLARDA TOLÜEN TOKSİSİTESİNİN  
GLUTATYON PEROKSİDAZ, KATALAZ ve  
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN POST-MORTEM ARAŞTIRILMASI**

**Emine Gonca PEKEL**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA TOLÜEN TOKSİSİTESİNİN GLUTATYON PEROKSİDAZ,  
KATALAZ ve SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN POST-MORTEM ARAŞTIRILMASI**

**Emine Gonca PEKEL**

Dr. Öğr. Üyesi Egemen DERE

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KRİMİNALİSTİK ANABİLİM DALI

BURSA – 2018

## TEZ ONAYI

Emine Gonca PEKEL tarafından hazırlanan “Sıçanlarda Tolüen Toksisitesinin Glutasyon Peroksidaz, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Aktiviteleri Üzerine Etkisinin Post-mortem Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kriminalistik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Egemen DERE

**Başkan:** Dr. Öğr. Üyesi Egemen DERE  
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye :** Prof. Dr. Engin ULUKAYA  
İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



**Üye :** Prof. Dr. Belgin İZGİ  
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof.Dr. Ali BAYRAM  
Enstitü Müdürü

17.7.2018

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

**06/07/2018**



**Emine Gonca PEKEL**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SIÇANLARDA TOLÜEN TOKSİSİTESİNİN GLUTATYON PEROKSİDAZ, KATALAZ ve SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN POST-MORTEM ARAŞTIRILMASI

**Emine Gonca PEKEL**

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kriminalistik Anabilim Dalı

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Egemen DERE

Post-mortem biyokimyasal araştırmalar organizmada ölüm sonrası gerçekleşen biyokimyasal değişimlerin belirlenmesini sağlayarak ölüm nedeni ve ölüm zamanı araştırmalarına, ante-mortem ve post-mortem süreçlerin aydınlatılmasına katkı sağlar. Farklı belirteçlerle yapılacak araştırmalar ile bu alanda yeni bilgilere ulaşılması önemlidir. Bu çalışmada endüstriyel alanda ve günlük yaşamda kullanım alanı fazla olan ayrıca kötüye kullanımı da yaygın, uçucu bir bileşik olan tolüen kullanılmıştır. Tolüene maruz kalan kişilerde birçok doku ve organda ciddi hasarlar görülür. Hatta yüksek dozlarda maruziyetin oluşturduğu toksik etkiler, ölüme yol açabilmektedir. Tolüen metabolizması sonucu reaktif oksijen türleri oluşur. Bunlara karşı da savunmada antioksidanlar görev yapar. Bu çalışmada, sıçanlarda tolüen maruziyeti nedeniyle gerçekleşen ölümlerde antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin nasıl etkilendiği ve post-mortem zamana bağlı değişimleri araştırıldı. Bu amaçla, 30 adet Wistar-albino erkek sıçan kontrol grubu ve deney grubu olarak ayrıldı. Deney grubu sıçanlara tolüen enjeksiyonu yapılarak tolüen maruziyetine bağlı ölümü gerçekleştirildi. Kontrol grubuna ise tolüen yerine serum fizyolojik uygulaması yapıldı. Post-mortem 0, 6, 12, 24 ve 48 saat sonunda kontrol ve deney grubu sıçanların karaciğer dokuları ve kalp kanı örnekleri toplanarak GSH-Px, CAT ve SOD aktiviteleri incelendi. Sonuç olarak deney grubunda karaciğerde GSH-Px, SOD ve CAT, kanda GSH-Px aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu. Post-mortem zamana göre GSH-Px ve CAT enzimlerinde özellikle 12-48 saat aralığında enzim aktivitelerinde artış belirlendi. Sonuçlar yüksek dozlarda akut tolüen maruziyetinin oluşturduğu toksik etkiyi ve antioksidan savunmayı harekete geçirdiğini göstermektedir. Post-mortem 12-48 saat aralığındaki enzim aktivite artışı ise ölüm sonrası otolize bağlı gerçekleşmiş olabilir.

**Anahtar kelimeler:** Post-mortem biyokimya, tolüen, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz

**2018, vii + 41 sayfa**

## ABSTRACT

MSc Thesis

### **POST-MORTEM INVESTIGATION of the EFFECT of TOLUENE TOXICITY on GLUTATHIONE PEROXIDASE, CATALASE, and SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY in RATS**

**Emine Gonca PEKEL**

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Criminalistic

**Supervisor:** Dr. Egemen DERE

Post-mortem biochemical investigations contribute to the determination of post-mortem biochemical changes in the organism and to the investigation of cause of death and death time, ante-mortem and post-mortem processes. It is important to reach new information in this area with the researches to be done with different markers. In this study, toluene was used which is a common volatile compound used in the industrial field and in daily life, which is also used abused solvent. In case of people exposed to toluene, serious damage occurs in many tissues and organs. In addition, toxic effects caused by exposure at high doses can lead to death. Reactive oxygen species are produced as a result of toluene metabolism. Antioxidants work in defense against these reactive oxygen species. In this study, the effects of deaths caused by toluene exposure in rats on antioxidant enzymes glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities and post-mortem time dependent changes of these enzymes were investigated. For this purpose, 30 Wistar-albino male rats were divided into a control group and an experimental group. In the experimental group, rats were injected with toluene and death due to toluene exposure was performed. In the control group, saline injection was performed instead of toluene. At the end of post-mortem 0, 6, 12, 24 and 48 hours, liver tissues and heart blood samples of control and experimental groups were collected, then GSH-Px, CAT, and SOD activities were measured. As a result, GSH-Px, SOD, and CAT activities in the liver samples of experimental group and GSH-Px activity in the blood samples of experimental group were significantly higher than the control group. Depending on the post-mortem time, an increase in enzyme activities was observed in GSH-Px and CAT, especially in the 12-48 hour period. The results show that the toxic effect of acute toluene exposure at high doses and the antioxidant response. Also, the increase in enzyme activity in the post-mortem range of 12-48 hours may be due to autolysis after death.

**Keywords:** Post-mortem biochemistry, toluene, glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase

**2018, vii + 41 pages**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans süresince danışmanlığımı yapan, hem akademik hem sosyal yaşama dair bilgi ve deneyimlerini her zaman en içten şekilde paylaşan ve yol gösteren, bu süreçte hoşgörü, sabır, destek ve emeğini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli hocam öğretim üyesi Sayın Dr. Egemen DERE'ye,

Çalışmalarım boyunca bilgi ve görüşlerinden yararlandığım, göstermiş olduğu güler yüz ve hoşgörü için Sayın Doç. Dr. Ferda ARI'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Belgin İZGİ'ye,

Hayvan deneylerinin gerçekleştirilmesinde göstermiş oldukları yardım için başta Vet. Hek. Faruk Küçükyıldaz'a ve Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Her türlü soru ve probleme içtenlikle yardım eden, zaman ayıran ve dostlukları ile güzel bir çalışma ortamında bulunmamı sağlayan laboratuvar arkadaşlarıma,

Tez çalışması süresince birçok deney aşamasında yardımlaşma içinde olduğumuz, sabırlı ve anlayışlı çalışma arkadaşım Abdelazim Adil MOHAMMED'e,

Tüm hayatım boyunca her an ve her konuda maddi ve manevi desteklerini benden asla esirgemeyen, bugünlere gelmemi sağlayan ve her adımda güvenlerini hissettiğim, yüksek lisans tez çalışmam boyunca da yaratıcı fikirleri ile tüm emekleri, bana her zaman olan inanç, sabır ve fedakarlıkları için sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı KUAP(F)-2017/6 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Emine Gonca PEKEL  
06/07/2018

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Post-mortem Biyokimyasal Araştırmalar.....	3
2.1.1. Post-mortem Biyokimyasal Araştırmaların Önemi.....	3
2.1.2. Post-mortem Biyokimyasal Belirteçler.....	3
2.2. Tolüen.....	5
2.2.1. Tolüenin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri.....	5
2.2.2. Kullanım Alanları ve Tolüen Maruziyeti.....	6
2.2.3. Absorbsiyonu, Dağılımı, Metabolizması ve Atılımı.....	7
2.2.4. Toksik Etkileri.....	9
2.2.5. Kötüye Kullanımı.....	10
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler.....	11
2.3.1. ROS ve Oksidatif Stres.....	11
2.3.2. GSH-Px .....	13
2.3.3. SOD .....	14
2.3.4. CAT .....	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1.Materyal.....	16
3.1.1. Kimyasal Maddeler ve Kitler.....	16
3.1.2. Sarf Malzemeler.....	16
3.1.3. Cihazlar.....	16
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Deney Hayvanları.....	17
3.2.2. Tolüen Maruziyetinin Gerçekleştirilmesi.....	17
3.2.3. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması.....	18
3.2.4. GSH-Px Aktivite Ölçümü.....	19
3.2.5. SOD Aktivite Ölçümü.....	20
3.2.6. CAT Aktivite Ölçümü.....	22
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. GSH-Px Bulguları.....	26
4.2. SOD Bulguları.....	28
4.3. CAT Bulguları.....	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	32
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	41



## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CK	Kreatin Kinaz
Cu/Zn-SOD	Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Fe-SOD	Demir Süperoksit Dismutaz
g	Gravity (yerçekimi kuvveti)
GGT	Gama-Glutamil Transferaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutatyon
İ.p.	İntraperitoneal
K	Potasyum
LDH	Laktat dehidrogenaz
LR	Linearized Rate (Doğrusal Oran)
Mg	Magnezyum
Mn-SOD	Manganez Süperoksit Dismutaz
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat)
nm	Nanometre
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit anyonu
PCT	Prokalsitonin
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SOD	Süperoksit Dismutaz
U	Ünite

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Tolüenin kimyasal yapısı .....	6
Şekil 2.2. Tolüen metabolizması .....	8
Şekil 2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar .....	11
Şekil 3.1. SOD aktivitesi ve tetrazolyum tuzunun oluşum mekanizması.....	21
Şekil 3.2. SOD standart grafiği .....	22
Şekil 3.3. Katalaz peroksidatik aktivitesi .....	23
Şekil 3.4. Formaldehit standart grafiği .....	25
Şekil 4.1. Karaciğer GSH-Px aktiviteleeri .....	27
Şekil 4.2. Kan GSH-Px aktiviteleeri .....	28
Şekil 4.3. Karaciğer SOD aktiviteleeri .....	29
Şekil 4.4. Kan SOD aktiviteleeri .....	29
Şekil 4.5. Karaciğer CAT aktiviteleeri .....	31
Şekil 4.6. Kan CAT aktiviteleeri .....	31

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Post-mortem biyokimyasal belirteçlerden bazıları .....	4
Çizelge 2.2. Canlı organizmalardaki başlıca reaktif oksijen türleri .....	12
Çizelge 2.3. Serbest radikal oluşumundaki faktörler .....	12
Çizelge 2.4. Oksidan faktörler ile antioksidan savunmalar arasındaki denge.....	13
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan sıçanların gruplandırılması .....	17
Çizelge 3.2. Kan örnekleri ve karaciğer dokularının homojenizasyon ve santrifüj koşulları .....	18
Çizelge 3.3. GSH-Px aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler .....	19
Çizelge 3.4. SOD standartlarının hazırlanması .....	21
Çizelge 3.5. SOD aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler .....	21
Çizelge 3.6. Formaldehit standartlarının hazırlanması .....	23
Çizelge 3.7. CAT aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler .....	24
Çizelge 4.1. Karaciğer GSH-Px aktiviteleri .....	27
Çizelge 4.2. Kan GSH-Px aktiviteleri .....	27
Çizelge 4.3. Karaciğer SOD aktiviteleri .....	28
Çizelge 4.4. Kan SOD aktiviteleri .....	29
Çizelge 4.5. Karaciğer CAT aktiviteleri .....	30
Çizelge 4.6. Kan CAT aktiviteleri .....	31

## 1.GİRİŞ

Post-mortem biyokimyasal araştırmalar organizmada ölüm sonrası gerçekleşen biyokimyasal değişimlerin belirlenmesini sağlamaktadır. Vücut sıvılarındaki biyokimyasal değişkenler post-mortem süreçte, geçen zamana ve ölümün türüne göre değişiklik göstermektedir (Teyin ve ark. 2015). Bu sayede kan, perikardiyal sıvı, vitröz sıvı gibi çeşitli vücut sıvıları örneklerinde yapılan post-mortem biyokimyasal araştırmalar ölüm zamanı ve ölüm sebebi gibi soruların cevaplanmasına katkı sağlar (Garg ve ark. 2004, Young ve ark. 2013). Bu amaçla vücut sıvıları dışında doku, iskelet kası, kemik iliği gibi çok çeşitli örnekler de kullanılmaktadır.

Adrenalin, kortizol, adrenokortikotropik hormon (ACTH) gibi hormonlar, sodyum (Na), klor (Cl), stronsiyum (Sr), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) gibi elektrolitler, glukoz, kreatinin, ürik asit gibi çeşitli moleküller bu alanda kullanılan post-mortem biyokimyasal belirteçlerden bazılarıdır (Gürler ve Altuntaş 2014). Örneğin bu belirteçlerden biri olan ve başlıca beyin astrositlerinde bulunan S100B proteini doku spesifik belirteç olarak mekanik asfiksi, beyin hasarı gibi durumlarla ilişkilidir (Li ve ark. 2006).

Ölüm zamanı ve ölüm nedenine yönelik post-mortem çalışmalarda enzim seviyelerinde meydana gelen değişimler de incelenmektedir. Örneğin karaciğer enzimi olan gama-glutamil transpeptidaz (GGT) seviyeleri agoni (can çekişme) sırasında yükselir. Hipotermi durumunda da serum amilaz ve GGT seviyelerinde hafif bir yükselme söz konusudur (Maeda ve ark. 2011). Sharma ve ark. (2012) enzimlere yönelik yaptıkları çalışmada perikardiyal sıvıda post-mortem kreatin kinaz (CK) seviyesinin ölüm zamanına bağlı olarak anlamlı ölçüde arttığını göstermişlerdir. Anlaşılacağı gibi histolojik, toksikolojik, radyolojik çeşitli incelemeler ile birlikte yapılacak biyokimyasal araştırmalar ölüme dair çevresel koşulların aydınlatılması, ölüm zamanı ve ölüm sebebi araştırmaları gibi konularda çok önemli bir yer tutmaktadır (Gürler ve Altuntaş, 2014).

Tolüen boya ve boya incelticilerde, yapıştırıcılarda, kozmetik ürünleri ve birçok ev ürününde bulunan ayrıca ucuz ve kolay ulaşılabilmesi nedeniyle narkotik kullanımı da yaygın olan uçucu bir bileşiktir. Kötüye kullanımı fazla bir başka uçucu madde olan tinerin de içeriğinde yüksek oranlarda bulunur. Tolüenin ya da tolüen içeren tiner gibi

uçucu maddelerin kullanımına bağlı gerçekleşen ölüm olguları literatürde yer almaktadır (Ameno ve ark. 1989, Akcan ve ark. 2010). Tolüen, metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türleri nedeniyle hücreler üzerinde toksik etki göstermektedir (Mattia CJ ve ark. 1991). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşturduğu zararlı etkileri en aza indirmek üzere canlılarda antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır (Elliot 1999). Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) da antioksidan savunma sistemi enzimlerindedir. Tolüen ve tiner gibi uçucu maddelere maruziyetin bu enzim seviyelerini değiştirdiğine yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Ulakoğlu ve ark. 1998, Kamel ve Shehata 2008, Stajkovic ve ark. 2009).

Bu çalışmada ise sıçanlarda tolüen maruziyeti nedeniyle gerçekleşen ölümlerde GSH-Px, CAT ve SOD aktivitelerinin post-mortem seviyelerinin incelenmesi ve ölüm sonrası geçen zamana bağlı değişimlerinin araştırılması amaçlandı.

## **2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Post-mortem Biyokimyasal Araştırmalar**

#### **2.1.1. Post-mortem Biyokimyasal Araştırmaların Önemi**

Post-mortem biyokimya özellikle son yıllarda adli patoloji alanında rutin olarak kullanıma girmeye ve giderek önem kazanmaya başlamıştır (Gürler ve Altuntaş 2014). Gürler ve Altuntaş (2014) post-mortem biyokimyasal incelemelerin önemini; "*rutin uygulanan tam otopsi içinde biyokimyasal incelemelerin de yer alması; ölüm öncesi var olan akut-kronik patolojileri, ölüme sebep olabilecek hastalıkları, ölüm sürecinde kişinin metabolik durumunu, canlılık süresini, ölüm sonrası biyokimyasal değişiklikleri ve analitlerin kaynağını göstermesi açısından önemli bilgiler sağlayabilir*" şeklinde ifade etmektedir. Özellikle travmatik ve ani ölüm vakalarında ölüm nedeni ve ölüm zamanı gibi konuların araştırılması bu alandaki temel zorunluluklardır (Maeda 2009).

Bu alanda yapılan ilk çalışmalar genel olarak kan, beyin-omurilik sıvısı, vitröz sıvı, perikard sıvısı ve sinoviyal sıvı gibi farklı vücut sıvılarında meydana gelen biyokimyasal değişiklikler üzerine yoğunlaşmıştır (Coe 1977). Bu vücut sıvıları sadece ölüm zamanı tahmininde değil, aynı zamanda ölüm nedeni, ölüm şekli ve ölümün gerçekleştiği koşulların belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Siddhamsetty ve ark. 2014). Son yıllarda ise yapılan post-mortem biyokimyasal testler ile birlikte makroskopik bulgular, histolojik ve toksikolojik incelemeler, radyolojik incelemeler de göz önüne alınmaktadır, tek başına biyokimyasal testlerin uygulanması yeterli sonuçlar vermeyebilir (Gürler ve Altuntaş 2014).

#### **2.1.2. Post-mortem Biyokimyasal Belirteçler**

Post-mortem süreçte yapılan biyokimyasal testler ile ölüm zamanı ve ölüm nedeniyle ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda kan, idrar, göz içi sıvısı gibi çeşitli vücut sıvıları ve doku spesifik enzimler kullanılmaktadır. Ölüm zamanı tespitinde cesetteki fiziksel değişimlerin incelenmesi dışında biyokimyasal incelemeler gibi başka yöntemler de mevcuttur. K, Na, Cl, Ca, Sr, Mg gibi çeşitli elektrolitlerin ve glukoz gibi metabolitlerin farklı post-mortem zaman dilimlerinde sinoviyal sıvıdaki seviyeleri incelenerek ölüm zamanı ile ilişkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Sahoo ve Mohanty 1998, Madea ve ark. 2001, Sheikh 2007, Tumram ve ark. 2011, Siddhamsetty

ve ark. 2014). Ayrıca göz içi sıvısı iyi korunması, post-mortem kimyasal değişimlerin yavaş gerçekleşmesi ve kolay elde edilebilir olması gibi avantajlarla, mineraller ve bazı metabolitler de post-mortem zaman araştırmalarında sıkça kullanılan örneklerdir (Teyin ve ark. 2015). Teyin ve ark. (2015) yaptıkları bir çalışmada göz içi sıvısında Na, K, Cl, glukoz, laktat dehidrojenaz (LDH), amilaz ve ürik asit düzeylerini farklı post-mortem süreçlerde ve farklı ölüm nedenlerinde inceleyerek bu metabolitlerin ölüm zamanı ve ölüm nedeni ile ilişkilerini araştırmışlardır.

Post-mortem biyokimyasal araştırmalarda kullanılan belirteçler genel olarak; karbohidrat metabolizması, böbrek fonksiyonu, karaciğer fonksiyonu, kalp fonksiyonu ile ilgili belirteçler, sepsis, enflamasyon ve enfeksiyon belirteçleri, anafeksi ile ilgili belirteçler, hormonlar ve diğer testler olarak sınıflandırılabilir (Gürler ve Altuntaş 2014) (Çizelge 2.1).

Farklı post-mortem biyokimyasal belirteçlere yönelik çeşitli çalışmalar bulunmakta ve bu alandaki araştırmalar devam etmektedir. Örneğin Attia ve ark. (2016) tarafından tavşanlarla yapılan bir çalışmada enfeksiyon modeli dahil dört farklı ölüm modeli oluşturulmuş ve ölüm sonrası serum, böbrek, karaciğer ve beyin örneklerinde prokalsitonin (PCT) seviyeleri incelenmiştir. Sonuçta enfeksiyon nedeniyle ölümün gerçekleştiği grupta diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek PCT seviyeleri elde edilmiş, böylece sepsis kaynaklı ve sepsis dışı ölümlerdeki PCT farkı araştırılmıştır.

**Çizelge 2.1.** Post-mortem biyokimyasal belirteçlerden bazıları (Gürler ve Altuntaş 2014)

<b><i>Karbohidrat Metabolizması ile İlgili Belirteçler</i></b>	
Glukoz	Keton cisimleri
Glukolize hemoglobin	İzopropil alkol
Laktat	İnsülin ve C peptid
<b><i>Böbrek Fonksiyonu ile İlgili Belirteçler</i></b>	
Üre azotu	Ürik asit
Kreatinin	Elektrolitler (Na, K, Cl, Ca, Mg, Sr)
<b><i>Karaciğer Fonksiyonu ile İlgili Belirteçler</i></b>	
Kolesterol	Karbohidrat eksik transferrin (CDT)
Bilirubin	Etil glukuronid (EtG)
Etil sülfat (EtS)	

**Çizelge 2.1.** Post-mortem biyokimyasal belirteçlerden bazıları (devam) (Gürler ve Altuntaş 2014)

<b><i>Kalp Fonksiyonu ile İlgili Belirteçler</i></b>	
Atrial natriuretik peptid (ANP)	<i>Myokard iskemisinin biyokimyasal belirteçleri:</i> cTnI, cTnT, miyosin, miyoglobin,
Brain natriuretik peptid (BNP)	kreatin kinaz (CK) ve kreatin kinaz-kas/beyin (CK-MB)
<b><i>Sepsis, Enflamasyon ve Enfeksiyon Belirteçleri</i></b>	
Serum prokalsitonin (PCT)	Neopterin
C-reaktif protein (CRP)	Akut faz proteinleri ve sitokinler
<b><i>Anaflaksi Belirteçleri</i></b>	
Tryptaz ve şimaz	
<b><i>Hormonlar</i></b>	
Adrenokortikotropik hormon	Tiroid hormonları (TH)
Tiroglobulin (Tg)	Katekolaminler (epinefrin, norepinefrin, dopamin)
Kortizol	Koryonik gonadotropin (HCG)
Eritropoietin (EPO)	
<b><i>Diğer Belirteçler</i></b>	
Kromogranin A	Serotonin
S100B	Miyoglobin

## 2.2. Tolüen

### 2.2.1. Tolüenin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

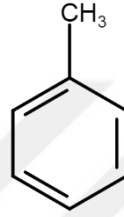
Uçucu bir sıvı olan tolüen ( $C_6H_5CH_3$ ) renksiz, berrak ve keskin kokuya sahip aromatik hidrokarbondur. Fenil halkasına bağlı bir metil grubundan oluşur (Şekil 2.1). Yoğunluğu sudan azdır ( $0,867 \text{ g/cm}^3$ ) ve suda çözünmez (<https://cameochemicals.noaa.gov>, 2017). Etanol, benzen, dietil eter, aseton, kloroform gibi birçok madde içinde çözünebilir (<https://toxnet.nlm.nih.gov>, 2017). Tolüenin genel tanımlayıcı özellikleri şöyle sıralanabilir;

- Kimyasal adlar : Tolüen, metil benzen, toliül, fenil metan
- Cas no : 108-88-3
- Moleküler formül :  $C_6H_5CH_3$  veya  $C_7H_8$
- Molekül kütlesi : 92,141 g/mol
- Kaynama noktası : 110,6 °C (760 mm/Hg)
- Erime noktası : -94,9 °C



- Donma noktası : -139 °C
- Parlama noktası : 4 °C
- Çözünürlük : Etanol, benzen, dietil eter, aseton, kloroform gibi organik çözücülerde çözünür. Sudaki çözünürlüğü çok azdır (100 ml çözücüde 0,05 gr).
- Yoğunluk : 0,867 g/cm<sup>3</sup>
- Gaz yoğunluğu : 3,1 (hava=1)
- Gaz basıncı : 28,4 mm/Hg.

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>,2017a)



**Şekil 2.1.** Tolüenin kimyasal yapısı

### 2.2.2. Kullanım Alanları ve Tolüen Maruziyeti

Tolüen endüstride yaygın olarak kullanılan organik çözücülerden biridir. Başlıca; boyalar, boya incelticiler, vernik, yapıştırıcılar, solvent tabanlı temizleyicilerde, çeşitli kozmetik malzemelerde ve birçok ev ürünüde bulunur (Faust 1994, Jones 1997). Türkiye’de satılan çeşitli boya incelticilerin içerdiği tolüen miktarı yaklaşık %50-70, yapıştırıcıların ise yaklaşık %35-40’tır (Vural ve Ögel, 2007). Ayrıca benzinde oktan arttırıcı olarak, naylon yapımında kullanılan polimerlerin üretiminde, plastik soda şişeleri, poliüretanlar ve ilaçlarda, organik kimyasalların sentezinde de tolüen kullanılmaktadır (Anonim 2000a). Tolüen aynı zamanda kötüye kullanımı en yaygın çözücülerden biri olan tinerin de temel maddesidir.

Tolüen maruziyeti, başta solunum yolu (inhalasyon) olmak üzere sindirim ve deri yolu gibi çeşitli şekillerde gerçekleşebilir. Benzin istasyonları, sigara kullanımı, tolüenin çözücü olarak ya da ev ürünlerinde kullanımı gibi nedenlerle havada bulunan tolüen buharının inhalasyonu, tolüen maruziyetinin temel sebebidir (Anonim 1986, Anonim 2000b, Anonim 2009a). Özellikle tolüenin çözücü olarak sıklıkla kullanıldığı mesleklerde, işyerlerinde de tolüene maruz kalma söz konusudur (Anonim 2000a). Yiyecek ve içeceklerde kontaminasyon sebebiyle sindirim yoluyla, yakıtlardan ve

tolüen içeren kozmetik ürünlerinin kullanımıyla da deri yoluyla maruziyet gerçekleşebilir (Anonim 2000b).

Tolüen çevrede uzun süre bulunmaz, hızlıca buharlaşır ya da biyodegradasyona uğrar. Toprak yüzeyindeki tolüenin %90'nın 24 saat içinde buharlaşması beklenirken, havada bulunan tolüen de kolayca bozunmaktadır (Anonim 2009b). Yarılanma ömrü 13 saat ile 1 gün arasında olan atmosferik tolüen; O<sub>2</sub>, hidroksil radikalleri ve ozon ile tepkimeye girmesi sonucu uzaklaştırılır (Slooff ve Blokzijl 1988).

### **2.2.3. Absorbsiyonu, Dağılımı, Metabolizması ve Atılımı**

Absorbsiyonu:

Tolüen, başta solunum sistemi olmak üzere, sindirim sistemi ve deri yoluyla vücuda alınabilir. Solunan tolüenin %40-60 kadarı absorbe edilir. Oral yol ile alınan tolüenin absorpsiyonu pulmoner absorpsiyona göre daha yavaş gerçekleşirken, deri yoluyla emilim diğerlerine göre nispeten daha yavaştır (Anonim 1986, Anonim 2000a). Örneğin önkol kısmında deri yüzeyinden absorbe edilen tolüen oranı saatte 14-23 mg/cm<sup>2</sup>'dir (Anonim 2008). Tolüenin oral emilimine yönelik çalışmalar sınırlı olsa da yapılan çalışmalar oral maruziyet sonrası neredeyse %100 emilim olduğunu göstermektedir (Anonim 2005).

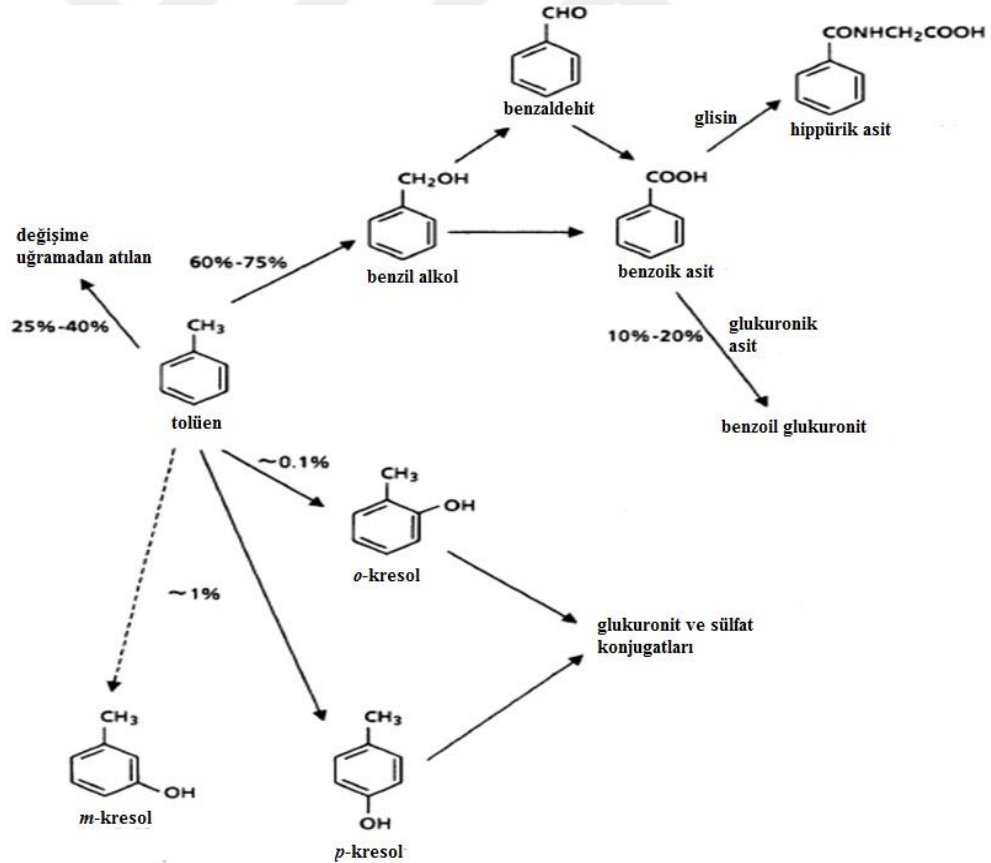
Dağılımı:

Absorpsiyonuyla birlikte tolüen tüm vücuda kolayca dağılır. Solunum sistemi tarafından absorbe olduğunda ilk maruziyetten sonraki 10 saniye içinde dolaşımda görülür (Anonim 2013). Yapılan inhalasyon çalışmalarında tolüenin yüksek dozlarına yağ doku, kemik iliği, karaciğer, böbrek, beyin ve kanda rastlanmıştır (Anonim 2009a). Tolüen maruziyeti egzersiz sırasında gerçekleşen kişilerde alveoler tolüen miktarı, dinlenme sırasında maruziyet gerçekleşenlere göre 1-4 kat daha fazla olabilmektedir (Anonim 2014).

Metabolizması:

Tolüen başlıca karaciğerde olmak üzere hızlıca metabolize edilir (Slooff ve Blokzijl 1988). Absorblanan tolüenin %60-70 kadarı hippurik asit ve benzoik aside metabolize

olur. Bu formu böbreklerden atılır. İlk adım tolüenin sitokrom p-450 enzim ailesi tarafından yan zincir oksidasyonu ile benzil alkol oluşumudur. Benzil alkol, alkol dehidrojenaz ve aldehit dehidrojenaz enzimleri ile ileri oksidasyonlarla benzaldehit ve benzoik aside dönüşür. Benzoik asidin glisin ile konjugasyonu ile hippürik asit oluşur (Anonim 1986). Hippürik asit, tolüenin idrarda tespit edilebilen ana metabolitidir. Absorblanan tolüenin %10-20 kadarı benzoil glukuronid oluşturur. Benzoil glukuronid, benzoik asit ve glukuronik asit tepkimesiyle oluşur (von Oettingen ve ark. 1942, Srbova ve Teisinger 1952, Smith ve ark. 1954, El Masry ve ark. 1956, Daly ve ark. 1968, Bakke ve Scheline 1970, Angerer 1976, Pfaffli ve ark. 1979, Toftgard ve Gustafsson 1980, Van Doorn ve ark. 1980, Woiwode ve Drysch 1981, Baelum ve ark. 1987). Tolüenin küçük bir miktarı (%1'den az miktar) ise halka hidroksilasyonu ile o-, m- ve p- kresol formlarına dönüşerek idrarla atılır (DeBruin 1976, Woiwode ve ark. 1979, Baelum ve ark. 1987) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Tolüen Metabolizması (Anonim,1986)

Atılımı:

Tolüenin vücuttan atılımı ağırlıklı olarak hippürik asit metaboliti şeklinde idrarla gerçekleşir. Kresol formları da idrarla atılan ikincil metabolitleridir. Tolüenin yaklaşık %25-40 kadarı ise değişime uğramadan hava ile dışarı atılır. Tolüen ayrıca anne sütü ile atılabildiği gibi plasentayı da geçebilir, anne kanındaki mevcut tolüen miktarının yaklaşık %75'i fetusa da geçebilmektedir (Anonim 2009a). Basit akut maruziyet durumlarında, tolüen ve metabolitlerinin neredeyse tamamı 24 saat içinde elimine edilmektedir (Anonim 1986, Anonim 2000b).

#### **2.2.4. Toksik Etkileri**

Tolüen maruziyeti karaciğer, akciğer, böbrek, kalp, beyin gibi çeşitli dokular üzerinde ciddi hasarlar yaratabilir (Carabez ve ark. 1998). Önemli etkilerinden biri sinir sistemi üzerinedir. Bu etkiler baş ağrısı, baş dönmesi ya da bilinç kaybı gibi geçici etkiler olabilir. Ancak tekrarlanan maruziyetlerde, özellikle kötüye kullanımlarda olduğu gibi yüksek dozlarda vücuda alınması ile bilişsel bozukluklar, görme ve işitme kaybı gibi kalıcı hasarlar da oluşabilir (Anonim 2017b). Özellikle tolüenin çözücü olarak kullanıldığı mesleki koşullarda nörotoksik etkiler gözlenmektedir (Kobald ve ark. 2015).

Tek seferlik maruziyetler ya da birkaç haftanın üzerindeki maruziyetler başağrısı, uyku hali ve düşünme faaliyetleri üzerinde etki yaratır. Kasıtlı olarak boya ya da tutkal gibi tolüen içeren maddeler koklayarak kısa süre içinde yüksek miktarlarda toluene maruz kalınması ciddi hasarlara sebep olur. İlk olarak kişi kendini sersemlemiş hisseder, maruziyet devam ederse baş dönmesi, uyku hali ve bilinç kaybı oluşur. İlerleyen dozlar ise oluşan kalp ritm problemleri sebebiyle ölümcül olabilmektedir (Anonim 2017b).

Tolüen metabolizmasında sitokrom p-450 enzim ailesi tarafından oksidasyon gerçekleşir. Bu sırada ROS oluşur ve oksidatif stres meydana gelir. Tolüen gibi organik çözenler, oluşan bu ROS'lar nedeniyle hücreler üzerinde toksik etki oluştururlar (Mattia CJ ve ark. 1991). Oluşan serbest radikaller elektronlarını eşleştirmek üzere hücre zarlarına, protein ve DNA yapılarına zarar verir. Yapılan bir çalışmada tolüene maruz bırakılan sıçanların karaciğer dokusunda bulunan ve antioksidan özelliğe sahip ghrelin hormonunun azaldığı bulunmuştur (Taş ve ark. 2009). Bir başka çalışmada ise

tinler inhalasyonunun karaciğer üzerindeki etkileri histopatolojik olarak incelenmiş ve toksik hepatit bulgular gözlenmiştir (Toros ve ark. 2013).

Tolüenin birçok doku ve organ üzerinde yarattığı toksik etkilerin sonucu ile ani ölümler gerçekleşebilmektedir (Vural ve Ögel 2007). Kalp fonksiyonlarının bozulmasına bağlı gerçekleşen ani ölümler hidrokarbonların katekolamin salınımını artırarak miyokardiyumu epinefrine duyarlılaştırması sonucu oluşan ani kardiyak ritm bozukluklarına bağlanabilir (Ives 2000, Ridenour ve ark. 2007).

Tolüenin kalp üzerindeki etkileri; direk hücresel toksisite, miyokardiyal iskemi veya enfarktüs, kardiyomiyopati, miyokardit ve iletim bozuklukları şeklinde, beyin üzerine etkileri ise nörotoksisite, geri dönüşümsüz yapısal bozukluklar, nöropsikiyatrik yan etkiler şeklindedir (Vural ve Ögel 2007).

#### **2.2.5. Kötüye Kullanımı**

Uçucu maddelerin kötüye kullanımları ve bağımlılık yapıcı etkileri tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Bu maddelerin öfori oluşturması nedeniyle özellikle gençler arasında kötüye kullanımı giderek artmakta ve bu olgularda maruziyete bağlı gelişen akut kardiyopulmoner nedenlerle ani ölümler meydana gelebilmektedir (Akcan ve ark. 2010).

Endüstri, ev ürünleri ve kozmetik ürünler gibi çok çeşitli alanlarda kullanılan bu maddelerin ucuz ve bulunması kolay ürünler olması kullanımlarını kolaylaştırır. Uçucu madde kullanımı, toplumun düşük sosyoekonomik gruplarında, depresyon, aile dağınıklığı, başka madde kullanımı gibi geçmişi olan gruplarda siktir (Boztaş ve Arısoy 2010). Ögel ve ark. (2000) İstanbul'da lise gençleri arasında yaptıkları bir çalışmada yaşam boyu en az bir kez uçucu madde kullananların oranını %8,6 olarak bulmuşlardır.

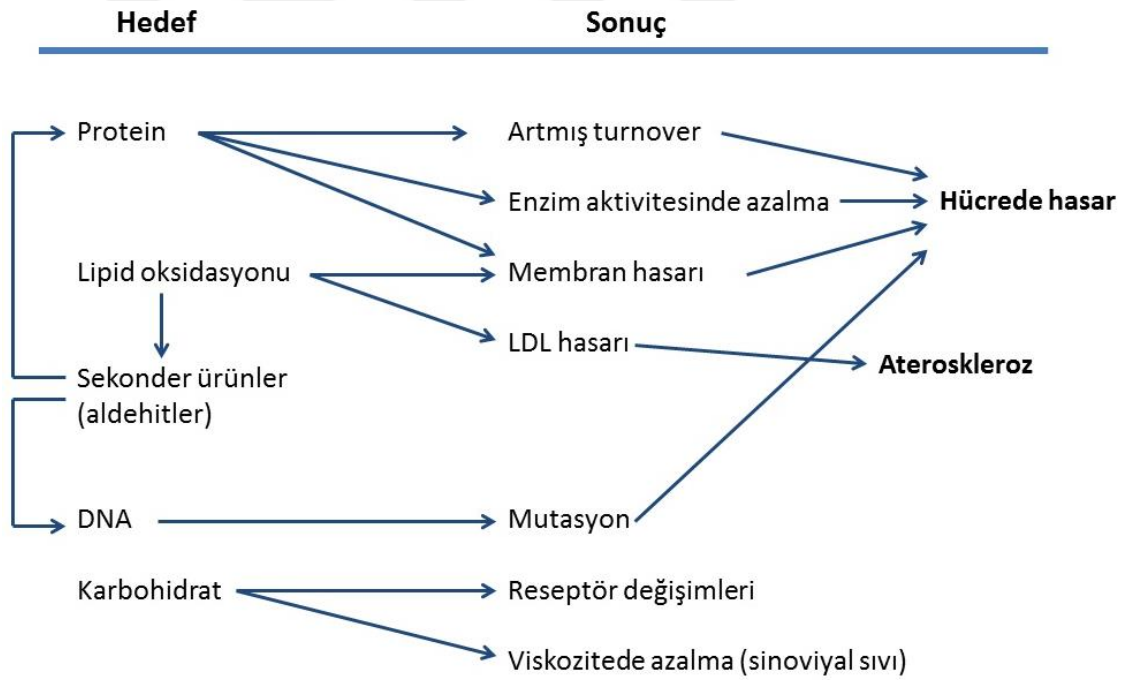
Tolüen, narkotik kullanımı en yaygın uçucu maddelerden biridir. Yapılan araştırmalara göre uçucu madde bağımlılarının %90'ı tolüen kullanmaktadır, kullanılan diğer maddeler klorlu hidrokarbonlar, bütan vb. uçucu maddelerdir (Koyuncuer 2004).

## 2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler

### 2.3.1. ROS ve Oksidatif Stres

Oksijen, yaşam için zorunlu bir molekül olmasına rağmen toksik tepkimelerde de yer alır. Oksijenin zararlı etkilerinin çoğu oksidan olarak bilinen ROS oluşumuna bağlıdır, birçok ROS serbest radikaldır (Langseth 1993).

Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom, iyon ve moleküller serbest radikaller olarak ifade edilir. Elektronlar çiftler halinde bulunmak ister, çiftlenmemiş bu elektronlar serbest radikallere aktiflik kazandırır ve hücreler için önemli moleküller olan protein, lipid ve DNA gibi yapılarda hasara neden olurlar (Langseth 1993). Şekil 2.3.'te serbest radikallerin oluşturabileceği hasarlar gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar (Langseth 1993)

Başlıca serbest radikal ve oksidanlar Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Canlı organizmalardaki başlıca ROS'lar (Langseth 1993)

<b>Serbest Radikaller</b>	
Hidroksil radikali	$\text{OH}\cdot$
Süperoksit radikali	$\text{O}_2^-$
Nitrik oksit radikali	$\text{NO}\cdot$
Lipit peroksil radikali	$\text{LOO}\cdot$
<b>Radikal olmayanlar</b>	
Hidrojen peroksit	$\text{H}_2\text{O}_2$
Tekli oksijen	$^1\text{O}_2$
Hipokloröz asit	$\text{HOCl}$
Ozon	$\text{O}_3$

İnsan vücudunda bu ROS'lar normal metabolizmanın bir ürünü olarak üretilirler. Serbest radikal oluşumundaki faktörler mitokondri, fagositler, ksantin oksidaz, geçiş metal iyonları, peroksizomlar gibi iç kaynaklı olabileceği gibi çevresel kirlilik, sigara kullanımı, ultraviyole ışınlar gibi dış kaynaklı da olabilir (Langseth 1993) (Çizelge 2.3).

**Çizelge 2.3.** Serbest radikal oluşumundaki faktörler (Langseth 1993)

<b>İç kaynaklar</b>	
Mitokondri	Fagositler
Ksantin oksidaz	Demir ve geçiş metal iyonları
Peroksizomlar	Enflamasyon
Egzersiz	İskemi
<b>Dış kaynaklar</b>	
Sigara kullanımı	Çevresel kirlilik
Radyasyon	Ultraviyole ışınlar
Bazı ilaçlar, böcek ilacı, anestezikler	Endüstriyel çözücüler

Oluşan serbest radikalleri yakalamak ve etkisiz hale getirmek, böylece oluşabilecek hasarı en aza indirmek için antioksidan sistemler bulunmaktadır (Elliot 1999). Bu antioksidanlar farklı oksidanlara karşı etki göstermeleri ve farklı hücresel bölümlerde bulunmaları ile birbirlerini tamamlayıcı niteliktedirler ve oksidan etmenler ile denge halindedirler (Langseth 1993).

Antioksidan savunma sistemlerinden birincisi GSH-Px, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerden oluşur. Bu enzimler başlıca oksidanların ortamdaki varlığını azaltarak hücrel moleküller üzerindeki zararlı etkileri en aza indirmede rol oynarlar (Langesth 1993). İkinci savunma sistemi ise antioksidan özellikteki küçük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Bunların bazıları; glutatyon, ubiquinol, ürik asit, vitamin E, vitamin C'dir (Langesth 1993). Çizelge 2.4'te oksidanların kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri gösterilmiştir (Diplock 1998).

**Çizelge 2.4.** Oksidan faktörler ile antioksidan savunmalar arasındaki denge (Diplock 1998)

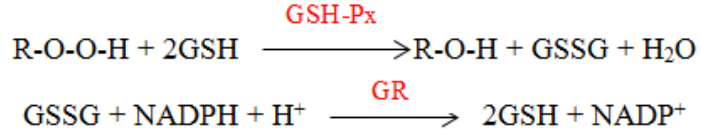
<i>Oksidan Kaynağı</i>	<i>Antioksidan Savunması</i>
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Çevre kirleticiler	Katalaz
Radyasyon	Glutatyon peroksidaz
Ateşli hastalıklar	Glutatyon
İskemi	Ubikinon
Egzersiz	Selenyum
Çoklu doymamış yağ asitlerince (PUFA) zengin diyet	Ürik asit
Karsinojenler	E vitamini
	C vitamini
	β- karoten ve diğer karotenoidler

### 2.3.2. GSH-Px

GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dahil hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlayarak hücreleri oksidatif hasardan koruyan bir enzimdir. GSH-Px, hücre membranında bulunan fosfolipit hidroperoksit GSH-Px (monomer) hariç, tetramerik yapıdadır (Forstrom ve ark. 1978, Ursini ve ark. 1985). Her alt birim aktif bölgesinde selenosistein içerir. Enzimin yapısında bulunan bu selenosistein, peroksitlerin indirgenmesinde rol oynar (Forstrom ve ark. 1978, Ursini ve ark. 1985).

GSH-Px, hidroperoksitleri indirgerken, indirgenmiş glutatyonu (GSH) oksitlenmiş hale (GSSG) getirir. Glutatyon tiyol grubu taşıyan bir tripeptittir. Koca ve Karadeniz'in (2003) de belirttiği gibi serbest radikallerin etkisini azaltan birçok enzimin substratı olarak görev yapar, radikal tutucusu gibi davranır. Glutatyonun enzim aktivitelerinde kullanılabilmesi için indirgenmiş halde kalması önemlidir. Glutatyon redüktaz (GR), GSSG'yi NADPH yardımıyla indirger ve 2 tane GSH meydana gelir.

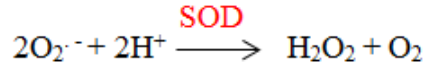




GSH-Px, hücreleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve diğer hidroperoksitelerin zararlı etkilerine karşı korurken ayrıca hem lipit peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar.

### 2.3.3. SOD

SOD, O<sub>2</sub><sup>-</sup>'i, O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürerek hücreleri O<sub>2</sub><sup>-</sup>'in zararlı etkilerinden koruyan metaloenzimdir.



Aktif merkezlerinde bulunan metal iyonu türüne göre üç şekildedir; bakır-çinko (Cu/Zn)-SOD, mangan (Mn)-SOD ve demir (Fe)-SOD. Gutteridge (1995) tarafından bildirildiğine göre Cu/Zn-SOD, McCord ve Fridovich (1969) tarafından keşfedilmiştir ve tepkime hızını önemli derecede arttırmaktadır.

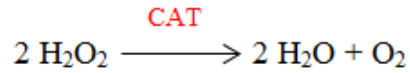
Aerobik tüm hücreler SOD içerir. Beyin, karaciğer, kalp ve böbrekte yüksek derişimlerde bulunur. İnsanlarda üç formda bulunur; sitozolik Cu/Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve ekstraselüler SOD. Ekstraselüler SOD dokular arası alanda ve ekstraselüler sıvıda bulunur, aktivitesi başlıca plazma, lenf ve sinoviyal sıvıda hesaplanabilir (Marklund 1980, Sun ve ark. 1995). Hücresel ve ekstrasellüler sıvıda bulunan SOD oksidatif strese karşı savunmada ve hastalıklardan korunmada önemlidir. Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (Majer ve Chan 2002). SOD tarafından katalizlenen tepkimeler oldukça hızlı gerçekleşir (turnover: 2x10<sup>9</sup>/M. s), dokularda ve hücrelerde bulunan yeterli SOD miktarı, O<sub>2</sub><sup>-</sup> derişimini düşük seviyelerde tutar (Malstrom ve ark. 1975).

### 2.3.4. CAT

CAT, SOD aktivitesi sonucunda da oluşan ve toksik etki gösteren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in, O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya dönüşümünü katalizler (Duthie ve ark. 1989). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> her ne kadar serbest radikal

olmasa da demir iyonuyla tepkimeye girme kabiliyeti nedeniyle reaktif oksijen türleri arasında yer almaktadır (Kraeva ve ark. 2017).

CAT, tetramer yapıda bir enzimdir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'le tepkimeye olanak sağlayan demir iyonu içeren dört HEM grubu taşır (Kirkman ve Gaetani 1984). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in uzaklaştırılmasını sağlayarak hücrelerin aerobik metabolizma sonucu oluşan reaktif oksijen türlerine karşı korunmasında önemli rol oynar (Mates 2000).



Aerobik hücrelerin çoğunda bulunan CAT, peroksizomlarda ve sitozolde yer alır. İnsanlarda CAT'ın yüksek seviyeleri, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin yüksek olduğuna inanılan karaciğer, böbrek ve eritrositlerde bulunur.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

Bu çalışmada kullanılan sıçanlar Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir ve çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca verilen 2016-11/03 nolu etik kurul kararı ile gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kimyasal Maddeler ve Kitler**

- Süperoksit dismutaz aktivite ölçüm kiti, Cayman Chemical
- Glutasyon peroksidaz aktivite ölçüm kiti, Cayman Chemical
- Katalaz aktivite ölçüm kiti, Cayman Chemical
- Katalaz metanol, Cayman Chemical
- Tolüen, %97 saflıkta, Tekkim
- di-Potasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ), Merck
- Potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ), Merck
- Etilendiamintetra asetik asit (EDTA), Merck
- Sodyum hidroksit (NaOH), Merck
- Polifleks %9 izotonik sodyum klorür çözeltisi, Polifarma İlaç San.

##### **3.1.2. Sarf Malzemeler**

- 96 kuyulu mikrolaka, NEST Biotechnology
- 2 ml hacimli santrifüj tüpleri, ISOLAB
- 2 ml hacimli EDTA'lı tüpler, Vacutest
- 1000  $\mu$ l'lik pipet uçları, ISOLAB
- 200  $\mu$ l'lik pipet uçları, ISOLAB
- 10  $\mu$ l'lik pipet uçları, SSIBio
- 5 cc enjektörler,

##### **3.1.3. Cihazlar**

- Hassas terazi, Sartorius
- Homojenizatör, Schuett homgen<sup>plus</sup>, yarı otomatik homojenizatör
- Santrifüj, HERMLE Z 326 K soğutmalı santrifüj











- Santrifüj, Sigma-2-16PK soğutmalı santrifüj
- Mikropleyt okuyucu, BioTek ELx800
- Mikropleyt çalkalayıcı, bioSan PSU-2T
- Vorteks, VELP Scientifica
- pH metre, Sartorius PP-15
- Derin dondurucu, Arçelik
- 10 µl otomatik pipet, Eppendorf
- 20-200 µl otomatik pipet, ISOLAB
- 100-1000 µl otomatik pipet, ISOLAB

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 250-400 gram ağırlığında 30 adet erişkin erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi koşullarında tutulan sıçanlar, kontrol gurubu ve deney grubu olmak üzere ayrıldı, kontrol ve deney grupları da kendi içinde post-mortem geçen zamana göre 0, 6, 12, 24 ve 48 saat gruplarına ayrıldı. Her zaman dilimi için kontrol grubu 2, deney grubu ise 4 hayvandan oluşturuldu (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Çalışmada kullanılan sıçanların gruplandırılması

Saat	0.	6.	12.	24.	48.
<b>Kontrol Grubu</b>					
<b>Deney Grubu</b>					

#### 3.2.2. Tolüen Maruziyetinin Gerçekleştirilmesi

Tolüenin LD<sub>50</sub> dozu 1,64g/kg'dır (Ikeda ve Ohtsuji 1971). 24 saat aç bırakılan hayvanlara, deney grubuna tolüenin letal dozu intraperitoneal (i.p) yolla uygulanırken kontrol grubuna aynı doz ve yöntemle serum fizyolojik uygulaması yapıldı.

Enjeksiyondan sonra su ve yem serbest olarak verildi. Deney grubu hayvanların ölümü tolüen maruziyeti sebebiyle gerçekleşirken, kontrol grubu hayvanların ölümü zamana bağlı olarak servikal dislokasyon ile gerçekleştirildi.

### 3.2.3. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması

Kan ve karaciğer dokularının homojenizasyon ve santrifüj koşulları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Kontrol ve deney gruplarında post-mortem zamanın etkisini görebilmek için ölümden 0, 6, 12, 24 ve 48 saat sonra sıçanlar açılarak karaciğer dokuları süratle çıkarıldı ve kalp kanı pıhtılaşmayı önlemek amacıyla EDTA’lı tüplere toplandı. Karaciğer dokuları pH=7,4 soğuk potasyum fosfat tamponu ile yıkanarak üzerindeki kan temizlendi. Toplanan kan örneklerinde santrifüj, karaciğer dokularında homojenizasyon ve santrifüj işlemleri aktivite ölçümlerinde kullanılan kitlerin talimatlarına uygun şekilde yapılarak örnekler analize hazır hale getirildi. Homojenizasyon işlemi, karaciğer dokularının yaş kütleleri hassas terazide tartıldıktan sonra 1/9 (w/v) olacak şekilde soğuk tampon çözelti ile buzlar içinde gerçekleştirildi. Hazırlanan örnekler aktivite ölçümleri gerçekleşinceye kadar -80°C’de saklandı.

**Çizelge 3.2.** Kan örnekleri ve karaciğer dokularının homojenizasyon ve santrifüj koşulları

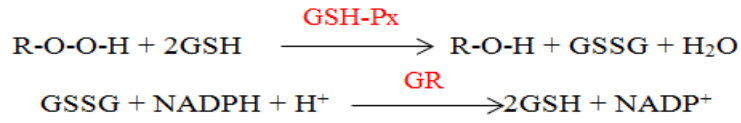
<b>Enzim</b>	<b>Kan Örneği</b>	<b>Karaciğer Dokusu</b>
<b>GSH-Px</b>	<i>Santrifüj:</i> 1000g, 10dak, 4°C <i>Analiz:</i> Plazma	<i>Homojenizasyon:</i> 1mM EDTA içeren pH=7,0 potasyum fosfat tamponu içinde 3000devir/dak hız ile <i>Santrifüj:</i> 10 000g, 15dak, 4°C <i>Analiz:</i> Süpernatant
<b>SOD</b>	<i>Santrifüj:</i> 1000g, 10dak, 4°C <i>Analiz:</i> Plazma	<i>Homojenizasyon:</i> 1mM EDTA içeren pH=7,0 potasyum fosfat tamponu içinde 3000devir/dak hız ile <i>Santrifüj:</i> 1500g, 5dak, 4°C <i>Analiz:</i> Süpernatant
<b>CAT</b>	<i>Santrifüj:</i> 1000g, 10dak, 4°C <i>Analiz:</i> Plazma	<i>Homojenizasyon:</i> 1mM EDTA içeren pH=7,0 potasyum fosfat tamponu içinde 3000devir/dak hız ile <i>Santrifüj:</i> 10 000g, 15dak, 4°C <i>Analiz:</i> Süpernatant

### 3.2.4. GSH-Px Aktivite Ölçümü

GSH-Px aktivite ölçümü ticari olarak alınan CAYMAN marka kit ile talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi.

Deney Prensipleri:

GSH-Px aktivitesi, glutatyon redüktaz (GR) aktivitesine bağlı olarak ölçüldü. Tepkime ortamını oluşturan kümen hidroperoksit ve kosubstrat karışımı içinde NADPH, GSH ve GR bulunur. Kümen hidroperoksit GSH-Px aktivitesi sonucu indirgenirken GSH, GSSG'ye dönüşür. GSSG, GR ve NADPH ile indirgenerek GSH oluşur.



NADPH'in NADP<sup>+</sup>'a oksidasyonu ile 340nm dalga boyunda absorbansta azalma meydana gelir, GSH-Px aktivitesi absorbanstaki bu azalma ile doğrudan orantılıdır (Paglia ve Valentine 1967). Analize hazır hale getirilen kan plazması ve karaciğer homejanatlarında GSH-Px aktivitesi bu prensibe göre ölçüldü. Santrifüj sonrası elde edilen kan plazması ve karaciğer homejanatları, örnek tamponu ile 1:2 oranında seyreltilerek deney gerçekleştirildi. Deneysel işlemler Çizelge 3.3'de gösterilen adımlar takip edilerek yapıldı ve her örnek için üç tekrar olacak şekilde çalışıldı.

**Çizelge 3.3.** GSH-Px aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler

	<b>Kör</b>	<b>Pozitif Kontrol</b>	<b>Örnek</b>
<b>Deney tampon çözeltisi</b>	120 µL	100 µL	100 µL
<b>Kosubstrat karışımı</b>	50 µL	50 µL	50 µL
<b>GSH-Px (Kontrol)</b>	-	20 µL	-
<b>Örnek</b>	-	-	20 µL
<b>Kümen hidroperoksit</b>	20 µL	20 µL	20 µl
Mikroplaka birkaç saniye dikkatlice karıştırıldı.			
Absorbans değişimi 340nm dalga boyunda, her dakikada bir kez toplam 5 dakika boyunca kaydedildi.			

Aktivite Hesaplama:

Her örnek ve kör için 340nm dalga boyunda, dakikadaki absorbans değişimi ( $\Delta A_{340}$ ) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\Delta A_{340}/\text{dak} = \frac{|A_{340}(\text{Zaman 2}) - A_{340}(\text{Zaman 1})|}{\text{Zaman 2(dak)} - \text{Zaman 1(dak)}}$$

Kör için hesaplanan  $\Delta A_{340}/\text{dak}$  değeri örnek değerlerinden çıkarılarak aşağıdaki formül ile GSH-Px aktivitesi hesaplandı. Bir ünite (U), dakikada 1,0nmol NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ye oksidasyonunu sağlayan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

$$\text{GSH-Px aktivitesi} = \frac{\Delta A_{340}/\text{dak}}{0,00373\mu\text{M}^{-1}} \times \frac{0,19}{0,02} \times \text{Seyreltme oranı}$$

(nmol/dak/ml)

$\Delta A_{340}$ : 340nm dalga boyunda absorbans değişimi

$0,00373\mu\text{M}^{-1}$  : NADPH'ın 340nm'deki ekstinksiyon katsayısı

0,19: kuyucuktaki çözeltinin son hacmi (mL)

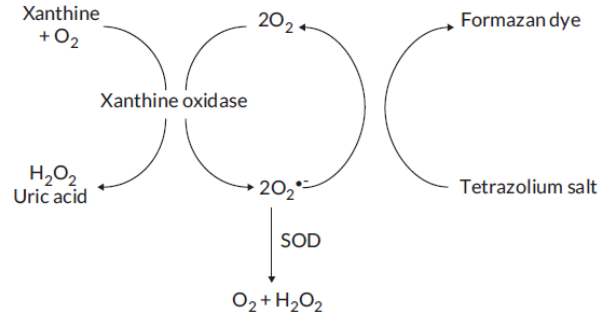
0,02: örnek hacmi (mL)

### 3.2.5. SOD Aktivite Ölçümü

SOD aktivite ölçümü ticari olarak alınan CAYMAN marka kit ile talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi.

Deney Prensibi:

Deney prensibi ksantin oksidaz ve hipoksantin tepkimesi sonucu oluşan  $\text{O}_2^-$  radikallerinin, tetrazolyum tuzu ile belirlenmesi esasına dayanır. Ksantin oksidaz enzimi ksantin ve hipoksantini, ürik asit ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e metabolize eder. Bu tepkime sırasında da  $\text{O}_2^-$  radikalleri oluşur. Deney ortamına eklenen örnek homojenatlarındaki SOD, bu  $\text{O}_2^-$  radikallerini moleküler oksijen ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e dönüştürerek aktivite gösterir. Ortamdaki SOD aktivitesinin yeterli olmadığı durumda,  $\text{O}_2^-$  radikalleri tetrazolyum ile tepkimeye girer ve tetrazolyum tuzunun elektron alarak indirgenmesi sonucu formazen boyası oluşarak renk değişikliği gerçekleşir (Şekil 3.1). SOD aktivitesi, bu tepkimenin inhibisyonu ile ölçülür.



**Şekil 3.1.** SOD aktivitesi ve tetrazolyum tuzunun oluşum mekanizması

Standart grafiği oluşturmak için SOD standartları 0-0,05 U/mL aktivite arasında hazırlandı (Çizelge 3.4) ve Çizelge 3.5’de gösterilen işlemler uygulanarak deney gerçekleştirildi. Kan ve karaciğer homojenatları örnek tamponu ile 1:5 oranında seyreltildi, tüm standart ve örnekler iki tekrar olacak şekilde çalışıldı. Deneyler arasında fark saptanınca deney tekrarına gidildi.

**Çizelge 3.4.** SOD standartlarının hazırlanması

Standart SOD Aktivitesi	SOD Stok Çözelti (µL)	Örnek Tamponu (µL)
A (0 U/mL)	0	1,00
B (0,005 U/ mL)	20	980
C (0,010 U/ mL)	40	960
D (0,020 U/ mL)	80	920
E (0,030 U/ mL)	120	880
F (0,040 U/ mL)	160	840
G (0,050 U/ mL)	200	800

**Çizelge 3.5.** SOD aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler

	Standart	Örnek
Tetrazolyum tuzu (radikal bulucu)	200 µL	200 µL
Standart (A-G)	10 µL	-
Örnek	-	10 µL
Ksantin Oksidaz	20 µL	20 µL
Birkaç saniye dikkatlice karıştırılarak mikropilaka kapağı kapatıldı		
Oda sıcaklığında 30 dakika çalkalayıcı ile inkübasyona bırakıldı		
450nm dalga boyunda absorbanslar okundu		



Aktivite Hesaplama:

Tüm standart ve örneklerin absorbans ortalamaları hesaplandıktan sonra standartA absorbansı kendisine ve diğer tüm standart ve örnek absorbanslarına bölünerek lineer oran (LR-doğrusallaştırılmış oran) hesaplandı. *Örnek; StdA için*  $LR_A = Abs(StdA)/Abs(StdA)$ ,  $LR_B = Abs(StdA)/Abs(StdB)$

Elde edilen doğrusal oranlar (LR) ve standart SOD aktiviteleri ile standart grafik oluşturuldu (Şekil 3.2). Standart grafik denklemleri ve örneklerin LR değerleri kullanılarak SOD aktiviteleri hesaplandı. 1 ünite (U), süperoksit radikallerinin %50'sini dönüşüme uğratan enzim miktarı olarak tanımlandı.

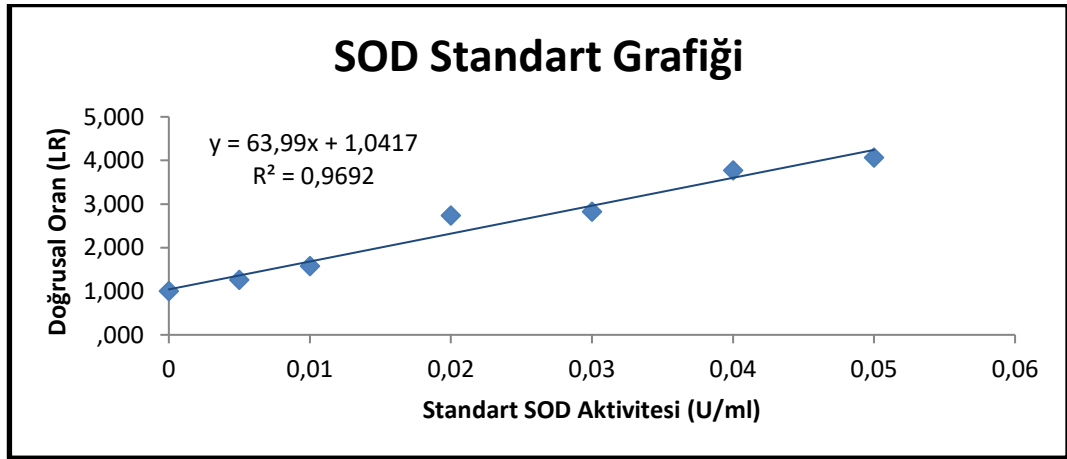
$$SOD (U/ml) = \frac{(\text{Örnek LR} - 1,0417)}{63,99} \times \frac{0,23}{0,01} \times \text{Seyreltme oranı}$$

1,0417: y eksenini kesim noktası (y-intercept)

63,99: eğim

0,23: kuyucuktaki toplam hacim (ml)

0,01: örnek hacmi (ml)



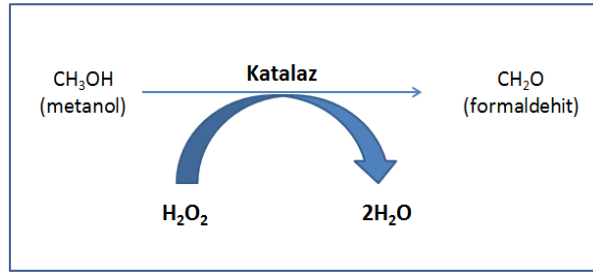
Şekil 3.2. SOD standart grafiği

### 3.2.6. CAT Aktivite Ölçümü

CAT aktivite ölçümü ticari olarak alınan CAYMAN marka kit ile talimatlara uygun şekilde gerçekleştirildi.

Deney Prensipleri:

Aktivite ölçümünde katalazın peroksidatik aktivitesinden yararlanıldı. CAT,  $H_2O_2$ 'in  $O_2$  ve  $H_2O$ 'ya dönüşümünde katalitik aktivite gösterirken, düşük molekül kütleli alkollerin (metanol gibi) elektron vericisi gibi davranmasını sağlayarak peroksidatik aktivite gösterir. Buna göre deneyin prensibi  $H_2O_2$  varlığında CAT'ın metanol ile tepkimeye girerek formaldehit oluşturmaya dayanır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Katalaz peroksidatik aktivitesi

Oluşan formaldehit *purpald* ile kolorimetrik olarak ölçüldü. Purpald (4-amino-3-hidrazin-5merkapt-1,2,4-triazol), formaldehit tepkimesi ile oksidasyonu sonucu mor renge dönüştü (Johansson ve Borg 1998, Wheeler ve ark. 1990). CAT aktivitesi, ortaya çıkan formaldehit miktarına bağlı oluşan mor rengin 540nm dalga boyunda absorbanları okunarak ölçüldü.

Standart grafiği oluşturmak için formaldehitin değişen derişimleri kullanıldı (Çizelge 3.6) ve Çizelge 3.7'de gösterilen adımlar takip edilerek deneysel işlemler gerçekleştirildi. Kan örneklerinde 1:200, karaciğer örneklerinde ise 1:500 oranında seyreltme kullanıldı, her örnek iki tekrarlı olacak şekilde çalışıldı.

Çizelge 3.6. Formaldehit standartlarının hazırlanması

Standart formaldehit derişimi	Formaldehit ( $\mu L$ )	Örnek Tamponu ( $\mu L$ )
A (0 $\mu M$ )	0	1,000
B (5 $\mu M$ )	10	990
C (15 $\mu M$ )	30	970
D (30 $\mu M$ )	60	940
E (45 $\mu M$ )	90	910
F (60 $\mu M$ )	120	880
G (75 $\mu M$ )	150	850

**Çizelge 3.7.** CAT aktivite ölçümünde uygulanan deneysel işlemler

	<b>Standart</b>	<b>Pozitif Kontrol</b>	<b>Örnek</b>
<b>Deney tampon çözeltisi</b>	100 µL	100 µL	100 µL
<b>Metanol</b>	30 µL	30 µL	30 µL
<b>Standart (A-G)</b>	20 µL	-	-
<b>Katalaz Kontrol</b>	-	20 µL	-
<b>Örnek</b>	-	-	20 µL
<b>Hidrojen peroksit</b>	20 µL	20 µL	20 µL
20 dakika oda sıcaklığında çalkalayıcı ile inkübasyona bırakıldı			
<b>Potasyum hidroksit</b>	30 µL	30 µL	30 µL
<b>Purpald</b>	30 µL	30 µL	30 µL
10 dakika oda sıcaklığında çalkalayıcı ile inkübasyona bırakıldı			
<b>Potasyum periodat</b>	10 µL	10 µL	10 µL
5 dakika oda sıcaklığında çalkalayıcı ile inkübasyona bırakıldı			
540nm dalga boyunda absorbanslar okundu			

**Aktivite Hesaplama:**

Tüm standart ve örneklerin absorbans ortalamaları hesaplandıktan sonra standart A'nın absorbansı kendinden ve diğer tüm standart ve örnek absorbanslarından çıkartıldı. Bu absorbans değerleri ve standart formaldehit derişimleri ile formaldehit standart grafiği oluşturuldu (Şekil 3.4). Elde edilen standart grafik denkleminde her örnekte oluşan formaldehit derişimi hesaplandı. Oluşan formaldehit miktarı CAT'ın 20 dakikalık aktivitesidir. Buna göre dakikadaki aktivite hesaplanarak seyreltme oranlarıyla çarpıldı. 1 ünite (U), dakikada 1,0 nmol formaldehit dönüşümünü sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandı.

$$\text{Formaldehit } (\mu\text{M}) = \frac{\text{Örnek absorbansı} - (-0,0217)}{0,0082} \times \frac{0,17}{0,02}$$

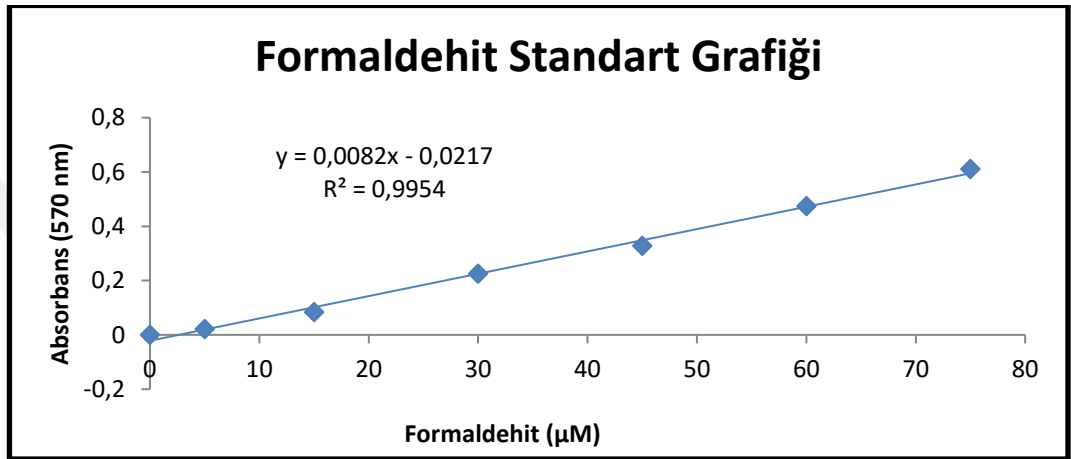
$$\text{CAT Aktivitesi (nmol/dak/ml)} = \frac{\text{Örnek Formaldehit konsantrasyonu } (\mu\text{M})}{20 \text{ dak}} \times \text{Seyreltme oranı}$$

0,0217: y eksenini kesim noktası (y-intercept)

0,0082: eğim

0,17: reaksiyonun gerçekleştiği toplam hacim (mL)

0,02: örnek hacmi (mL)



Şekil 3.4. Formaldehit standart grafiği

### 3.2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 24.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Deney ve kontrol grupları arasında tolüenin etkisini incelemek için bağımsız örneklem t-testi, post-mortem zamana bağlı değişimi incelemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Zaman grupları arasında belirlenen farklar çoklu karşılaştırma testleri ile değerlendirildi. İki ve üç tekrarlı yapılan denemelerin sonuçları ortalama ve standart sapmalar ile verildi.  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamızda her enzim için karaciğer ve kan örneklerinde tolüen maruziyetinin ve post-mortem zamanın antioksidan enzimler üzerine etkisi incelendi. Belirlenen her zaman diliminde (0, 6, 12, 24, 48 saat) kontrol grubu n=2, deney grubu ise n=4 hayvan kullanıldı. Aktivite ölçümleri sırasında her örnek en az iki tekrar olacak şekilde çalışıldı, sonuçlar ortalama ve standart sapmalar şeklinde verildi.

### 4.1. GSH-Px Bulguları

Deneyle sonucunda elde edilen karaciğer GSH-Px bulguları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de, kan GSH-Px bulguları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Karaciğer GSH-Px aktiviteleri incelendiğinde, tüm post-mortem zaman dilimlerinde, deney grubu aktiviteleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Bunların içinde 6., 12. ve 24. saatlerde gerçekleşen aktivite artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ), 6. saatte %38, 12. saatte iki katından fazla ve 24. saatte %93'lük aktivite artışı gözlemlendi. 0. an ve 48 saat dilimlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ). Post-mortem zamana bağlı aktivite değişimlerine bakıldığında kontrol grubunda, ilk saatlerden başlamak üzere 12 saate kadar enzim aktivitesinde bir azalmanın olduğu gözlemlendi. 0-6 saat arasındaki aktivite kaybı istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ( $p>0,05$ ) 0-12 saat arasında aktivitede %60 düzeyinde bir azalma bulundu ( $p<0,05$ ). Bu azalmanın aksine, ileri zaman dilimlerine bakıldığında, 12-48 saat arasında 2,2 kat aktivite artışı gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Deney grubu aktivite değerlerinde post-mortem zaman dilimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Kan örneklerinde GSH-Px bulguları incelendiğinde, deney grubu aktiviteleri kontrol grubuna göre post-mortem 6. saatte %95,53, 24. saatte %83,94 oranında daha yüksek bulunurken ( $p<0,05$ ) 0., 12. ve 48. saatlerde anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Kan örneklerinde post-mortem zamana bağlı aktivite değişimi kontrol grubunda, karaciğere benzer şekilde, 12 saate kadar %65 oranında anlamlı bir azalma gösterdikten sonra, 12-48 saat arasında 3 kata yakın bir artış gösterdi ( $p<0,05$ ). Deney grubunda da 12 saate kadar %55'lik bir aktivite kaybı olduktan sonra ilerleyen post-mortem zamanlarda, 12-48 saat arasında, yaklaşık 2 katlık bir aktivite artışı bulundu ( $p<0,05$ ).

**Çizelge 4.1.** Karaciğer GSH-Px aktiviteleri (ortalama ± standart sapma)

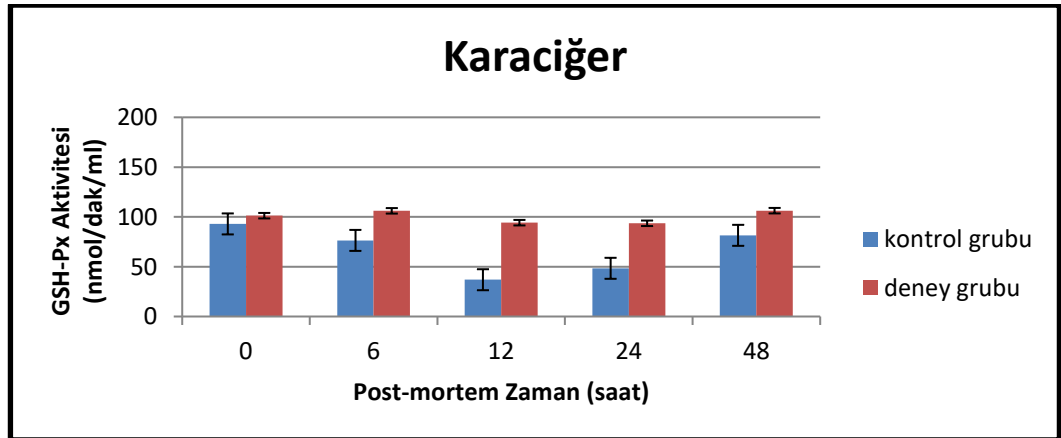
Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
<b>GSH-Px (nmol/dk/mL)</b> <i>Kontrol Grubu</i>	92,96±12,6 a,x	76,40±0,005 a,x	36,93±9,01 b,x	48,4±10,80 b,x	81,5±7,21 a,x
<b>GSH-Px (nmol/dk/mL)</b> <i>Deney Grubu</i>	101,24±29,8 c,x	106,12±6,41 c,y	94,22±18,36 c,y	93,59±11,45 c,y	106,26±21,91 c,x

Yatay sütunlarda aynı harfler ile (a,b ve c) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05). Dikey sütunda aynı harfler ile (x,y) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05). Tablodaki her veri nmol/dk/mL olarak hacimsel aktiviteyi göstermektedir.

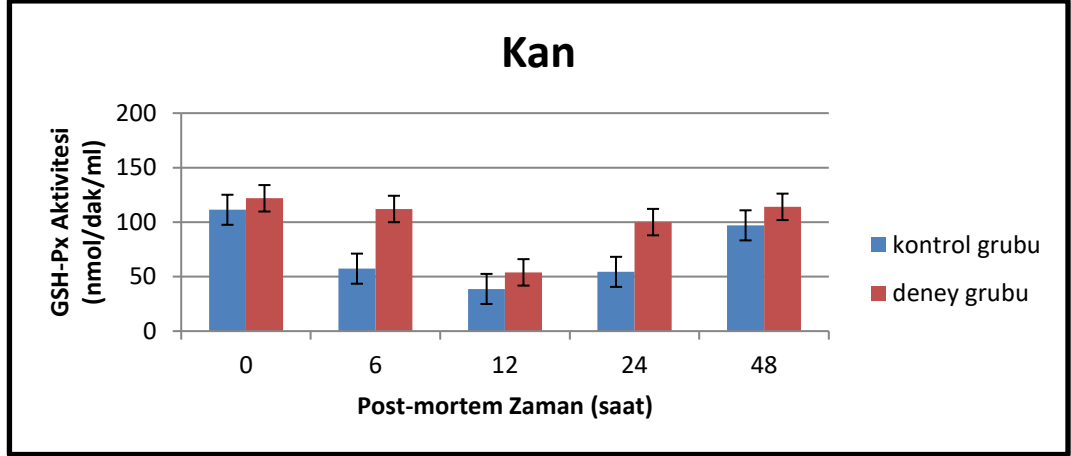
**Çizelge 4.2.** Kan GSH-Px aktiviteleri (ortalama ± standart sapma)

Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
<b>GSH-Px (nmol/dk/mL)</b> <i>Kontrol Grubu</i>	111,3±1,03 a,x	57,31±1,80 b,x	38,71±2,88 b,x	54,38±0,53 b,x	97,06±12,64 a,x
<b>GSH-Px (nmol/dk/mL)</b> <i>Deney Grubu</i>	121,87±13,32 c,x	112,06±12,47 c,y	53,91±8,37 d,x	100,03±15,76 c,y	114,02±27,04 c,x

Yatay sütunlarda aynı harfler ile (a,b,c,d) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05). Dikey sütunda aynı harfler ile (x,y) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05). Tablodaki her veri nmol/dk/mL olarak hacimsel aktiviteyi göstermektedir.



**Şekil 4.1.** Karaciğer GSH-Px aktiviteleri



Şekil 4.2. Kan GSH-Px aktiviteleri

#### 4.2. SOD Bulguları

Deneysel sonuçlarda elde edilen karaciğer SOD bulguları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3’de, kan SOD bulguları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4’te gösterilmiştir. Karaciğer örneklerinin SOD aktiviteleri incelendiğinde, deney grubunda kontrol grubuna göre 0., 6., 12. ve 24. saatlerde meydana gelen aktivite artışları istatistiksel olarak anlamsızken 48. saatte görülen %32’lik artış 0,05 olasılık düzeyinde anlamlı bulundu. Kontrol ve deney gruplarının post-mortem zamana bağlı aktivite değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Kan SOD değerlerinde 0., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde deney grubu ile kontrol grubu aktiviteleri arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte grupların zamana bağlı aktivite değişimlerinde de istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Çizelge 4.3. Karaciğer SOD aktiviteleri (ortalama  $\pm$  standart sapma)

Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
<b>SOD (U/mL)</b> <i>Kontrol Grubu</i>	2,93 $\pm$ 0,73 a, x	2,56 $\pm$ 0,05 a, x	3,93 $\pm$ 0,14 a,x	4,007 $\pm$ 0,25 a,x	3,16 $\pm$ 0,13 a,x
<b>SOD (U/mL)</b> <i>Deney Grubu</i>	3,40 $\pm$ 1,17 b,x	4,53 $\pm$ 0,10 b,x	4,61 $\pm$ 0,80 b,x	4,53 $\pm$ 0,30 b,x	4,17 $\pm$ 0,36 b,y

Yatay sütunlarda aynı harf ile (a ve b) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )  
Dikey sütunda aynı harfler ile (x,y) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )  
Tablodaki her veri U/mL olarak hacimsel aktiviteyi göstermektedir.

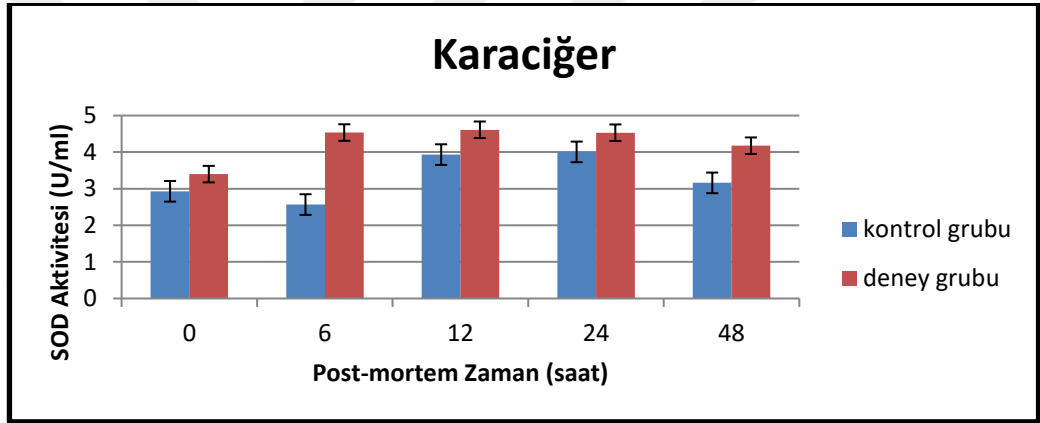
**Çizelge 4.4.** Kan SOD aktiviteleri (ortalama  $\pm$  standart sapma)

Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
<b>SOD (U/mL)</b> <i>Kontrol Grubu</i>	3,17 $\pm$ 1,33 a,x	2,72 $\pm$ 0,50 a,x	2,30 $\pm$ 0,02 a,x	2,74 $\pm$ 0,68 a,x	2,98 $\pm$ 0,15 a,x
<b>SOD (U/mL)</b> <i>Deney Grubu</i>	4,13 $\pm$ 1,21 b,x	3,24 $\pm$ 0,96 b,x	2,33 $\pm$ 0,81 b,x	3,48 $\pm$ 0,70 b,x	3,02 $\pm$ 1,33 b,x

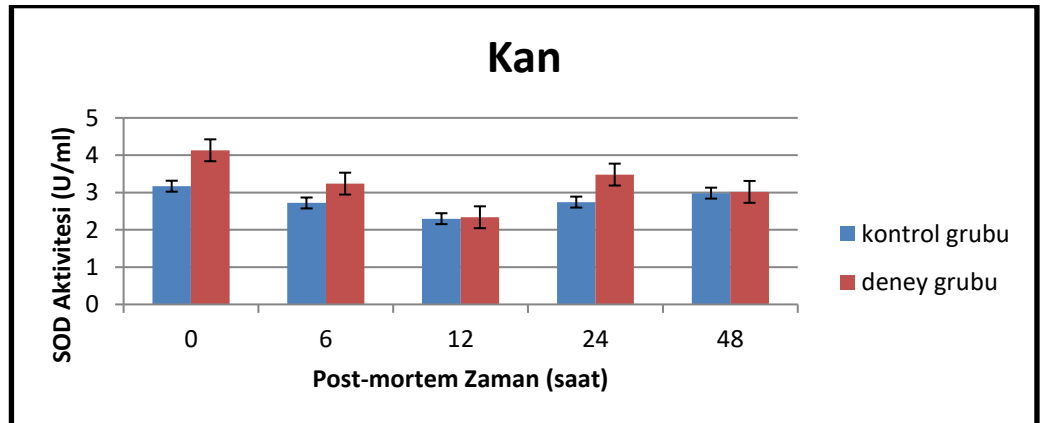
Yatay sütunlardada aynı harf ile (a ve b) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )

Dikey sütunda aynı harf ile (x) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )

Tablodaki her veri U/mL olarak hacimsel aktiviteyi göstermektedir.



**Şekil 4.3.** Karaciğer SOD aktiviteleri



**Şekil 4.4.** Kan SOD aktiviteleri



### 4.3. CAT Bulguları

Deneylemler sonucunda elde edilen karaciğer CAT bulguları Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5’de, kan CAT bulguları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6’da gösterilmiştir. Kontrol ve deney gruplarının CAT aktiviteleri karşılaştırıldığında, karaciğerde deney grubunda 0., 6., 12. ve 48. saatte meydana gelen aktivite artışları istatistiksel olarak anlamsızken ( $p>0,05$ ), 24. saatte deney grubu aktivitesinde oluşan 3 katlık artış 0,05 olasılık düzeyinde anlamlı bulundu. Post-mortem zamana bağlı aktivite değişimleri incelendiğinde karaciğer kontrol grubunda, 0-12 saat arasında aktivitede azalma bulunsa da istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ ). Daha ileri zaman dilimlerine bakıldığında 12., 24. ve 48. saatlerde aktivitenin artmaya başladığı gözlemlendi. 12-48 saat arasında meydana gelen 3 kata yakın aktivite artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Kan CAT aktivite değerlerinde gruplar ve post-mortem zaman dilimleri arasında azalış ve artışlar olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmedi ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 4.5.** Karaciğer CAT aktiviteleri (ortalama  $\pm$  standart sapma)

Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
<b>CAT (<math>\mu\text{mol/dak/mL}</math>) Kontrol Grubu</b>	11,2 $\pm$ 0,05 x	9,61 $\pm$ 5,71 a,x	8,194 $\pm$ 0,732 a,x	9,94 $\pm$ 1,548 a,x	21,29 $\pm$ 0,36 b,x
<b>CAT (<math>\mu\text{mol/dak/mL}</math>) Deney Grubu</b>	12,43 $\pm$ 9,29 x	10,39 $\pm$ 3,08 c,x	16,88 $\pm$ 7,40 x	26,87 $\pm$ 6,17 d,y	26,86 $\pm$ 9,88 x

Yatay sütunlarda aynı harfler ile (a,b,c,d) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )  
Dikey sütunda aynı harfler ile (x,y) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )  
Tablodaki her veri  $\mu\text{mol/dak/mL}$  olarak hacimsel aktiviteyi göstermektedir.

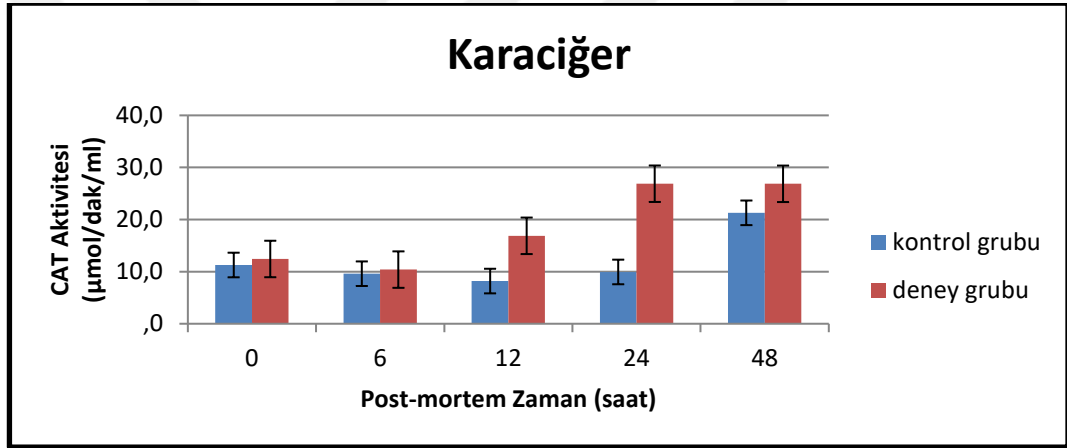
Çizelge 4.6. Kan CAT aktiviteleri (ortalama  $\pm$  standart sapma)

Post-mortem Zaman (saat)	0	6	12	24	48
CAT ( $\mu\text{mol/dak/mL}$ ) <i>Kontrol Grubu</i>	3,83 $\pm$ 0,07 a,x	3,91 $\pm$ 0,6 a,x	5,64 $\pm$ 2,45 a,x	6,006 $\pm$ 0,72 a,x	6,92 $\pm$ 2,15 a,x
CAT ( $\mu\text{mol/dak/mL}$ ) <i>Deney Grubu</i>	5,711 $\pm$ 2,92 b,x	4,30 $\pm$ 2,10 b,x	6,85 $\pm$ 3,67 b,x	8,22 $\pm$ 1,98 b,x	8,67 $\pm$ 3,74 b,x

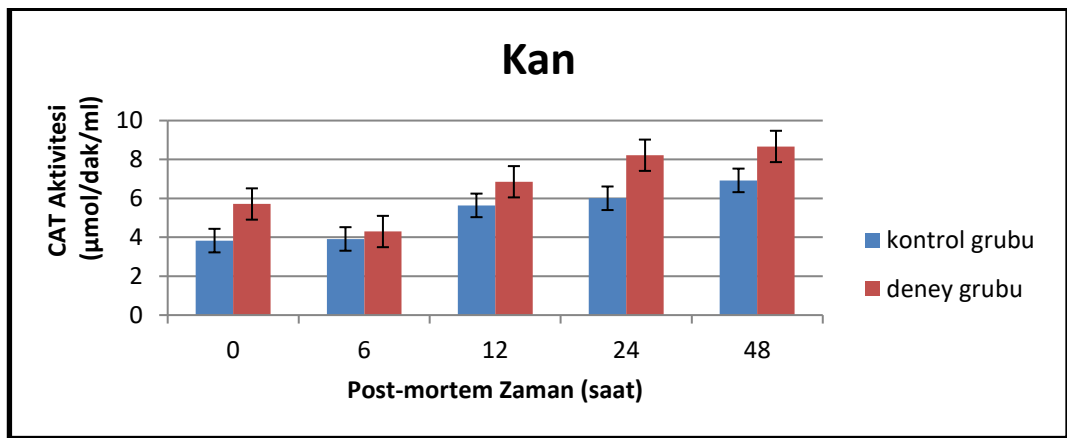
Yatay sütunda aynı harf ile (a ve b) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )

Dikey sütunda aynı harf ile (x) gösterilen veriler istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ )

Tablodaki her veri  $\mu\text{mol/dak/mL}$  hacimsel olarak aktiviteyi göstermektedir.



Şekil 4.5. Karaciğer CAT aktiviteleri



Şekil 4.6. Kan CAT aktiviteleri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada ölüme neden olan tolüen dozuna i.p. olarak maruz kalan sıçanların kalp kanı ve karaciğer dokusundaki, antioksidan enzimler olan GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerindeki değişiklikler post-mortem zamana bağlı olarak araştırılmıştır.

Gerek endüstriyel alanda gerekse günlük hayatta kullanım alanı fazla olmakla birlikte uçucu madde olarak kötüye kullanımı da yaygın olan tolüenin sağlık üzerinde birçok zararlı etkisi olduğu gibi yüksek dozlarda maruziyet ölüme sebebiyet verebilmektedir. Tolüenin ya da tolüen içeren tiner gibi uçucu maddelerin kullanımına bağlı olarak ölümlerin görüldüğü Ameno ve ark. (1989), Akcan ve ark. (2010) tarafından ileri sürülmüştür.

Çalışmamız sonucunda deney gruplarında, karaciğer GSH-Px aktivitesinde ölüm sonrası 6., 12. ve 24. saatlerde, SOD aktivitesinde 48. saatte ve CAT aktivitesinde 24. saatte meydana gelen artışlar, tolüen metabolizmasının ilk adımı olan sitokrom p-450 enzim ailesi tarafından oksidasyon sonucu özellikle karaciğerde oluşan ROS'dan kaynaklanıyor olabilir. Mattia ve ark. (1991, 1993a, 1993b) yaptıkları çalışmalarda karaciğer dahil çeşitli dokularda tolüene bağlı ROS oluşumunun ve lipit peroksidasyonlarının arttığını, tolüenin bu şekilde hücreler üzerinde toksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Oluşan serbest radikaller ile savunmada görevli antioksidanlar arasında denge durumu sağlanamadığında oksidatif stres kritik seviyelere ulaşır ve oksidatif hasar oluşur (Dündaröz ve ark 2003). Bu oksidatif hasar özellikle antioksidan özellikteki enzim ve vitamin gibi moleküllerin seviyelerini etkiler (Sies 1993).

Kamel ve Shehata (2008) tarafından yapılan çalışmada sıçanlarda kronik (15, 30 ve 45 gün) tolüen maruziyetinin beyin, karaciğer, böbrek ve testis dokularında oksidatif stres ve antioksidanlara etkisi incelenmiş ve maruziyet zamanına bağlı olarak çoğu dokuda, bizim sonuçlarımızın aksine, GSH-Px aktivitesinde azalma gözlenmiştir.

Kronik tiner ve tutkal inhalasyonu sonucu çocuklarda antioksidan enzim seviyelerinin incelendiği bir başka çalışmada, uçucu madde kullanımının GSH-Px seviyelerini değiştirdiğini ve lipit peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiş, eritrosit ve plazma GSH-

Px aktiviteleri deney grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Dündaröz ve ark. 2003). GSH-Px aktivitesindeki bu azalma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipid peroksitlerin enzimi etkisiz hale getirebileceği şeklinde açıklanmıştır (Dündaröz ve ark. 2003). Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar ise kanda deney grubu GSH-Px aktivitelerinin ölüm sonrası 6. ve 24. saatlerde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Kamel ve Shehata (2008) sıçanlarda yaptıkları kronik tolüen maruziyeti çalışması sonucunda birçok dokuda SOD aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Bir başka çalışmada Stajkovic ve ark. (2009), on iki gün boyunca düşük doz ve altı gün boyunca yüksek doz i.p. tolüen enjeksiyonu yaptıkları sıçan gruplarında düşük doz uygulamalarında, çalışma sonuçlarımızla benzer şekilde, SOD artışı elde etmişler ve bunu artan ROS üretimine bağlamışlardır.

Tolüen aynı zamanda tinerin etken maddesidir. Yapılan bir çalışmada tiner bağımlılığının akciğer ve karaciğer dokularında lipid peroksidasyonuna etkisi araştırılmış, lipid peroksidasyon düzeyinde artma ve SOD düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Ulakoğlu ve ark. 1998). Çalışmanın sonucunda kronik tiner inhalasyonu sonucu ROS oluşumunun hızlanmasına bağlı olarak SOD aktivitesinde azalma ve buna bağlı lipid peroksidasyon düzeylerinde artış olabileceği ileri sürülmüştür (Ulakoğlu ve ark. 1998).

Dündaröz ve ark. (2003) çocuklarda kronik tiner ve tutkal inhalasyonunun etkilerini inceledikleri çalışmada, deney grubu eritrosit SOD aktivitelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlar, bunu oluşturan O<sub>2</sub><sup>-</sup> anyonlarının dönüşümü için kullanımına bağlamışlardır.

Stajkovic ve ark. (2009) altı gün boyunca yüksek doz i.p. tolüen enjeksiyonu yaptıkları çalışmada, sonuçlarımızda olduğu gibi, CAT aktivitesinde artış elde etmişler, bunun artan ROS üretimine bağlı gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir.

Yapılan çalışmalar genelde uzun süreli tolüen maruziyeti etkileri üzerine yoğunlaşmıştır.

Çalışmamızda sıçanlarda letal doz tolüenin i.p. enjeksiyonu ile gerçekleşen akut maruziyet sonucu ölümlerde antioksidan enzim seviyeleri incelendiğinde, tolüen enjeksiyonu yapılan deney grubunun karaciğerde GSH-Px, SOD ve CAT, kanda GSH-Px aktivite değerleri kontrol grubuna göre istatistikel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Antioksidan enzim aktivitelerindeki bu artışın, tolüen enjeksiyonu sonrası başta karaciğerde gerçekleşen tolüen katabolizması sürecinde oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini gidermeye yönelik antioksidan savunmasından kaynaklandığı söylenebilir. Bu sonuçlar, yüksek doz tolüenin özellikle karaciğer dokusunda oluşturduğu toksik etkiyi ve buna karşı antioksidan sistemi harekete geçirerek akut maruziyetlerde bu enzimlerin rolünü göstermiştir.

Enzim aktivitelerinin post-mortem zamana göre değişimi incelendiğinde GSH-Px aktivitesinin karaciğer kontrol grubunda 0-12 saat arasında azaldıktan sonra 12-48 saat arasında arttığı ( $p<0,05$ ), kanda hem deney hem kontrol grubunda 0-12 saat arasında azalma gösterip 12-48 saat arasında arttığı ( $p<0,05$ ) bulundu. CAT aktivitesinde de benzer şekilde karaciğer kontrol grubunda 12-48 saat arasında, deney grubunda 6-24 saat arasında anlamlı artış gösterdiği gözlenirken SOD aktivitesinde post-mortem zamana göre istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek değişimler tespit edilmedi.

Solunum ve dolaşımın tamamen durması sonucu ilk dakikalar içinde somatik ölüm meydana gelirken, hayati fonksiyonların durmasından sonra genellikle 1-2 saat içinde doku ve hücrelerin ölümü gerçekleşir (<http://www.forensicpathologyonline.com>, 2018). Donaldson ve Lamont (2013) tarafından da belirtildiği gibi ölümün gerçekleşmesi ile birlikte dolaşımda oksijen eksikliği ve metabolitlerin anabolik üretimlerinin durması gibi olaylar meydana gelebilir. Bunun bir sonucu olarak ölümün gerçekleştiği ilk zaman dilimlerinde GSH-Px aktivitesinde inhibisyon olduğu düşünülebilir.

Post-mortem süreç uzadıkça otolizle birlikte hücre ve doku yapılarının bozulması sonucu enzimler hücre dışına salınmış olabilir. Bu nedenle, GSH-Px ve CAT düzeylerinde özellikle post-mortem 12 saat sonrasında gözlenen artışın otoliz sonucu olabileceğini düşünüyoruz.

Benzer şekilde Sharma ve ark. (2012) ölüm şekli ve ölüm zamanı bilinen 50 kadavra üzerinde yaptıkları çalışmada perikard sıvısında, amilaz, kreatin kinaz (CK), gama-

glutamil transferaz (GGT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitelerini post-mortem zamana göre (<6sa, 6-12sa ve 12-24sa) incelemişler, çalışma sonunda ölümden sonra dört enzimin de post-mortem zamanla pozitif korelasyonu gözlemlemişler ve CK post-mortem zamana bağlı artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu tespit etmişlerdir. Ölümden sonra otoliz süreci ile kardiyak orijinli enzimlerin perikard sıvısına salındığı ve kardiyak kökenli enzim düzeylerinin ölüm sonrası aralıklarla artış gösterebileceği, ancak kardiyak orijinli olmayanların artış göstermeyeceği hipotezini ileri sürmüşlerdir (Sharma ve ark. 2012).

Farklı enzimlerle yapılan post-mortem çalışmalarda da benzer sonuçlar gösterilmiştir. Transaminaz aktivitesinin ölümden sonra 60 saate kadar arttığını, LDH seviyelerinin 60 saat üzerine kadar artış gösterdiğini ve bunun ölüm zamanı belirlenmesinde kullanılabileceğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Enticknap 1960, Wed 1963). Maeda ve ark. (2011), karaciğer fonksiyonunda klinik belirteç olan transaminazın da dahil olduğu, serum enzimlerinin kan hücrelerinden ve doku hücreleri çevresinden sızıntılar sebebiyle ölümden sonra kısa süre içinde artış gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir. Donaldson ve Lamont (2015) tarafından post-mortem süreçte meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, post-mortem kan plazmasında metabolik analizler sonucu glutatyon, oksalat, kreatinin, ketoglutarat gibi çeşitli yirmi altı metabolitin de ölüm sonrası artmış derişimleri bulunmuştur.

Ölümün gerçekleşmesi ile dolaşımdaki oksijen eksikliği, değişen enzimatik tepkimeler, hücresel bozulma gibi nedenlerle tüm vücut dokularında çok kapsamlı biyokimyasal değişiklikler gerçekleşebilmektedir ve bu biyokimyasal değişimler ölüm zamanı belirlenmesine katkı sağlayabilir (Donaldson ve ark. 2013).

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler, ölüme neden olacak yüksek doz akut tolüen maruziyetinin antioksidan enzimler üzerine etkisini ve bu enzim aktivitelerinin ölüm sonrası zamana bağlı değişimini göstermiştir. Post-mortem biyokimyasal değişimler hakkında bilgi sağlayan bu sonuçlar ile daha ileri post-mortem zaman dilimleri (60, 72, 120 saat) kullanılarak ve çalışılan enzimlere ilave olarak glutatyon ve malondialdehid (MDA) gibi farklı belirteçlerin de araştırılmasıyla geliştirilebilir nitelikte bir çalışmadır.

## KAYNAKLAR

- Akcan, R., Çekin N., Hilal, A., Arslan, M.M. 2010.** Gençlerde uçucu madde soluma sonucu ani ölüm: Olgu sunumu. *Dicle Tıp Dergisi*, 37(2): 154-156.
- Ameno, K., Fuke, C., Ameno, S., Kiriu, T., Sogo, K., Ijiri, I. 1989.** Fatal case of oral ingestion of toluene. *Forensic Sci. Int.*, 41(3): 255-60.
- Angerer, J. 1976.** Chronic exposure to solvents at the workplace. Thin-layer chromatographic-densimetric method for measuring hippuric acid in urine. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 36: 287-297.
- Anonim, 1986.** Toluene. Environmental Health Criteria, International Programme on Chemical Safety (IPCS). Yayın no: 52, 1986, Geneva.
- Anonim, 1999.** Toluene. <https://cameochemicals.noaa.gov/chemical/4654->(Erişim tarihi: 10.12.2017).
- Anonim, 2000a .** Toxicological Profile for Toluene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, 2000, Atlanta GA.
- Anonim, 2000b.** Air quality guidelines for Europe. World Health Organisation (WHO), Yayın No:91 2nd edition , Copenhagen.
- Anonim, 2005.** Toxicology Review of Toluene. <http://www.epa.gov/iris/> (Erişim tarihi: 12.12.2017).
- Anonim, 2008.** Opinion on toluene. [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_133.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_133.pdf)-(Erişim tarihi: 12.12.2017).
- Anonim, 2009a.** Contaminants in soil: updated collation of toxicological data and intake values for humans Toluene. Environment Agency (EA), Environment Agency, Bristol.
- Anonim, 2009b.** Soil guideline values for toluene in soil, Environment Agency (EA), 2009, Environment Agency, Bristol.
- Anonim, 2013.** Documentation of the TLVs and BEIs with other world wide occupational exposure values. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 7th Ed, 2013, Cincinnati.
- Anonim, 2014.** Acute exposure guideline levels for selected airborne chemicals. National Research Council, 2014, Washington DC.
- Anonim, 2016.** Toluene. <https://toxnet.nlm.nih.gov/>(Erişim tarihi: 10.12.2017).
- Anonim, 2017a.** Toluene. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/toluene#section=Top-](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/toluene#section=Top)(Erişim tarihi: 12.12.2017).
- Anonim, 2017b.** Toxicological Profile for Toluene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, 2017, Atlanta, Georgia.
- Attia, A.M., El-Atta, H.M.A., El-sherbiny, M., El-Shahat, E.E. 2016.** Evaluation of procalcitonin postmortem levels in some models of death: An experimental study. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 37: 28-32.
- Baelum, J., Dossing, M., Hansen, S.H., Lundqvist, G.R., Andersen, N.T. 1987.** Toluene metabolism during exposure to varying concentrations combined with exercise. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 59: 281-294.
- Bakke, O.M., Scheline, R.R. 1970.** Hydroxylation of aromatic hydrocarbons in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 16: 691-700.

- Boztaş, M.H., Arısoy, Ö. 2010.** Uçucu madde bağımlılığı ve tıbbi sonuçları. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2(4): 516-531.
- Carabez, A., Sandoval, F., Palma, L. 1998.** Ultrastructural changes of tissues produced by inhalation of thinner in rats. *Microsc. Res. Tech.*, 40: 56-62.
- Coe J.I. 1977.** Postmortem chemistry of blood, cerebrospinal fluid, and vitreous humour. *Forensic medicine, Physical Trauma*, 2: 1033-52.
- Daly, J., Jerina, D., Witkop, B. 1968.** Migration of deuterium during hydroxylation of aromatic substrates by liver microsomes. Influence of ring substituents. *Arch. Biochem. Biophys*, 128: 517-527.
- DeBruin, A. 1976.** Biochemical Toxicology of Environmental Agents. *ElsevierNorth Holland Biomedical Press*, Amsterdam.
- Diplock, A. 1998.** Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Donaldson, A.E., Lamont, I.L. 2013.** Biochemistry changes that occur after death: potential markers for determining post-mortem interval. *Plos One*, 8(11): e82011.
- Donaldson, A.E., Lamont, I.L. 2015.** Metabolomics of post-mortem blood: identifying potential markers of post-mortem interval. *Metabolomics*, 11: 237-245.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J., James, W.P.T. 1989.** Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.*, 2: 51-62.
- Dündaröz, M.R., Türkbay, T., Akay, C., Sarıcı, S.Ü., Aydın, A., Denli, M., Gökçay, E. 2003.** Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in adolescents with inhalant abuse. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 45: 43-45.
- El Masry, A.M., Smith, J.N., Williams, R.T. 1956.** Studies in detoxication. The metabolism of alkylbenzenes, n-propylbenzene, and n-butyl-benzene with further observations on ethylbenzene. *Biochem. J.*, 64: 50-56.
- Elliot, J.G. 1999.** Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.*, 53(2): 46-48.
- Pffaffli, P., Elovaara, E., Savolainen, H., Vainio, H. 1979.** Effects of subacute toluene inhalation on its metabolism and disposition in rat. Mechanism of Toxic Action on Some Target Organs. *Arch. Toxicol. Suppl.*, 2: 345-348.
- Enticknap, J.B. 1960.** Biochemical changes in cadaver sera. *J. Forensic Med*, 7: 135-146.
- Faust, R.A. 1994.** Toxicity Summary for Toluene. Chemical Hazard Evaluation Group, Biomedical and Environmental Information Analysis Section, Health Sciences Research Division, 1994:1, Tennessee.
- Forstrom, J.W., Zakowski, J.J., Tappel, A.L., 1978.** Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry*, 17: 2639-44.
- Garg, V., Oberoi, S.S., Gorea, R.K., Kiranjeet, K. 2004.** Changes in the levels of vitreous potassium with increasing time since death. *JIAFM*, 26(4): 136-9.
- Gutteridge, J.M.C. 1995.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41(12): 1819-1828.
- Gürler M., Altuntaş A. 2014.** Postmortem biyokimya. *Dicle Tıp Dergisi*, 41(4): 773-780.
- Ikeda, M., Ohtsuji, H. 1971.** Phenobarbital-induced protection against toxicity of toluene and benzene in the rat. *Toxicol. Appl. Pharma*, 20: 30-43.
- Ives, R. 2000.** Disorders relating to the use of volatile substance. In *New Oxford Textbook of Psychiatry*, Oxford University Press, New York, 2000:546- 550.



- Johansson, L.H., Borg, L.A.H., 1998.** A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal. Biochem.*, 174: 331-336.
- Jones, H.E. 1997.** Neurobehavioral consequences of intermittent prenatal exposure to high concentrations of toluene. *Neurotoxicol Teratol*, 4: 305-313.
- Kamel El-Nabi, M.A., Shehata M. 2008.** Effect of toluene exposure on the antioxidant status and apoptotic pathway in organs of the rat. *Br. J. Biomed. Sci.*, 65(2): 75-9.
- Kirkman, H.N., Gaetani, G.F. 1984.** Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 81: 4343-4347.
- Kobald, S.O., Wascher, E., Blaszkewicz, M., Golka, K., Thriel, C. 2015.** Neurobehavioral and neurophysiological effects after acute exposure to a single peak of 200 ppm toluene in healthy volunteers. *NeuroToxicology*, 48: 50-59.
- Koca, N., Karadeniz, F., 2003.** Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Müh. Dergisi*, 16: (32-37).
- Koyuncuer, A. 2004.** Uçucu Madde Entoksikasyonlu Hastalara İlk Yaklaşım. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 13(10): 366.
- Kraeva, N., Horakova, E., Kostygova, A.Y., Koreny, L., Butenko, A., Yurchenko, V., Lukes, J. 2017.** Catalase in Leishmaniinae: With me or against me? *Infection, Genetics and Evolution*, 50: 121–127.
- Langseth, L. 1993.** Oxidants, antioxidants, and disease prevention. International Life Sciences Institute (ILSI), Belgium.
- Li, D.R., Zhu, B.L., Ishikawa, T., Zhao, D., Michiue, T., Maeda, H. 2006.** Postmortem serum protein S100B levels with regard to the cause of death involving brain damage in medicolegal autopsy cases. *Legal Medicine*, 8: 71-7.
- Madea, B., Kreuser, C., Banaschak, S. 2001.** Postmortem biochemical examination of synovial fluid e a preliminary study. *Forensic Sci. Int.*, 118: 29-35.
- Maeda, H., Zhu, B., Ishikawa, T., Quan, L., Michiue, T. 2009.** Significance of postmortem biochemistry in determining the cause of death. *Legal Medicine*, 11: 46-49.
- Maeda, H., Ishikawa, T., Michiue, T. 2011.** Forensic biochemistry for functional investigation of death: Concept and practical application. *Legal Medicine*, 13: 55-67.
- Majer, C.M., Chan, P.H. 2002.** Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *The Neuroscientist*, 8(4): 323-334.
- Malstrom B., Andreasson L., Reinhammer B. 1975.** in *The Enzymes*. Boyer, P., editor, XIIB, *Academic Press*, New York, 533.
- Marklund, S. 1980.** Distribution of Cu/Zn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 492: 19-23.
- Mates, J.M., 2000.** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.
- Mattia, C.J., LeBel, C.P., Bondy, S.C. 1991.** Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol*, 42: 879-882.
- Mattia, C.J., Adams, J.D., Bondy, S.C. 1993a.** Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol*, 46: 103-110.
- Mattia, C.J., Ali, S.F., Bondy, S.C. 1993b.** Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Mol. Chem. Neuropathol*, 18: 313-328.
- McCord, J.M., Fridovich, I. 1969.** Superoxide dismutase, an enzymic function of erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244: 6049-55.
- Ögel, K., Tamar, D., Evren, C., Çakmak, D. 2000.** İstanbul'da lise gençleri arasında sigara, alkol ve madde kullanım yaygınlığı. *Klinik Psikiyatri*, 3: 242-245.

- Paglia, D.E., Valentine W.N. 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 70: 158-169.
- Ridenour, T.A., Bray, B.C., Cottler, L.B. 2007.** Reliability of use, abuse, and dependence of four types of inhalants in adolescents and young adults. *Drug Alcohol Depend*, 91: 40-49.
- Rao, D., 2013.** Post Mortem Changes. Forensic Pathology, <http://www.forensicpathologyonline.com/e-book/post-mortem-changes> (Erişim tarihi: 04.03.2018)
- Sahoo, P.C., Mohanty, N.K. 1998.** Study of sodium, potassium and glucose level in synovial fluid for estimation of time since death. *J. Forensic Med. Toxicol*, 15: 14-6.
- Sharma, P., Jain, S., Mathur, R., Vyas, A. 2012.** A study of pericardial fluid enzymes activities after death and their correlation with post-mortem interval. *J. Indian Acad. Forensic Med.*, 34(4): 346-349.
- Sheikh, N.A. 2007.** Estimation of postmortem interval according to time course of potassium ion activity in cadaveric synovial fluid. *Indian J. Forensic Med. Toxicol*, 1: 45-9.
- Siddhamsetty, A.K., Verma, S.K., Kohli, A., Verma, A., Puri, D., Singh, A. 2014.** Exploring time of death from potassium, sodium, chloride, glucose & calcium analysis of postmortem synovial fluid in semi arid climate. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 28: 11-14.
- Sies, H. 1993.** Strategies of antioxidant defence. *Eur. J. Biochem.*, 215: 213-219.
- Slooff, W., Blokzijl, P.J. 1988.** Integrated criteria document toluene. National Institute of Public Health and Environmental Protection. 75847310 nolu rapor, Bilthoven.
- Smith, J.N., Smithies, R.H., Williams, R.T. 1954.** Studies in detoxication. The metabolism of alkylbenzenes. (a)Glucuronic acid excretion following the administration of alkylbenzenes. (b)Elimination of toluene in the expired air of rabbits. *Biochem. J.*, 56: 317-320.
- Srbova, J., Teisinger, J. 1952.** Absorption and elimination of toluene in man. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 6: 462.
- Stajkovic, S.S., Borozan, S.Z., Omerovic, G.G. 2009.** The effect of toluene on oxidative processes in rat blood. *J. Serb. Chem. Soc.*, 74(1): 15-25.
- Sun, E., Xu, H., Liu, Q. 1995.** The mechanism for the effect of selenium supplementation on immunity. *Biol. Trace Elem. Res.*, 48(3): 231-238.
- Taş, U., Ögetürk, M., Meydan, S., Sapmaz, H.I., Dabak, D.Ö., Kuloğlu, T., Sarsılmaz, M. 2009.** Toluene solutulan sıçanların karaciğerinde ghrelin ekspresyonu. *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.*, 23(3): 151-154.
- Teyin, M., Balcı, Y., Uslu, S., Karbeyaz, K., Özdamar, K. 2015.** Ölüm Zamanı ve Ölüm Nedeni ile İlişkili Olarak Postmortem Göz İçi Sıvısında Biyokimyasal İncelemelerin Önemi. *Adli Tıp Bülteni*, 20(1): 7-13.
- Toftgard, R., Gustafsson, J.A. 1980.** Biotransformation of organic solvents: A review. *Scand. J. Work Environ.*, 6: 1-18.
- Toros, A.B., Yaşar, B., Özel, L., Kılıç, G. 2013.** Histopathological changes in the rat liver exposed to chronic thinner inhalation. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 12(3): 95-99.
- Tumram, N.K., Bardale, R.V., Dongre, A.P. 2011.** Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: a comparative study. *Forensic Sci. Int.*, 204(1-3): 186-90.

- Ulakoğlu, Z., E., Saygı, A., Gümüştaş, M.K., Zor, E., Akkaya, A., Kökoğlu, E. 1998.** The effect of chronic thinner inhalation on lipid peroxidation in rat lung and liver. *Cerrahpaşa J. Med.*, 29(2): 75-78.
- Ursini, F., Maiorino, M., Gregolin, C. 1985.** The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim. Biophys.*, 839: 62-70.
- Van Doorn, R., Bos, R.P., Brouns, R.M.E., Leydekkers, C.M., Henderson, P.T. 1980.** Effect of toluene and xylenes on liver glutathione and their urinary excretion as mercapturic acids in the rat. *Arch. Toxicol.*, 43: 293-304.
- von Oettingen, W.F., Neal, P.A., Donahue, D.D., Svirbely, J.L., Baernstein, H.D., Monaco, A.R., Valaer, P.J., Mitchell, J.L. 1942.** The Toxicity and Potential Dangers of Toluene with Special Reference to its Maximal Permissible Concentration. *Public Health Bulletin, Public Health Service*, No: 279.
- Vural, M., Ögel, K. 2007.** Toluen Maruziyeti Sonucu Gelişen Uçucu Madde Koklamaya Bağlı Ani Ölüm Sendromunun Muhtemel Biyolojik Mekanizmaları. *Bağımlılık Dergisi*, 8: 141-145.
- Wed, E. 1963.** The Chemistry of Death. *Charles C. Thomas Springfield*; 100.
- Wheeler, C.R., Salzman J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., Korte, D.W. 1990.** Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal. Biochem.*, 184: 193-199.
- Woiwode, W., Wodarz, K., Drysch, K., Weichardt, H. 1979.** Metabolism of toluene in man: Gas-chromatographic determination of o-, m-and p-cresol in urine. *Arch. Toxicol.*, 43: 93-98.
- Woiwode, W., Drysch, K. 1981.** Experimental exposure to toluene. Further consideration of cresol formation in man. *Br. J. Ind. Med.*, 38: 194-197.
- Young, S.T., Wells, J.D., Hobbs, G.R., Bishop, C.P. 2013.** Estimating post mortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp. *Forensic Sci. Int.*, 229(1-3): 163

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı :** Emine Gonca PEKEL

**Doğum Yeri ve Tarihi :** Bursa, 10 Temmuz 1992

**Yabancı Dili :** İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise :** Bursa Anadolu Erkek Lisesi (2006-2010)

**Lisans :** Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü (2010-2015)

**Yüksek Lisans :** Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kriminalistik Anabilim Dalı (2016-2018)

**Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : -**

**İletişim (e-posta) :** pekelgonca@gmail.com

**Yayımları : -**