

Sıçanda Kronik Mangan Klorür Enjeksiyonunun Plazma Eritrosit ve Beyin Manganiz Düzeyleri ile Beyin Dokusu MDA Düzeyi ve Histolojisi Üzerine Etkileri

THE EFFECTS OF CHRONIC MANGANESE CHLORIDE INJECTION ON PLASMA ERYTHROCYTE, BRAIN MANGANESE BRAIN MALONDIALDEHID LEVELS AND HISTOLOGY

Nezahat ZALOĞLU*, Metin BAŞTUĞ*, Hakan FIÇICILAR*, Ahmet AYDIN**, Gülseli YILDIRIM***, Yüksel SARAN****

* Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD,

** Doç.Dr., GATA Eczacılık Bilimleri Bölümü Başkanlığı,

*** Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD,

**** Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANKARA

Özet

Manganez (Mn), normal konsantrasyonlarda antioksidan etkiye sahiptir ve organizma için önemlidir. Yüksek konsantrasyonlarda dokular tarafından tutulmakta ve toksik etki gösterebilmektedir. Merkezi sinir sistemindeki (MSS) toksik etkisini özellikle ekstrapiramidal sistemde gösterdiği ve Parkinson benzeri semptomlara neden olduğu bildirilmiştir. Endüstrideki yaygın kullanımı ve MSS üzerindeki toksik etkileri nedeniyle önemli bir sağlık sorunu oluşturabilmektedir. Manganezin MSS üzerindeki etkisini hangi mekanizma ile oluşturduğu tam olarak açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Sunulan çalışmada yüksek dozda (30mg/kg/gün) ve uzun süreli (50 gün) MnCl₂ enjeksiyonunun MSS üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Deneyde, her iki cinsten, 10'u kontrol ve 10'u deney grubunda olmak üzere 20 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Deney grubunu oluşturan sıçanlara 50 gün süre ile, 30mg/kg/gün MnCl₂, kontrol gurubu sıçanlara aynı süre ve miktarda serum fizyolojik enjekte edildi (i.p.). Deney süresi içinde (onbeşer günlük periyotlarla) ve sonunda tartılarak ağırlık kontrolleri yapıldı. Denekler deney süresi sonunda geçeden aç bırakıldılar. Hafif eter anestezisi altında kalplerinden alınan kan örneklerinde, plazma ve eritrosit Mn düzeyleri saptandı. Kanatılarak öldürülen hayvanların beyinleri çıkarıldı. Beyinler üç parçaya ayrıldı. Beyin doku örneklerinde, beyin Mn düzeyi ile serebral korteks ve serebellum malondialdehit (MDA) düzeyleri saptandı ve histolojik incelemeleri yapıldı. Sonuçlar nonparametrik Mann Whitney U

Summary

Manganese (Mn) is an essential trace element at low concentrations. It is known as a free oxygen radical scavenger, but when it is present in excess quantities in tissues it may be toxic. These toxic effects are seen in deep brain tissues especially in pyramidal neurons and known to induce a Parkinsonian state. The use of Manganese (Mn) and its compounds, in industry, generates adverse health effects in workers who are exposed to Mn. The toxicity of manganese in brain has not been fully understood. In the present study we aimed to investigate the effects of high dose (30mg/kg/day) and chronic Mn application on brain tissue. In the experiments, 20 Wistar rats were used. Ten of the rats were injected MnCl₂ as a dosage of 30 mg/kg/day for 50 days and kept as experimental (group II). The remainder of the 10 rats were injected serum physiologic at the same time and same amount as in experimental group and kept as control group (group I). Rats were fed with granulated food and water at libitum. At the end of the experimental period rats were fasted 12 h, they were weighted. Under light anesthesia blood samples were collected intracardially in tubes (washed with deionised water before) having heparin for the routine measurements and plasma and erythrocyte Mn levels. Then the brain were removed and put into three pieces. One was fixed in 10% formaldehyde for the histologic investigation, from the remainder two parts, brain tissue Mn (cerebral cortex and cerebellum) and malondialdehid (MDA) levels were measured. The statistical analysis were evaluated by Mann Whitney U and Kruscal Wallis tests. There were not considerable difference between initial and final weights of rats and the brain MDA levels. The manganese levels in plasma, erythrocyte, and brain tissue increased significantly (p<0.001). In the histological investigation of brain tissue, lipofucsin granules were observed in pyramidal neuron cytoplasm showing an increase in lysosomal activity. The excessive exposure of man-

Geliş Tarihi: 28.09.1999

Yazışma Adresi: Dr. Nezahat ZALOĞLU

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji AD, Morfoloji Binası
Sihhiye, 06100 ANKARA

ve Kuruscall Wallis testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirme sonucunda, her iki gruptaki sıçanların ağırlık artışları benzer bulunurken beyin dokusu MDA düzeylerinde önemli bir değişiklik saptanmadı. Buna karşın $MnCl_2$ uygulanan grupta eritrosit, plazma ve beyin dokusu Mn düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$). Histolojik incelemelerde, piramidal yol nöronlarında lizozomal aktivitenin arttığını ifade edecek şekilde yer yer lipofüscin granülleri görüldüğü halde beklediğimiz düzeyde nöronal fonksiyon bozuklukları gözlenmedi. Sonuçlarımız, uzun süreli toksik dozda uygulanan $MnCl_2$ 'e karşı adaptasyonel değişikliklerin gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Yüksek dozda uygulanan manganезi daha az absorbe etmek, safra yolu ile atılımını arttırmak, hatta Mn'in antioksidan etkisinin aktive olması gibi doğal savunma mekanizmalarının işlemesi nöronal fonksiyon bozukluklarının daha uzun süreli maruziyetlerde ortaya çıkabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Manganез, Merkezi Sinir Sistemi, Lipid Peroksidasyon

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:209-215

ganesе may lead to the severe damages in brain tissue and neuronal dysfunctions later in time, because of the defense mechanisms of the body such as less absorption and much excretion in biliary system even the antioxidative effect of Manganese itself.

Key Words: Manganese, Central Nervous System, Lipid Peroxidation

T Klin J Med Sci 2000, 20:209-215

Manganез (Mn), dünyada demir, alüminyum ve bakırdan sonra en fazla kullanılan metaldir. Yıllık üretimi 8 milyon ton kadardır. Bunun %94'ü çelik eşya yapımında kullanılır. Çok az bir kısmı alüminyum ve bakırla karıştırılarak (1) kullanılırken, mangan dioksit kuru pillerin yapımında, potasyum permanganat bakterisitik ve fungusitik özellikleri nedeniyle su arıtımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca endüstride çeşitli boyaların, cila ve dekoratif sert kaplama materyalinin üretiminde, sabun ve camın üzerindeki parlak görüntü sağlayan özel dalga boyuna sahip renkli kaplamanın yapım işlemi sırasında kullanılmaktadır (2). Diğer önemli kullanım alanlarından birisi de MR görüntüleme sistemidir. Mangafodipir trisodium ($MnDPDP$) karaciğer MR görüntülemesinde kullanılan Mn bileşimidir (3). Diğer taraftan manganез organizmada esansiyel bir metaldir. Biyolojik sistemde çeşitli metabolik olaylarda role sahiptir. Piruvat karboksilaz, superoksit dismutaz, glutamin sentetaz, alkali fosfataz ve arjinaz gibi çok sayıda enzimin aktiviteleri için ko-faktördür (4). Beyinde normalde az miktarda Mn bulunur (insanda 4.5-6.2 $\mu\text{mol/kg}$ (5) sıçanda 10.2-11.9 $\mu\text{mol/kg}$) (6,7). Ayrıca manganез düşük oksidasyon durumlarında serbest oksijen radikali temizleyicisi olarak bilinir (8). Ancak yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu nörotoksik ola-

bilmektedir (9). Manganез insan vücuduna tozlarının inhalasyonu veya özellikle manganез dioksit içeren partiküllerin yutulması ile alınmaktadır (2). Diyetle alınan manganезin en önemli kaynağının bütün tahıl ürünleri, fındık, taneli sebzeler ve çay olduğu bildirilmiştir (10,11). Bazı bölgelerde suyun çok az düzeyde Mn içerdiği, bu bölge insanların diyetine ek olarak su ile 3-4 mg/gün Mn aldıkları bildirilmektedir (12,13). Organizmada bağırsaktan absorbe edilen manganез hızla (dakikalar içinde) safra sekresyonu ile vücuttan uzaklaştırılır (14). Öyleki safra yolu ile atılan manganез miktarı manganез eksikliği veya fazlalığının göstergesi olabilir (15). Manganез yüksek dozda bulunduğu dokularda birikebilmekte ve toksik etki gösterebilmektedir. Özellikle yıllar içinde merkezi sinir sisteminde birikerek şizofreni benzeri psikiyatrik bozuklukla Parkinson benzeri ve irreversibl nörolojik bulgular ile karakterize bir tablo oluşturduğu bildirilmiştir (16). Endüstride yaygın olarak kullanılan manganез bu sektör çalışanları için özellikle de merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri ile önemli bir sağlık sorunu oluşturabilmektedir. Manganезin nörotoksik etkisini özellikle derin beyin dokularında, ekstrapiramidal yolda gösterdiği bildirilmiştir (17,18). Yine beyin dokusunda lipid peroksidasyona ve nöronal kayıplara neden olabileceği bildirilmektedir (11). Ancak merkezi sinir sistemi üzerindeki

toksik etkisinin hangi mekanizma ile oluştuğu henüz tam açıklanamamıştır. Manganezin merkezi sinir sistemindeki toksik etkilerinin ancak yüksek dozda serbest manganez ve kronik maruziyetle olabileceği bildirilmektedir (4). Sunulan çalışmada yüksek dozda (30mg/kg/gün) 50 gün süre ile intraperitoneal MnCl₂ enjeksiyonunun sıçanların merkezi sinir sistemi üzerine muhtemel toksik etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Deneyle her iki seksten, ortalama ağırlıkları 85 g olan 20 adet Albino Wistar sıçan kullanıldı. Kontrol (grup I) ve deney grubu (grup II) olmak üzere iki grup oluşturuldu. Literatürde manganez nörotoksitesinin görüldüğü *in vivo* kronik Mn uygulaması modeli olarak 6mg/kg/gün ve 30 gün bildirilmekle birlikte (19) çalışmada merkezi sinir sisteminde manganez birikimini arttırmak ve nörotoksiteyi belirgin olarak saptayabilmek amacıyla daha uzun süre ve daha yüksek dozda Mn uygulandı. Bu amaçla II. grubu oluşturan 10 adet sıçana MnCl₂ 30 mg/kg/gün olacak şekilde ve 50 gün süre ile intraperitoneal olarak enjekte edildi. I. grubu oluşturan 10 sıçana aynı süre ile ve miktarda olmak üzere serum fizyolojik enjekte edildi. Deney süresi içinde sıçanlar normal granül yemle beslendiler ve istedikleri kadar su içtiler. 15.,30.ve 45. günlerde tartılarak ağırlık kontrolleri yapıldı. Deney süresi sonunda akşamdan aç bırakıldılar. Deney günü önce tartıldılar, sonra hafif anestezi altında kalblerinden yaklaşık 4-5 cc kan alındı. Plazma ve eritrosit örnekleri %0.1 HNO₃ ile uygun şekilde sulandırıldıktan sonra direkt olarak elektrotermal atomik absorpsiyon spektrofotometresi yöntemi ile plazma ve eritrosit Mn düzeyleri saptandı (20). Daha sonra kanatılarak öldürülen ratların beyinleri çıkarıldı. Beyin ve serebellum, hemisferler boyunca iki parçaya ayrıldı. Parçalardan birisi histolojik inceleme için %10'luk formaline konularak takibe alındı. Beyin dokuları gece boyunca 4°C'de Aldehid solusyonu (%2 paraformaldehid ve %2 glutaraldehid) karışımı içinde bekletildi. pH 7.3'de fosfatla tamponlandı. Daha sonra kesitler 40 dakika %1 osmiumda tamponlandı ve fikse edildi. Daha sonra %1'lik Toluidin mavisi ve Hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Aynı hayvana ait ikinci

beyin parçasında beyin dokusu Mn düzeyi (µg/g yaş ağırlık) saptamak üzere doku, %65'lik Nitrik asit ve %30 luk hidrojen peroksit ile 5:1 oranında oluşturulan karışımda mikrodalga fırında (Millestones, Mega 1200, İtaly) çözdürüldü. Daha sonra sıvı haldeki bu doku örnekleri yukarıda eritrosit ve plazma Mn tayininde belirtilen uygun sulandırma yapıldıktan sonra Mn düzeyleri elektrotermal atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile (Varian, Avustralia) ölçüldü (20). Üçüncü beyin parçasında serebral korteks ve serebellum MDA düzeyleri ölçümleri spektrofotometrik yöntemle yapıldı (21). Sonuçlar, denek sayıları gözönüne alınarak önerilen non parametrik Mann Whitney U testi ve Kruskal Wallis testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular

Deney süresi içinde 15 günlük periyotlarla yapılan ölçümlerde her iki grupta da deneklerin ağırlıklarında başlangıç ağırlıklarına göre anlamlı (p<0.05) artış saptandı. Ancak deney ve kontrol gruplarının ağırlık artışı karşılaştırılması istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Plazma, eritrosit ve beyin dokusu ortalama Mn düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0.001, Tablo 1). Kontrol ve deney gruplarının korteks ve serebellum ortalama MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı (Tablo 2). Kontrol ve deney gruplarının beyin dokularının histolojik incelemesinde piramidal yol nöronlarında lizozomal aktivite artışını ifade edecek şekilde yer yer lipofüscin granülleri gözlemlendi (Şekil 1, Şekil 2a ve 2b).

Tablo 1. 50 gün süreyle 30 mg/kg/gün i.p. MnCl₂ uygulamasında kontrol ve deney gruplarında plazma, eritrosit ve beyin dokusu Mn düzeyleri

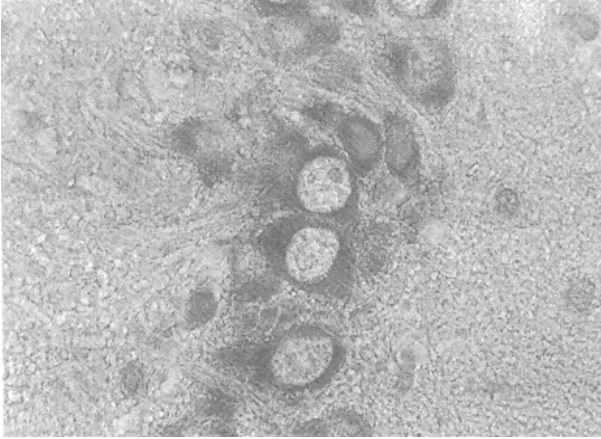
	Plazma Mn (ng/ml)	Eritrosit Mn (ng/ml)	Beyin Mn (µg/g yaş ağı.)
Kontrol grubu (I. grup) n=10	1.41±0.58	8.27±1.90	1.70±0.72
Deney grubu (II. grup) n=10	42.77±11.24*	398.96±31.37*	3.01±0.76**

Değerler ortalama ±SD olarak verilmiştir.

*p<0.001 **p<0.01

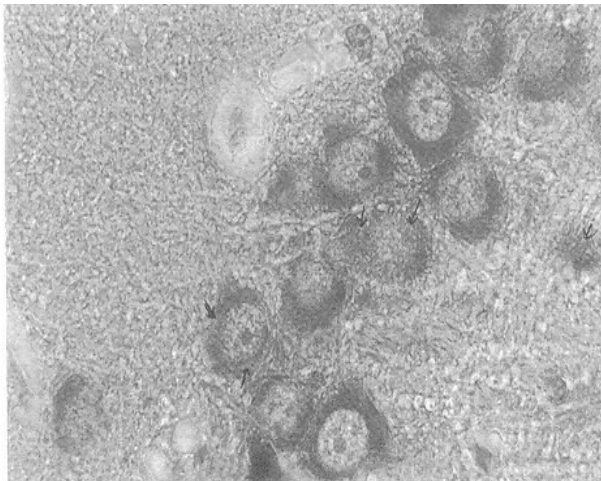
Tablo 2. Beyin dokusu MDA (nmol TBA/g doku) düzeyleri (ortalama \pm SD) değerleri

	Denek Sayısı	Korteks	Serebellum
Kontrol grubu (1. grup)	8	133.50 \pm 34.95	182.13 \pm 42
Deney grubu (2. grup)	7	150.86 \pm 36.13	176.57 \pm 71

**Şekil 1.** Kontrol grubu sıçanların beyin dokusu nöronal yapısı. Büyük ve veziküllü nükleusları, belirgin nükleolusları ve bazofilik boyanmış sitoplazma görülüyor. Toluidin mavisi X100.

Tartışma

Deney süresi içinde sıçanların vucut ağırlığında kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik saptanmadı. Bu bulgumuz literatür

**Şekil 2a.** Deney grubu sıçanların beyin dokusu nöronal yapısı. Piramidal hücre tabakasında bulunan bazı nöronların sitoplazmalarında lipofüscin granülleri görülüyor. Nöronlar daha az bazofilik ve RNA içerikleri daha az. Toluidin mavisi X100.

verileri ile uyum göstermektedir. Lipe ve ark.(22) 30 gün süre ile 10 ve 20mg Mn/kg/gün Mn uyguladıkları 30 ve 90 günlük ratlardan yalnızca 90 günlüklerde doza bağımlı olarak ağırlık artışında azalma saptamışlardır. Erişkin ratların manganezi absorbe etme yetilerinin daha etkin olduğunu, manganezin absorpsiyon ve ekskresyon dengesinin daha iyi ve organizmanın ihtiyacı doğrultusunda geliştiğini bildirmişlerdir. Genç (30) günlük ratlarda bu metabolik gelişimin henüz iyi gelişmemiş olduğunu bu nedenle de muhtemelen ekskresyon hızının erişkinlerden fazla olabileceğini bildirmişlerdir. Eder ve arkadaşları (23) çalışmalarında 0.1 mg/kg (düşük doz) Mn içeren diyetle besledikleri ikinci jenerasyon sıçanlarda ağırlık artışının kontrollere göre daha az olduğunu, 0.5 mg/kg (yüksek doz) Mn içeren diyetle beslenen sıçanların ağırlık artışlarında herhangi bir farklılık olmadığını saptamışlardır. Araştırmacılar düşük Mn içeren diyetin büyümeyi engelleyebileceğini buna karşılık kendi uyguladıkları 0.5 mg/kg lık diyetin büyümeyi deprese etmediğini göstermişlerdir. Olayın mekanizmasını tiroid hormon aktivitesi ile açıklamışlar, düşük dozda (0.1mg/kg) Mn içerikli diyetin T₄'ün aktif T₃'e dönüşümünde önemli role sahip karaciğer tipi I 5' deiyodinaz (5'D-I) enzim aktivitesini arttırdığını bu nedenle ağırlık azalması olduğunu, buna karşılık 0.5mg/kg Mn içerikli diyetin aynı enzim aktivitesini normal düzeyde tuttuğunu bu nedenle ağırlık artışı olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda her iki grubun (Grup I ve grup II) ağırlık artışının farklı olmaması

**Şekil 2b.** Deney grubu sıçanların nöroplazmalarında lipofüscin birikimi görülüyor. Hematoksilen-eosin X100.

kan Mn düzeyinin tiroid hormon aktivitesini değiştirmedini telkin etmektedir.

Plazma, eritrosit ve beyin dokusu Mn düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($P<0.001$) yüksek bulundu (Tablo 1). Bu sonuçlarımız da literatür verileri ile uyum göstermektedir. Her üç kompartman da manganezin birikime uğradığı bildirilen yapılardır. Literatürde Mn'in dokularda birikiminin doza bağımlı olduğu bildirilmektedir. Gianutsos ve arkadaşları (24) nazal yoldan $MnCl_2$ uygulaması sonucu beyin dokusunda Mn'in zamana ve doza bağlı olarak arttığını göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar nazal uygulama ile beyindeki Mn konsantrasyonu arttığı halde kan Mn düzeyini düşük bulmuşlardır. Ancak Gianutsos ve arkadaşları (7) sistemik Mn enjeksiyonunda manganezin hem kan ve hem de beyin düzeylerinde artış saptamışlardır. Araştırmacılar beyinde Mn dağılımı için henüz bilinmeyen lokalize bir transport mekanizmasının bulunabileceği olasılığını düşünmektedirler. Benzer şekilde Gallez ve arkadaşları (25) sistemik Mn enjeksiyonundan sonra beyin ve serebellumda manganezin konsantrasyonunun arttığını göstermişler, ancak fare beyninde birikimin yavaş olduğunu gözlemişlerdir. Ashner ve ark. (17) insanda manganezin kanda esas olarak transferrin ile konjuge olabileceğini ve kan beyin bariyerini transferrin aracılığıyla reseptöre bağımlı endositoz mekanizması ile geçebileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar manganezin öncelikle bazal gangliyonlarda, globii pallidi ve substantia nigra'da birikime uğradığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda beyin bölümleri ayırılmadan deney grubunda beyin dokusu manganezin düzeyleri anlamlı derecede yüksek saptandı. Bu bulgu histolojik olarak da gösterildi. Ancak bu düzeyde yüksek manganezin beyin fonksiyonlarında oluşturacağını beklediğimiz bozuklukları gözlememiz mümkün olmadı. Deneklerin enjeksiyonun ilk günlerinden itibaren motor aktivitelerinde yavaşlama gözlemlendiği halde literatürde tanımlanan Parkinson benzeri bir tablo oluşmadı. Gallez ve Misselwitz uzun süreli toksisitenin oluşumunda serbest Manganezin önemli olduğunu bildirmişlerdir (25,26). Çünkü manganezin bileşiklerdeki kalsiyum magnezyum ve çinko gibi iki değerlikli katyonlarla yer değiştirebilir (25) veya serbest metallerle çelatlar oluşturabilir. Bu hali ile de daha az toksiktir. Çalışmamızda

Manganezin, içerdiği mitokondrial MnSOD'u nedeniyle en fazla eritrosit tarafından tutulmuştur. Bu tutulum, diğer taraftan, uygulanan manganezin toksik etkilerine ve oluşabilecek serbest oksijen radikallerine karşı antioksidan savunmayı sağlamak amacıyla yönelik olabilir. Malecki ve Greger oksidatif hasarın manganezin eksikliği olan sıçanlarda kontrollere göre daha fazla oluştuğunu göstermişlerdir (27).

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde çalışmamızda incelenen beyin bölümlerinde (Korteks ve Serebellum) deney grubunda kontrollere göre anlamlı değişiklik saptanmadı. Kumar ve arkadaşları (28) çalışmalarında Mn verilen deneklerde beyin MDA düzeylerinin düşük olduğunu saptamışlar ve Mn'nin düşük oksidasyon konumunda güçlü bir oksijen radikali temizleyicisi olması nedeniyle lipid peroksidasyonun engellenmiş olabileceğini bildirmişlerdir. Bu sonuç bizim çalışma sonuçlarımızla uygunluk göstermektedir. Mn'in oluşturacağını beklediğimiz toksik etkileri gözleyememiz muhtemelen büyük oranda oksidatif hasar olmaması nedeniyledir. Çalışmada nöronal hücre hasarı ileri derecede değildir. Yer yer oluşan nöronal kayıplar fonksiyon bozukluğuna neden olmayacak düzeylerde olmalıdır. Nitekim beyin dokusunun histolojik incelemesinde deney grubunda (Şekil 2,3) piramidal nöronlarda lizozomal aktivitenin ürünü olan lipofüsin granülleri gözlemlendi. Lipofüsin, polimerize ve okside olmuş yağ asitleridir. Fosfolipidler, protein, trigliseridler, nükleik asitler ve bir miktar demir ve lizozomal enzim içerir (29). Lipofüsin serbest radikallerin neden olduğu nöronal lipid peroksidasyonun morfolojik göstergesidir (30). Çalışmamızda düşük düzeylerdeki oksidatif hasarın ve buna bağlı olarak az sayıda nöron kaybının da göstergesidir. Çalışmada lipofüsin içeren nöronların daha az bazofilik boyandığı ve RNA ile spesifik organellerini kaybettiği gözlemlendi. Kumar ve arkadaşları 30 gün süre ile ve 4mg/kg/gün Mn uyguladıkları ratlarda farklı beyin bölgelerinde kolesterol düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Kolesterol artışının özellikle fosfolipidlerin membranın akışkanlığını değiştirebileceğini bu nedenle de membrana bağlı enzimlerin aktivitelerini kaybedebileceğini, iyon permeabilitesinin, nörotransmitter ve reseptör düzeyinin değişebileceğini böylece de nöronal membran fonksiyonlarının değişebileceğini bildirmişlerdir

(28). Bizim çalışma sonuçlarımız söz konusu nöronal değişikliklerin sınırlı sayıda kaldığını ve yaygın olmadığını telkin etmektedir. Bu nedenle de beklediğimiz nörotoksitesiteyi göremedik.

Sonuç olarak, manganez yüksek konsantrasyonda merkezi sinir sisteminde birikerek nöronal fonksiyon bozukluklar oluşturabilmesine karşı organizmanın da savunma mekanizmalarına sahip olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda yüksek dozda uygulanan manganez yer yer nöronal oksidatif hasara neden olmuş olabilir ancak beklediğimiz toksik etkiler, vücut tarafından aktive edilen savunma mekanizmaları tarafından engelleniyor olmalıdır. Bu savunma mekanizmaları manganezin bağırsaktan absorpsiyonun azaltılması ve/veya karaciğerden atılımının hızlandırılması yollarından biri veya her ikisi birlikte olabilir. Aynı zamanda manganezin düşük oksidatif durumlarda serbest oksijen radikali temizleyicisi olması gibi nedenlerle beklediğimiz toksik etkileri gözleyememiş olmamız doğaldır. Siera ve arkadaşları Mn_3O_4 ile vahşi kuşlarda yaptıkları çalışmalarında farklı organlarda Mn birikimini saptadıkları halde önemli düzeyde toksik etki gözlememişlerdir (31).

Mangan toksisitesinin daha uzun süreli maruziyet sonucunda ve karaciğer fonksiyonlarının bozukluğunda oluşabileceği kanısına varılmıştır. Hatta karaciğer fonksiyon bozukluğu özellikle safra yolları hastalıkları söz konusu ise normal diyetteki manganezin de toksik olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Calne DB, DM, Chu, NS, MD, Huang, CC MD, Lu, CS MD, and Olanow W. MD. Manganism and idiopathic Parkinsonism: Similarities and differences. *Neurology* 1994; 44: 1583-6.
2. Huang CC, Chu NS, Lu CS, Wang JD, Tsai JL, Tzeng JL, Wolters EC, Calne DB. Chronic Manganese intoxication. *Arch. Neurol.* 1989; 46: 1104-6.
3. Tirkkonen B, Aukrust A, Couture E, Grace D, Haile Y, Holm KM, Hope H, Larsen A, Lunde HS, Sjogren CE. Physicochemical characterisation of mangafodipir trisodium. *Acta Radiol. (Denmark)* 1997; 38: (4 Pt 2) 780-9.
4. Gallez B, Baudalet C, Adline J, Geurts M. and Delzenne N. Accumulation of manganese in the brain of mice after intravenous injection of manganese-based contrast agents. *Chem Res.Toxicol* 1997; 10: 360-3.
5. Lenter C. Composition of the body. In Geigy Scientific tables I Ed. Ciba - Geigy Limited, Basle 1981:22.
6. Golub MS, Han B, Keen C L, and Gershwin M E. Effects of dietary aluminium excess and manganese deficiency on neurobehavioral end points in adult mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1992 ;112: 154-60.
7. Gianutsos GS, Saymeth R, Wu ML And Michel RG. Brain manganese accumulation following systemic administration of different forms. *Arch Toxicol* 1985; 57: 272-5.
8. Donaldson JMG, and La Bella FS. Manganese neurotoxicity; a model for free radical mediated neurodegeneration. *Can J Physiol Pharmacol* 1982;60:1398 405.
9. Chua ACG, and Morgan EH. Effects of iron deficiency and iron overload on manganese uptake and deposition in the brain and other organs of the rat. *Biological Trace Elem. Res.* 1996; 55: 39-55.
10. Pennington JAT, Young BE, Wilson DB. Nutritional elements in U.S diets, Results for the total diet study, 1982 to 1986. *J Am. Dieted Assoc.* 1989; 89: 659-64.
11. Pennington JAT, Young, BE. Total diet study nutritional elements 1982-1989. *J. Am Dieted Assoc.* 1991; 91: 179-83.
12. Kondakis XG, Makris N, Leosindis M, Prinous M, Papapetropoulos T. Possible health effects of high manganese concentration in drinking water. *Arch Environ Health* 1989; 44: 175-8.
13. Vieregge P, Heinzow B, Korf G, Teichert HM, Scheifenbaum P, Mösinger HU. Long term exposure to manganese in rural well water has no neurological effects. *Can. J Neurol Sci* 1995; 22: 286-9.
14. Davis CD, Zech L, Greger JL. Manganese metabolism in rats: An improved methodology for assessing gut endogenous losses. *Proc Soc. Expl. Biol. Med.* 1993; 202: 103-8.
15. Malecki EA, Radzanowski GM, Radzanowski TJ, Gallaher DD, Greger JL. Biliary manganese secretion in conscious rats reflects acute and chronic manganese but not fat intake. *J Nutr* 1996; 126: 189-98.
16. Keen CL, Zidenberg CS, Lönnerdal B.in Mertz W, Abernathy CO. Olin SS eds, Nutritional and toxicological aspects of manganese intake: An overview in; Risk assessment of essential elements, Washington,D.C.ILSI Press.1994;221-35.
17. Ashner M, and Ashner JL. Manganese neurotoxicity: cellular effects and blood-brain barrier transport. *Nerosci Behav Rev* 1991; 15: 333-40.
18. Barbeau A. Manganese and extrapyramidal disorders. *Neurotoxicology* 1984; 5: 13-36.
19. Zheng W, Ren S, Graziano JH. Manganese inhibits mitochondrial aconitase: a mechanism of manganese neurotoxicity. *Brain Res.(Netherlands)* 1998;799: (2) 334-42.
20. Halls DJ. And Fell GS. Determination of manganese in serum and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 1981; 129: 205-11.
21. Mitsuru U, and Midori M. Determination of Malonaldehyde precursor in tissues by Thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry* 1978; 86: 271-8.

22. Lipe GW, Duhart H, Newport GD, Slikker WJr, Ali SF. Effect of manganese on the concentration of amino acids in different regions of the rat brain. *J Environ Sci Health B* 1999; 34:(1) 119-32.
23. Eder K, Kralik A, and Kirchgessner M. The effect of manganese supply on thyroid hormone metabolism in the offspring of manganese depleted dams. *Biological Trace Element Research* 1996; 55: 137-45.
24. Gianutsos G, Gale RM, and Morris JB. Accumulation of manganese in rat brain following intranasal administration. *Fundamental and Applied Toxicology* 1997; 37: 102-5.
25. Gallez B, Bacic G, and Swartz HM. Evidence for the dissociation of the hepatobiliary MRI contrast agent Mn-DPDP. *Magn Reson Med* 1996; 35: 14-19.
26. Missel WB, Munler A, and Weinmann HJ. A toxicologic risk for using manganese complexes A literature survey of existing data through several medical specialities. *Invest. Radiol.* 1995; 30: 611-20.
27. Malecki EA, Greger JL. Manganese protect against heart mitochondrial lipid peroxidation in rats fed high concentrations of dietary polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr.* 1996; 125: 27-3.
28. Kumar R, Sanjay S, Ashok KA, and Prahlad KS. Alteration in some membrane properties in rat brain following exposure to manganese. *Pharmacology and Toxicology* 1996; 79: 47-8.
29. Constantinides P, Harkey M, and Lawy McD. Prevention of lipofuscin development in neurons by antioxidants. *Virchows Arch. (Pat. Anat)* 1996;409: 583-93.
30. Akira M, Nobumitsu M, Iwao O, Norifumi Y, Nobutata T. Effect of dietary vitamin E on lipofuscin accumulation with age in the rat brain. *Brain Research* 1994; 634: 62-8.
31. Sierra P, Chakrabarti S, Tounkara R, Loranger S, Kenedy G, Zayed J. Bioaccumulation of manganese and its toxicity in feral pigeons (*Columba livia*) exposed to manganese oxide dust (Mn_3O_4). *Environ Res.* 1998; 79: (2) 94-101.