

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**



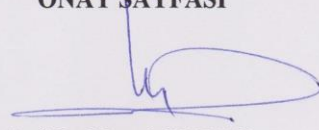
**DENEYSEL FORMALDEHİT UYGULANAN
SIÇAN BÖBREK VE KARACİĞER
DOKULARINDA KARNOZİNİN APOPTOZİS,
TRPM2 İYON KANALLARI VE BETATROFİN
HORMONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

RAMAZAN FAZIL AKKOÇ

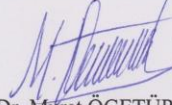
2018

ONAY SAYFASI



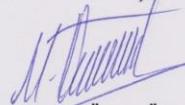
Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK
Anatomi Anabilim Dalı Başkanı

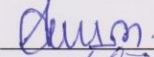
Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK
Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

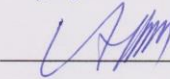
Prof.Dr. E. Savaş HATİPOĞLU



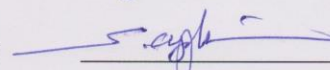
Prof.Dr. Murat ÖGETÜRK



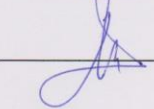
Prof.Dr. Ahmet KAVAKLI



Prof.Dr. Süleyman AYDIN



Doç. Dr. Evren KÖSE





ETİK BEYAN



Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Ramazan Fazıl AKKOÇ

Orcid ID: 0000-0002-0559-8932

Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK

Danışman

Anatomi Anabilim Dalı

ELAZIĞ

Sevgili Aileme...



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde, mesleki olarak yetişmemi sağlayan, tezimin planlanması ve uygulanması aşamalarında fikir verip yönlendiren ve desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız ve Danışman hocam Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK'e sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca her zaman desteklerini gördüğüm, deneyimlerinden ve tavsiyelerinden faydalandığım hocalarım, Prof. Dr. A. Oya SAĞIROĞLU'na, Prof. Dr. Ahmet KAVAKLI'ya, Prof. Dr. Mustafa KAPLAN'a, Prof. Dr. Süleyman AYDIN'a ve Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na;

Anatomi ailesinin değerli üyeleri olan, Osman ŞAP'a, Elif EMRE'ye, Derya ÖZTÜRK'e, Abdullah ÖZCAN'a, Mihriban BAKIR'a, Bekir DAĞDEVİREN'e, Nurseda BAŞGÜN'e ve tabiki Salim BEKLER'e;

Yaşamım boyunca her zaman beni destekleyen anneme, babama ve kardeşime;

Yaşama sevincim biricik kızım Nil'e ve her zaman yanımda olan sevgili eşim İnci Nur'a;

Sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ramazan Fazıl AKKOÇ

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ.....	5
3.1. Formaldehit.....	5
3.1.1. Formaldehitin Özellikleri.....	5
3.1.2. Formaldehitin Kullanım Alanları.....	6
3.1.3. Formaldehitin Zararlı Etkileri	7
3.1.3.1. Formaldehitin Böbrekler Üzerine Etkileri	8
3.1.3.2. Formaldehitin Karaciğer Üzerine Etkileri.....	9
3.2. Böbrekler	10
3.2.1. Böbreklerin Embriyolojisi	10
3.2.2. Böbreklerin Histolojisi.....	11
3.2.3. Böbreklerin Anatomisi.....	12
3.2.3.1. Böbreğin Arteriyel ve Venöz Dolaşımı	15
3.2.3.2. Böbreğin Lenfatikleri.....	17

3.2.3.3. Böbreklerin Sinirleri	17
3.3. Karaciğer	18
3.3.1. Karaciğerin Embriyolojisi.....	18
3.3.2. Karaciğerin Histolojisi	18
3.3.3. Karaciğerin Anatomisi	19
3.3.3.1. Karaciğerin Damarları.....	24
3.3.3.2. Karaciğerin Lenfatikleri	25
3.3.3.3. Karaciğerin Sinirleri.....	25
3.4. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) Kanalları	26
3.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	26
3.6. Antioksidanlar	27
3.6.1. Karnozin.....	28
3.7. Betatrofin	30
4. GEREÇ VE YÖNTEM	33
4.1. Deney Hayvanları	33
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	33
4.3. Deney Prosedürü.....	34
4.4. Doku Homojenantlarının Hazırlanması	37
4.5. Biyokimyasal Analizler	37
4.5.1. Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri	37
4.5.1.1. TAS Ölçümü	37
4.5.1.2. TOS Ölçümü	38
4.5.2. Betatrofin Düzeylerinin Ölçümü	38
4.6. İmmünohistokimya	38

4.6.1. TUNEL Metodu	40
4.7. İstatistiksel analiz	41
5. BULGULAR	42
5.1. Formaldehit Ölçümleri	42
5.2. Klinik Bulgular	42
5.3. Biyokimyasal Bulgular	43
5.3.1. Kanlarda TAS ve TOS Düzeyleri	44
5.3.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularında TAS ve TOS Düzeyleri	45
5.3.3. Kan Betatrofin Düzeyleri	45
5.3.4. Karaciğer ve Böbrek Dokularında Betatrofin Düzeyleri	46
5.4. İmmünohistokimyasal Bulgular	46
5.4.1. Betatrofin İmmünreaktivitesi	46
5.4.1.1. Böbrek Dokusu	46
5.4.1.2. Karaciğer Dokusu	49
5.4.2. TRPM2 İmmünreaktivitesi	52
5.4.2.1. Böbrek Dokusu	52
5.4.2.2. Karaciğer Dokusu	55
5.4.3. TUNEL Bulguları	57
5.4.3.1. Böbrek Dokusu	57
5.4.3.2. Karaciğer Dokusu	60
6. TARTIŞMA	64
7. KAYNAKLAR	71
8. ÖZGEÇMİŞ	80

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Sıçan yeminin içeriği	36
Tablo 2. TUNEL Boyama Prosedürü.	41
Tablo 3. Sıçanların biyokimyasal parametrelerinin değişimi.	44
Tablo 4. Kan TAS ve TOS düzeyleri.	44
Tablo 5. Böbrek ve karaciğer dokularında TAS ve TOS düzeyleri.	45
Tablo 6. Kan betatrofin düzeyleri.....	46
Tablo 7. Karaciğer ve böbrek dokusu betatrofin düzeyleri.	46
Tablo 8. Betatrofin histoskor.	52
Tablo 9. TRPM2 histoskor.	57
Tablo 10. Apoptotik indeks (%).	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Gümüş katalizörlüğünde metanolden FA eldesi.....	5
Şekil 2. Sağ böbreğin gross anatomik görünümü. A) Önden görünümü. B) Arkadan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).	13
Şekil 3. Sağ böbreğin median longitudinal kesitte arkadan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).....	15
Şekil 4. Karaciğerin gross anatomik görünümü. A) Facies diaphragmatica'nın önden görünümü B) Facies visceralis'in alttan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).....	21
Şekil 5. Karnozin	29
Şekil 6. Cam fanus	34
Şekil 7. Formaldehit ölçümlerinden temsili görsel sonuç.....	42
Şekil 8. Sıçanların tüylerinde renk değişimi.	43
Şekil 9. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).	47
Şekil 10. Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).....	48
Şekil 11. FA grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).	48
Şekil 12. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).....	49
Şekil 13. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).	50
Şekil 14. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).	50
Şekil 15. FA grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).	51

Şekil 16. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).....	51
Şekil 17. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).	53
Şekil 18. Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).....	53
Şekil 19. FA grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).	54
Şekil 20. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).....	54
Şekil 21. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).	55
Şekil 22. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).	56
Şekil 23. FA grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).	56
Şekil 24. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).....	57
Şekil 25. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).....	58
Şekil 26. Karnozin grubuna ait böbrek dokus unda TUNEL pozitifliği (→).	59
Şekil 27. FA grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).	59
Şekil 28. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).	60
Şekil 29. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).....	61
Şekil 30. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).....	61
Şekil 31. FA grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).	62
Şekil 32. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).	62

KISALTMALAR LİSTESİ

FA	: Formaldehit
PPM	: Parts per million
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
A.	: Arteria
Aa.	: Arteriae
V.	: Vena
TRPM2	: Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
CAT	: Katalaz
GSH	: Glutasyon
LPL	: Lipoprotein lipaz
OSHA	: Occupational Safety and Health Administration
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
HDL-K	: Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol
LDL-K	: Düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol
TAS	: Toplam Antioksidan Seviye
TOS	: Toplam Oksidan Seviye

1. ÖZET

Formaldehit (FA) dokularda oksidatif strese neden olmakta ve enerji metabolizmasını da bozmaktadır. Çalışmamızda FA'nın böbrek ve karaciğer üzerine bilinen zararlı etkilerinin oksidatif stres ile aktifleşebilen hücre zarı iyon kanallarından transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanallarındaki aktivasyon artışına bağlı olabileceği öngörülmüştür. Aynı şekilde enerji metabolizmasını bozduğu bilinen FA ile lipid metabolizması düzenleyicisi olan betatrofin arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca FA'nın karaciğerde oluşturduğu hasara karşı bir antioksidan olan karnozinin bilinen yararlı etkisinin, böbrekler içinde geçerli olup olmadığının ve karnozinin her iki dokudaki olası iyileştirici etkisinin de TRPM2 kanalları ve betatrofin ile ilişkisinin açığa çıkarılması amaçlandı.

Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 260 gram olan 8-10 haftalık 28 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Kan, böbrek ve karaciğer doku süpernatantlarındaki betatrofin seviyeleri ELISA yöntemi ile tayin edilirken total oksidan seviyesi (TOS) ve total antioksidan seviyesi (TAS) REL yöntemi ile analiz edildi. Böbrek ve karaciğer dokularında betatrofin ve TRPM2 immünreaktivitelerinin belirlenmesi immünohistokimyasal yöntemle çalışıldı. Ayrıca apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL metodu uygulandı.

FA maruziyeti böbrek ve karaciğer dokularında ciddi hasarlara yol açtı. Bunun yanında, FA maruziyeti böbrek ve karaciğer dokuları ile kanlarda betatrofin konsantrasyonlarının düşmesine, TOS seviyelerinin yükselmesine, TAS seviyelerinin düşmesine, TUNEL pozitifliğinin artmasına sebep olurken, TRPM2

kanallarını da aktifleştirdi. Karnozin suplementasyonu ise FA'nın neden olduğu histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikleri büyük oranda düzeltti.

Sonuc olarak, FA maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı tedavi olarak verilen karnozin oksidatif stresi baskılayarak bu hasarın tamamına yakınını ortadan kaldırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, Böbrek, Karaciğer, TRPM2 Kanalları, Betatrofin, Karnozin.

2. ABSTRACT

Effects of Carnosine on Apoptosis, TRPM2 Ion Channels, and Betatrophin Hormone in Kidney and Liver Tissues of Rats Experimentally Exposed to Formaldehyde

Formaldehyde (FA) causes oxidative stress in the tissues and deteriorates the energy metabolism. We assumed in our study that the known adverse effects of FA on kidneys and liver might be related to the increase of the activation in the transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channels, which could be activated with the oxidative stress from the ion channels in the cellular membranes. Likewise, we suggested that there could be a correlation between the FA, which could deteriorate the energy metabolism, and the betatrophin, a lipid metabolism regulator. Moreover, we aimed to demonstrate whether the known beneficial effect of carnosine (an antioxidant agent) on the liver damage caused by FA is also acceptable for kidneys and the correlation of the TRPM2 channels and betatrophin with the possible healing effect of the carnosine in both tissues.

In our study, we used 28 male rats (Sprague Dawley) between weeks 8 and 10 and with an average weight of 260 grams. The betatrophin levels in the blood, kidney and liver tissue supernatants were analyzed with ELISA method, and the total oxidant levels (TOL) and total antioxidant levels (TAL) were analyzed with the Rel Assay. The betatrophin and TRPM2 immunoreactivity in the renal and hepatic tissues was determined with the immunohistochemical method. In addition, we used TUNEL method for the determination of the apoptotic cells.

FA exposure caused severe damage to the renal and hepatic tissues. In addition, while FA exposure decreased the betatrophin concentrations in the renal and hepatic tissues and blood, increased the TO levels, decreased the TA levels and increased the TUNEL positivity, it also activated the TRPM2 channels. Carnosine supplementation improved significantly the histopathological and biochemical changes caused by FA.

In conclusion, carnosine, which was administered for the treatment of the oxidative damage caused by the FA exposure, suppressed the oxidative stress and thus improved this damage almost completely.

Keywords: Formaldehyde, Kidney, Liver, TRPM2 Channels, Betatrophin, Carnosine.

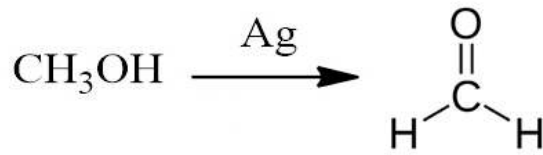
3. GİRİŞ

3.1. Formaldehit

3.1.1. Formaldehitin Özellikleri

Kimyasal formülü CH_2O olan Formaldehit (FA), bütün memelilerde görülen normal bir metabolittir. Memelilerde pürinler, timidin ve bazı aminoasitlerin biyosentezi için gereklidir. Aldehit ailesinin bir üyesi olan FA, renksiz, keskin kokulu ve suda iyi çözünür (1, 2). Molekül ağırlığı 30 olan FA'nın erime noktası $-92\text{ }^\circ\text{C}$ ve kaynama noktası ise $-21\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. Bu özelliklerinden dolayı oda sıcaklığında kolayca gaz haline geçebilir (2).

FA'nın saf olmayan formu, Alman kimyager August Wilhem von Hofmann tarafından 1867 yılında bulunmuştur. FA'nın saf formu ise bir başka Alman kimyager Friedrich August Kekulé von Stradonitz tarafından 1892 yılında izole edilmiştir. FA; $400\text{-}650\text{ }^\circ\text{C}$ 'de, bakır, gümüş veya molibden alaşımı gibi bir katalizör aracılığı ile metanolün oksidasyonundan elde edilir (3) (Şekil 1).



Şekil 1. Gümüş katalizörlüğünde metanolden FA eldesi.

FA'nın %37'lik sulu çözeltisine formalin adı verilirken, polimerize olmuş katı formuna ise paraformaldehit adı verilir. Oldukça reaktif bir madde olduğundan dolayı her ortamda gaz haline geçebilir. FA'nın gaz hali ppm (parts per million), sıvı hali mililitre (ml) olarak belirtilir (4-6).

FA; sindirim ve solunum yoluyla vücuda alınır. FA'nın solunum yolu ile vücuda girişı, sigara dumanı, egzoz gazı ve buharlaşan formalin ile olurken; içme suyu, şeker, meyve ve sebzeler ve gıdalarda bulunan katkı maddeleri ise, FA'nın sindirim yoluyla vücuda girişini sağlar (7-9). Vücuda alınan FA eritrositlerde ve karaciğerde FA dehidrogenaz enzimi tarafından formik asite metabolize olur. FA vücutta depo edilmez ve iki yolla atılır. Solunum yoluyla karbondioksite veya idrar ve feçes yoluyla formik asite dönüşerek atılır (10).

3.1.2. Formaldehitin Kullanım Alanları

Formalin (FA'nın sulu çözeltisi) 1886 yılında ilk kez Loew ve Fisher tarafından antimikrobiyal ajan olarak kullanmıştır (11). FA'nın endüstriyel alanda kullanımı, Almanya'da 1910 yılında bakalit yapımında kullanılmasıyla başlamıştır (2).

Günümüzde FA endüstrinin pek çok alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Plastik ve boya sanayi, yapı yalıtım malzemeleri, kontrplak, reçine, tekstil, deri ürünleri, mobilya imalatında kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetik ürünleri ve ev temizlik maddeleri üretiminde de kullanılmaktadır (1, 12). Tıp alanında FA kullanımı daha çok laboratuvarlarda görülmektedir. Anatomiye kadavra tahniti ve organların tespitinde yaygın şekilde kullanılırken, kadvraların ve organların uzun süre muhafaza edilmesi FA havuzları aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Ayrıca histoloji ve patoloji laboratuvarlarında doku tespitinde, diş hekimliğinde kullanılan kaplamalarda ve koruyucu madde olarak muhtelif ilaçlarda kullanılır (12, 13).

3.1.3. Formaldehitin Zararlı Etkileri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kanserojen olarak sınıflandırılan FA vücuda solunum ve sindirim yoluyla alınır (14). Yapılan araştırmalarda işi gereği FA'ya maruz kalan anatomistler, patologlar, tahnit işi ile uğraşanlar ve endüstrinin çeşitli alanlarında çalışanların normal popülasyona göre kan, beyin ve kolon kanserlerinden ölüm oranlarının daha fazla olduğu saptanmıştır (15). Yapılan deneysel çalışmalarda FA'nın, sinir sistemi, solunum sistemi, üreme sistemi ve sindirim sistemi gibi pek çok sistem üzerinde zararlı etkileri olduğu bildirilmiştir (15, 16).

FA maruziyetinden ilk ve en çok etkilenen organlar göz ve solunum sistemidir. FA maruziyeti gözde; sulanma, kızarıklık, yanma hissi, ağrı ve bulanık görmeye sebep olur. FA'nın 0.24 ppm gibi düşük konsantrasyonları dahi gözde irritasyon oluşturabilir (17, 18). FA maruziyeti sonucu sıçanların akciğerlerinde inflamasyon geliştiği ve mast hücrelerinin degranulasyona uğradığı gösterilmiştir (19, 20).

Solunum sisteminde düşük doz FA maruziyeti sonucu; solunum yollarında yanma hissi, öksürük, hırıltılı solunum gibi semptomlara yol açtığı bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda (5-30 ppm) ise nefes darlığı, inflamasyon, pulmoner ödem ve pnömoni gibi daha ağır belirtiler meydana gelebilir (1, 21).

FA her iki cinsten de germ hücrelerine zarar vererek primer ve sekonder infertiliteye sebep olduğu, menstruel siklusu bozduğu ve teratojenik potansiyelinden dolayı embriyonal gelişimi tehdit ettiği bildirilmiştir. İş gereği FA'ya maruz kalan hamile kadınlarda, spontan abortus görüldüğü ve doğan bebeklerin ise düşük doğum ağırlıklı oldukları bildirilmiştir (22, 23). Benzer şekilde

FA'nın bulunduğu ortamlarda çalışanlarda baş ağrısı, halsizlik, susuzluk hissi, uyku ve denge bozukluğu, hafıza ve ruhsal durum bozuklukları bildirilmiştir (24, 25).

FA maruziyetinin; beyin hücrelerinde gelişim geriliğine sebep olduğu, hücre sayısı ve hacimlerini azalttığı, apoptozise neden olarak nöronal hasar oluşturduğu deneysel olarak yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir (26, 27). Ratlar üzerine yapılan bir çalışmada FA'nın beyin korteks nöronlarında enerji metabolizmasını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (28).

Formaldehit, gıdaların sterilizasyonunda ve ambalajlarında kullanıldığından dolayı oral yolla da alınabilmektedir. Bu tarz maruziyet sonucu gastrointestinal irritasyona sebep olur ve histopatolojik olarak gastrit gelişir. FA hızla formik aside metabolize olduğu için üst gastrointestinal sistemde ciddi lokal korozif etki meydana getirir ve bulantı, ishal, ülserasyon, nekroz ve kanama meydana gelir. Devamında dolaşım kollapsı, metabolik asidoz, hematüri, anüri, böbrek hasarı gelişir ve ölüme kadar gidebilir (21, 29).

3.1.3.1. Formaldehitin Böbrekler Üzerine Etkileri

Deneysel olarak FA'ya maruz kalan sıçan böbreklerinde; mononükleer hücre infiltrasyonu, glomerulusun parietal yaprağında epitel hasarı, tubul hücrelerinde ve Henle kulpunda hipertrofik hücreler, böbrek tubullerinde membran hasarı, piknotik nükleuslar ile tubullerde bütünlük kaybı gösterilmiştir (30).

FA uygulanan sıçan böbrek dokusunda glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve hekzokinaz enzim aktivitelerinin azaldığı; laktat dehidrogenaz (LDH), 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD), malat dehidrogenaz (MDH) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin ise arttığı tespit edilmiştir (30, 31). Ayrıca glutatyon

peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismütaz (SOD) enzim aktivitelerinin anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir. Bu bulgu FA'nın böbreklerde, antioksidan savunma sistemine zarar vererek oksidatif hasar oluşturduğunu göstermiştir. Oksidatif hasarın tespitinde kullanılan başka bir parametre olan malondialdehit (MDA) seviyesinin önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. MDA seviyelerindeki artış FA'nın böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna neden olduğu; böylece, oksidatif hasar meydana geldiği bildirilmiştir (32-34).

Bazı üriner sistem hastalıklarında böbrekte mast hücre sayısının arttığı görülmüştür (35, 36). Sıçanlarda intraperitoneal formaldehit maruziyetinde böbrek dokusundaki mast hücrelerinin degranulasyona uğradığı ve sayıca arttığı bildirilmiştir (37).

Diş hekimliğinde saprodoni tedavisinde kullanılan FA dozunun sıçanlara verildiği deneysel çalışmada, böbrek fonksiyonunun belirleyici göstergeleri olan üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı da gösterilmiştir (38).

İntihar girişiminde bulunmak için 150 ml sıvı formalin alan bir hastada akut böbrek yetmezliğinin geliştiği rapor bildirilmiştir (39). Alkolik hastalarda yapılan diğer bir çalışmada ise, FA ve formik aside metabolize olan metanolün böbrek dokusunda nekroza neden olduğu ve böylelikle böbrek yetmezliği geliştiği rapor edilmiştir (40).

3.1.3.2. Formaldehitin Karaciğer Üzerine Etkileri

FA'ya maruz bırakılan fare embriyolarının karaciğerlerinde kromozom kırılmaları ve poliploidler meydana geldiği bildirilmiştir (22). İngiltere'de FA'ya maruz kalan işçilerde karaciğer kanserlerinde artış olduğu rapor edilmiştir (41).

FA uygulanan sıçan karaciğerinin ışık mikroskop altında incelenmesi sonucunda; portal alan ve vena centralis çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu, hepatositlerin bir kısmının sitoplazmalarında vakuolizasyon, bir kısmının ise hiperkromatik çekirdekli oldukları gösterilmiştir. PAS ile yapılan boyamada portal alan çevresindeki hepatositlerin PAS negatif olduğu, yani glikojenin olmadığı rapor edilmiştir. Dolayısı ile FA'nın karaciğerde hasar oluşturduğu ve strese maruz kalan dokuda ilk glikojenin yıkıldığı bildirilmiştir (42). Yapılan farklı bir çalışmada ise FA'nın karaciğerde sentrilobüler vakuolizasyona ve lokal hücre sel nekroza neden olduğu da gösterilmiştir (43).

3.2. Böbrekler

3.2.1. Böbreklerin Embriyolojisi

İnsanlarda intrauterin yaşam boyunca üç böbrek sistemi oluşur. İnsan embriyosunda ilk oluşan böbrek sistemi olan pronefro lar dördüncü haftanın başında oluşurlar. Pronefro ların fonksiyonel özelliği yoktur ve rudimenterdirler. İkinci oluşan böbrek sistemi olan mezonefro lar, dördüncü haftanın sonuna doğru ortaya çıkarlar. Mezonefro lar ilk oluşan pronefro lara göre daha iyi gelişmişlerdir ve dört hafta boyunca yani kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar fonksiyon görürler. Üçüncü olarak oluşan böbrek sistemi olan metanefro lar ise, beşinci haftanın başında gelişmeye başlarlar ve dört hafta sonra işlevsel hale gelirler. Metanefro lar kalıcı böbreklerdir (44, 45).

3.2.2. Böbreklerin Histolojisi

Böbrek ince, ancak kollajen fibrillerden zengin sağlam bir fibröz kapsül ile sarılmıştır. Kapsülde az miktarda elastin fibril de vardır. Yaşla beraber kapsülün kalınlığı ile elastik fibrillerin miktarı artar (46, 47).

Nefronlar böbreklerde idrarı oluşturan en küçük birimlerdir. Böbrek, sayısı 1-4 milyon arasında değişen nefrondan meydana gelir. Her bir nefron, proksimal kıvrımlı tubulus, Henle kanalının inen ve çıkan uzantıları ile distal kıvrımlı tubulustan meydana gelir. Toplayıcı tubuluslar ve kanallar, nefronda oluşan idrarı biraraya getirerek böbrek pelvisine aktarırlar. Nefron ve toplayıcı kanal böbreğin fonksiyonel birimi olan üriner tubulusu meydana getirir (46, 47).

Kapiller yumak olan glomerül, Bowman kapsülü olarak isimlendirilen iki tabakalı epitel bir kapsülle örtülmüştür. Kapsülün visseral tabakası glomerülün kapillerini sarar. Dış tabaka renal cisimciğin en dıştaki sınırını meydana getirir ve Bowman kapsülünün parietal tabakasının adını alır. Bowman kapsülünün tabakaları arasında, kapiller duvardan ve visseral tabakadan süzülen idrarın toplandığı boşluk vardır. Tüm renal cisimciklerde, afferent arteriollerin girdiği ve efferent arteriollerin ayrıldığı damar kutbu bulunurken, proksimal kıvrımlı tubulusların başladığı yerde ise idrar kutbu vardır. Afferent arteriol, renal cisimcikte her biri kapillere dönüşen ve renal glomerülü meydana getiren 2-5 arasında değişen dallara ayrılır. Bowman kapsülünün parietal tabakası, ince retiküler bir lif tabakası ile bazal lamina tarafından desteklenen tek katlı yassı epitelden meydana gelir. Böbreğin iç kısmı büyük bölümü parankimadan oluşur. Bowman kapsülünün visseral yaprağını oluşturan epitel hücrelerine podosit adı verilir. Podositler pek çok primer uzantıdan oluşur ve bunlara pedisel adı verilir. Pediseller birbirleriyle aralarında mesafe

olacak şekilde kenetlenirler ve oluşan bu aralıklar süzülme yarıklarını meydana getirir (46, 47).

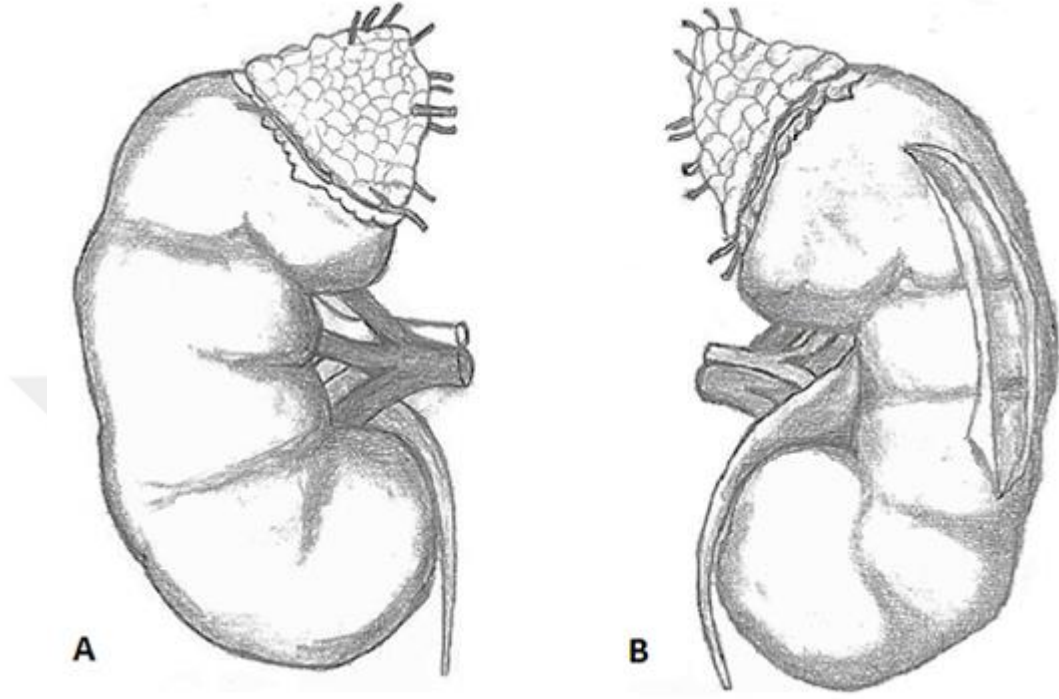
3.2.3. Böbreklerin Anatomisi

Böbrekler, karın arka duvarının üst bölümünde ve columna vertebralis'in her iki yanında retroperitoneal yerleşmiş bir çift organdır. Sağ böbrek T12-L3; sol böbrek ise T11-L2 seviyesinde bulunur. Karaciğer ile komşuluğundan dolayı sağ böbrek sol böbreğe nazaran biraz daha aşağıda yer alır. Böbreklerin ağırlığı yetişkin kadınlarda yaklaşık 115-155 gr, erkeklerde ise 125-170 gr aralığındadır. Böbrekler yetişkinlerde ortalama 11,5 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır (48-52).

Şekli kuru fasulyeye benzeyen böbreklerin facies anterior ve facies posterior olarak adlandırılan iki yüzü; margo medialis ve margo lateralis adı verilen iki kenarı; extremitas superior (polus superior) ve extremitas inferior (polus inferior) olarak isimlendirilen iki ucu vardır (48-51). Sağ böbreğin önden (facies anterior) ve arkadan (facies posterior) gross anatomik görünümü Şekil 2'de gösterilmiştir.

Sağ böbreğin facies anterior'u; karaciğerin sağ lobu, glandula suprarenalis dextra, flexura coli dextra, duodenum'un ikinci bölümü ve ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapar. Glandula suprarenalis sinistra, pancreas, flexura coli sinistra, dalak, mide ve jejunum kıvrımları ise sol böbreğin facies anterior'u ile komşuluk yapar. Her iki böbreğin facies posterior'ları diaphragma, m. quadratus lumborum, m. psoas major, m. transversus abdominis, a. subcostalis, n. subcostalis, n. ilioinguinalis ve n. iliohypogastricus ile komşuluk yaparlar. Ayrıca sağ böbreğin

facies posterior'u 12. kosta ile komşu iken; sol böbreğin daha yüksekte bulunması sebebiyle, facies posterior'u 11. ve 12. kostalar ile komşuluk yapar (48-51).



Şekil 2. Sağ böbreğin gross anatomik görünümü. **A)** Önden görünümü. **B)** Arkadan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).

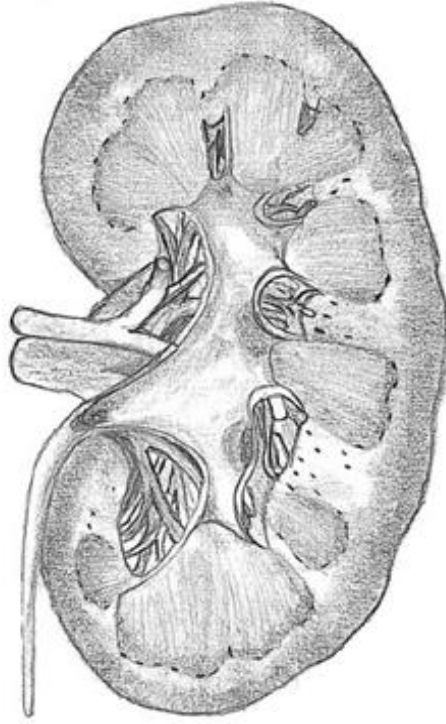
Margo lateralis dışa, arkaya ve yukarı bakar. Sol böbreğin margo lateralis'inin üst bölümü dalak ile komşudur. Margo medialis'in orta bölümünde vertikal yönde bulunan yarık hilum renale olarak isimlendirilir. Hilum renale'de önden arkaya sırasıyla v. renalis, a. renalis'in dalları ve pelvis renalis bulunur. Glandula suprarenalis böbreklerin extremitas superior (polus superior) olarak isimlendirilen üst uçlarına oturur (48-51).

Böbreği üç kılıf sarar, bunlar içten dışa doğru; capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis'tir (48-51).

Böbrek, fonksiyonları farklı iki bölümden meydana gelir. Cortex renalis idrarı süzen anatomik yapılardan, medulla renalis ise toplayıcı kanallardan oluşur (48-51).

Cortex renalis; papillae renales hariç olmak üzere, pyramides renales'in çevresini saran böbrek dokusudur. İki bölümden meydana gelir. Cortex renalis'in ilk bölümü capsula fibrosa ile pyramides renales'in (Malpighi piramitlerinin) tabanı arasındadır. Bu bölümde küçük kırmızı nokta şeklinde corpusculum renale'ler (Malpighi cisimcikleri) ile idrar kanalcıklarının bir kısmı bulunur. Cortex renalis'in ikinci bölümü pyramides renales'in (Malpighi piramitlerinin) arasında yer alır ve columnae renales'i oluşturur. Columnae renales, böbreğin sinuslarına kadar adeta birer sütun şeklinde uzandıkları için bunlara Bertin sütunları adı da verilir (48-52).

Medulla renalis'i sayıları genellikle 8-10 arasında değişen bazen de 18-20'ye kadar ulaşabilen koni şekilli pyramidis renalis'ler (Malpighi piramitleri) meydana getirir. Bu piramitlerin basis pyramidis adı verilen taban bölümleri cortex renalis'e, papilla renalis adı verilen tepe bölümleri ise sinus renalis'e doğru yerleşmiştir. Bir pyramidis renalis (Malpighi piramidi) ve çevresini saran cortex parçasına bir böbrek lobu (lobus renalis) adı verilir. Böbreğin içerisinde bulunan ve şekli böbrekle uyumlu olan boşluğa sinus renalis adı verilir. Sinus renalis'de pelvis renalis'in üst kısmı, calyx renalis'ler, böbrek damarları ve yağ dokusu vardır. Sayıları 4-14 arasında değişen calyx renalis minor'lerin 2-3 tanesi birleşerek calyx renalis major'u oluştururlar. Calyx renalis major'lerde birleşerek pelvis renalis'i meydana getirirler(48-52). Sağ böbreğin median longitudinal kesitte arkadan görünüşü Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.Sağ böbreğin median longitudinal kesitte arkadan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).

Böbrek, damarların dağılımına göre beş segmentten oluşur. Segmentum superius üst uçta, segmentum inferius alt uçta, segmentum anterieus-superius ve segmentum anterieus-inferius ön yüzün orta bölümünde, segmentum posterius ise arka yüzün orta bölümünde yer alır (48-52).

3.2.3.1. Böbreğin Arteriyel ve Venöz Dolaşımı

A. renalis'ler L1-2 vertebraları seviyesinde aorta abdominalis'ten ayrılırlar. A. renalis'ler böbreğin hem işlevsel hem de besleyici arterleridir. Böbreğin hacmine kıyasla kalın damarlar olduğu için, kısa sürede böbreklerden fazla miktarda kanın geçmesine olanak tanırırlar. A. renalis'ler hilum renale'de arteria segmentalis adı verilen 5 segmental dala ayrılırlar. A. segmentalis'lerden segmentum posterius'a ait segmental dal, pelvis renalis'in arka tarafından; diğer dört dal ise, pelvis renalis'in

önünden geçer. A. segmentalis'ler sinus renalis'de a. segmentalis dallarına ayrılırlar ve calix renalis minor'ların çevresinden columnae renales'e girerler. Buradan kortikomeduller birleşim yerine kadar ilerleyerek yan tarafa kıvrılırlar ve a. arcuata'ları oluştururlar. A. arcuata'lar kendi aralarında anastomozlaşmazlar. A. arcuata'lardan kortikal cevher içine dik olarak ayrılan dallara a. interlobularis adı verilir. A. interlobularis'lerden ayrılan küçük dallar arteriola glomerularis afferens ismini alır. Bu küçük dallar Bowman kapsülünün damar kutbundan girerek, rete capillare glomerulare (glomerulus) adı verilen kapiller yumağı meydana getirirler. Rete capillare glomerulare, yeniden birleşir ve arteriola glomerularis efferens'i meydana getirir. Arteriola glomerularis efferens, kortikal cevherde bulunan idrar kanalcıkları arasında peritubuler kapiller pleksusu (rete capillare peritubulare) oluşturur (48-52).

Venöz dönüş, peritubuler kapiller pleksus ile başlar. İlk olarak v. interlobularis'ler oluşur. Daha sonra sırasıyla v. arcuata, v. interlobularis, v. segmentalis ve son olarak oluşan v. renalis, v. cava inferior'a dökülür. Böbreğin meduller cevherini besleyen arteriola recta'lar, bir kısmı arteriola glomerularis efferens'den bir kısmı da a. arcuata'dan ayrılırlar. Bu damarlar venula recta adı verilen venler ile dönerek v. arcuata'ya dökülürler (48-52).

A. interlobularis'lerin uç bölümünden ayrılan a. capsularis'ler böbrek dokusundan çıkarak capsula fibrosa ve capsula adiposa'yı beslerler. Bunlar aa. suprarenales, aa. lumbales ve a. testicularis'den (veya a. ovarica) gelen küçük dallarla anastomozlaşır. Venöz dönüş, v. capsularis'ler, v. interlobularis ve v. arcuata ile sürer (48-52).

Böbrekte arteriovenöz anastomozlar da bulunur. Bu anastomozlar calix renalis'ler dolayında a. ve v. interlobularis'ler arasında, kortikal cevherin küçük damarları arasındadır. Bu anastomozlar, herhangi bir sebeple glomerulus'dan geçemeyen kanın bir bölümünün ya da tümünün süzülmeden doğrudan venöz sisteme geçmesini sağlar (48-52).

3.2.3.2. Böbreğin Lenfatikleri

Böbreğin lenf damarları üç plexus meydana getirir. İlki tubulus renalis'in çevresinde, ikincisi capsula fibrosa'nın altında, üçüncüsü ise capsula adiposa'da yer alır. Capsula fibrosa'nın altında ve capsula adiposa'da yer alan lenf plexusları birbirleri ile bağlantılıdır. Tubulus renalis'in çevresindeki ve capsula fibrosa'nın altındaki plexuslardan gelen lenf damarları v. renalis'i izleyerek 4-5 trunkus meydana getirir. Bu lenf damarları hilum renale'den ayrılırken kapsül altındaki toplayıcı damarlar ile birleşerek, nodi aortici laterales'e drene olurlar. Capsula adiposa'da bulunan plexus ise, direk olarak nodi aortici lateralis'e açılır (50-52).

3.2.3.3. Böbreklerin Sinirleri

Böbreklere, n. splanchnicus minor, n. splanchnicus imus'dan sempatik lifler gelirken, parasempatik lifler ise n. vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus'a, daha sonra a. renalis etrafındaki plexus renalis vasıtası ile böbreğe ulaşır. Bu plexus, içinde pek çok ganglion barındırır. Bu ganglionlardan en büyük olanı, a. renalis'in başlangıç bölümünün ön tarafında bulunan ggl. aorticorenale'dir. Bu lifler kan damarları ile birlikte tubulus renalis'in hücrelerine ulaşır. Sempatikler damarları

daraltır ve damardan geçen kanın miktarını düşer, böylelikle kandan süzülen idrar miktarı azaltılmış olur (48-52).

3.3. Karaciğer

3.3.1. Karaciğerin Embriyolojisi

İnsan embriyosunda karaciğer ventral bir çıkıntı olarak ön bağırsağın kaudalinden 4. haftanın başında hepatik divertikül olarak gelişir. Gelişmekte olan kalbin salgıladığı fibroblast growth faktör, bipotent hücrelerine tesir ederek hepatik divertikül oluşumunu uyarır. Hepatik divertikül, mide ve kalp arasında bulunan ve ventral mezogastriyumu meydana getiren septum transversum'a doğru gelişir. Hızla gelişen hepatik divertikül, ventral mezogastriyumun yaprakları arasında iki parçaya ayrılır. Ayrılan parçalardan kranial parça daha büyük olup karaciğer taslağını oluştururken, daha küçük olan kaudal parça ise safra kesesini meydana getirir. Karaciğerin Kupffer hücreleri, hematopoetik ve fibröz dokusu septum transversum mezenşiminden orijin alır. Karaciğerin iki lobunun da büyüklüğü başlangıçta aynıdır fakat daha sonra sağ lop daha çok gelişir. Hematopoez 6. haftada başlar ve karaciğerin parlak, kırmızı renk almasını sağlar. Dokuzuncu haftada karaciğer fetüsün ağırlığının 1/10'u kadar olurken, 12. haftada safra üretimi başlar (44, 45).

3.3.2. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer, Glisson kapsülü olarak isimlendirilen ve porta hepatis'te kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü ile sarılmıştır. Glisson kapsülü, karaciğer içerisine girerek karaciğeri loplara ve küçük lobüllere ayırır. Karaciğer lobülü

hepatositlerin katmanlarından meydana gelen altıgen şekilli bir doku kitlesidir. Hepatositler, karaciğer lobülü içinde santral (merkezi) ven bölgesinden periferik doğru ışınsal olarak uzanırlar. Karaciğere lobüllerinin birbiri ile temas ettiği bölgelerde geniş üçgen tarzında bağ dokusu alanları bulunur. Bu üçgen alanlara Glisson üçgeni, Kiernan aralığı ya da Porta mesafesi adı verilir. A. interlobularis, v. porta'nın ince dalı olan v. interlobularis ve ductus interlobularis bu üçgen sahada birlikte seyrederek (portal triad) (46, 47).

V. interlobularis'ten ayrılan venler lobulus içerisinde birbirleriyle anastomozlaşarak v. centralis'e dökülürler. Karaciğer sinüzoidleri lobülün venlerine verilen isimdir. Retikuloendotelial sistemin unsurlarını meydana getiren endotel ve Kupffer hücreleri karaciğer sinüzoidlerinin duvarlarında yer alırlar. Hepatositler ile sinüzoidleri örten hücreler arasında kalan subendotelial boşluğa Disse mesafesi adı verilir. Hücre kolonlarının içinde, canaliculi biliferi adı verilen ve duvarları hücrelerin birbirine bakan yüzlerinden meydana gelen ince kanalcıklar mevcuttur. Bu kanalcıklar hücrelerin salgıladığı safrayı taşırlar. Canaliculi biliferi'ler birleşerek ductuli biliferi'leri, ductuli biliferi'lerin de birkaçı birleşerek ductus interlobularis'i oluştururlar. Ductus interlobularis'ler Kiernan aralıklarında bulunur (46, 47).

3.3.3. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer hem karın boşluğunda bulunan organların hem de vücuttaki bezlerin en büyüğüdür. Yetişkin insanlarda vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini, çocuklarda ise %5'ini meydana getirir. Yetişkin erkeklerde ortalama ağırlığı 1400-1800 gr, yetişkin kadınlarda ise 1200-1400 gr civarındadır. Diaphragma ile plevra,

akciğer, perikard ve kalpten ayrılan karaciğer, karın boşluğunun sağ üst kısmının tamamına yakın bölümünü doldurur (48-52).

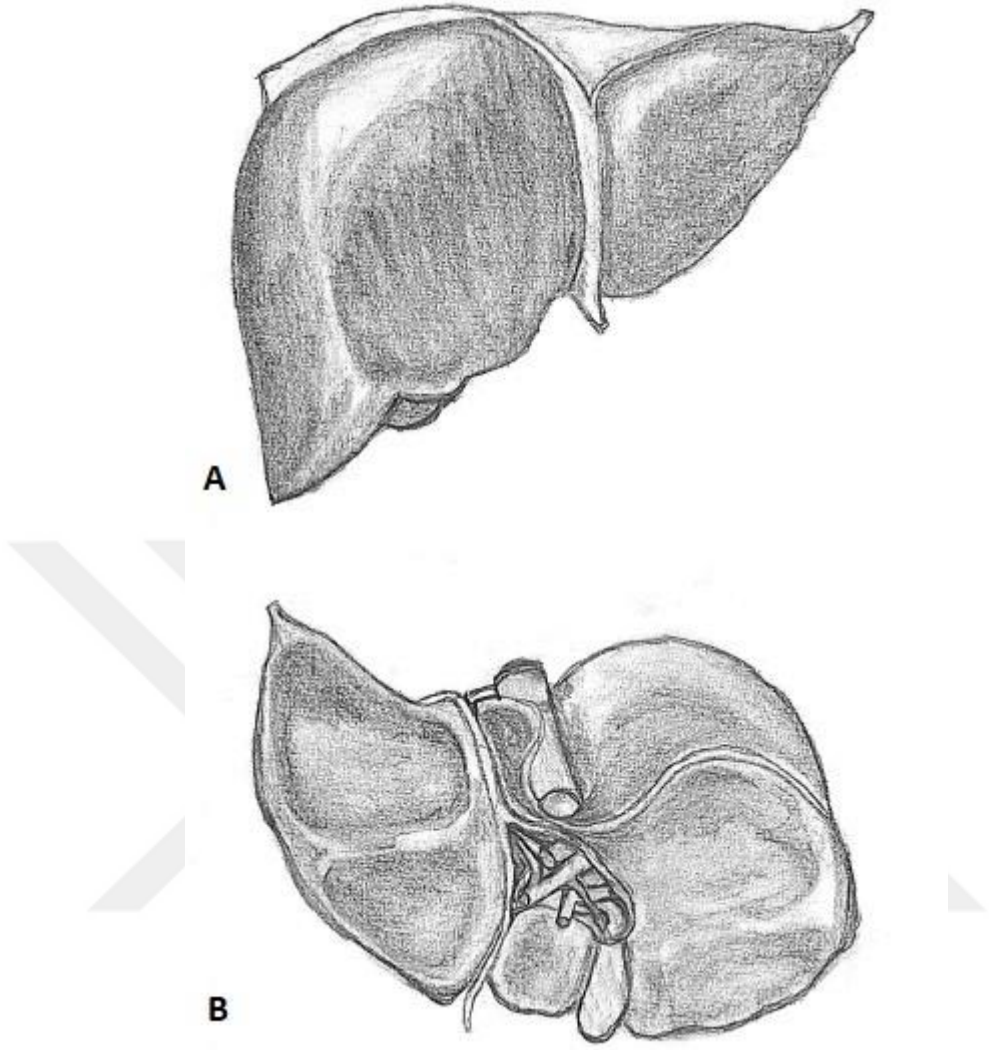
Karaciğer önde; diaphragma, her iki akciğerin basis pulmonis'leri, sağ ve sol arcus costalis'ler, processus xiphoideus ve karın ön duvarı ile komşuluk yapar. Arkada ise diaphragma, flexura coli dextra, duodenum, safra kesesi, sağ böbrek, v. cava inferior, fundus gastricus ve oesophagus ile komşuluk yapar (49).

Karaciğerin facies diaphragmatica ve facies visceralis olarak isimlendirilen iki yüzü ve margo inferior ve margo posterior adı verilen iki kenarı vardır (Şekil 4).

Facies diaphragmatica, karaciğerin diaphragma'nın alt yüzü ile komşuluk yaptığı, düzgün, kubbe şeklinde olan yüzüdür. Facies diaphragmatica pars superior, pars anterior, pars dextra ve pars posterior olmak üzere dört bölümde incelenir (48-52).

Pars superior: Facies diaphragmatica'nın üst bölümüne verilen isimdir ve diaphragma ile sıkı komşuluk içindedir. Diaphragma vasıtası ile sağ tarafta basis pulmonis ve plevra, solda kalp ve pericardium ile komşuluk yapar. Kalbin burada bıraktığı ize impressio cardiaca adı verilir. Arka bölümü hariç peritoneum ile örtülüdür.

Pars anterior: Fascies diaphragmatica'nın ön bölümü olup, sağ tarafta 6-10. kıkırdak ve kemik kostalar, solda ise 7-8. kostalar arasında yer alır. Processus xiphoideus'un hemen altında bulunan kısım ile karın ön duvarı komşuluk yapar. Pars anterior'un lig. falciforme hepatis'in tutunduğu yer hariç her tarafı peritonla sarılıdır.



Şekil 4. Karaciğerin gross anatomik görünümü. **A)** Facies diaphragmatica'nın önden görünümü **B)** Facies visceralis'in alttan görünümü (Schünke M. 2015'ten değiştirilerek karakalemle çizilmiştir) (53).

Pars dextra: Facies diaphragmatica'nın periton ile örtülü sağ bölümüdür. Bu kısım 6-11. kostalar arasında bulunur. Burada kostaların bıraktığı izlere impressio costales adı verilir.

Pars posterior: Karaciğerin diaphragma ile temas halinde olan kısmıdır. Büyük bölümü peritonsuz olan pars posterior'un lig. coronarium'un içinde kalan

bu peritonsuz alana area nuda adı verilir. Pars posterior'un sağ tarafında v. cava inferior'un bulunduğu sulcus vena cavae adı verilen bir oluk vardır (48-52).

Facies visceralis karaciğerin aşığı, arkaya ve biraz da sola bakan karın boşluğu organlarına komşu olan, konkav alt yüzüne verilen isimdir. Facies visceralis'in ortasında H harfine benzeyen yapının ortasında porta hepatis olarak isimlendirilen bir geçit vardır. H harfinin sağ kolunu sulcus sagittalis dexter oluştururken, ince yarık tarzındaki sol kolunu ise fissura sagittalis sinistra yapar (48-52).

Sulcus sagittalis dexter'in ön kısmını fossa vesicae biliaris (felleae), arka kısmını ise sulcus venae cavae oluşturur. Sulcus venae cavae'ya v. cava inferior, fossa vesicae biliaris'e ise vesica biliaris (fellea) yerleşmiştir. Sulcus sagittalis dexter'in ön ucu sağ m. rectus abdominis'in dış kenarının sağ arcus costalis'i kestiği noktaya denk gelir ve bu nokta Murphy noktası olarak bilinir (48-52).

Fissura sagittalis sinistra'nın ön kısmını fissura ligamenti teretis, arka kısmını ise fissura ligamenti venosi şekillendirir (48-52).

Facies visceralis'in porta hepatis, sulcus venae cavae, fossa vesicae biliaris, fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venosi dışında kalan tüm alanı peritoneum ile kaplıdır (48-52).

Porta hepatis uzunluğu 5 cm, genişliği ise 1,5-2 cm kadardır. Porta hepatis'ten v. portae hepatis ile çevresindeki sinir ağı ve a. hepatica propria'nın dalları girerken, ductus hepaticus dexter ve sinister ile lenf damarları çıkar (48-52).

Karaciğerin lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister olarak adlandırılan iki büyük lobu ve visceral yüzde bulunan lobus quadratus ve lobus caudatus adı verilen iki küçük lobu vardır. Lig. falciforme hepatis karaciğerin facies

diaphragmatica'sını lobus dexter ve lobus sinister olarak iki loba ayırır. Lobus quadratus ve lobus caudatus işlevsel olarak lobus hepatis dexter'e aittir. Lobus hepatis dexter, karaciğerin yaklaşık 5/6'sını meydana getirir. Lobus hepatis dexter'in sınırları facies diaphragmatica'da lig. falciforme hepatis tarafından, facies visceralis'de ise fissura ligamenti teretis tarafından belirlenir. Lobus caudatus'un sağ tarafında sulcus venae cavae, sol tarafında fissura ligamenti venosi ve alt tarafında ise porta hepatis vardır. Lobus caudatus'un önünde iki adet çıkıntısı vardır. Processus caudatus olarak isimlendirilen çıkıntı porta hepatis'in arka tarafında bulunur ve foremen epiploicum'un tavanını oluşturup, sağ aşağıda lobus hepatis dexter ile birleşir. Lobus caudatus'un sol alt tarafta bulunan çıkıntısına ise processus papillaris adı verilir. Processus caudatus ve processus papillaris porta hepatis'in arka kenarını meydana getirir. Processus caudatus sağ tarafta, processus papillaris ise sol tarafta bulunur. Lobus quadratus'un sınırlarını sağında fossa vesicae biliaris, solunda fissura ligamenti teretis ve arkasında porta hepatis çizer (48-52).

Lobus hepatis sinister karaciğerin yaklaşık 1/6'sını meydana getirir. Lobus hepatis sinister regio epigastrica'da ve bir bölümü de regio hypochondriaca'da yerleşiktir (48-52).

Facies visceralis'de komşu organların izleri vardır. Lobus hepatis dextra'nın facies visceralis'inde ön tarafta flexura coli dextra'nın impressio colica olarak isimlendirilen izi vardır. Bunun arka tarafında sağ böbreğin izi impressio suprarenalis bulunur. Impressio renalis'in solunda pars descendens duodeni'nin impressio duodenalis adı verilen izi görülür. Lobus hepatis sinistra'nın facies visceralis'inde midenin fundus'unun izi olan impressio gastrica bulunur. Tuber

omentale, impressio gastrica'nın lateralinde, porta hepatis'in ise medialinde bulunan çıkıntıya verilen isimdir (48-52).

Karaciğer karın ön duvarına ve diaphragma'nın alt yüzüne altı ligament vasıtası ile tutunur. Bu ligamentlerden beşi peritoneum tarafından oluşturulan bağlardır. Bunlar; lig. falciforme hepatis, lig. hepatorenale, lig. coronarium, lig. triangulare dextrum ve lig. triangulare sinistrum'dur. Diğer ligament ise embriyolojik v. umbilicalis'in artığı olan lig. teres hepatis'tir (48-52).

3.3.3.1. Karaciğerin Damarları

A. hepatica propria oksijenden zengin olan arteriyel kanı, v. portae hepatis ise sindirilmiş besinlerden zengin venöz kanı karaciğere taşır. Karaciğere ulaşan kanın %20'si a. hepatica propria tarafından, %80'i ise v. portae hepatis tarafından getirilir. Truncus coeliacus'tan ayrılan a. hepatica communis; a. gastroduodenalis ve a. gastrica dextra dallarını verdikten sonra a. hepatica propria ismini alır. Porta hepatis'te a. hepatica propria, ramus dexter ve ramus sinister dallarına ayrılır. A. hepatica propria'nın dalları kendi arasında anastomoz yapmazlar. V. mesenterica superior ve v. splenica birleşerek v. portae hepatis'i oluştururlar. V. portae hepatis karaciğer içinde a. hepatica propria'nın dalları ile beraber seyreder. Porta hepatis'te v. portae hepatis, ramus dexter ve ramus sinister dallarına ayrılır. V. portae hepatis ile a. hepatica propria'nın ramus dexter ve ramus sinisterleri karaciğer içerisinde interlobüler ve intersegmental dallara ayrılırlar ve karaciğer sinüzoidlerine açılarak vena centralis'e dökülürler. V. centralis'ler birleşerek v. sublobularis'leri, v. sublobularis'ler de birleşerek sağ ve sol v. hepatica'ları yaparlar. Karaciğerin venöz kanı v. hepatica'lar vasıtası ile v. cava inferior'a dökülür (49-52).

3.3.3.2. Karaciğerin Lenfatikleri

Karaciğerin yüzeysel lenf damarları peritonun altında areolar bağ dokusu içinde bulunur. Facies posterior, superior ve inferior'un arka kısımları v. cava inferior'un terminal bölümünde yer alan lenf nodüllerine dökülürken, facies inferior'un ön bölümleri ve facies anterior porta hepatis'te bulunan nodi hepatici'ye drene olur. Lobus hepatis sinister'in arka yüzünden bir kısım lenf damarı hiatus oesophageus'u geçerek nodi pericardiales lateralis'e dökülürken, lobus hepatis dexter'in arka bölümünde bulunan bir kısım lenf damarları da a. phrenica inferior'ları takip ederek nodi coeliaci'ye drene olur (49-52).

Derin lenf damarları birleşerek yukarı ve aşağıya giden iki trunkus yaparlar. Vv. hepaticae'ları izleyerek yukarı doğru giden lenf damarları sonunda v. cava inferior'un terminal bölümünde bulunan lenf nodüllerine, aşağı doğru uzanan lenf damarları ise porta hepatis'te nodi hepatici'ye dökülürler (49-52).

3.3.3.3. Karaciğerin Sinirleri

Karaciğeri innerve eden sempatik sinir lifleri n. splanchnicus'lardan gelirken, parasempatik sinir lifleri ise sağ ve sol n. vagus'tan gelir. Sempatik ve parasempatik sinir lifleri önce plexus coeliacus'u meydana getirirler. Plexus coeliacus'dan ayrılan sempatik ve parasempatik lifler plexus hepaticus içerisinde ilerlerler ve a. hepatica propria ile v. porta hepatis çevresinden geçerek karaciğer içerisinde dağılırlar. Sensitif lifler ise sempatik lifler ile beraber medulla spinalis'in 8-11. thorakal segmentlerine gider (49-52).

3.4. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) Kanalları

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) kanalları, ilk kez *Drosophila* cinsi sirke sineklerinin göz hücrelerinde keşfedilmiştir (54). TRPM2 kanalları beyin, kemik iliği, testis, böbrek, bağırsak, akciğer, karaciğer, pankreas ve iskelet kası gibi çeşitli dokularda saptanmıştır (55). Metabolizma ürünü olan hidrojen peroksit'in (H_2O_2) hücre içine girmesi, TRPM2 kanallarının aktivasyonu ile sonuçlanır ve hücre içine kalsiyum girişine yol açar. Hücre içindeki kalsiyum seviyesinin yükselmesi, hücrede pek çok yapısal ve işlevsel değişimlere yol açarak, hücre ölümüne kadar gidebilen patolojik gelişmelere neden olur (55-57).

Hücre dışı üç faktörün aktif TRPM2 katyon kanallarının açılmasında etkili olduğu bilinmektedir. Bu faktörler; Oksidatif stres, ADPR/NAD⁺ metabolizması ve tümör nekroz faktörü alfa'dır (56).

3.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, bir ya da daha çok ortaklanmamış elektron içeren atom ya da moleküllerdir ve etraflarındaki atom veya moleküllere adeta saldırırlar. Ömürleri çok kısadır. Fakat radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatarak, pek çok radikal oluşturmaları nedeniyle oldukça tehlikelidirler. Başka moleküller ile rahatlıkla elektron alışverişi yapan bu moleküllere "oksidan moleküller" ya da "reaktif oksijen türleri (ROS)" adı verilir (58-60).

Oksijenden meydana gelen radikaller, biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdir. Oksijen, metabolizmada en son suya indirgenirken, oksijenin tam olarak indirgenmemesi ile de çok sayıda ROS meydana gelir. Oksidasyona

sebebe olan serbest radikallere; süperoksit anyonlar (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH), hipoklorik asit, kloroaminler, azot dioksit ve lipid peroksitler örnek gösterilebilir (58-60).

Oksidatif denge; organizmada serbest radikallerin oluşma hızı ile oluşan bu serbest radikallerin ortadan kaldırılma hızı arasındaki dengedir. Oksidatif denge temin edildiği süre boyunca organizma, serbest radikallerden zarar görmez. Serbest radikallerin oluşma hızında yükselme veya ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına sebep olur ve hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücrenin işlevleri üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye oksidatif stres (oksidatif hasar) adı verilir (58-60).

FA ile deney hayvanlarında yapılan pek çok çalışmada, FA'nın oksidatif hasar oluşturduğu ve tedavi olarak uygulanan bazı antioksidanların bu hasarı azalttığı bildirilmiştir (32, 33).

3.6. Antioksidanlar

ROS oluşumunu ve bunların sebep olduğu hasarı engellemek için vücutta pek çok savunma mekanizması vardır ve bu mekanizmalara "antioksidan savunma sistemleri" ya da "antioksidanlar" adı verilir. Antioksidanlar etkilerini dört farklı şekilde gösterirler. Toplayıcı etki; ROS'u etkileyerek onları tutma ya da oldukça zayıf yeni bir moleküle çevirme etkisidir. Baskılayıcı etki; ROS'a bir hidrojen aktararak ROS'un aktivitesini baskılama ya da inaktif hale dönüştürme etkisi olarak tanımlanır. Zincir kırıcı etkide; antioksidanlar ROS'u kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kırarlar. Onarıcı etki ise tamir etkisidir (61, 62).

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak 2 gruba ayrılırlar. Endojen antioksidanlar, enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlara örnek olarak; Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz(GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidaz verilebilir. Enzim olmayan endojen antioksidanlar ise, glutatyon (GSH), melatonin, seruloplazmin, miyoglobin, hemoglobin, transferrin, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, ferritin, albümin ve bilirubin gibi moleküllerdir (61, 62).

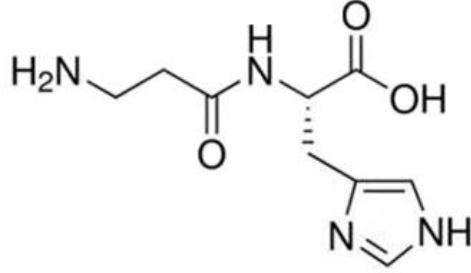
Ekzojen antioksidanlar ise, organizmanın dışarıdan aldığı antioksidanlardır. Allopurinol, selenyum, C, E, B6 ve B12 vitaminleri, folik asit, kahve, çinko ve karnozin gibi maddelerdir (61, 62).

3.6.1. Karnozin

Karnozin, Rus bilim adamı Gulewitsch tarafından 1900 yılında et ekstraktlarından ilk kez izole edilmiştir. Karnozin (β -alanyl-L-histidine), canlıda endojen olarak sentezlenen bir dipeptiddir (Şekil 5). İskelet kası, kalp kası ve beyin dokusunda yoğun şekilde bulunurken, lens, mide ve böbrekte de mevcuttur. Karaciğer, akciğer ve plazmada ise bulunmadığı rapor edilmiştir (63, 64).

Karnozin ile ilgili yapılan pek çok çalışmada, yaşlı hücreleri gençleştirdiği, kültüre edilmiş hücrelerin yaşam süresini arttırdığı, proteinlerin ve DNA'nın glikasyonunu inhibe ettiği, hücreleri MDA, hipoklorit ve amiloid peptidin toksik etkilerine karşı koruduğu ve hücrel homeostazisin korunmasına yardımcı olduğu rapor edilmiştir. Proteinlerin çapraz bağlanma reaksiyonlarını ve proteinlerin ve DNA'nın glikozilasyonunu inhibe ettiği, kas aktivitesi sonucu artan laktik asiti

nötrale ederek, hücre içi pH'nın düşmesini önleyen tampon etki gösterdiği bildirilmiştir (65-67).



Şekil 5. Karnozin

Deneyssel olarak yapılan bir çalışmada karnozinin obez farelerin kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşürdüğü, sistolik ve diyastolik basınçlarını azaltarak böbreklerde hasar oluşumunu hafiflettiği tespit edilmiştir. Ayrıca karnozin diyabetik nefropati oluşumunu da önlediği rapor edilmiştir (68).

Karnozinin antioksidan etkisi 1984 yılında keşfedilmiştir. Hidroksil ve süperoksit radikalleri ile singlet oksijen molekülünün süpürücüsüdür. Bu fonksiyonundan dolayı beyin, karaciğer, böbrek ve iskelet kası, iskemi reperfüzyon hasarında çalışılmış ve karnozinin koruyucu etkileri belirlenmiştir (69, 70).

Karnozinin oksidatif stres koşullarında protein sentezinin başlamasını, başlama faktörü olan eIF4E'nin fosforillenmesini baskılayarak önlediği bildirilmiştir (71). Karnozinin ROS, aktif nitrojen türleri ve MDA, 4-hidroksinonenal gibi zararlı aldehidler tarafından oluşturulan bir takım protein sentezi sonrası değişiklikleri inhibe ettiği rapor edilmiştir (72-74).

Yaşlı hayvanlara bir ay süreyle uygulanan karnozin, bu hayvanların karaciğerinde lipid peroksid, dien konjugat ve protein karbonil seviyelerini

azaltarak, E vitamini ve SOD seviyelerini arttırdığı rapor edilmiştir. Karnozinin karaciğerde oksidatif stresi baskıladığı ve bir antioksidan olarak diğer antioksidanları da koruduğu gösterilmiştir (75). Başka bir çalışmada ise kronik alkol verilen farelerde karaciğer hasarı oluşturulduktan sonra üç hafta boyunca uygulanan karnozinin lipid peroksid düzeylerini azalttığı ve antioksidan sistemi de uyardığı rapor edilmiştir (76).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, karnozinin formaldehite bağlı karaciğer ve akciğer dokularında gelişen oksidatif stresi azalttığı ve histopatolojik hasarı giderdiği gösterilmiştir (77). Ancak formaldehitin böbrekte yol açtığı hasara karşı karnozinin etkinliği ile ilgili herhangi bir veriye rastlanılmadı.

3.7. Betatrofin

Betatrofin, 2004 yılında hepatosellüler karsinom ile ilişkili protein TD26 adı altında tanımlanmıştır (78). Daha sonra anjiyopietin benzeri protein 8 (ANGPTL8), RIFL veya lipasin olarak isimlendirilmiştir (79-81). Betatrofin, pankreasın insülin sentezleyen beta hücrelerinin çoğalması üzerinde etkili karaciğerde üretilen peptid bir hormondur (82). Hormon, anjiyopietin benzeri protein ailesine aittir ve C19orf80 geni (genin farelerdeki adı Gm6484) tarafından kodlanır. Farede, çoğunlukla karaciğer, beyaz yağ dokusu ve kahverengi yağ dokusunda üretilirken, insanlarda ise sadece karaciğerinde üretilir (79-81).

Betatrofin, lipid ve glikoz metabolizması düzenleyicisi olup, lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek trigliserit seviyesini yükseltir (80, 83-85). Betatrofin trigliserit seviyelerine sıkı sıkıya bağlıdır. Yapılan iki farklı çalışmada aşırı miktarda betatrofin verilen sağlıklı farelerde trigliserit düzeylerinde artış

gözlendi (86, 87). Betatrofin eksikliği olan farelerde ise beslenmeden sonra vücut yağında ve trigliserit düzeylerinde bir azalma rapor edilmiştir (88). Yi ve arkadaşları (82) betatrofinin, pankreasda bulunan beta hücrelerinin zamanla kitlesini arttırdığını ve farelerde glukoz toleransını arttırdığını buldu. Ayrıca yapılan pek çok çalışmada betatrofinin, anjiyopietin benzeri protein 3'ü (ANGPTL3) parçalayarak N-terminal alanını serbest bıraktığını ve lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesini inhibe edebileceğini göstermiştir. LPL aktivite inhibisyonu, trigliseritlerin klirensini zayıflatır ve sonunda farelerde trigliserit seviyesini dramatik olarak artırır (80, 83-85). Bu nedenle, betatrofin, farelerde glukoz homeostazını ve lipit metabolizmasını düzenler.

Liu ve Bai (28), 2005 yılında ratlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, postnatal uygulanan FA'nın beyin korteks nöronlarında enerji metabolizmasını olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. FA'nın enerji metabolizmasını bozması, betatrofin ile FA maruziyeti arasında bir ilişki olabileceği varsayımını düşündürmektedir. Ancak günümüze kadar olası bu ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda; anatomiye kadavra ilaçlamasında sık kullanılan, ancak çok zehirli uçucu bir bileşen olan formaldehitin böbrek ve karaciğer üzerine bilinen zararlı etkilerinin oksidatif stres ile aktiveleşebilen hücre zarı iyon kanallarından TRPM2 kanallarındaki aktivasyon artışına bağlı olabileceği öngörülmüştür. Aynı şekilde enerji metabolizmasını bozduğu bilinen formaldehit ile insülin sentezleyen hücreler ve lipit metabolizmasındaki rolü bilinen betatrofin arasında bir ilgi olabileceği düşünülmüştür. Formaldehitin hasar mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik olarak bu konulardaki veri eksikliğinin giderilmesi amaçlandı.

Ayrıca formaldehitin karaciğerde oluşturduğu hasara karşı karnozinin bilinen yararlı etkisinin, böbrekler içinde geçerli olup olmadığının ve karnozinin her iki dokudaki olası iyileştirici etkisinin de TRPM2 kanalları ve betatrofin ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlandı.



4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 01.06.2016 tarih, 2016/11 sayı ve 118 nolu kararı ile başlanmıştır.

4.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen ortalama ağırlıkları 260 ± 10 gr olan 28 adet 8-10 haftalık erişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı ve deney 4 hafta sürdü.

Kontrol grubu (Grup 1): Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Karnozin verilen grup (Grup 2): Deney süresi boyunca 100X50X20 cm ebatlarındaki cam fanus içerisinde oral yolla (içme sularına katılarak) 150 mg/kg/gün karnozin verilen ve normal atmosfer havası soluyan sıçanlar.

Formaldehit verilen grup (Grup 3): Bu gruptaki sıçanlar deney süresi boyunca aynı ölçülerdeki cam fanus içerisinde solunum yolu ile 10 ppm 8 saat/gün formaldehite maruz bırakıldı.

Formaldehit + Karnozin verilen grup (Grup 4): Bu gruptaki sıçanlar deney süresi boyunca aynı ölçülerdeki cam fanus içerisinde solunum yolu ile 10 ppm 8 saat/gün formaldehite maruz bırakıldı ve eş zamanlı olarak oral yolla (içme sularına katılarak) 150 mg/kg/gün karnozin verildi.

4.3. Deney Prosedürü

Formaldehit uygulaması, Aydın ve arkadaşlarının (77) tarifine göre gerçekleştirildi. Bu yöntemeye dayalı olarak, 20X50X100 cm ebatlarında cam fanuslar yaptırıldı (Şekil 6). Fanusların her birine hava giriş ve çıkışını sağlamak amacıyla 5 mm çapında iki delik açıldı. Formaldehitin cam fanusun her yerine aynı oranda dağılımını sağlamak için, cam fanuslar 1 mm² delik çaplı tel elekler ile ikişer bölüme ayrıldı. Bölümlerden büyük olanı fanusun 100 cm'lik uzun boyutunda 70 cm, küçük olanı ise 30 cm yer kaplayacak şekilde ayarlandı. Büyük bölüme sıçanları yerleştirmek amacıyla, küçük bölüme ise FA oranlarını ayarlamak için 10.5 cm çapında yuvarlak tavan pencereleri açıldı.



Şekil 6. Cam fanus

Fanusların küçük bölümlerinde uygulanan FA'nın havadan ağır olmasından kaynaklanan dibe çöküşünü göz önünde bulundurarak, merkezlerine 1 ml FA

enjekte edilen 1 cm çapında ikişer adet pamuk kre, tavana asıldı. Ayrıca cam fanusta FA oranlarını 10 ppm seviyesinde tutabilmek amacıyla 50 mililitrelik ependorf tüplerine %37'lik FA doldurularak hava pompasına bağlı serum setlerindeki damla ayarlayıcı aygıt ile kontrol edilebilen bir FA deposu yapıldı ve fanuslara açılan deliklere yerleştirildi. Pompalar cam fanus içine dakikada 0.01-0.02 ppm FA pompalayacak şekilde ayarlandı. Aynı zamanda pompalar FA'nın ortamda eşit olarak dağılmasını sağladı. Cam fanus içindeki FA oranı, devamlı OSHA (Occupational Safety and Health Administration) tavsiyeli, kalibrasyonu yapılmış olan bir FA monitörü (Environmental Sensors Co. Boca Raton FL 33432 USA- Catalog No: ZDL-300) ile tespit edildi. Sekiz saatlik ağırlıklı ortalamaya göre [Doz= (konsantrasyon x zaman) / 8 saat] istenen konsantrasyon olan 10 ppm ayarlandı. Formaldehit seviyesi düştüğü anlarda, 1 ml %37'lik FA yeniden pamuk kürenin merkezine enjekte edildi ve 10 ppm düzeyi uygulama süresince korundu.

İşi gereği FA'ya maruz kalan anatomistler, histologlar ve patologlar genellikle haftanın beş günü ve günde 8 saat FA'ya maruz kalmaktadırlar. Bu çalışmanın da gerçek yaşamla ilişkilendirilmesi amacıyla FA verilen grup ile FA + karnozin verilen gruptaki sıçanlar, deney süresi boyunca cumartesi ve pazar günleri hariç olmak üzere haftanın 5 günü 08.00-16.00 saatleri arası cam fanus içerisinde tutuldular. Kontrol grubu ile sadece karnozin verilen gruptaki sıçanlar, FA uygulamaları sırasında havaya karışan formaldehitten etkilenmemeleri amacıyla aynı özelliklere haiz farklı bir odada barındırıldılar. FDAM'da zehirli gazları tahliye etmeye yönelik havalandırma sistemi olmaması nedeniyle, FA uygulamaları zehirli gaz tahliye sistemi olan Fırıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi

laboratuvarlarında gerçekleştirildi. FA uygulamaları dışında hayvanlar FÜDAM’da barındırıldı.

Sıçanlar, Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası’nda özel olarak hazırlanmış pelet yem şeklindeki sıçan yemleriyle beslenerek *ad libitum* su ve yiyecek alımları sağlandı. Pelet yemlerin içeriği Tablo 1’de gösterilmiştir. Yemler için çelik kaplar, su için ise paslanmaz çelik bilyeli cam biberonlar kullanıldı.

Tablo 1. Sıçan yeminin içeriği

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29.4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0.6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0.2
Methionin (%)	0.2
DCP (%)**	1.6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nikotin amid, D. Panth. 0,32 mg Folik asit, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg kolin klorür, 20 mg çinko, Basitrasin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor’dan oluşur.

Dört haftalık deney süresi sonunda tüm gruptaki sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi. Histolojik analizler için dokular %10’luk formaldehite alındı. Biyokimyasal analizler için sıçanlardan kan örneği ile böbrek ve karaciğer dokuları alındı. Sıçanlardan alınan kanlar aprotinin ihtiva eden ve etmeyen iki farklı biyokimya tüplerine alındı. 4000 rpm’de santrifüj edildi. Kan ve doku örnekleri daha sonra çalışılmak üzere -80 °C’de saklandı.

4.4. Doku Homojenizasyonunun Hazırlanması

Böbrek ve karaciğer dokuları -80 °C'den alınarak her iki dokudan da 200 mg tartıldı. Dokular kan ve artıklarından temizlenmesi amacıyla üç kez fosfat tamponu ile yıkandı. Her bir doku içerisinde 500 KIU/ml olacak şekilde ayarlanan ependorfaların içerisinde alındı. Daha sonra her bir ependorf içerisinde 200 ml 0.5 mm çaplı zirkonyum oksit boncuk bırakıldı. Tüm örnekler bir ml olacak şekilde fosfat tamponu eklendi. Mikrosantrifüj ependorfalarının ağızları kapatılıp Bullet Blender ismindeki homojenizatörün içerisinde yerleştirildi ve 5 dakika homojenize edildi. Elde edilen süpernatant tabaka yeni ependorflara alındı ve 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra üstteki süpernatant biyokimyasal analiz ve enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) çalışmalarında kullanılmak için alındı ve hemen çalışıldı.

4.5. Biyokimyasal Analizler

Aprotinin ihtiva etmeyen biyokimya tüplerine alınan kanlarda, total protein ve albumin, kan glukozu, lipid profili, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K) ve düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) ölçüldü. Aprotininli tüplerden elde edilen kanlarda ise betatropin derişimleri ölçüldü.

4.5.1. Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri

4.5.1.1. TAS Ölçümü

Kan TAS düzeyleri Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar Trolox equivalent/L olarak verildi.

4.5.1.2. TOS Ölçümü

Kan TOS düzeyleri Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ olarak verildi.

4.5.2. Betatrofin Düzeylerinin Ölçümü

Ratların kan, böbrek ve karaciğer supernatantlarında betatrofin düzeyleri, Rel Assay Diagnostics Rat betatrophin ELISA Kit REF: E20151118134 (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ELISA yöntemiyle kit kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) cihazı, absorbans okumalarında Bio-Tek ELX800 cihazı, sonuçları yazdırmada ise panosonik yazıcı kullanıldı. Test sonuçları ng/ml olarak belirtildi.

4.6. İmmünohistokimya

%10'luk nötral formaldehitte fikse edilen karaciğer dokularının rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan 4-6 μm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide

Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikorlar (Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK ve betatrophin Polyclonal Antibody, PA5- 38043, Invitrogen, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer'in hematoksilin ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet.

4.6.1. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. %0.05'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37 °C'de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer'da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilin ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilin ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. TUNEL Boyama Prosedürü.

	İşlem	Süre
1	60 °C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5
8	Endojen peroksit blokajı (%3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37 °C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) + Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10
16	PBS	3X5
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.	

4.7. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS, sürüm 22 programı kullanıldı. Sayısal veriler One-way ANOVA ve posthoc Tukey testi ile karşılaştırıldı.

$p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Formaldehit Ölçümleri

Formaldehite maruz kalan sıçanlarda (FA ve FA+Karnozin grupları) yapılan ölçümlerde maruziyet değeri 10.42 ± 0.19 ppm olarak tespit edildi (Şekil 7).

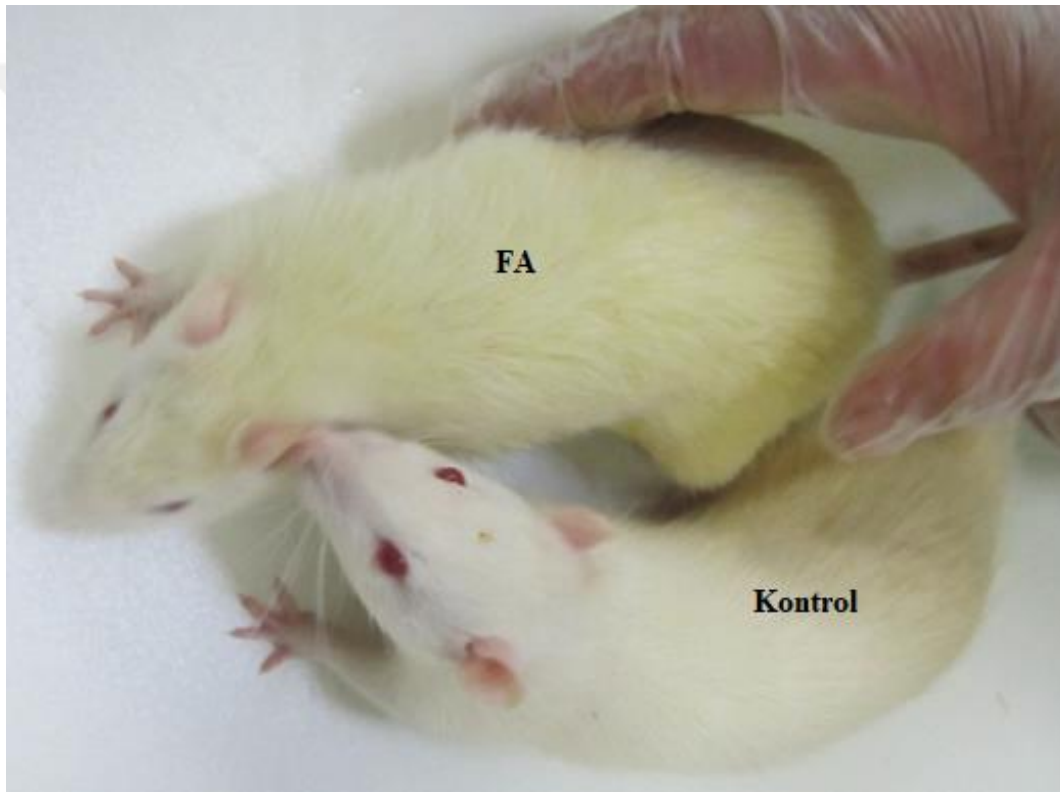


Şekil 7. Formaldehit ölçümlerinden temsili görsel sonuç.

5.2. Klinik Bulgular

Çalışmamızda FA'ya maruz bırakılan sıçanlarda nefes almada zorluk ve artış, sık sık burun temizleme, gözlerin yaşarması, aşırı göz kırpma ve yalanma da artış vücut ağırlıklarında (FA'ya maruz kalan sıçanların başlangıç ortalama ağırlığı 263 gram, deney sonu sıçanların ortalama ağırlığı ise 244 gram) düşüş gibi klinik

bulgular tespit edildi. Kontrol grubundaki sıçanlarının başlangıç ortalama ağırlığı 259 gram, deney sonunda ise sıçanların ortalama ağırlığı 302 gram olarak tespit edildi. Ayrıca deney süresince kafes içerisinde FA salınımı yapan beyaz pamuk kürelerin renklerinde sararma gözlenmezken FA grubundaki sıçanların tüylerinde sararma gözlemlendi (Şekil 8). FA+Karnozin grubunda ise bu klinik bulguların azaldığı görüldü.



Şekil 8. Sıçanların tüylerinde renk değişimi.

5.3. Biyokimyasal Bulgular

FA grubundaki sıçanların kan glukozu ve lipid profil (total kolesterol, HDL-K ve LDL-K) değerleri, kontrol ve karnozin gruplarındaki sıçanların değerleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$), (Tablo 3).

Tablo 3. Sıçanların biyokimyasal parametrelerinin değişimi.

Parametreler	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Glukoz (mg/dl)	112.6±4.19	111.6±5.37	108.8±6.78	109.2±6.45
Kolesterol (mg/dl)	61.3±4.59	60.6±5.03	59.8±7.21	63.2±5.37
HDL (mg/dl)	21.08±1.03	20.98±0.94	19.01±1.25	19.64±1.13
LDL (mg/dl)	5.03±0.35	5.11±0.49	4.08±0.53	4.10±0.74
Trigliserit (mg/dl)	60.1±5.26	59.2±6.32	54.1±4.87	58.5±6.19
T.Protein (g/dl)	6.50±0.13	5.79±0.23	5.79±0.23	6.61±0.18
Albumin (g/dl)	3.50±0.13	3.59±0.21	2.48±0.19	3.44±0.26

5.3.1. Kanlarda TAS ve TOS Düzeyleri

Kan TAS ve TOS düzeyleri kontrol ve karnozin gruplarında benzerdi. FA maruziyeti kan TAS seviyelerini anlamlı bir şekilde azaltırken, kan TOS düzeylerini anlamlı bir şekilde arttırdı ($p<0.05$). Tedavi amacı ile kullanılan karnozin; FA maruziyeti ile düşen TAS seviyelerini anlamlı bir şekilde yükseltirken, FA maruziyeti ile yükselen TOS seviyelerini ise anlamlı bir şekilde düşürdü ($p<0.05$), (Tablo 4).

Tablo 4. Kan TAS ve TOS düzeyleri.

Kan	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
TAS	2.02±0.04	2.02±0.06	1.61±0.03 ^a	1.79±0.02 ^{ab}
TOS	13.10±0.12	12.69±0.21	21.87±0.54 ^a	17.11±0.13 ^{ab}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.3.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularında TAS ve TOS Düzeyleri

Hem böbrek hem de karaciğer dokularında TAS ve TOS düzeylerinde kontrol ve karnozin grupları arasında fark yoktu. Her iki dokuda da TAS düzeyleri FA grubunda azalırken, FA+Karnozin grubunda ise arttığı tespit edildi. Bu değişimler karaciğer dokusunda anlamlıyken ($p<0.05$), böbrek dokusunda ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). TOS düzeylerinin ise TAS düzeylerinin aksine FA uygulanan sıçanlarda yükseldiği, FA+Karnozin grubu sıçanlarda ise düştüğü görüldü ($p<0.05$) (Tablo5).

Tablo 5. Böbrek ve karaciğer dokularında TAS ve TOS düzeyleri.

Doku	TAS / TOS	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Böbrek	TAS	0.81±0.02	0.85±0.01	0.47±0.28	0.73±0.02
	TOS	0.55±0.01	0.50±0.01	0.77±0.03 ^a	0.64±0.03 ^{ab}
Karaciğer	TAS	0.95±0.01	0.98±0.01	0.73±0.01 ^a	0.83±0.02 ^{ab}
	TOS	0.46±0.02	0.43±0.02	0.67±0.02 ^a	0.52±0.01 ^{ab}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.3.3. Kan Betatrofin Düzeyleri

Kontrol ve karnozin gruplarında kan betatrofin düzeyleri birbirine yakın değerlerdeydi. Betatrofin düzeyleri FA grubunda anlamlı bir şekilde azalmış bulunurken, FA+Karnozin grubunda anlamlı bir şekilde artmış olarak bulundu ($p<0.05$), (Tablo 6).

Tablo 6. Kan betatrofin düzeyleri.

Betatrofin	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Kan	8.70±0.52	10.44±0.70	2.94±0.17 ^a	5.17±1.03 ^{ab}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.3.4. Karaciğer ve Böbrek Dokularında Betatrofin Düzeyleri

Karaciğer ve böbrek dokularında betatrofin düzeyleri kontrol ve karnozin gruplarında benzerdi. Her iki dokuda da FA maruziyeti betatrofin düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltırken, karnozin suplementasyonu ise FA'nın neden olduğu betatrofin düzeylerindeki azalmayı anlamlı bir şekilde arttırdı (p<0.05), (Tablo 7).

Tablo 7. Karaciğer ve böbrek dokusu betatrofin düzeyleri.

Betatrofin	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Böbrek	0.70±0.13	0.53±0.08	0.27±0.06 ^a	0.49±0.04 ^b
Karaciğer	0.62±0.05	0.54±0.09	0.20±0.01 ^a	0.53±0.08 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

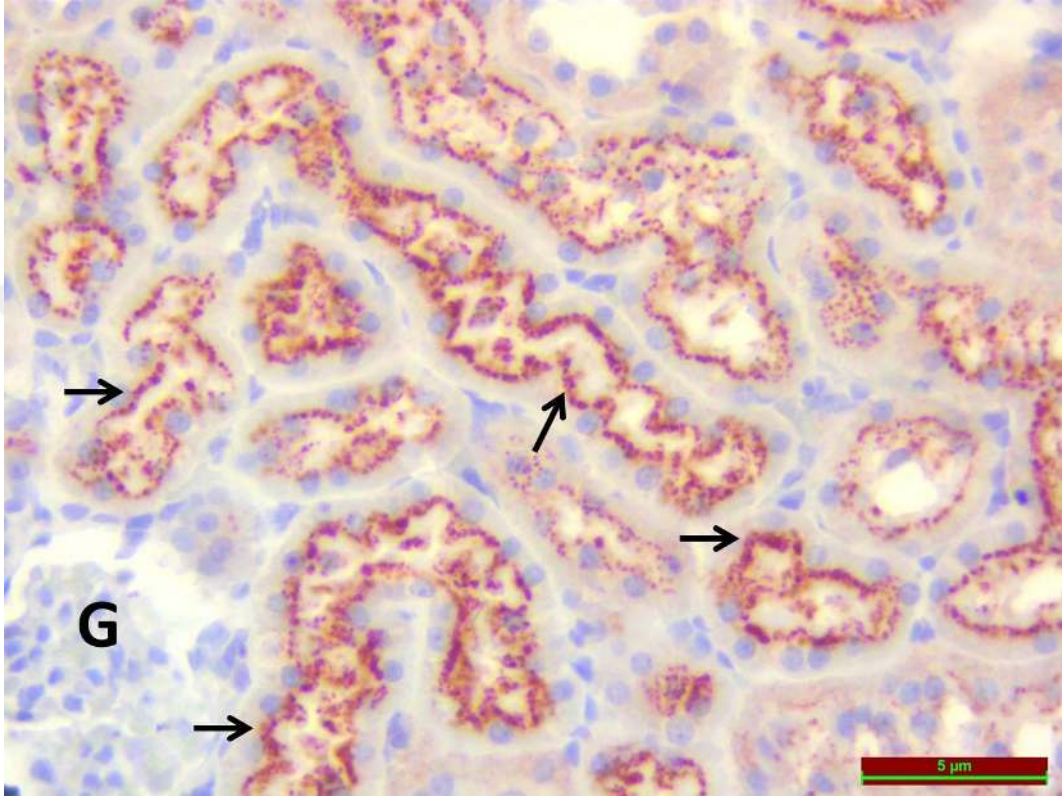
5.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

5.4.1. Betatrofin İmmünreaktivitesi

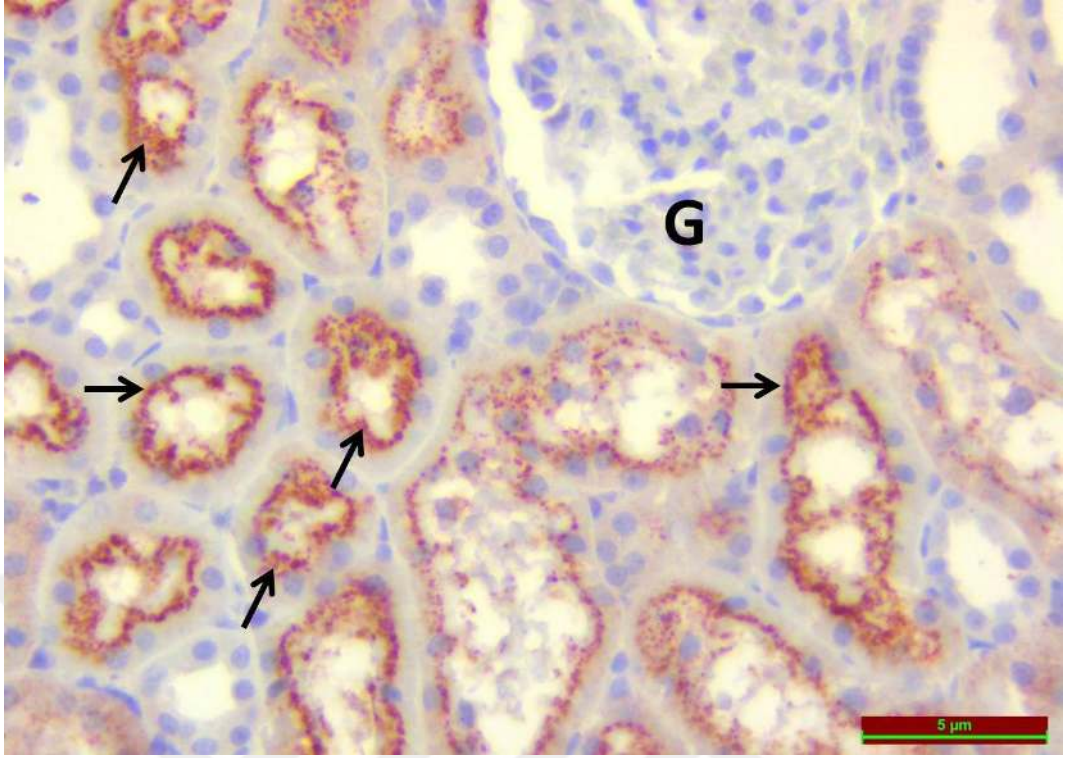
5.4.1.1. Böbrek Dokusu

Betatrofin immünreaktivitesi için immünohistokimyasal boyanan preparatlar ışık mikroskop altında incelendi. Betatrofin immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübül hücrelerinin lümene bakan alanlarında (siyah ok) gözlemlendi. Böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesinde; kontrol (Şekil 9) ve karnozin

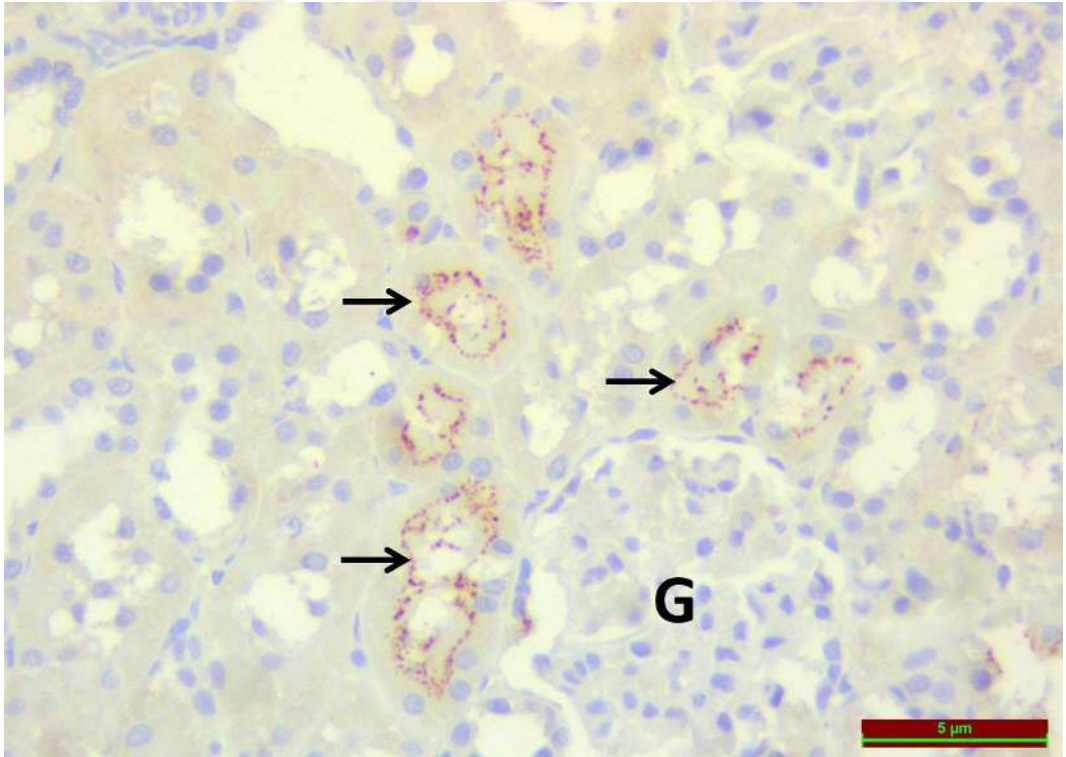
(Şekil 10) gruplarında fark yoktu. Betatrofin immünreaktivitesi, FA grubunda (Şekil 11) anlamlı bir şekilde azalmış bulunurken, FA+Karnozin grubunda (Şekil 12) belirgin olarak artmış olduğu izlendi.



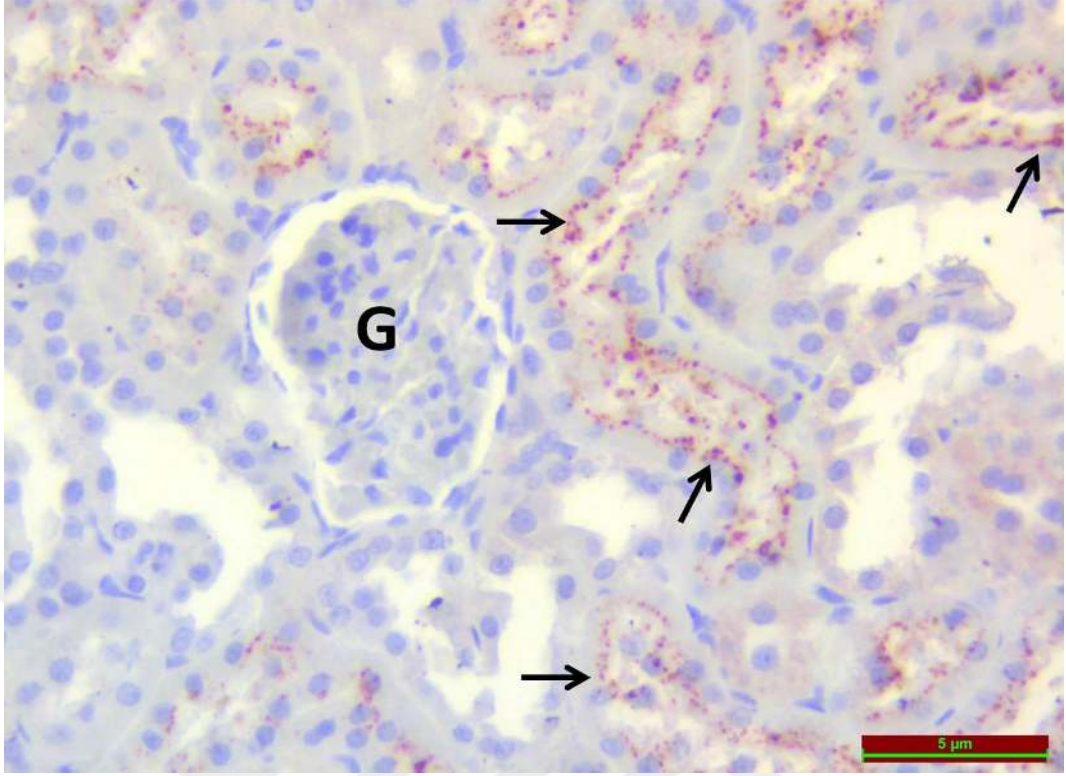
Şekil 9. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).



Şekil 10. Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).



Şekil 11. FA grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).

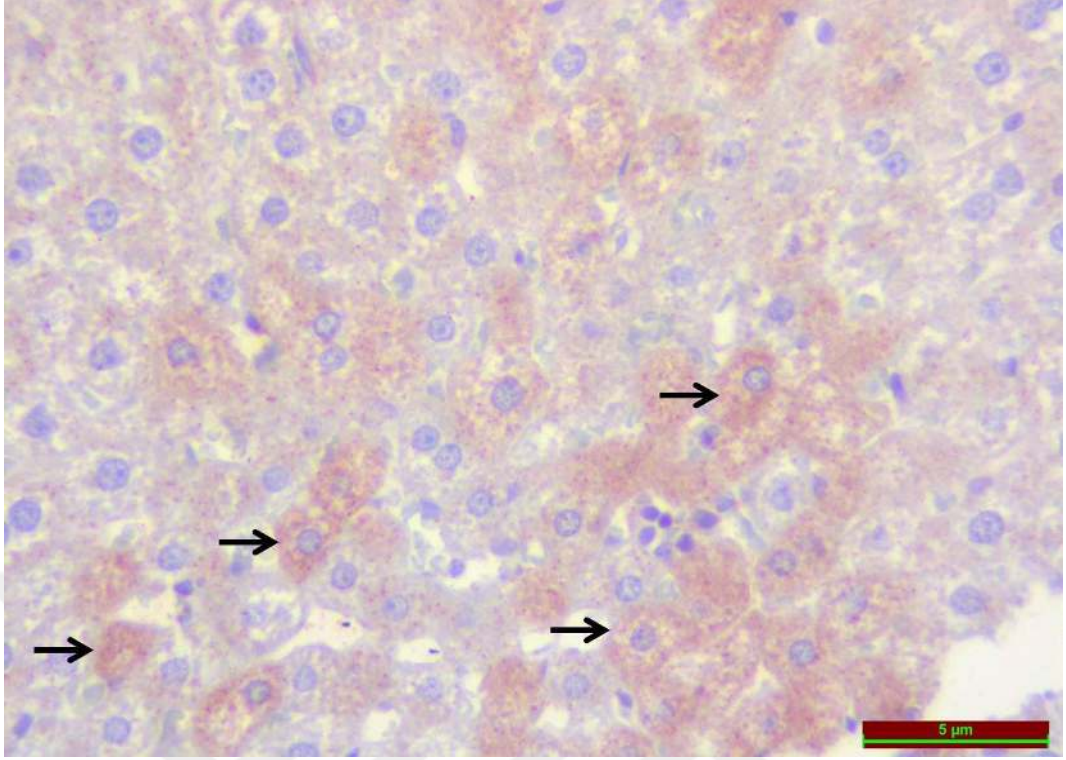


Şekil 12. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).

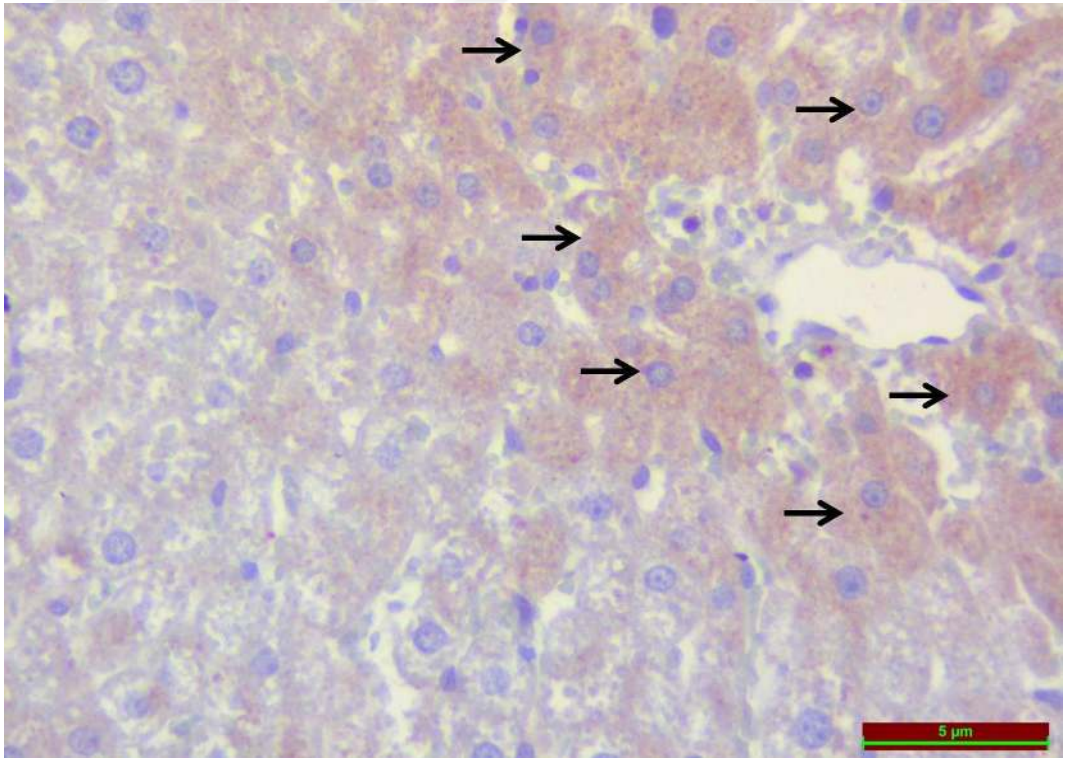
5.4.1.2. Karaciğer Dokusu

Betatrofin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskop altında incelenmesi sonucu; betatrofin immünreaktivitesi karaciğer dokusunda hepatositlerin sitoplazmalarında (siyah ok) gözlemlendi.

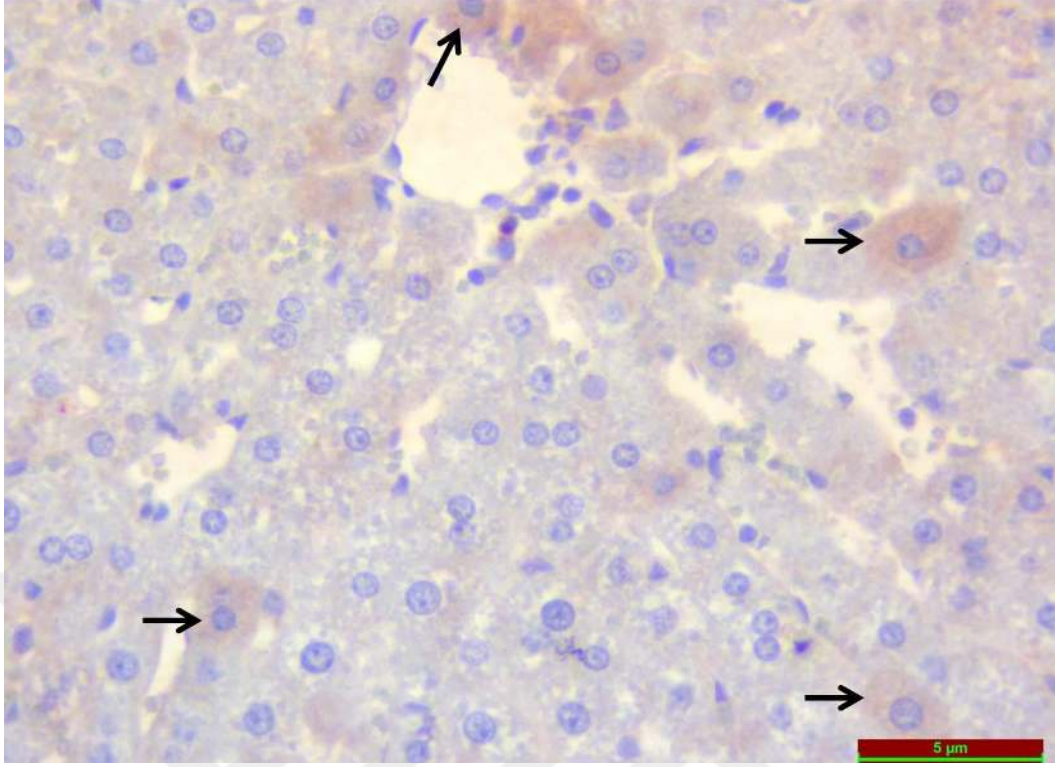
Karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi; kontrol (Şekil 13) ve karnozin (Şekil 14) gruplarında herhangi bir fark yoktu. FA maruziyeti karaciğer dokusundaki betatrofin immünreaktivitesini (Şekil 15) anlamlı bir şekilde düşürdü. Tedavi amaçlı olarak uygulanan karnozin ise FA'nın sebep olduğu betatrofin immünreaktivitesindeki azalmayı düzelterek kontrol değerlerine çekti (Şekil 16), (Tablo 8).



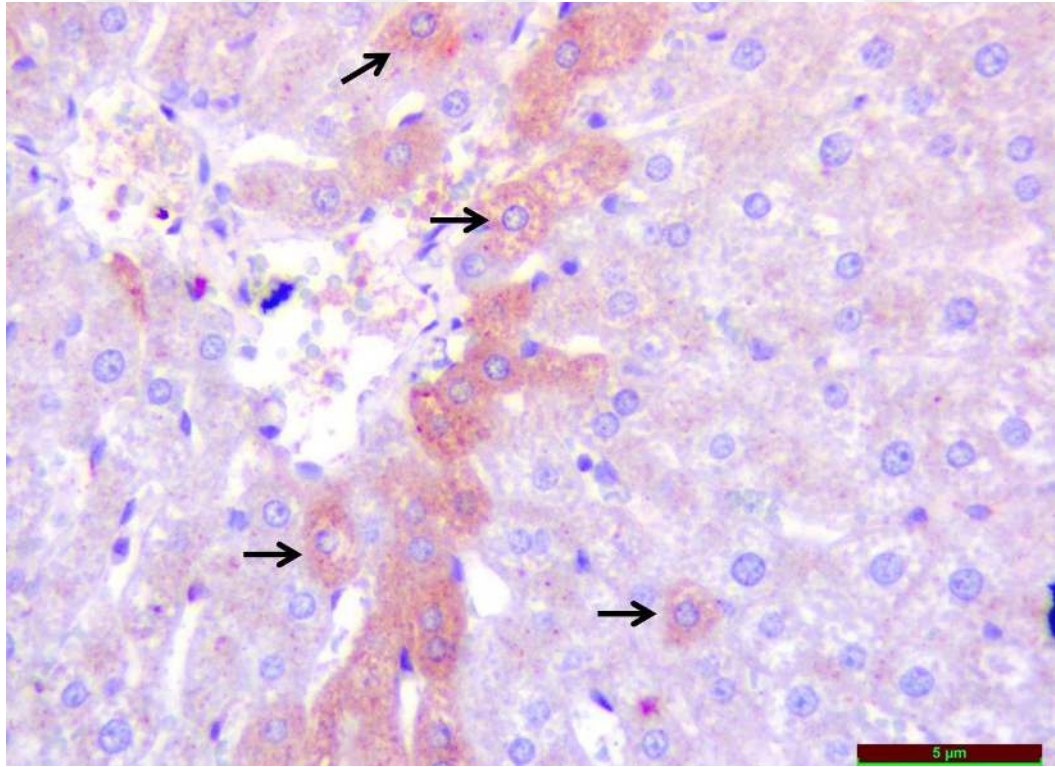
Şekil 13. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).



Şekil 14. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).



Şekil 15. FA grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).



Şekil 16. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda betatrofin immünreaktivitesi (→).

Tablo 8. Betatrofin histoskor.

Betatrofin Histoskor	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Böbrek	2.40±0.46	2.20±0.77	0.24±0.12 ^a	0.69±0.16 ^{ab}
Karaciğer	2.00±0.58	2.15±0.64	0.55±0.14 ^a	1.90±0.67 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

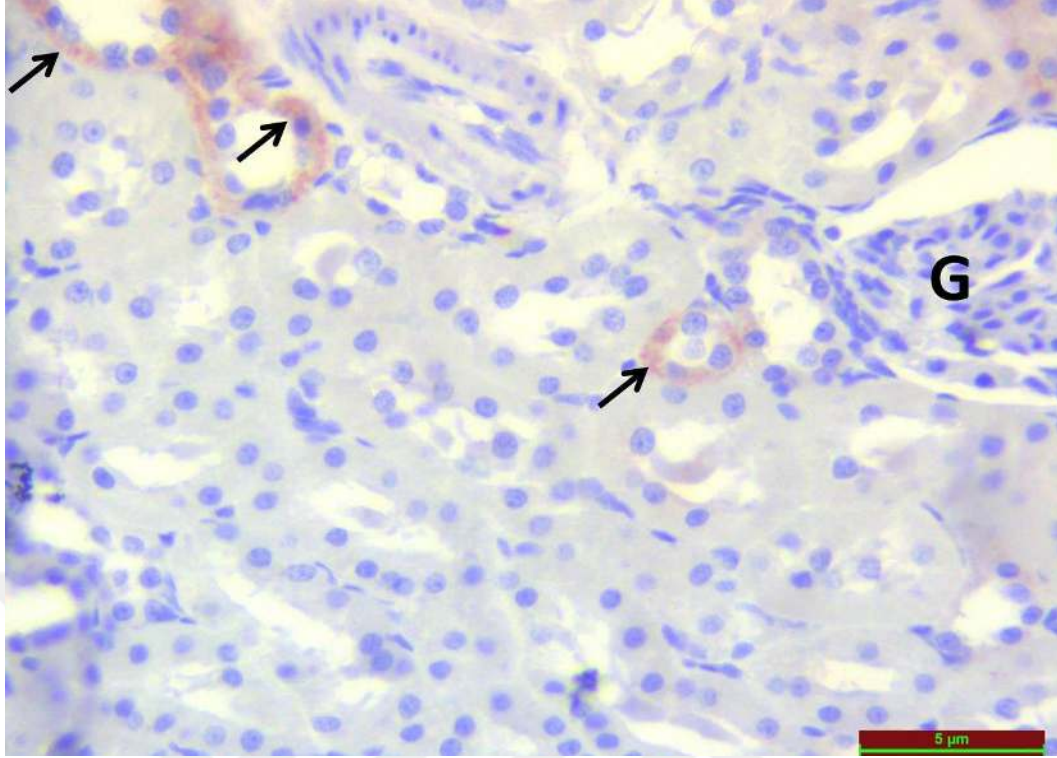
^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

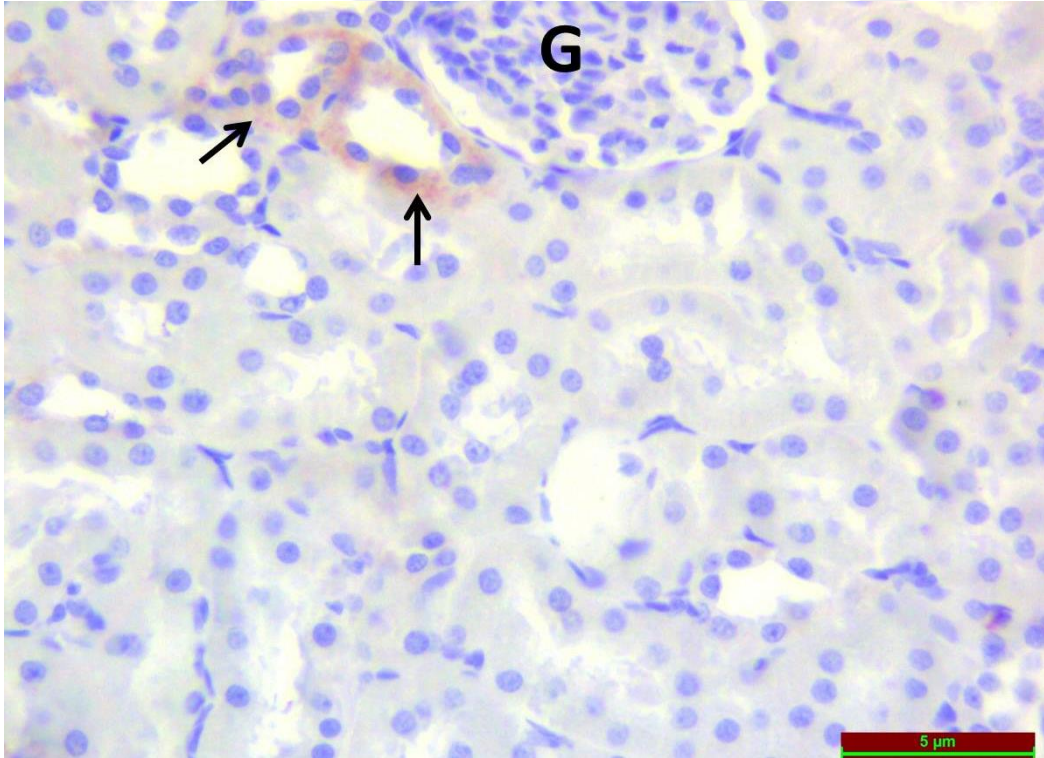
5.4.2. TRPM2 İmmünreaktivitesi

5.4.2.1. Böbrek Dokusu

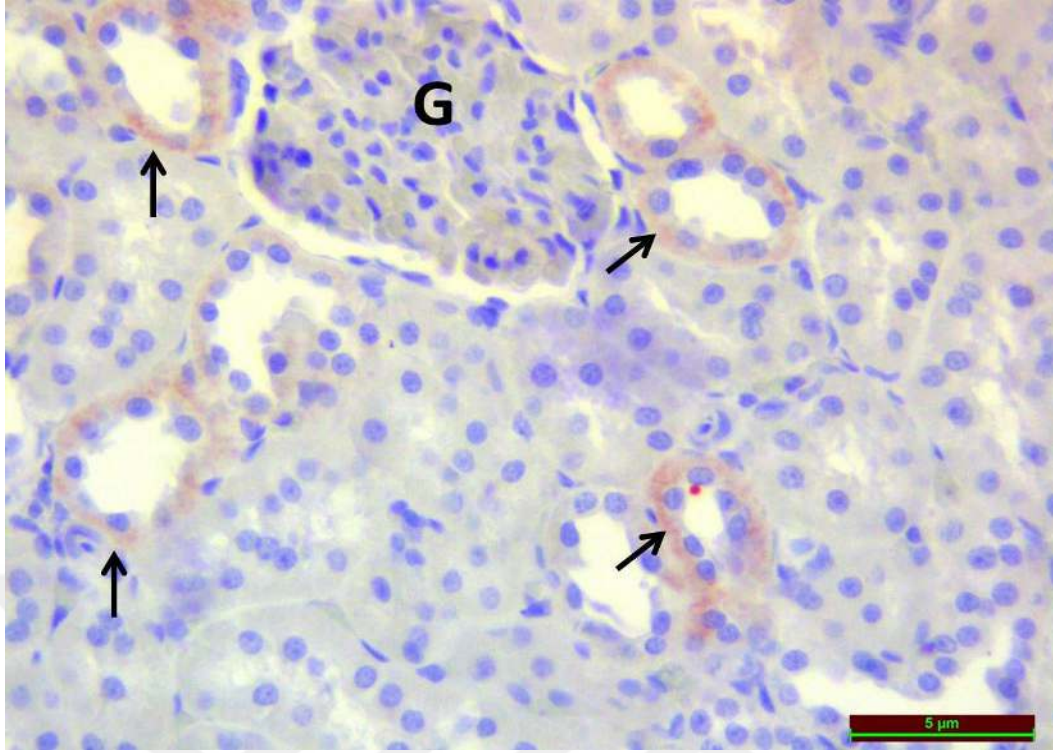
TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskop altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübül hücrelerinin sitoplazmalarında (siyah ok) gözlemlendi. Böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi; kontrol (Şekil 17) ve karnozin (Şekil 18) grupları birbirlerine yakın değerlerdeydi. FA'nın TRPM2 immünreaktivitesini anlamlı bir şekilde arttırdığı (Şekil 19) gözlenirken, karnozin suplementasyonunun ise FA'nın arttırdığı TRPM2 immünreaktivitesini belirgin olarak azalttığı ve kontrole yakın değerlere çektiği gözlemlendi (Şekil 20).



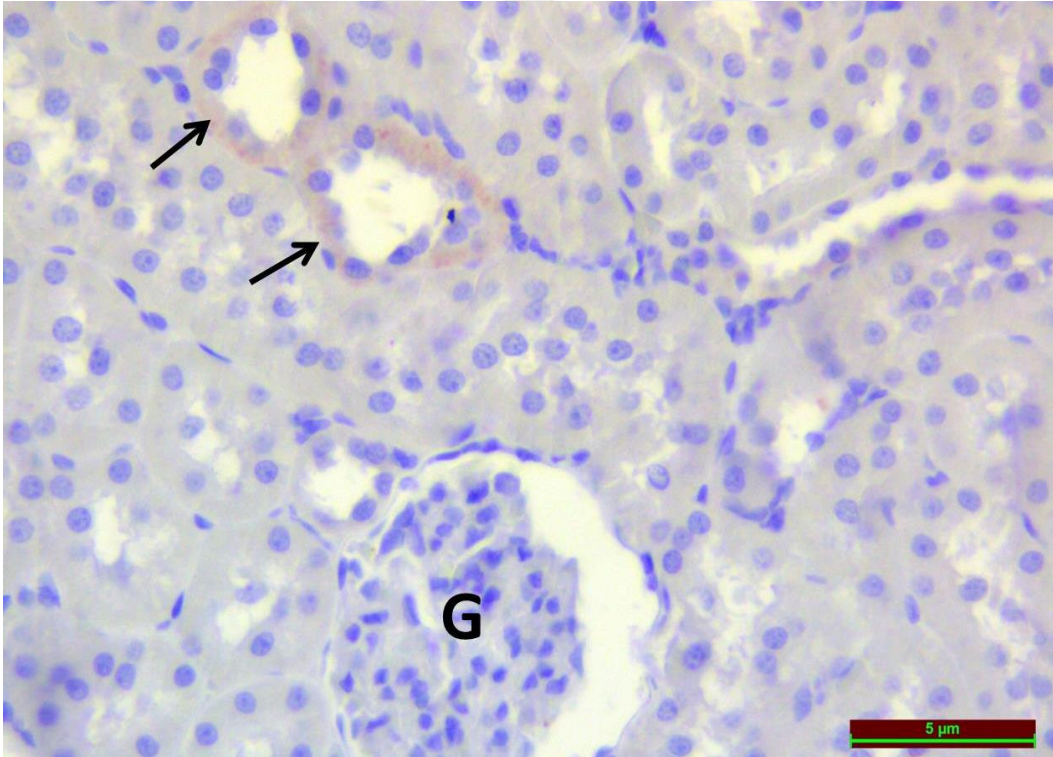
Şekil 17. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).



Şekil 18. Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).



Şekil 19. FA grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).

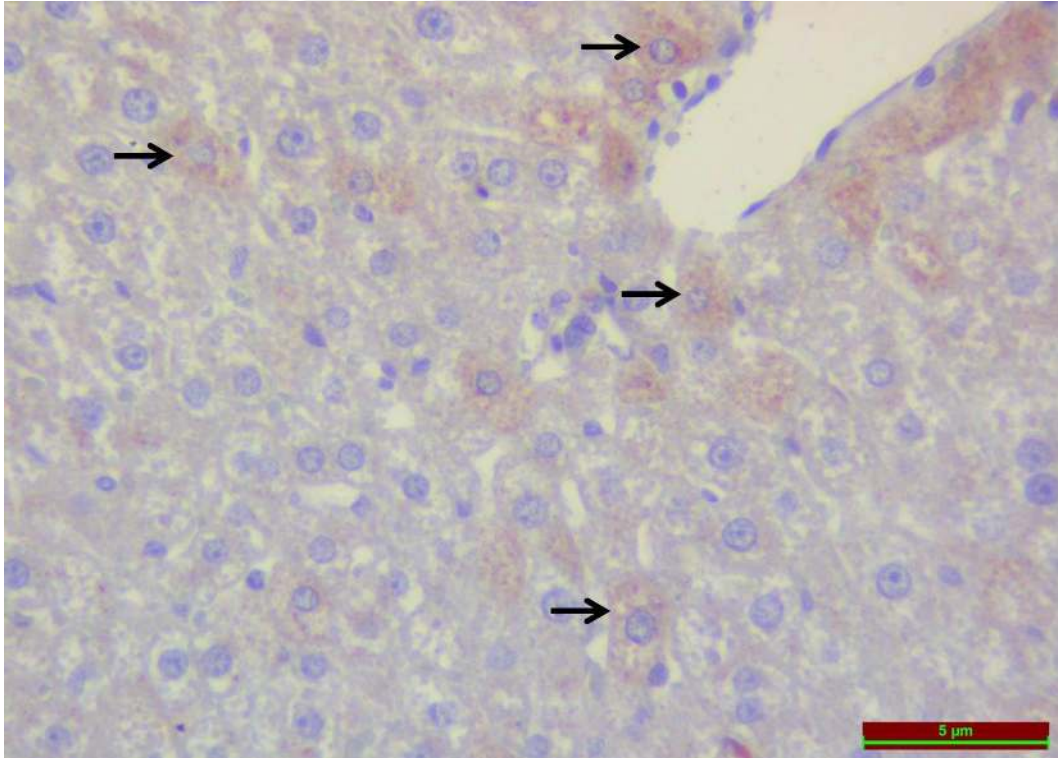


Şekil 20. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→). Glomerulus (G).

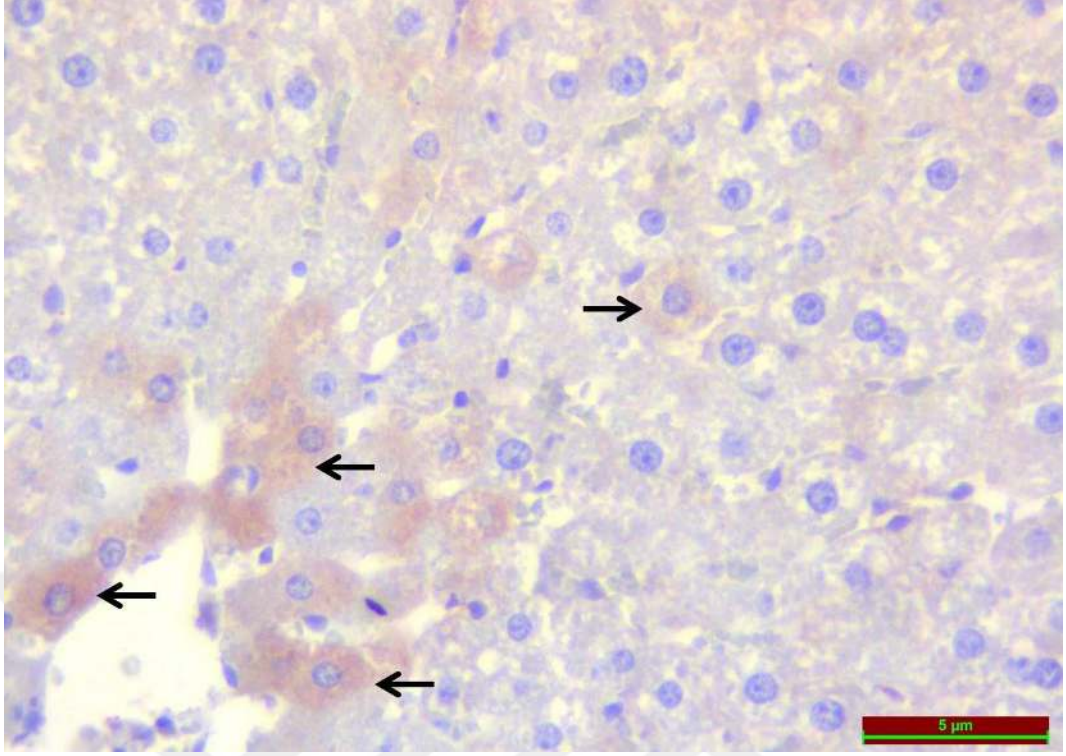
5.4.2.2. Karaciğer Dokusu

TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi karaciğer dokusunda hepatositlerin sitoplazmalarında (siyah ok) gözlemlendi.

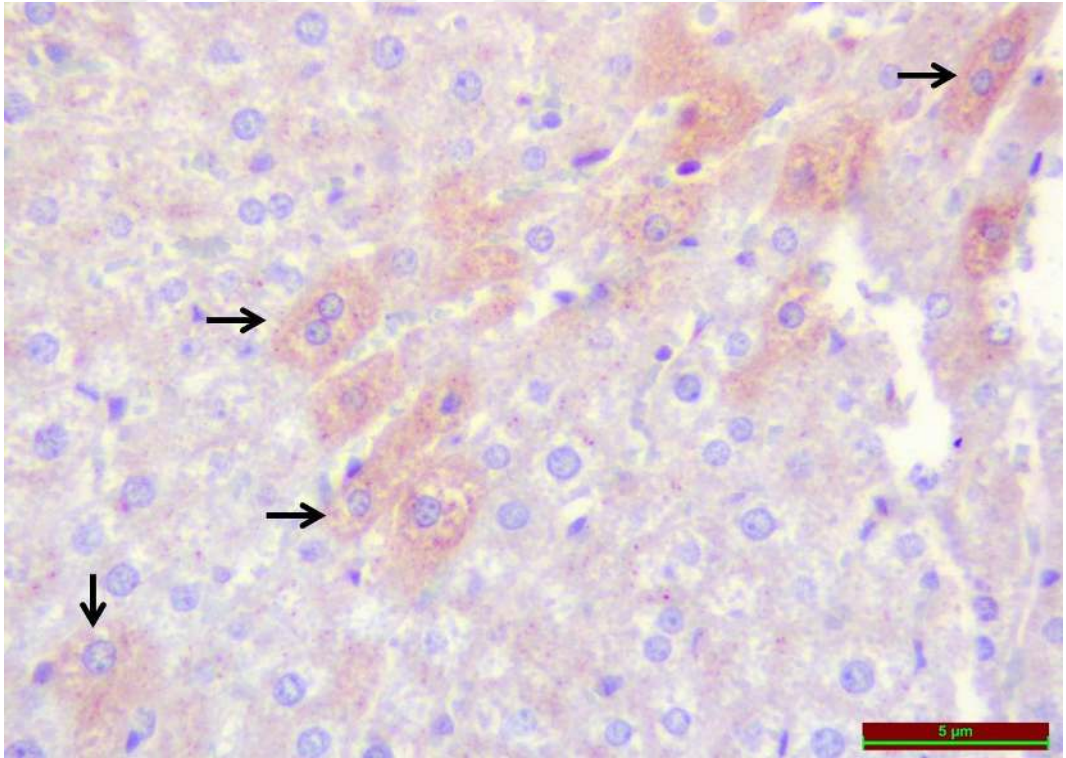
Karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi; kontrol (Şekil 21) ve karnozin (Şekil 22) gruplarında aynıydı. TRPM2 immünreaktivitesi FA grubunda (Şekil 23) anlamlı bir şekilde artmış bulundu. FA+Karnozin grubunda (Şekil 24) ise TRPM2 immünreaktivitesinin belirgin olarak azaldığı gözlemlendi (Tablo 9).



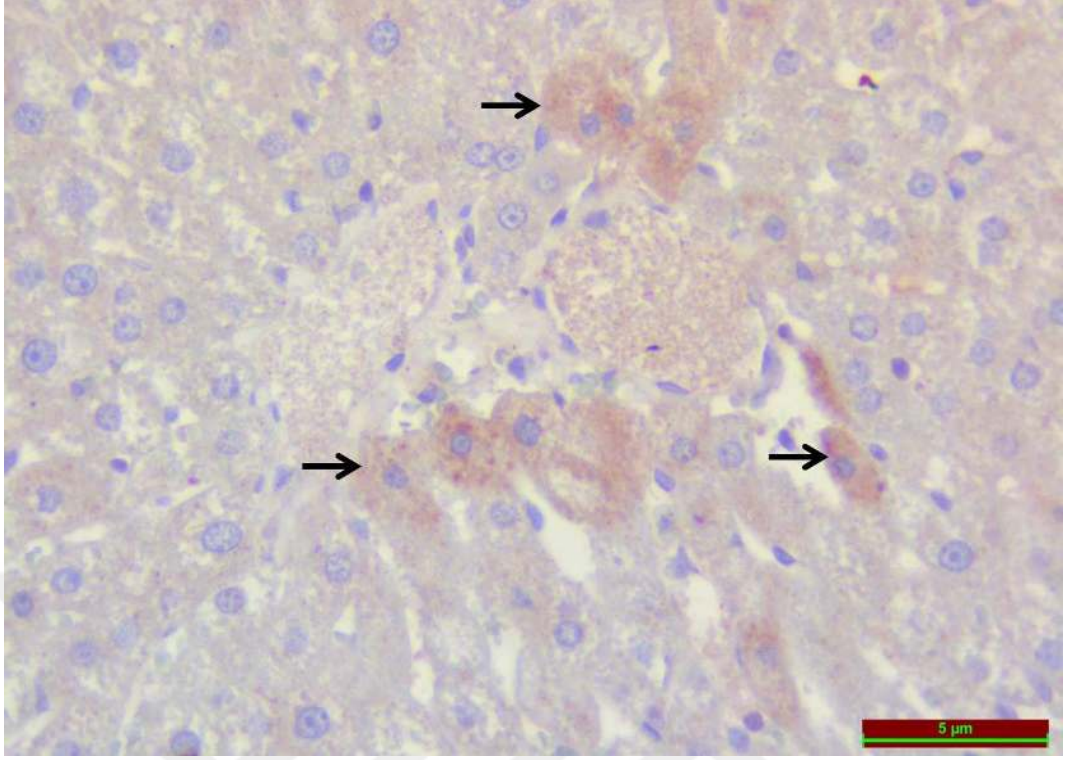
Şekil 21. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).



Şekil 22. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).



Şekil 23. FA grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).



Şekil 24. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi (→).

Tablo 9. TRPM2 histoskor.

TRPM2 Histoskor	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Böbrek	0.67±0.18	0.65±0.31	2.40±0.46 ^a	0.71±0.28 ^b
Karaciğer	0.55±0.07	0.60±0.25	2.15±0.64 ^a	0.75±0.35 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

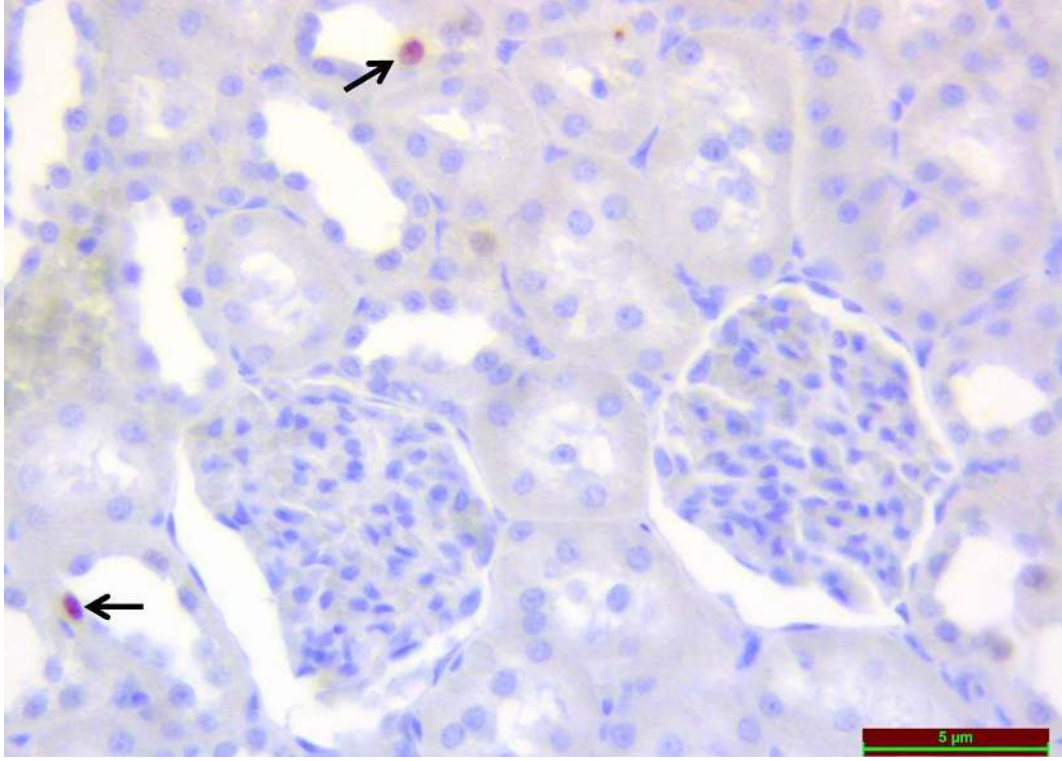
^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.4.3. TUNEL Bulguları

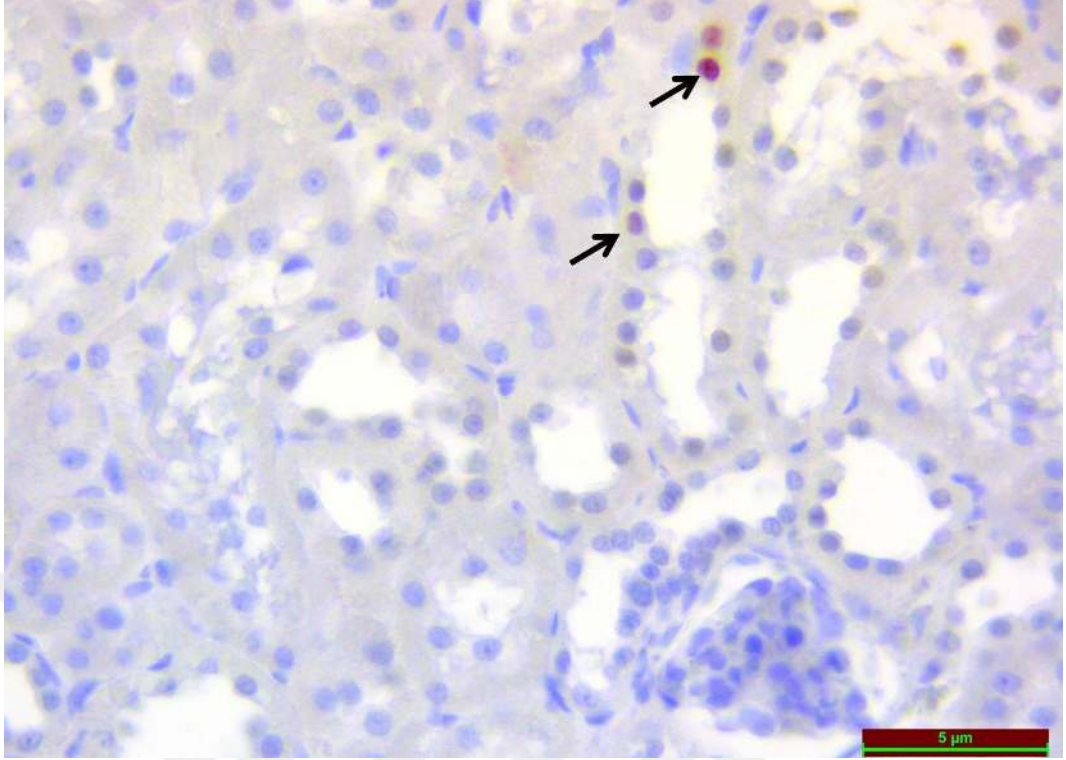
5.4.3.1. Böbrek Dokusu

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrekte tübül hücrelerinde (siyak ok) gözlemlendi. Böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği; Kontrol

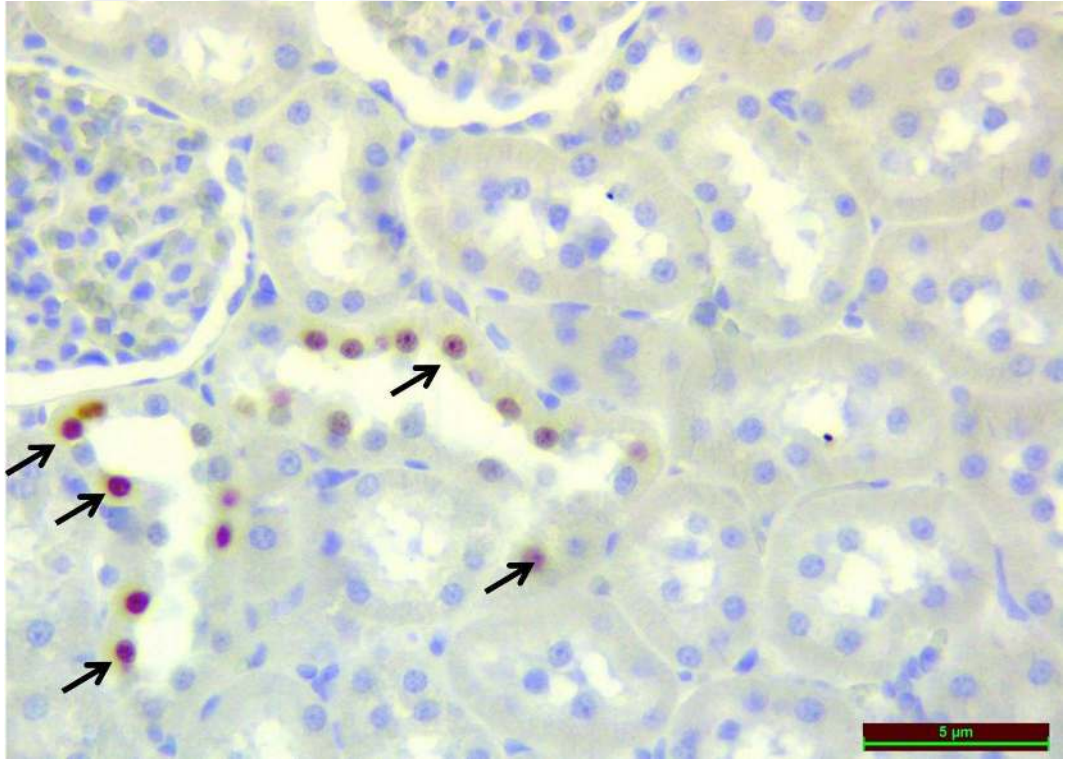
(Şekil 25) ve karnozin (Şekil 26) gruplarında fark yoktu. FA TUNEL pozitifliği anlamlı bir şekilde artırırken (Şekil 27), karnozinin artan TUNEL pozitifliği anlamlı olarak azalttığı ve kontrol değerlerine taşıdığı izlendi (Şekil 28).



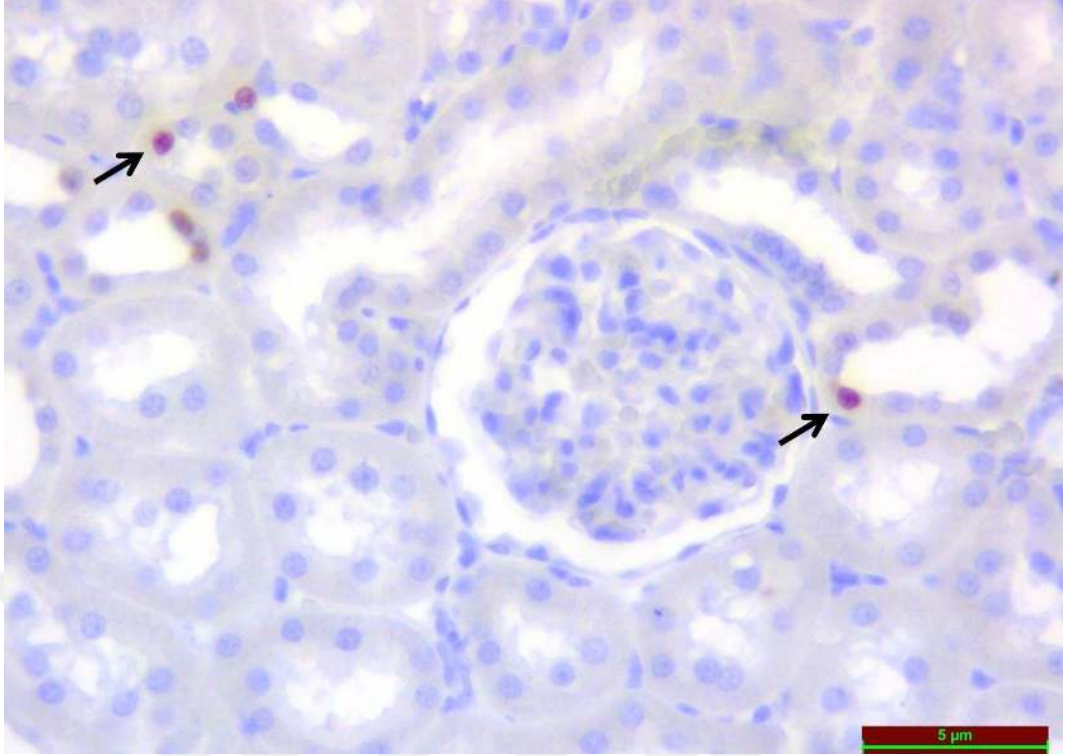
Şekil 25. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



Şekil 26. Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



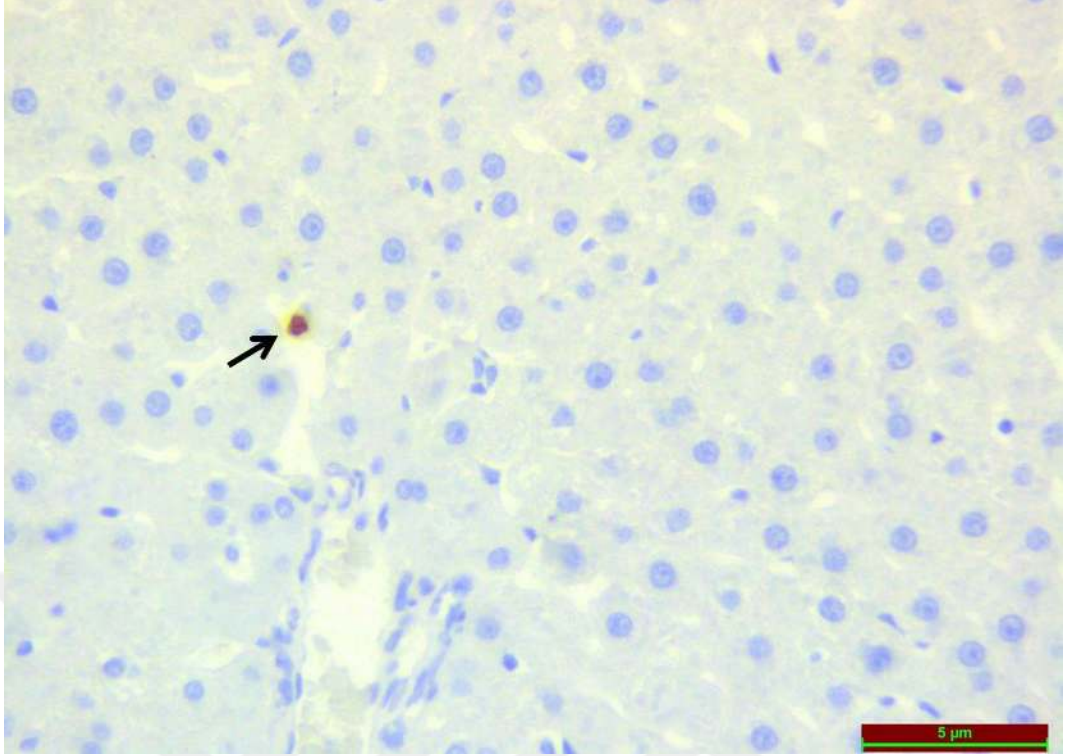
Şekil 27. FA grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



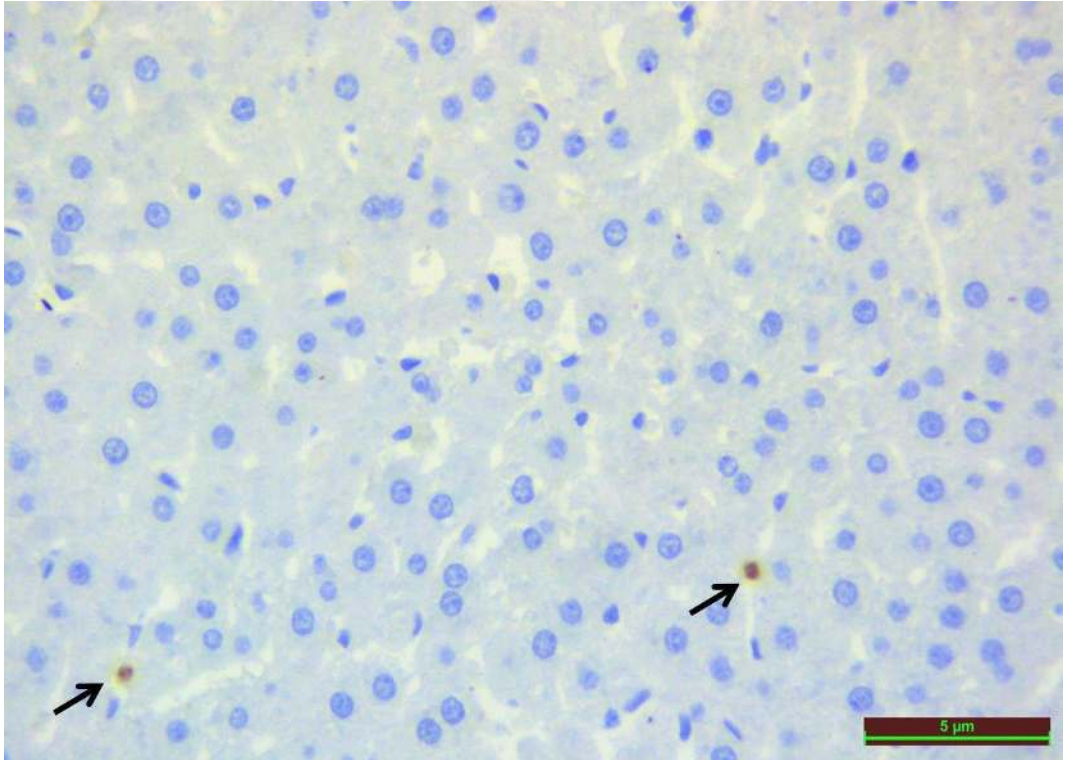
Şekil 28. FA+Karnozin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği (→).

5.4.3.2. Karaciğer Dokusu

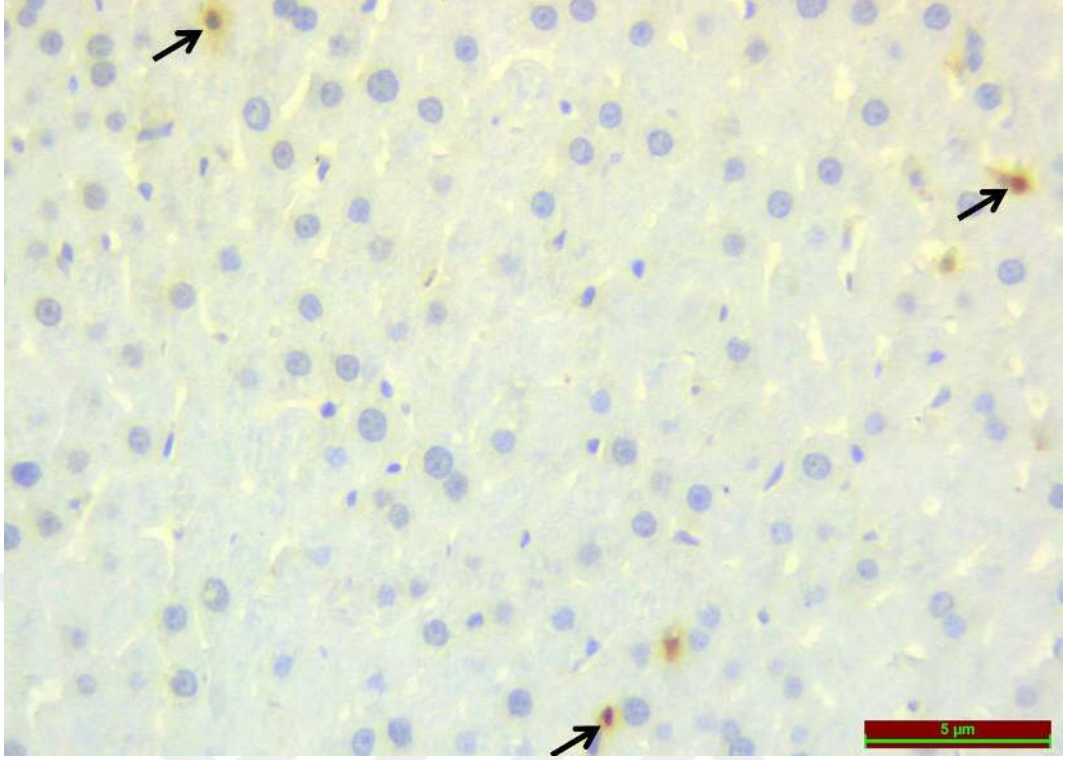
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskop altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği karaciğer dokusunda sinüzoidal hücrelerde (siyak ok) görüldü. Karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği; Kontrol (Şekil 29) ve karnozin (Şekil 30) gruplarında aynıydı. TUNEL pozitifliği FA grubunda (Şekil 31) anlamlı bir şekilde artmış bulundu. FA+Karnozin grubunda (Şekil 32) ise belirgin olarak azaldığı ve kontrole yakın olduğu izlendi (Tablo 10).



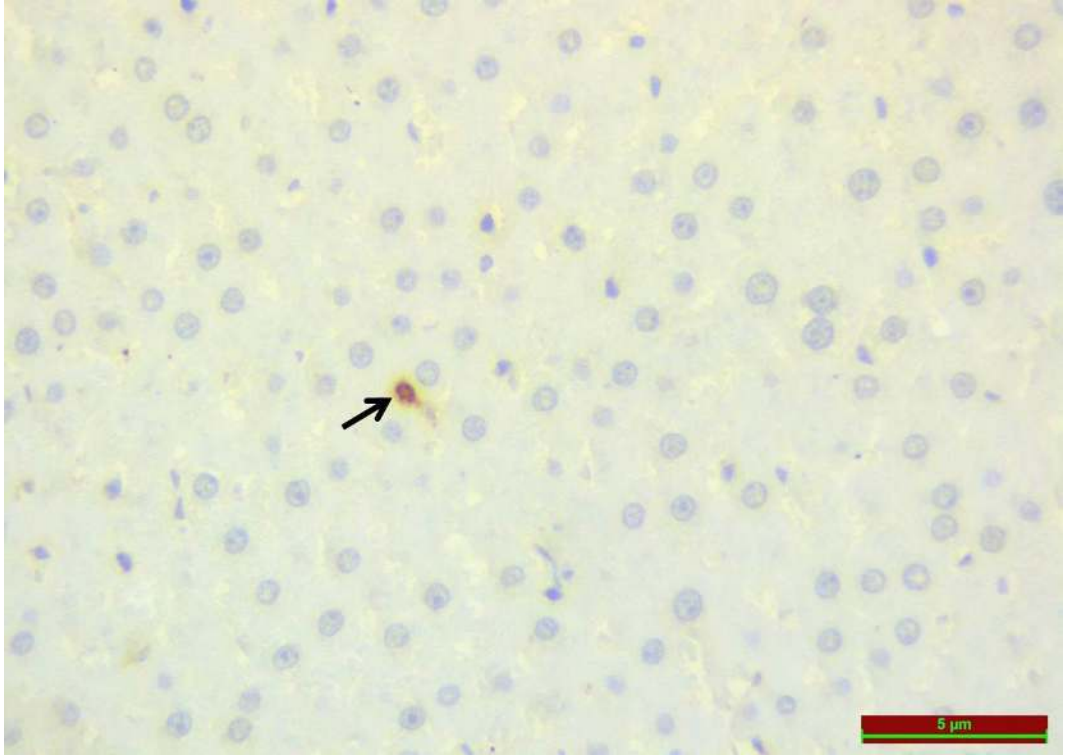
Şekil 29. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



Şekil 30. Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



Şekil 31. FA grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).



Şekil 32. FA+Karnozin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği (→).

Tablo 10. Apoptotik indeks (%).

Apoptotik İndeks (%)	Kontrol	Karnozin	FA	FA+Karnozin
Böbrek	2.83±0.75	2.66±1.63	11.00±1.89 ^a	3.16±1.83 ^b
Karaciğer	2.00±0.63	2.33±0.81	10.16±2.56 ^a	3.16±1.83 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Formaldehid grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

6. TARTIŞMA

Yılda 20 milyon tonun üzerinde küresel üretimi olan formaldehit (FA), genellikle solunum ve sindirim yoluyla vücuda alınmaktadır (89). Dünya sağlık örgütü insanların günlük FA maruziyetinin 1.5-14 mg/gün (ortalama 7.8 mg/gün) olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca yetişkin insanların 10.55 mg/gün oranında FA'ya maruz kaldığını, çocuklarda ise bu değerin daha düşük olduğunu bildirmiştir (90, 91).

FA maruziyeti salivasyona, dispneye, baş ağrısına, uykusuzluğa, davranış bozukluklarına, iştahsızlığa, duyuşal bozukluklara neden olmaktadır. Bunun yanında FA oksidatif hasara neden olmakta ve enerji metabolizmasını da bozmaktadır (26, 28, 32-34, 92, 93). FA maruziyetinin zararlı etkilerini tamamen ortadan kaldırmak ya da azaltmak önemlidir.

Çalışmamızda formaldehitin ve karnozinin oksidatif stres ile aktifleşebilen hücre zarı iyon kanallarından TRPM2 kanallarındaki aktivasyonu nasıl değiştirdiği, formaldehitin karaciğerde oluşturduğu hasara karşı karnozinin bilinen yararlı etkisinin böbrekler içinde geçerli olup olmadığı araştırıldı. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokuları ile kanda, lipit metabolizması düzenleyicisi olan betatrofin seviyesinin karnozin verilmesi sonucu değişimi araştırıldı.

Formaldehite maruz bırakılan çalışmamız sıçanlarında tüylerde sararma, nefes almada zorluk ve artış, sık sık burun temizleme, gözlerin yaşarması, aşırı göz kırpması ve yalanma da artış gibi klinik bulgular tespit edildi. Yapılan pek çok çalışmanın bulguları da bizim bulgularımızla örtüşmektedir (77, 94). Tüylerdeki sararma dışındaki klinik bulgulara FA'nın irritatif özelliğinin sebep olduğu

kanaatindeyiz. Bu klinik bulguların FA+karnozin verilen sıçanlarda azaldığı görüldü. Aydın ve arkadaşları (77) tarafından 2015 yılında yapılan benzer bir çalışmada, farklı gruptaki sıçanlar düşük (5 ppm), orta (10 ppm) ve yüksek (15 ppm) doz FA'ya maruz bırakılmış ve tedavi amaçlı karnozin uygulanmıştır. Düşük ve orta doz FA'ya maruz bırakılan sıçanlarda, karnozin uygulamasının klinik bulguları kısmen engellediği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar bulgularımızı destekler niteliktedir.

Karnozinin pek çok yararlı etkisi bildirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda, karnozinin oksidatif stresi baskılayan, antioksidan sistemi uyaran, hücre membranını koruyan, pH'yı tamponlayan, aldehytler ve süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikaller, singlet oksijen ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere ROS temizleme özelliklerine sahip olan bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (75, 76, 95-100). Ayrıca karnozinin yara iyileşmesini hızlandırdığı, hücre bölünmesini arttırdığı, kültüre edilen hücrelerin yaşam süresini uzattığı da bildirilmiştir (66, 67, 101). Çalışmamız sıçanlarında görülen sık sık burun temizleme, tüy sararması gibi klinik bulgularda azalmanın, karnozinin bilinen bu yararlı etkilerinin bir sonucu olduğu kanısına varıldı.

Çalışmamızda FA'ya maruz kalan sıçanların tüylerinin 5. günden itibaren sararmaya başladığı görüldü. Karnozin uygulamasının tüylerde görülen bu sararmayı azalttığı tespit edildi. Daha önce yapılan çalışmalarda FA maruziyeti sonucu tüylerde sararma olduğu bildirilmiş ve bu sararmanın tüylerin yapısında bulunan "kynurenine" adı verilen proteinin solunum havasındaki FA ile tepkimeye girmesi sonucu oluştuğu ileri sürülmüştür (94, 102, 103). Yıldız ve Göze (104), FA'yı deri altına uyguladıkları çalışmalarında, tüylerdeki sararmanın sadece

uygulama bölgesinde olduğunu ve bunun da tüylere temas eden FA'dan kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Aydın ve arkadaşları (77) ise yakın zamanda yaptıkları çalışmada sıçanlarda tüy sararmasının FA ile ilişkili olduğunu, ancak bu sararmanın kynurenine'den kaynaklanmadığını, FA'nın neden olduğu metabolik olaylar sonunda meydana gelen amonyak ve keton varlığında sarı renk veren 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoludin'e dönüşmesinden meydana gelmiş olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Organizmanın yaşamını devam ettirebilmesi oksidan ve antioksidan dengenin sağlanması ile olur (105). Organizmada normal biyolojik süreçlerde ya da zararlı bir dış etki sonucu oksidan ve antioksidan dengenin bozulması serbest radikallerin artmasına sebep olur. Serbest radikallerin artması sonucu oksidatif stres oluşur. Deney hayvanlarında yapılan çok sayıda çalışmada FA'nın, oksidan ve antioksidan dengeyi bozarak serbest radikallerin artmasına neden olduğu ve böylece oksidatif hasar oluşturduğu ve tedavi olarak uygulanan bazı antioksidanların bu hasarı azalttığı rapor edilmiştir (32-34, 106). Çalışmamızda FA'ya maruz kalan sıçanların kanlarında, böbrek ve karaciğer dokularında TOS ve TAS ölçümleri yapılarak oksidatif stres varlığı araştırıldı. FA'ya maruz kalan sıçanların kanlarında, böbrek ve karaciğer dokularında TOS düzeyleri artarken, TAS düzeylerinin azaldığı tespit edildi. Yapılan benzer çalışmalarda bulgularımızı destekler nitelikte FA'nın TAS seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir (77, 92, 107). SOD ve GSH-Px, ROS'un zararlı etkilerine karşı dokuların korunmasından sorumlu olan antioksidan savunma sistemindeki en önemli enzimlerdir (108). Zararsız ve arkadaşları yaptıkları iki farklı çalışmada (32, 33), sıçanlara uygulanan FA'nın böbrek dokularında SOD ve GSH-Px düzeylerini önemli ölçüde azalttığını

bildirmişlerdir. SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerindeki azalmanın düşük TAS seviyelerinin nedeni olduğu düşünüldü. Çalışmamızda FA+karnozin grubundaki TAS seviyeleri, sadece FA verilen sıçan değerlerine kıyasla yüksekti. Bu bulgumuz ile paralel şekilde, Aydın ve arkadaşları (77) benzer kurguladıkları çalışmalarında, FA'ya maruz bıraktıkları sıçanlara verdikleri karnozinin düşen TAS seviyelerini yükselttiğini rapor etmişlerdir.

Karnozin, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerini değiştirerek, organizmanın yaşamının devamı için gerekli olan oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulmasını önlemektedir (109, 110). Aydın ve arkadaşları (75) bir ay boyunca her gün karnozin tedavisi uyguladıkları yaşlı sıçanlarda SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde sıçanlara 6 hafta süresince karnozin desteği uygulayan Kim ve arkadaşları (98), deney sonunda SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin yükseldiğini belirlemişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise domuzlara verilen karnozinin SOD, GSH-Px ve katalaz enzim aktivitelerini arttırdığı rapor edilmiştir (99). Çalışmamız tedavi grubundaki TAS artışının da mevcut raporlarla uyumlu şekilde karnozinden kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

TUNEL metodu ile apoptotik hücrelerin belirlenmesi amacıyla böbrek ve karaciğer dokuları incelendi. Çalışmamızda FA'ya maruz bırakılan sıçanların böbrek ve karaciğer dokularında apoptotik hücrelerin (TUNEL pozitifliğinin) arttığı tespit edildi. Daha önce yapılan pek çok çalışmada da FA'nın çeşitli dokularda apoptozise neden olduğu bildirilmiştir. Sapmaz ve arkadaşları (111) FA maruziyetinin sıçan trakea epitel hücrelerinde apoptozise neden olduğunu göstermişlerdir. Wu ve arkadaşları (112) gebe farelere uygulanan FA'nın

kardiyomiyositlerde belirgin apopitozise neden olduğunu rapor etmişlerdir. Zararsız ve arkadaşları (113) ise FA maruziyetinin sıçan prefrontal korteks hücrelerinde apoptozise sebep olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamız sıçanlarında karnozin uygulamasının apoptotik hücre sayısını (TUNEL pozitifliğini) azalttığı görüldü.

Apoptozisin önlenmesinde karnozinin etkinliği çeşitli dokular üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir. Rield ve arkadaşları (114) diyabetik sıçanlara tedavi olarak verdikleri karnozinin glomerüler apoptozisi önlediğini göstermişlerdir. Xie ve arkadaşları (115) beyin hasarı oluşturulan sıçanlarda tedavi olarak verilen karnozinin nöronal apoptozisi belirgin şekilde zayıflatıldığını rapor etmişlerdir. Aydın ve arkadaşları (100) ise yaşlanma modeli oluşturulan sıçanlarda karnozinin beyinde apoptozis gelişimini önlediğini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonuçları ile uyumlu şekilde, karnozin tedavisi uyguladığımız FA'ya maruz bırakılan ratlarda, gerek karaciğer gerekse böbrek dokularında apoptotik hücre sayısı sadece FA'ya maruz bırakılan hayvanlara kıyasla anlamlı şekilde düşüktü ve kontrol değerlerine yakındı.

Betatrofin, 2004 yılında keşfedilen, ANGPTL8, lipasin ya da RIFL olarak da adlandırılan, lipit ve glikoz metabolizmasını düzenleyen peptit bir hormondur (80, 85). Çalışmamızda betatrofinin böbrek ve karaciğer dokuları ile kanlardaki seviyeleri incelendi. Böbrek ve karaciğer dokuları ile kanlarda FA maruziyeti ile betatrofin seviyelerinin azaldığı karnozin suplementasyonu ile arttığı görüldü. Çalışmamızda FA'ya maruz kalan sıçanların kilo kaybettiği, karnozin suplementasyonu ile kilo artışı olduğu tespit edildi. Aydın ve arkadaşları (77) FA maruziyetinin iştah kaybına neden olduğunu bu nedenle sıçanların az yem

tükettiğini ve dolayısı ile yetersiz beslenmeye bağlı olarak sıçanların kilo kaybettiklerini ileri sürmüşlerdir. Betatrofin seviyesi açlık ile azaldığı için beslenme yoluyla düzenlenir. Yapılan çalışmalarda üç ay boyunca yüksek yağlı diyet uygulanan sıçanlarda, betatrofin seviyesinin belirgin şekilde arttığı, 24 ve 48 saat aç bırakılan sıçanlarda ise betatrofin seviyesinin dramatik bir şekilde düştüğü bildirilmiştir (80, 83). Çalışmamızda FA maruziyeti ile betatrofin seviyesinin düşmesinin yetersiz beslenmeden kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Böbrek ve karaciğer dokularında hücre zarı iyon kanallarından TRPM2 kanallarındaki immünreaktivitenin belirlenmesi çalışmamızın önemli hedeflerindendi. FA intoksikasyonunun böbrek ve karaciğer dokularında TRPM2 kanallarında immünreaktivite artışına yol açtığı, karnozin suplementasyonu ile artan bu immünreaktivitenin önlendiği belirlendi. Daha önce yapılan çalışmalarda TRPM2 kanallarındaki aktivasyonun oksidatif stres ile aktifleştiği ve tedavi olarak verilen selenyum, melatonin ve curcumin gibi antioksidanların bu aktivasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir (116-120). Ayrıca TRPM2 kanallarındaki aktivasyonu bazı antioksidanların (C ve E vitaminleri) ise inhibe etmediği gösterilmiştir (121). FA maruziyetinin oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. FA'nın oksidatif strese neden olarak TRPM2 kanallarını aktifleştirdiği ve tedavi olarak verilen karnozinin ise oksidatif stresi baskılayarak TRPM2 kanallarındaki immünreaktiviteyi azalttığı düşüncesindeyiz.

FA maruziyetinin oluşturduğu oksidatif hasarı ortadan kaldırmak ya da minimuma indirebilmek için pek çok antioksidan ve gül yağı, çörek otu yağı, omega-3 yağ asitleri gibi maddeler çalışılmış ve koruyucu etkileri rapor edilmiştir. Aydın ve arkadaşları (77) FA maruziyetinin karaciğer ve akciğer dokularında hasar

oluşturduğunu, tedavi olarak uygulanan karnozinin bu hasarı yok etmede aracı olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda böbrek ve karaciğer dokularında FA maruziyeti ile oluşan hasarı karnozinin büyük ölçüde ortadan kaldırdığı gösterildi. Böylece formaldehitin karaciğer ve akciğerde oluşturduğu hasara karşı karnozinin bilinen yararlı etkisinin, böbrekler içinde geçerli olduğu ilk kez bu çalışma ile gösterilmiş oldu.

Sonuç olarak; FA maruziyeti böbrek ve karaciğer dokularında ciddi hasarlara yol açmaktadır. Dahası, FA maruziyeti böbrek ve karaciğer dokuları ile kanlarda betatropin konsantrasyonlarının düşmesine, TUNEL pozitifliğinin artmasına, TOS seviyelerinin yükselmesine, TAS seviyelerinin düşmesine sebep olurken, oksidatif strese neden olarak TRPM2 kanallarını da aktive etmektedir.

Karnozin, FA maruziyetinin neden olduğu zararlı etkileri büyük oranda önlemektedir. Hülasa, FA maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı tedavi olarak verilen karnozin oksidatif stresi baskılayarak bu hasarı ortadan kaldırmaktadır.

Gelecekte daha ileri ve kapsamlı çalışmalarla elde edilecek bulgular sonucunda, özellikle işi gereği formaldehite yoğun olarak maruz kalan bireylerde FA'nın zararlı etkilerinden korunmak amacı ile karnozinin tek başına ya da diğer antioksidanlarla kombine olarak kullanım alanı bulabileceği düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Canbilen A, Sezen Ş, Avunduk MC, Çon NE. Formaldehit ve toksik etkileri. Genel Tıp Dergisi 1999; 9: 33-39.
2. Smith AE. Formaldehyde. Occup Med (Lond) 1992; 42: 83-88.
3. The Perspective. <http://www.theperspective.org/formaldehyde.html> 01.09.2017.
4. Formaldehyde Council Report. Air toxics, formaldehyde and risk characterization. <http://www.formaldehyde.org> 01.09.2017.
5. Fedarel Panel on Formaldehyde: Report of the Federal Panel on Formaldehyde. Environ Health Perspect 1982; 43: 139-145.
6. Feron VJ, Til HP, Vrijer F, *et al.* Aldehydes: occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. Mutat Res 1991; 259: 363-385.
7. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Formaldehyde Sampling of FEMA Temporary-Housing Trailers http://www.atsdr.cdc.gov/substances/formaldehyde/pdfs/revised_formaldehyde_report_1007.pdf 01.09.2017
8. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 88. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2006.
9. Formaldehyde. Denmark: WHO Regional Office for Europe http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf 01.09.2017
10. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. Envir Toxicol Pharmacol 2002; 11: 93-100.
11. Walker JF. Formaldehit. 3. Baskı, New York: Reinhold, 1964.
12. Zararsız İ, Kuş İ, Yılmaz HR, Köse E, Sarsılmaz M. Deneysel formaldehit toksisitesi sonucu hipokampusta oluşan doku hasarına karşı omega-3 yağ asitlerinin antioksidan etkileri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi 2008; 22: 59-64.
13. Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N *ve ark.* Formaldehit maruziyeti sonucu sıçan akciğerinde oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi: ışık mikroskopik ve biyokimyasal çalışma. Van Tıp Dergisi 2004; 11: 105-112.

14. Kaden DA, Mandin C, Nielsen GD Wolkoff P. Formaldehyde. In: World Health Organization. WHO Guidelines For Indoor Air Quality: Selected Pollutants. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe 2010; 103-156.
15. Shaham J, Bomstein Y, Meltzer A, *et al.* DNA--protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde--in vitro and in vivo studies. *Carcinogenesis* 1996; 17: 121-125.
16. Schlink K, Janssen K, Nitzsche S, *et al.* Activity of O6-methylguanine DNA methyltransferase in mononuclear blood cells of formaldehyde-exposed medical students. *Arch Toxicol* 1999; 73: 15-21.
17. Naya M, Nakanishi J. Risk assessment of formaldehyde for the general population in Japan. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005; 43: 232-248.
18. Uchiyama S, Matsushima E, Tokunaga H, Otsubo Y, Ando M. Determination of orthophthalaldehyde in air using 2,4-dinitrophenylhydrazine-impregnated silica cartridge and high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 2006;1116:165-171.
19. Lino-dos-Santos-Franco A, Amemiya RM, Oliveira AP, *et al.* The putative role of ovary removal and progesterone when considering the effect of formaldehyde exposure on lung inflammation induced by ovalbumin. *Clinics (Sao Paulo)* 2013; 68: 1528-1536.
20. Lino-dos-Santos-Franco A, Amemiya RM, Ligeiro de Oliveira AP, *et al.* Differential effects of female sex hormones on cellular recruitment and tracheal reactivity after formaldehyde exposure. *Toxicol Lett* 2011; 205: 327-335.
21. Kriebel D, Myers D, Cheng M, Woskie S, Cocanour B. Shortterm effect of formaldehyde on peak expiratory flow and irritant symptoms. *Arch Environ Health* 2001; 56, 11-18.
22. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Arch Environ Health* 2001; 56: 300-311.
23. Collins JJ, Ness R, Tyl RW, *et al.* A review of adverse pregnancy outcomes and formaldehyde exposure inhuman and animal studies. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001; 34: 17-34.
24. Malek FA, Möritz KU, Fanghanel J. A study on the effect of inhalative formaldehyde exposure on water labyrinth test performance in rats. *Ann Anat* 2003; 185: 277-285.
25. Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC, Husmark I. An examination of factors that could affect choice reaction time in histology technicians. *Am J Ind Med* 1989; 15: 679-686.
26. Sarsilmaz M, Kaplan S, Songur A, *et al.* Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study. *Brain Res* 2007; 1145:157-167.

27. Aslan H, Songur A, Tunc AT, *et al.* Effects of formaldehyde exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: ahistopathological and stereological study. *Brain Res* 2006; 1122: 191-200.
28. Liu T, Bai XT. Effect of formaldehyde on energy metabolism in postnatal rat cortex neurons in culture. *Wei Sheng Yan Jiu* 2005; 34: 275-277.
29. Franklin P, Dingle P, Stick S. Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1757-1759.
30. Bakar E, Uluçam E, Cerkezkayabekir A. Protective effects of proanthocyanidin and vitamin E against toxic effects of formaldehyde in kidney tissue. *Biotech Histochem.* 2015; 90: 69-78.
31. Yılmaz HR, Özen OA, Songur A *ve ark.* Subkronik formaldehit inhalasyonunun sıçanlarda bazı böbrek enzim aktivitetlerine etkisi. *Van Tıp Dergisi* 2002; 9: 1-5.
32. Zararsız I, Sarsılmaz M, Tas U, *et al.* Protective effect of melatonin against formaldehyde-induced kidney damage in rats. *Toxicol Ind Health* 2007; 23: 573-579.
33. Zararsız I, Sonmez MF, Yılmaz HR, *et al.* Effects of ω -3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats. *Toxicol Ind Health* 2006; 22: 223-229.
34. İnci M, Zararsız I, Davarcı M, Görür S. Toxic effects of formaldehyde on the urinary system. *Türk J Urol* 2013; 39: 48-52.
35. Madjene LC, Pons M, Danelli L, *et al.* Mast cells in renal inflammation and fibrosis: Lessons learnt from animal studies. *Mol Immunol* 2015; 63: 86-93.
36. Holdsworth SR, Summers SA. Role of Mast Cells in Progressive Renal Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 2254-2261.
37. Ertuğrul T, Çiftci G, Tütüncü Ş. Formaldehite maruz kalmış ratlarda böbrek dokusunda mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi. *Vet Hekim Der Derg* 2017; 88: 26-37.
38. Boj JR, Marco I, Cortés O, Canalda C. The acute nephrotoxicity of systemically administered formaldehyde in rats. *Eur J Paediatr Dent* 2003; 4: 16-20
39. Shimizu K, Sugita M, Yokote R, *et al.* Intestinal edema caused by ingested formalin. *Chudoku Kenkyu.* 2003; 16: 447-451.
40. Roldán J, Frauca C, Dueñas A. Alcohol intoxication. *Anales Sist Sanit Navar* 2003; 26: 129-139.

41. Coggon D, Ntani G, Harris EC, Palmer KT. Upper airway cancer, myeloid leukemia, and other cancers in a cohort of British chemical workers exposed to formaldehyde. *Am J Epidemiol* 2014; 179: 1301-1311.
42. Zararsız İ, Sarsılmaz M, Sönmez MF ve ark. Kadavra tespitinde kullanılan formaldehitin sıçan karaciğerinde oluşturduğu hasar ve buna omega-3 yağ asitlerinin etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10: 103-107.
43. Beall JR, Ulsamer AG. Formaldehyde and hepatotoxicity. *J Toxicol Environ Health* 1984; 14: 1-21.
44. Moore KL, Persaud TVN, Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H, Yıldırım M. (Çeviren). Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2008.
45. Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Alfa Basım Yayım Dağıtım, 1992.
46. Gartner PL, Hiatt JL. Hücre Biyolojisi ve Histolojisi. Hürdağ C. (Çeviren). İstanbul: Tıp Kitabevi, 2016.
47. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley R. Temel Histoloji. Solakoğlu S. (Çeviren). Nobel Tıp Kitabevi, 2015.
48. Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 5.Baskı, 1. Cilt, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2014.
49. Gökmen GF. Sistemik Anatomi. İzmir Güven Kitabevi, İzmir, 2003.
50. Sargon FS. Anatomi Akıl Notları. Güneş Tıp Kitabevi Ankara, 2016.
51. Yıldırım M. Resimli Sistemik Anatomi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2013.
52. Sancak B, Cumhuriyet M. Fonksiyonel Anatomi (Baş Boyun ve İç Organlar). 8. Baskı, Ankara, ODTÜ Yayıncılık, 2014.
53. Schünke M, Schulte E, Schumacher U. Prometheus Anatomi Atlası. Yıldırım M, Marur T (Çeviren). 2. Baskı, Ankara: Palme Yayınları, 2015.
54. Nishida M, Hara Y, Inoue R, Mori Y. TRP channels: formation of signal complex and regulation of cellular functions. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2003; 121: 223-232.
55. Hecquet CM, Malik AB. Role of H₂O₂-activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 619-625.
56. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, et al. LTRPC2 Ca²⁺-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.

57. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, *et al.* Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 2002; 277: 23150-23156.
58. Janos Z, Krishnamurti D. *Oxidative Stress and Disease 10 Nutrients and Cell Signaling*. Taylor & Francis, Los Angeles, California, 2005.
59. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 2004; 35: 159-169.
60. Eşrefoğlu M. Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System: Review. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; 29: 1660-1676.
61. Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and proantioxidants network: an overview. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 1677-1694.
62. Noguchi N, Watanabe A, Shi H. Diverse functions of antioxidants. *Free Radic Res* 2000; 33: 809-817.
63. Gulewitsch W, Amiradzibi S. Ueber das carnosin, eine neue organische base des fleischextractes. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft* 1990; 33: 1902-1903.
64. Budzen S, Rymaszewska J. The biological role of carnosine and its possible applications in medicine. *Adv Clin Exp Med* 2013; 22: 739-744.
65. Brownson C, Hipkiss AR. Carnosine reacts with a glycated protein. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1564-1570.
66. Bakardijev A, Bauer K. Biosynthesis, release and uptake of carnosine in primary cultures. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 65: 779-782.
67. Boldyrev AA. Carnosine: new concept for the function of an old molecule. *Biochemistry (Mosc)* 2012; 77: 313-326.
68. Aldini G, Orioli M, Rossoni G, *et al.* The carbonyl scavenger carnosine ameliorates dyslipidaemia and renal function in Zucker obese rats. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 1339-1354.
69. Stvolinsky SL, Kukley ML, Dobrota D, *et al.* Carnosine: an endogenous neuroprotector in the ischemic brain. *Cell Mol Neurobiol* 1999; 19: 45-56.
70. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, *et al.* Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 474: 261-267.
71. Son DO, Satsu H, Kiso Y, Totsuka M, Shimizu M. Inhibitory effect of carnosine on interleukin-8 in intestinal epithelial cells through translational regulation. *Cytokine* 2008; 43: 265-276.

72. Aldini G, Facino RF, Beretta G, Carini M. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: From structural studies to therapeutic perspectives. *Biofactors* 2005; 24: 77-87.
73. Boldyrev AA. Protection of proteins from oxidative stress: a new illusion or a novel strategy? *Ann NY Acad Sci* 2005; 1057: 193-205.
74. Calabrese V, Coombrita C, Guagliano E, *et al.* Protective effect of carnosine during nitrosative stress in astroglial cell cultures. *Neurochem Res* 2005; 30: 797-807.
75. Aydin FA, Küçükgergin C, Özdemirler-Erata G, Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of carnosine treatment on prooxidant-antioxidant balance in liver, heart and brain tissues of male aged rats. *Biogerontology* 2010; 11: 103-109.
76. Liu WH, Liu TC, Yin MC. Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1503-1509.
77. Aydin S, Ogeturk M, Kuloglu T, Kavakli A, Aydin S. Effect of carnosine supplementation on apoptosis and irisin, total oxidant and antioxidants levels in the serum, liver and lung tissues in rats exposed to formaldehyde inhalation. *Peptides* 2015; 64: 14-23.
78. Dong XY, Pang XW, Yu ST, *et al.* Identification of genes differentially expressed in human hepatocellular carcinoma by a modified suppression subtractive hybridization method. *Int J Cancer*. 2004; 112: 239-248.
79. Quagliarini F, Wang Y, Kozlitina J, *et al.* Atypical angiopoietin-like protein that regulates ANGPTL3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109: 19751-19756.
80. Zhang R. Lipasin, a novel nutritionally-regulated liver-enriched factor that regulates serum triglyceride levels. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 424: 786-792.
81. Ren G, Kim JY, Smas CM. Identification of RIFL, a novel adipocyte-enriched insulin target gene with a role in lipid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012; 303: 334-351.
82. Yi P, Park JS, Melton DA. Betatrophin: a hormone that controls pancreatic β cell proliferation. *Cell* 2013; 153: 747-758.
83. Zhang R, Abou-Samra AB. Emerging roles of lipasin as a critical lipid regulator. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 432: 401-405.
84. Fu Z, Yao F, Abou-Samra AB, Zhang R. Lipasin, thermoregulated in brown fat, is a novel but atypical member of the angiopoietin-like protein family. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430: 1126-1131.

85. Fu Z, Berhane F, Fite A, *et al.* Elevated circulating lipasin/betatrophin in human type 2 diabetes and obesity. *Sci Rep.* 2014; 4: 5013.
86. Gusarova V, Alexa CA, Na E, *et al.* ANGPTL8/betatrophin does not control pancreatic beta cell expansion. *Cell.* 2014; 159: 691-696.
87. Cox AR, Lam CJ, Bonnyman CW, *et al.* Angiopoietin-like protein 8 (ANGPTL8)/betatrophin overexpression does not increase beta cell proliferation in mice. *Diabetologia.* 2015; 58: 1523-1531.
88. Wang Y, Quagliarini F, Gusarova V, *et al.* Mice lacking ANGPTL8 (Betatrophin) manifest disrupted triglyceride metabolism without impaired glucose homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110: 16109-16114.
89. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. A Review of Human Carcinogens. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, No. 100 F. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2012.
90. World Health Organization. Formaldehyde: environmental health criteria 89, International Programme on Chemical Safety, Geneva, 1989. “www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehcnumerical/en”. 1.10.2017.
91. Goyal S, Abuwala T, Joshi K, *et al.* The Clinical, Radiographic and Histological evaluation of three different concentrations of Formocresol as apulpotomy agent. *J Int Oral Health* 2014; 6: 118-125.
92. Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl* 2006; 8: 584–588.
93. Gulec M, Gurel A, Armutcu F. Vitamin E protects against oxidative damage caused by formaldehyde in the liver and plasma of rats. *Mol Cell Biochem* 2006; 290: 61–67.
94. Sarsılmaz M, Özen OA, Akpolat N, Kuş İ, Songur A. Subakut dönemde solunan formaldehitin sıçanların Leydig hücreleri üzerindeki histopatolojik etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 1999; 13: 37-40.
95. Evran B, Karpuzoğlu H, Develi S, *et al.* Effects of carnosine on prooxidant-antioxidant status in heart tissue, plasma and erythrocytes of rats with isoproterenol-induced myocardial infarction. *Pharmacol Rep* 2014; 66: 81-86.
96. Giriş M, Doğru-Abbasoğlu S, Kumral A, *et al.* Effect of carnosine alone or combined with α -tocopherol on hepatic steatosis and oxidative stress in fructose-induced insulin-resistant rats. *J Physiol Biochem* 2014; 70: 385-395.

97. Zhang H, Guo S, Zhang L, *et al.* Treatment with carnosine reduces hypoxia-ischemia brain damage in a neonatal rat model. *Eur J Pharmacol* 2014; 727: 174-180.
98. Kim MY, Kim EJ, Kim YN, Choi C, Lee BH. Effects of α -lipoic acid and L-carnosine supplementation on antioxidant activities and lipid profiles in rats. *Nutr Res Pract* 2011; 5: 421–428.
99. Ma XY, Jiang ZY, Lin YC, Zheng CT, Zhou GL. Dietary supplementation with carnosine improves antioxidant capacity and meat quality of finishing pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2010; 94: 286–95.
100. Aydın AF, Çoban J, Doğan-Ekici I, *et al.* Carnosine and taurine treatments diminished brain oxidative stress and apoptosis in D-galactose aging model. *Metab Brain Dis* 2016; 31: 337-345.
101. Shao L, Li QH, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324: 931-936.
102. Wilmer JW, Woutersen RA, Appelman LM, Leeman WR, Feron VJ. Subacute (4-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *J Appl Toxicol* 1987; 7: 15-16.
103. Wilmer JW, Woutersen RA, Appelman LM, Leeman WR, Feron VJ. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *Toxicol Lett* 1989; 47: 287-293.
104. Yıldız E, Göze F. Kemelerde formaldehitin kemik iliği, deri, dalak, karaciğer, akciğer ve böbrek üzerine etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Türk Patoloji Derg* 1997; 13: 57-59.
105. Aly HA, Domenech O, Abdelnaim AB. Aroclor 1254 impairs spermatogenesis and induces oxidative stress in rat testicular mitochondria. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1733–1738.
106. Pompella A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67: 289-297.
107. Razi M, Malekinejad H, Sayrafi R. Adverse effects of long-time exposure to formaldehyde vapour on testicular tissue and sperm parameters in rats. *Vet Res Forum* 2013; 4: 213-219.
108. Arian DC, Bakan V, Kurutas EB, Sayar H, Coskun A. Protective effects of tadalafil on ischemia/reperfusion injury of rat ovary. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 2203–2209.
109. Noori S, Mahboob T. Antioxidant effect of carnosine pretreatment on cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *Indian J Clin Biochem* 2010; 25: 86-91.

110. Kang JH, Kim KS, Choi SY, *et al.* Protective effects of carnosine, homocarnosine and anserine against peroxy radical-mediated Cu, Zn-superoxide dismutase modification. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1570: 89-96.
111. Sapmaz E, Sapmaz HI, Vardi N, *et al.* Harmful effects of formaldehyde and possible protective effect of *nigella sativa* on the trachea of rats. *Niger J Clin Pract* 2017; 20: 523-529.
112. Wu D, Jiang Z, Gong B, *et al.* Vitamin E reversed apoptosis of cardiomyocytes induced by exposure to high dose formaldehyde during mice pregnancy. *Int Heart J* 2017; 58: 769-777.
113. Zararsiz I, Kus I, Ogeturk M, *et al.* Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study. *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 413-418.
114. Riedl E, Pfister F, Braunagel M, *et al.* Carnosine prevents apoptosis of glomerular cells and podocyte loss in STZ diabetic rats. *Cell Physiol Biochem* 2011; 28: 279-288.
115. Xie RX, Li DW, Liu XC, *et al.* Carnosine Attenuates Brain Oxidative Stress and Apoptosis After Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Neurochem Res* 2017; 42: 541-551.
116. Perraud AL, Fleig A, Dunn CA, *et al.* ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature* 2001; 411: 595-599.
117. Sano Y, Inamura K, Miyake A, *et al.* Immunocyte Ca²⁺ influx system mediated by LTRPC2. *Science* 2001; 293: 1327-1330.
118. Kheradpezhoh E, Barritt GJ, Rychkov GY. Curcumin inhibits activation of TRPM2 channels in rat hepatocytes. *Redox Biol* 2016; 7: 1-7.
119. Celik O, Naziroglu M. Melatonin modulates apoptosis and TRPM2 channels in transfected cells activated by oxidative stress. *Physiol Behav* 2012; 107: 458-465.
120. Naziroglu M, Ozgöl C, Küçükayaz M, *et al.* Selenium modulates oxidative stress-induced TRPM2 cation channel currents in transfected Chinese hamster ovary cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2013; 112: 96-102.
121. Naziroglu M, Lückhoff A. Effects of antioxidants on calcium influx through TRPM2 channels in transfected cells activated by hydrogen peroxide. *J Neurol Sci* 2008; 270: 152-158.

8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Kütahya’da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi Kütahya’da tamamladım. 2012 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 2013 yılında Araştırma Görevlisi olarak atandığım Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında 2014 yılında doktora eğitimime başladım.

Evli ve bir çocuk babasıyım.

