

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBE RATLARDA FORMALDEHİT
MARUZİYETİNİN FETUSLARIN MORFOLOJİK
YAPILARI İLE KARACİĞER DOKUSUNUN
GELİŞİMİ ÜZERİNE ZARARLI ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI; CHRYSİN'İN MUHTEMEL
KORUYUCU ROLÜNÜN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Songül ÇUĞLAN
ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nihat EKİNCİ

MALATYA-2012

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBE RATLARDA FORMALDEHİT
MARUZİYETİNİN FETUSLARIN MORFOLOJİK
YAPILARI İLE KARACİĞER DOKUSUNUN
GELİŞİMİ ÜZERİNE ZARARLI ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI; CHRYSİN'İN MUHTEMEL
KORUYUCU ROLÜNÜN İNCELENMESİ**

Songül ÇUĞLAN

Prof. Dr. Nihat EKİNCİ

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi

Tarafından 2011/158 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2012

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı/Anatomi Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Aymelek ÇETİN



Üye

Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE



Üye

Yrd. Doç. Dr. Hilal SAPMAZ



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2012 tarih ve 2012/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sedat YILDIZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez sürecinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, hoşgörülü ve sabırlı hocam sayın Prof. Dr. Nihat EKİNCİ'ye teşekkürü bir borç bilirim. Bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, kişisel ve mesleki gelişimime katkıda bulunan Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE'ye, Yrd. Doç. Dr. Hilal IRMAK SAPMAZ'a ve Yrd. Doç. Dr. Aymelek ÇETİN'e teşekkür ederim. Tezimin biyokimyasal verilerine katkıda bulunan sayın Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e, histolojik çalışmalarına verdiği destek ve emek için sayın Prof. Dr. Nigar VARDI'ya ve istatistiksel verilerin hazırlanmasında emeği geçen sayın Doç. Dr. Cemil ÇOLAK ve Uzm. Dr. Harika GÖZÜKARA BAĞ'a teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm Anatomi ailesine teşekkür ederim.

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi'ne ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, sonsuz destek ve sevgilerini benden esirgemeyen anneme, babama, abilerime, yengeme ve hayatımın yeni rengi yeğenim Elif İpek'e teşekkür ederim.

SONGÜL ÇUĞLAN

ÖZET

Amaç: Deneysel olan bu çalışmada, gebelikte formaldehit maruziyetinin fetusların morfolojisi ve karaciğer gelişimi üzerindeki olası zararlı etkilerinin incelenmesi ve olası bu zararlı etkilere yönelik chrysin'in muhtemel koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında olan, erişkin 67 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. 67 adet dişi sıçan 7 gruba ayrıldıktan sonra gebelik oluşturulmaya çalışıldı. Gebe kalmayan 12 dişi sıçan deney dışı bırakıldı. Grup I'e intraperitoneal (i.p.) serum fizyolojik, Grup II'ye gavaj yolu ile 20 mg/kg chrysin (CH), Grup III'e i.p. yolla 0,1 mg/kg formaldehit (FA), Grup IV'e i.p. yolla 1 mg/kg FA, Grup V'e i.p. yolla 0,1 mg/kg FA ve gavaj yolu ile 20 mg/kg CH, Grup VI'ya i.p. yolla 1 mg/kg FA ve gavaj yolu ile 20 mg/kg CH ve Grup VII'ye gavaj yolu ile mısır yağı gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı uygulandı. Gebeliğin 20. günü sezeryan yapılarak fetuslar çıkarıldı. Fetusların morfolojik parametreleri (fetus ağırlığı ve karaciğer ağırlığı) incelendi. Karaciğer gelişimindeki etkilenmeyi belirlemek için histolojik boyamalar (Hematoksilen-Eozin ve Periyodik Asit-Schiff) ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Bulgular: FA uygulanan grupların fetus ağırlığı ve karaciğer ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma saptandı. Fetus karaciğerinde hem 0,1 mg/kg FA hem de 1 mg/kg FA grubunda megakaryosit sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi. 1 mg/kg FA grubunda ise histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Biyokimyasal olarak FA, glutatyon (GSH) düzeyini azalttı ve malondialdehit (MDA) düzeyini arttırdı.

Sonuç: Gebelikte düşük doz FA maruziyeti, oksidatif stres oluşturmak suretiyle fetusun morfolojik, histolojik ve biyokimyasal olarak olumsuz etkilenmesine sebep olur. CH ise morfolojik ve biyokimyasal parametrelerde antioksidan etki göstermekte ama histopatolojik değişiklikleri düzeltmekte yetersiz kalmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, Chrysin, Rat fetus, Morfolojik yapı, Karaciğer gelişimi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF HARMFUL EFFECTS OF FORMALDEHYDE ON THE FOETAL MORPHOLOGICAL STRUCTURE, LIVER DEVELOPMENT WHICH APPLIED TO PREGNANT RATS; THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF CHRYSIN AGAINST THESE DAMAGES.

Aim: We aimed in this experimental study to investigate for potentially harmful effects of formaldehyde exposure during pregnancy on the development of fetuses and liver morphology and to determine possible protective effect of chrysin to the harmful effects.

Material and Methods: 67 adult Wistar Albino genus male rats whose weights are between 200-250 gram were used in this study. 67 female rats were divided into 7 groups and attempted to create pregnancy. 12 non-pregnant rats were excluded from the study. We injected physiological saline to group I intraperitoneally (i.p.), 20 mg/kg chrysin (CH) to group II by gavage, 0,1 mg/kg formaldehyde (FA) to group III i.p., 1 mg/kg FA to group IV i.p., 0,1 mg/kg FA i.p. and 20 mg/kg CH by gavage to group V, 1 mg/kg FA i.p. and 20 mg/kg CH by gavage to group VI and corn oil to group VII by gavage between 7th and 20th day of pregnancy every other day. Fetuses were removed by cesarean section on 20th day of pregnancy. Morphological parameters (fetal weight and fetal liver weight) of fetuses examined. Histological staining and biochemical analyzes were performed to determine the development of the liver are affected or not.

Findings: Statistically significant decrease was found in liver weight and fetal weight in the group treated with FA. Statistically significant decrease was found on megakaryocyte number in the group treated with FA 0,1 and FA 1. Histopathological changes were observed in the group treated with FA 1. FA biochemically reduced the level of glutathione (GSH) and augmented the level of malondialdehyde(MDA).

Results: Exposure to low doses of formaldehyde during pregnancy causing oxidative stress in the fetus and causes morphological, histological and biochemical negative effects. Chrysin showed antioxidant effects on morphological and biochemical parameters but inadequate to correct histological changes.

Key words: Formaldehyde, Chrysin, Rat fetuses, Morphological structure, Development of liver.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
SEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLolar DİZİNİ.....	xviii
1) GİRİŞ.....	1
2) GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Formaldehit.....	3
2.1.1. Formaldehitin Kimyasal Özellikleri.....	3
2.1.2. Formaldehitin Metabolizması.....	3
2.1.3. Formaldehitin Kaynakları.....	3
2.1.4. Formaldehitin Kullanım Alanları.....	4
2.1.5. Formaldehitin Organizma Üzerine Etkileri.....	4
2.1.5.1. Formaldehitin Toksik Etkileri.....	5
2.1.5.2. Formaldehitin Karsinojenik Etkileri.....	6
2.1.5.3. Formaldehitin Genotoksik Etkileri.....	6

2.1.5.4. Formaldehitin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri.....	6
2.1.5.5. Formaldehitin Gebelik Üzerine Etkileri.....	7
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri	8
2.2.1. Serbest Radikaller.....	8
2.2.1.1. Serbest Radikallerin Etkileri.....	9
2.2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	9
2.2.2.1. Enzimatik (enzim yapısında olan) Antioksidanlar.....	10
2.2.2.1.1. Superoksit Dismutaz (SOD)	10
2.2.2.1.2. Katalaz (CAT)	10
2.2.2.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	10
2.2.2.2. Enzimatik olmayan (yapısında olmayan) antioksidanlar.....	11
2.2.2.2.1. Askorbik asit (vitamin C)	11
2.2.2.2.2. E vitamini (Alfa-Tokoferol)	11
2.2.2.2.3. Glutasyon (GSH)	11
2.2.2.3. Polifenolik Bileşikler.....	11
2.2.3. Oksidatif Stres ve Gebelik.....	11
2.2. Chrysin.....	12
2.2.1. Chrysin'in Özellikleri.....	12
2.2.2. Chrysin'in Metabolizması.....	13

2.2.3. Chrysin'in Etki Mekanizması.....	13
2.2.4. Chrysin'in İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	13
2.3. Fetusun Morfolojik Gelişimi.....	14
2.3.1. Sıçan Fetusunun Morfolojik Gelişimi.....	18
2.3.2. Fetal Gelişimi Etkileyen Faktörler.....	19
2.4. Karaciğer.....	19
2.4.1. Karaciğerin Embriyolojisi.....	19
2.4.2. Karaciğerin Anatomisi.....	20
2.4.2.1. Karaciğerin Lobları.....	22
2.4.2.2. Karaciğerin Ligamentleri (Bağları)	23
2.4.3. Karaciğerin Arterleri	23
2.4.4. Karaciğerin Venleri	23
2.4.5. Karaciğerin Sinirleri	24
2.4.6. Sıçan Karaciğer Anatomisi.....	24
2.4.7. Karaciğerin Histolojisi.....	24
2.4.8. Karaciğerin Fonksiyonları.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Deney Hayvanları.....	31
3.1.1. Deney Hayvanlarının Seçimi.....	31

3.1.2. Deney Hayvanlarının Bakımı.....	31
3.1.3. Deney Hayvanlarının Çiftleştirilmesi ve Gruplandırılması.....	31
3.1.4. Deney Gruplarına Yapılan Uygulamalar ve Uygulama Şekilleri.....	32
3.1.4.1. Uygulamaların Şekli ve Dozu.....	35
3.1.4.1.1. FA Uygulamalar.....	35
3.1.4.1.2. CH Uygulamaları.....	35
3.1.4.1.3. SF Uygulamaları.....	35
3.1.4.1.4. Mısır Yağı Uygulamaları.....	36
3.1.5. Biyokimyasal Analizler.....	36
3.1.6. Histolojik Uygulamalar.....	38
3.1.6.1. Boyama Metodları.....	39
3.2. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Morfolojik Bulgular.....	42
4.1.1. Fetusların Ağırlığı.....	44
4.1.2. Karaciğer Ağırlığı	45
4.1.3. Makroskobik Anomaliler	46
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	48
4.2.1. GSH Düzeyleri	48
4.2.2. GSH-Px Enzim Aktivite Düzeyleri.....	50
4.2.3. MDA Düzeyleri.....	51

4.2.4. CAT Enzim Aktivite Düzeyleri.....	52
4.2.5. SOD Enzim Aktivite Düzeyleri.....	53
4.3. Histolojik Bulgular.....	54
4.3.1. Kontrol, Yağ ve Chrysin Grupları.....	54
4.3.2. Formaldehit Grupları.....	58
4.3.3. Formaldehit+Chrysin grupları.....	62
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR.....	73
EKLER.....	93
EK. 1: Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı	
ÖZGEÇMİŞ.....	94

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a.	: Arteria
CAT	: Katalaz
CH	: Chrysin
FA	: Formaldehit
FDH	: Formaldehit dehidrogenaz enzimi
gr.	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
H-E	: Hematoksilen-Eozin
i.p.	: İntraperitoneal
Lig.	: Ligamentum
MDA	: Malondialdehid
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
n.	: Nervus
nn.	: Nervi
nm	: Nanometre
PAS	: Periyodik Asit Schiff
ppm	: Parts per million
rpm	: Revolutions per minute
SOD	: Superoksit Dismutaz

SF	: Serum fizyolojik
µm	: Mikrometre
v.	: Vena
vv.	: Venae
VS	: Vena centralis

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Chrysin'in kimyasal formülü.....	12
Şekil 2.2. Fertilizasyon'dan doğuma kadar malformasyon riski.....	16
Şekil 2.3. Gelişimin ilk 7 haftasında embriyonun günlük gelişimi.....	17
Şekil 2.4. Karaciğerin facies diaphragmatica'dan görünümü.....	21
Şekil 2.5. Karaciğerin facies visceralis'den görünümü.....	22
Şekil 2.6. Karaciğer lobüllerinin görünümü.....	25
Şekil 4.1. Gruplara ait fetus sayısı.....	42
Şekil 4.2. Gruplara ait fetus ağırlığı değerleri.....	44
Şekil 4.3 Gruplara ait fetus karaciğer ağırlığının değerleri	45
Şekil 4.4. FA 0,1+CH grubunda görülen boyunda şişlik görülen fetusun görünümü.....	46
Şekil 4.5. FA 0,1+CH grubundaki fetusta görülen hematoma.....	47
Şekil 4.6. Gruplara ait GSH düzeyleri.....	49
Şekil 4.7. Gruplara ait GSH-Px enzim aktivite düzeyleri.....	50
Şekil 4.8. Gruplara ait MDA düzeyleri.....	51
Şekil 4.9. Gruplara ait CAT enzim aktivite düzeyleri.....	52
Şekil 4.10. Gruplara ait SOD enzim aktivite düzeyleri.....	53
Şekil 4.11. Kontrol grubunda geniş bir vena sentralis (VS) etrafında izlenen hepatositler ve megakaryositler.....	55
Şekil 4.12. Yağ grubunda vena sentralis (VS) ve megakaryositlerin görünümü.....	55

Şekil 4.13. CH grubunda megakaryositler.....	56
Şekil 4.14. Kontrol grubunda ökromatik nükleuslu hepatositler arasında hematopoetik hücreler.....	56
Şekil 4.15. Kontrol grubunda PAS (+) boyanan hücrelerin görünümü.....	57
Şekil 4.16. Yağ grubunda PAS (+) boyanan hücreler arasında hematopoetik hücreler izlenmekte.....	57
Şekil 4.17. CH grubunda hepatositlerin görünümü.....	58
Şekil 4.18. FA-0,1 grubunda vena sentralis (VS) etrafında hepatositler arasında izlenen megakaryositler.....	58
Şekil 4.19. FA-0,1 grubunda hepatosit nükleusları izlenmekte.....	59
Şekil 4.20. FA-1 grubunda dejenere megakaryosit.....	59
Şekil 4.21. FA-1 grubunda hepatosit ve hematopoetik hücrelerin olmadığı alanlar ve dejenere megakaryosit.....	60
Şekil 4.22. FA-1 grubunda hepatositlerin farklı histolojik yapıları.....	60
Şekil 4.23. FA-0,1 grubunda PAS(+) boyanan hepatositler.....	61
Şekil 4.24. FA-1 grubunda hepatositlerin boyanma özellikleri, FA-0,1 grubuna benzer olarak izlenmekte.....	61
Şekil 4.25. FA-0,1+CH grubunda vena sentralis (VS) ve hepatositlerin görünümü.....	62
Şekil 4.26. FA-0,1+CH grubunda hepatosit nükleusları.....	63
Şekil 4.27. FA-1+CH grubunda hepatositlerin, hematopoetik hücrelerin ve megakaryositlerin görünümü.....	63

Şekil 4.28. FA-1+CH grubunda hepatosit nukleusları normal histolojik yapıda izlenmekte.....	64
Şekil 4.29. FA-0,1+CH grubunda PAS (+) boyanma.....	64
Şekil 4.30. FA-1+CH grubunda hepatositlerin boyanma özellikleri FA-0,1+CH grubuna benzemekte.....	65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Deney Planı, Gruplardaki Sıçan Sayısı, Gebe Kalmayan Sıçan Sayısı ve Gruplarda Kalan Gebe Sıçan Sayısı.....	32
Tablo 3.2. Deney grupları, Deneyde kullanılan FA'nın, CH'nin, SF'in ve mısır yağının dozları, uygulama süreleri.....	34
Tablo 3.3. Histolojik Doku Takibi.....	38
Tablo 3.4. Hematoksilen-Eozin ile Boyama Metodu.....	39
Tablo 3.5. Periyodik Asit-Schiff Boyama Metodu.....	40
Tablo 4.1. Gruplara ait fetus sayısı.....	42
Tablo 4.2. Gruplardaki fetusların morfolojik parametreleri.....	43
Tablo 4.3. Biyokimyasal parametrelerin ortanca, minimum ve maksimum değerleri.	48
Tablo 4.4. Grupların megakaryosit sayıları.....	65

1) GİRİŞ

Günümüzde formaldehit hayatımızın her alanında karşımıza çıkmaktadır. Tıp alanında genellikle dokuların hazırlanması, uzun süre saklanması amacıyla kullanılmaktadır. Günlük yaşantımızda ise saç ürünleri, diş macunu, şampuanlar, sabunlar ve makyaj ürünleri gibi birçok üründe kullanılmaktadır. Ayrıca elbiselerde buruşmayı önlemek, uzun süre ütü kalitesi sağlamak için ve küflenmeye karşı koruyucu etkisi nedeniyle kullanılmaktadır. Yapıştırıcı olarak üre-formaldehit içeren sıkıştırılmış tahtadan yapılmış yer döşemelerinde, dolap, dolap rafları, duvar ve tavan boyaları, mobilyalar gibi ev eşyalarında da bulunmaktadır. Formaldehitin organizma üzerinde toksik, genotoksik, karsinogenik etkileri bulunmaktadır. Üreme sistemi üzerine de zararlı etkileri bulunmaktadır. Formaldehitin gebelik üzerine de birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır. Formaldehit maruziyeti sonucunda gebelerde spontan abortus, preterm eylem ve düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riski artmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalarda ise yüksek doz formaldehit maruziyetinde meromelia, umbilikal herni, oligodaktili ve ensefalosel gibi anomalilere neden olduğu bulunmuştur.

Chrysin, doğal maddelerin bir parçası olan flavonoidlerin 4000'den fazla çeşidinden birisidir. İnsan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi bulunmaktadır. 5. ve 7. pozisyonlarında bulunan hidroksil grupları sayesinde güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda antienflamatuvar, antikanserojen ve antihipertansif özelliklerinin olduğunu gösteren birçok olumlu sonuçlar elde edilmiştir ancak gebelik üzerine etkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır.

Gebelik süresi insanlarda fertilizasyondan sonra 38 haftadır. Gelişimin ilk 8 haftası embriyogenez dönemidir. Bu haftadan doğuma kadar olan haftalara fetal dönem denilmektedir. Gebelik sürecinde çevresel faktörler ve maternal faktörler fetusun gelişimini etkilemektedirler. Özellikle gelişimin 3.-8. haftaları arası doku ve organ sistemlerinin oluştuğu dönem olduğu için embriyonun teratojenlerle karşılaşması büyük anomalilere sebep olabilmektedir. Annedeki diyabet, endokrin hastalıklar, obezite ve otoantikorlar anne kaynaklı faktörleri oluşturmaktadır. Su

kirliliği, hava kirliliği, gürültü, manyetik ortam ve kimyasal maddeler ise çevresel faktörlerin çoğunu oluşturmaktadır. Formaldehit de gebelik sırasında karşılaşılabilecek çevresel faktörlerden biridir.

Gebelikte formaldehit maruziyetinin fetus üzerine etkilerini gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte chrysin etkilerini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Gebelikte formaldehit maruziyeti sonucu fetusun morfolojik yapısı ile karaciğer dokusu gelişimi üzerine olası zararlı etkilerine yönelik chrysinin muhtemel koruyucu rolünü saptamak amacı ile bu çalışma planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Formaldehit

2.1.1. Formaldehitin Kimyasal Özellikleri

Formaldehitin (FA) saf olmayan formu Alman kimyager August Wilhem von Hofman tarafından 1867 yılında keşfedildi. 1892’de yine bir Alman kimyager olan Friedrich August Kekule' von Stradonitz ise saf formaldehiti izole etti (1). Yüzyılı aşkın bir süredir hayatın her alanında yaygın olarak kullanılan formaldehit, aldehit ailesinin önemli bir üyesidir. Oda sıcaklığında hızla gaz haline geçen, suda çok iyi çözünen, yanıcı, renksiz, keskin kokulu ve iritan bir gazdır. FA, elektrofilik özelliğiyle oldukça reaktif bir özelliğe sahiptir. Kimyasal formülü CH_2O olan FA, sıvı olarak metanolün oksidasyonundan elde edilir. Molekül ağırlığı 30.03 g/mol, kaynama noktası -19.1°C ve erime noktası -92°C ’dir. Polimerize olmuş katı haline paraformaldehit, %37’lik sıvı çözeltisine ise formalin denilmektedir. Sıvı formaldehitin miktarı mililitre (ml) olarak ifade edilirken, gaz hali ise parts per million (ppm) olarak ifade edilir (2-4).

2.1.2. Formaldehitin Metabolizması

FA, tüm memelilerde görülen normal bir metabolit olmakla birlikte vücutta pürinler, timidin ve bazı aminoasitlerin biyosentezi için gereklidir (5, 6). FA, dermal emilim, sindirim ve solunum yoluyla vücuda girebilmektedir (6). Vücuda alındıktan sonra karaciğer ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörlüğünde formik aside dönüşür. Enzim, kofaktör olarak glutatyon ve Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) kullanmaktadır (3, 5, 7). Vücuttan atılımı ise ya karbondioksit dönüşerek solunum yoluyla ya da formik aside dönüşerek idrar ve feçes yoluyla gerçekleşmektedir (6, 8).

2.1.3. Formaldehitin Kaynakları

FA, hem doğal kaynaklar hem de insan aktiviteleri tarafından üretilen kirlletici bir gazdır (9). İnsanlar da dahil olmak üzere pek çok yaşam formunda varolan

endojen bir kimyasaldır. Doğal olarak, hidrokarbonların oksidasyonu sonucunda troposferde de oluşmaktadır (10). Doğrudan veya dolaylı olarak çevreye giren formaldehitin çoğunu yanma süreçleri oluşturmaktadır. İmalat ve son kullanım ürün bileşenleri olarak büyük miktarlarda Amerika Birleşik Devletleri'nde ve daha az miktarlarda ise diğer ülkelerde üretilmektedir. Küçük miktarlarda bitkiler, hayvanlar ve insanlar tarafından da üretilmektedir (9).

2.1.4. Formaldehitin Kullanım Alanları

Organizmanın doğal yapısında bulunan FA, hayatın her alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. FA, proteinleri sertleştirip çürümelerini önlediğinden dolayı biyolojik örneklerin saklanması ve mumyacılıkta kullanılmaktadır. Tıp alanında bu özelliğinden faydalanılarak patoloji ve histoloji laboratuvarlarında dokuların hazırlanmasında, anatomi ise kadavranın tespiti ve uzun süre saklanması kullanılmaktadır (11). Ayrıca tıp alanında koruyucu olarak ilaçların içerisinde de kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde ise kaplamaların yapısında ve koruyucu olarak ilaçlar içerisinde kullanılmaktadır (11, 12). FA, dezenfektan özelliğinden dolayı hastanelerde dezenfektan olarak, günlük yaşamımızda ise tırnak ürünleri, gargara, makyaj ürünleri, losyonlar, deodorantlar, saç ürünleri, şampuanlar ve sabunları içeren pek çok kozmetik üründe antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılmaktadır (10).

Fenol-formaldehit reçineleri kontrplak, sunta, yalıtım, kumaş boyaları, yağlayıcılar, boyalar ve plastik maddelerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca mobilya malzemesi, duvar kaplaması, tahta ürünler, döşeme, halı malzemesi ve kağıt ürünleri yapımında da kullanılmaktadır (4, 13). Fuel oil, benzin, doğalgaz ve dizel ile çalışan araçların egzoz dumanı içerisinde de formaldehit bulunmaktadır. Hemodiyaliz ünitelerinde kullanılan solüsyonlar da formalin içermektedir (11) .

2.1.5. Formaldehitin Organizma Üzerine Etkileri

FA deri, solunum ve sindirim yoluyla vücuda girerek insan sağlığı üzerinde birçok olumsuzluğa neden olmaktadır. Toksik, karsinogenik etkilerinin yanı sıra gebelik ve üreme sistemi üzerine de olumsuz etkileri mevcuttur (14, 15).

2.1.5.1. Formaldehitin Toksik Etkileri

FA ilk olarak gözleri ve üst solunum yolunun müköz membranlarını etkilemektedir (4). İnsanlar koku ve göz tahrişine duyarlılıkları açısından farklıdır. FA'nın koku eşiği 0,8 ppm olmasına rağmen hassas (duyarlı) olan kişilerde bu sınır 0,1 ppm kadar düşük seviyelerde dahi algılanabilmektedir (16). FA 0,24 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda bile solunum yolu irritasyonuna neden olabilmektedir (17). 0,4–3 ppm arasındaki konsantrasyonlarda FA maruziyetinin en yaygın belirtileri; artan gözyaşıyla birlikte göz, burun ve boğaz irritasyonu, baş ağrısı, burun akıntısı ve nefes darlığıdır (2, 10). Akut, düşük doz FA maruziyetinin üst solunum yollarında inflamatuvar değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir (18). FA'nın düşük konsantrasyonlarda (% 0,1- % 1) tavşan korneasına verilmesi sonucunda retina ve görme sinirine zarar verdiği gösterilmiştir (19). Yüksek konsantrasyonlarda ise keskin bir kokuya sahip olmakla birlikte akciğerlerde, burunda ve gözde yakıcı bir hisse neden olabilmektedir (2, 10). 5-30 ppm gibi yüksek dozlarda FA maruziyetinden sonra alt solunum yollarında da inflamatuvar değişiklikler meydana geldiği gözlenmiştir (18). Özellikle çocukluk çağı astımı ile FA arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Çocukluk çağı astımı ile FA maruziyeti arasındaki ilişkiyi kapsayan bir meta-analiz çalışmasında pozitif bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (20).

FA'nın yiyeceklerle ve bazı gıdalardaki katkı maddesi olarak oral yolla vücuda alınımı mümkündür. Ayrıca gıda kaplarının sterilizasyonunda kullanımı ile bazı ambalaj materyallerinin bileşiminde yer alması sebebiyle de oral alınımı mümkün olmaktadır. Oral alımı takiben üst gastrointestinal sistemde lokal korozitif etki meydana getirmekte ve histopatolojik olarak gastrite neden olmaktadır (5, 21). Karın ağrısı, mide bulantısı ve şiddetli ishal gibi semptomlara neden olabilmektedir. Kanama, nekroz ve ardından perforasyon, şiddetli metabolik asidoz, dolaşım kollapse ortaya çıkabilmekte ve birkaç gün içerisinde ölümle sonuçlanabilmektedir (3, 11).

FA'nın sinir sistemi üzerinde de toksik etkileri bulunmaktadır. Akut etkilenmelerde uykusuzluk, baş ağrısı, iştahsızlık ve keyifsizlik gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (22, 23). Uzun süreli FA maruziyetinde ise geri dönüşümsüz nörotoksik etkiler ortaya çıkabilmektedir (24). Solunum yoluyla alınan FA'nın bellek

bozuklukları ve davranışsal bozukluklara neden olduğu gösterilmiş olup muhtemel nörotoksik olarak sınıflandırılmıştır (23, 25-27).

2.1.5.2. Formaldehitin Karsinojenik Etkileri

FA maruziyeti ve kanser arasındaki ilişkiyi saptamak için birçok epidemiyolojik araştırma yapılmıştır. FA'ya maruz kalan işçiler arasında yapılan kohort çalışmaları ve meta-analizlerde FA maruziyeti ile lösemi (özellikle myeloid lösemi) arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (28). FA sanayisinde çalışan 25,619 işçi arasında yapılan bir kohort çalışmasında nazofarinks kanseri ile FA maruziyeti arasında ilişki bulunmuş olup prostat, akciğer ve beyin kanserleri ile arasında ilişki bulunamamıştır (29). FA, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (10, 16).

2.1.5.3. Formaldehitin Genotoksik Etkileri

FA'nın genotoksik etkisi de bulunmaktadır. FA'nın genotoksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar, hem hücre tipine hem de doza bağlı olarak DNA'da birçok yapısal değişikliğe sebep olduğunu ortaya çıkarmıştır (5). Yapılan birçok in-vitro çalışmada insan kanı ve insan nazal epitel hücrelerini de içeren memeli hücrelerinin pekçok çeşidinde mutajenik ve genotoksik olduğu gösterilmiştir (30). FA'nın maruziyetinin hücrelerde DNA-protein çaprazına yol açarak DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir (31). Ayrıca FA, kardeş kromatit değişimi, mikronukleus, kromozom bozukluğu ve daha az ölçüde de gen mutasyonuna neden olmaktadır (32-35).

2.1.5.4. Formaldehitin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

FA'nın üreme sistemi üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır. FA'nın, her iki cinste de germinal hücrelere zarar verdiği ve fertilite problemlerine yol açtığı bildirilmiştir (36-39). Çalışma ortamında FA'ya (0,33 ppm) maruz kalan kadınlarda menstrüal bozuklukların 2,5 kat daha sık olduğu gösterilmiştir (37). Kadın doğurganlık oranları üzerine yapılan bir kohort çalışmada ise yüksek dozlarda FA'ya maruz kalma ile gecikmiş gebelik arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada endometriozis riski de bulunmuştur (38, 39). Deneysel çalışmalarda

FA'nın testisin morfolojik yapısını bozduğu ve serum testosteron seviyesini azalttığı gösterilmiştir (40). Ayrıca FA'nın sperm sayısı ve hareketliliğini azalttığı, anormal sperm oranında ise artışa neden olduğu ifade edilmiştir (41).

2.1.5.5. Formaldehitin Gebelik Üzerine Etkileri

FA'nın gebelik süreci üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çalışma ortamından dolayı FA'ya maruz kalan gebelerde spontan abortus, prematür doğum ve düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma risklerinin arttığı bildirilmiştir (38, 39, 42-44). Litvanya'da yapılan bir çalışmada, FA düzeyinin 2.4 mg/m^3 'ün üstünde olduğu bölgelerde konjenital kalp malformasyonu oranı artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (42). FA ile kontamine olmuş evde 1 tane anensefalili doğum defekti saptanmıştır (45). 2010 yılında sunulan bir vakada ise gebeliğin 20. haftasına kadar yapılan kontrollerde herhangi bir problem saptanmayan bir gebelikte, gebeliğin 26. haftasında (kazara) inhalasyon yolu ile yüksek dozda FA'ya maruz kalınmış ve 33. haftada yapılan kontrollerde fetal asit, displastik fetal böbrekler ile şiddetli oligohidramnios saptanmıştır (46).

Deneyisel bir çalışmada ise hamsterlara gebeliğin 8., 9., 10. ve 11. günleri formaldehit solüsyonu perkütan bir şekilde uygulanmış ve çalışmanın sonunda fetal ölümlerin arttığı bulunmuştur. Ayrıca fetus ağırlığı ve uzunluğunu etkilemediği görülmüş ve herhangi bir anomali saptanmamıştır (47). Sprague-Dawley sıçanlarla yapılan bir çalışmada ise gebeliğin 6. gününden 20. gününe kadar günde 6 saat boyunca 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, ve 40 ppm dozlarında inhalasyon yoluyla FA'ya maruz bırakılmışlardır. Çalışma boyunca embriyonik ve fetal ölüme rastlanmamıştır. Çalışmanın sonunda alınan fetusların ne dış ne iç organlarında ve ne de iskelet görünümünde herhangi bir anomali saptanmamıştır. Ayrıca fetusların vücut ağırlığı 20 ppm ve 40 ppm alan gruplarda önemli ölçüde düşmüş ve 40 ppm alan grupta ise kontrol grubuna göre % 20 azalma olduğu tespit edilmiştir (48). Yine sıçanlara inhalasyon yoluyla FA verilen başka bir çalışmada gebeliğin 6. gününden 15. gününe kadar 2 ppm, 5 ppm ve 10 ppm dozlarında FA'ya maruziyeti sonucunda; 5 ppm ve 10 ppm alan gruplarda hem pelvis kemiklerinde ossifikasyon merkezlerinin konsantrasyonunda azalma hem de fetus vücut ağırlığında azalma tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki her iki durum da fetus ağırlığının azalmasıyla birlikte bir batında

doğan yavru sayısının artması ile ilgili olduğu düşünülmüştür (49). Farelere ise gebeliğin 16. günü kuyruk venine enjeksiyon yolu ile tek doz radyoaktif ^{14}C -formaldehit verilmiştir. Fetal dokulardan FA ve metabolitlerinin eliminasyonunun maternal dokulardan daha yavaş olduğu gösterilmiştir (50). Ratlara tüm gebelik süresi boyunca her gün FA (0,5 mg/kg) verildiğinde karaciğerin enzim sistemi gelişiminde farklılık oluşturduğu gösterilmiştir (51). Yapılan derleme bir yayından ise embriyo ölümlerinin arttığı, anormal ossifikasyon merkezlerinin oluştuğu, kriptoorşidizm gibi fetal anomalilerin arttığı, askorbik asit konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur. Endoplazmik retikulum, mitokondri ve lizozom enzimlerinde anormalliklere neden olduğu bulunmuş ve bu değişiklikler doğumu takiben 4. aya kadar sürmüştür. Ayrıca demir eksikliğiyle birlikte artan metabolik asidoza neden olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada intraperitoneal enjeksiyon ve oral maruziyet karşılaştırıldığında intraperitoneal enjeksiyondan sonra pre-implantasyon ve post-implantasyon ölümlerinin iki kat arttığı bulunmuştur (36). Tavşanlar üzerine yapılan bir çalışmada ise gebeliğin tümü boyunca inhalasyon yoluyla FA uygulanmış ve gebelik boyunca spontan abortus ve fetal ölüm saptanmamıştır. FA'ya maruz kalan grupta umbilikal herni, kısa kuyruk, oligodaktili, ensefalosel ve meromelia gibi yenidoğan anomalileri saptanmıştır (52).

2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

2.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir (53). Bir veya daha fazla olan eşlenmeyen elektron nedeniyle molekül, çok kararsız haldedir. Diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde, dış orbitaldeki eşleşmemiş elektronun eşleşmesini ve daha kararlı hale gelmesini sağlamak için aktif bir yapı göstermektedir (54). Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikaller; oksijenli solunum metabolizması sonucu oluşan superoksit radikali, singlet oksijen, hidroksil radikali, peroksit radikali ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'i içeren oksijenin serbest radikalleridir (55, 56).

2.2.1.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin en önemli hedefleri lipid, protein ve DNA olmakla birlikte karbonhidrat ve enzim gibi bileşiklere de etki ederler (55, 57).

Lipidlere Etkileri: Hücre veya zarların lipit bileşenleri serbest radikallerin genellikle ilk karşılaştıkları yapılardır (55). Çoklu doymamış yağ asitleri hücre zarında bol miktarda bulunmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinmektedir (58).

Proteinlere Etkileri: Çoklu doymamış yağ asitlerine göre proteinler daha az etkilenirler. Serbest radikallerden etkilenme dereceleri amino asit bileşimine bağlı olmakla birlikte; serbest radikaller çok yoğun olmadığı takdirde proteinlere çok hasar verici değildirler (55).

DNA'ya Etkileri: Her türlü radyasyon hücrelerde serbest radikallerin oluşumuna sebep olur. Bunun sonucunda DNA üzerinde; DNA ayrılması, DNA protein çapraz bağlanımı, pürinlerin oksidasyonu gibi birtakım değişikliklere sebep olmaktadır. Bu durum hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanır. Sitotoksiste, büyük oranda, nükleik asit baz değişikliklerinden doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'nın yapısındaki diğer bozukluklara bağlıdır (59-61).

Karbonhidratlar Üzerine Etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri bulunmaktadır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Bunlar özellikle kronik hastalıkların patolojik süreçlerinde önemli rol oynamaktadırlar (54, 62).

2. 2. 2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türleri, aerobik organizmalarda sürekli olarak meydana gelmektedir. Oluşan bu serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır (63-65). Belirlenen ilk etkileri zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyonuna karşı koruma sağlamakla birlikte antioksidanlar, serbest radikallere karşı, toplayıcı, bastırıcı, zincir kırıcı ve onarıcı etki olmak üzere 4 şekilde etki etmektedirler (66, 67):

Antioksidanlar farklı şekilde sınıflandırılmaktadır (66):

- 1) Yapılarına göre;
 - a) Enzim karakterli antioksidanlar
 - b) Enzim karakterli olmayanlar, küçük moleküller.
- 2) Kaynaklarına göre;
 - a) Organizmaya ait olanlar (Endojen antioksidanlar)
 - b) Dışarıdan alınanlar (Eksojen antioksidanlar)
- 3) Çözünürlüklerine göre;
 - a) Suda çözünenler
 - b) Lipitte çözünenler
- 4) Yerleşimlerine göre;
 - a) Hücre içinde bulunanlar
 - b) Plazma ve diğer hücreler arası sıvıda bulunanlar

2.2.2.1. Enzimatik (enzim yapısında olan) Antioksidanlar

2.2.2.1.1. Superoksit Dismutaz (SOD)

Superoksit dismutaz enzimi, superoksit radikalının, H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Sonuçta hücre içindeki superoksit radikali seviyeleri azalır (54, 66). SOD enzimi, reaktif oksijen türlerine karşı primer bir antioksidandır (68).

2.3.2.1.2. Katalaz (CAT)

CAT enzimi, canlı organizmanın eritrosit, karaciğer, böbrek, kemik iliği ve çeşitli dokularında bol miktarda bulunan protein yapısında bir enzimdir. Hücreler için toksik olan H_2O_2 , katalaz enzimi aracılığıyla su ve oksijene parçalanır (68-70).

2.3.2.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px enzimi, vücudun bütün dokularında bulunmakla birlikte organlara göre farklı seviyelerde bulunur. Hücre içinde ise sitoplazma ve mitokondride çok miktarda bulunmaktadır. Lipid hidroperoksitleri veya H_2O_2 'i indirgeyen GSH-Px enzimi, serbest radikal oluşumunun azalmasını sağlar. Ayrıca H_2O_2 varlığında GSH'nin okside glutatyon (GSSH)'a yükseltgenmesini katalizler (54, 66, 71).

2.2.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.2.2.2.1. Askorbik asit (vitamin C)

Suda eriyebilen, özellikle yeşil renkli taze sebze ve meyvelerde bulunan vitamin C; superoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir (58, 72). Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları lipid peroksidasyonuna karşı korur (58).

2.2.2.2.2. E vitamini (Alfa-Tokoferol)

Hücre membran fosfolipidlerinde bulunan, poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ve ilk savunma hattını oluşturan çok güçlü bir antioksidandır. Ayrıca E vitamini, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinmektedir (54, 66, 73) .

2.2.2.2.3. Glutasyon (GSH)

Vücutta başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda bulunan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek, hücrenin fonksiyonel proteinlerini oksidan hasara karşı koruyan bir tripeptittir (66, 74, 75). Metabolik fonksiyonların yerine getirilmesinde, DNA sentezinde ve hasarlı DNA onarımında görev yapmaktadır. Ayrıca zararlı maddelerin inaktif hale getirilmesinde ve serbest radikallerin olası hasarının önlenmesinde de görev almaktadır (66, 74).

2.2.2.3. Polifenolik Bileşikler

Aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlı, güçlü antioksidan özelliği olan polifenoller; bitki dünyasında geniş olarak yer alan fitokimyasalların en geniş sınıflarından biridir (76-79). Besin fenolikleri flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik polimerler olmak üzere 3 sınıfa ayrılır (77).

2.2.3. Oksidatif Stres ve Gebelik

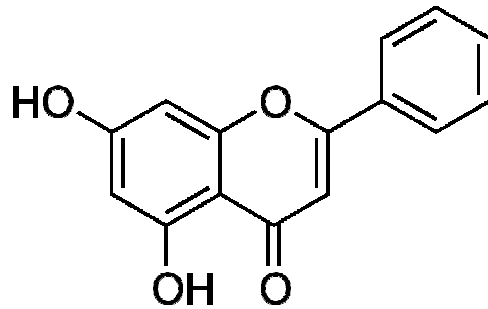
Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılma hızı arasında bir denge bulunmaktadır. Bu dengeye oksidatif denge denilmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızındaki değişiklik veya antioksidan sistemin serbest radikalleri kaldırma hızındaki değişiklik oksidatif

denge bozulmasına neden olmaktadır. Sonuçta serbest radikallerin yönünde artış durumuna oksidatif stres denilmektedir (80-82). Gebelik, büyüyen fetüse enerji sağlamak için oksijen gereksiniminin artmış olduğu fizyolojik bir süreçtir. Dolayısıyla gebelik sürecinde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri de artmaktadır. Bu dönemde antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması durumunda oksidatif denge bozulabilmektedir. Oksidatif dengenin bozulması da fetal büyümede azalmaya ve pre-eklemsi gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (83).

2.2. CHRYSİN

2.2.1. Chrysin'in Özellikleri

Değişken fenolik yapıları ile doğal maddelerin bir parçası olan flavonoidler; çay, çiçek, sebzeler, ağaç kabuğu, tahıl ve meyvelerde bulunmaktadır (84). Flavonoidler yaprak, çiçek ve meyvelerin renklerinden sorumludur ve bitkilerde çevresel stres faktörlerine karşı koruma sağlamaktadır. Ayrıca antioksidan aktiviteleri ile insanlarda serbest radikal olarak adlandırılan ve hücrelere zarar veren maddeleri yakalayıp zararsız hale getirirler (85, 86). Flavonoidler'in 4000'den fazla çeşidi tespit edilmiştir (85-87). Moleküler yapıları temel alınarak flavonoidler; flavonlar, flavononlar, kateşinler ve antosiyaninler olmak üzere 4 ana grupta incelenmektedir (86). Chrysin (CH), flavonlar grubunda yer almaktadır. CH'nin moleküler yapısı 5,7-dihidroksiflavon'dur (Şekil 2.1). Çilek, brokoli, kereviz, meyve kabukları, kızılcık, üzüm, marul, zeytin, soğan ve maydanoz gibi birçok bitki özünde; bal ve propoliste de yüksek miktarlarda CH bulunmaktadır (86, 88, 89).



Şekil 2.1. Chrysin'in kimyasal formülü

(<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Chrysin.png>'den alınmıştır).

2.2.2. Chrysin'in Metabolizması

Flavonoidlerin çoğu doğada D-glikoz, L-ramnoz, galaktoz, lignin ve arabinoz gibi şekerli bileşikler şeklinde bulunmaktadır (90). Bağırsaklarda hidrolizlenerek biyolojik bakımdan aktif aglikonlara dönüştürülür (91). Emilim sırasında başlıca metilasyon, sülfürlenme ve glukuronidasyon işlemlerinden sonra önce ince bağırsaklarda ve daha sonra da karaciğerde konjuge olmaktadır (92). Vücuttan dışkı yoluyla ve çeşitli hidroksi aromatik asitlere dönüştürülerek üriner sistemle elimine edilmektedir (93, 94).

2.2.3. Chrysin'in Etki Mekanizması

Son derece reaktif olan ve serbest radikaller adı verilen moleküller proteinlerdeki sülfidril bağları, çoklu doymamış yağ asitleri ve DNA'daki nükleotidler ile reaksiyona girerek doku hasarına neden olmada önemli bir rol oynamaktadır (95). Flavonoidler ise endojen antioksidanların fonksiyonlarını arttırarak ve doğrudan radikal süpürücü özellikleri sayesinde serbest radikallerin neden olduğu hasarı önleyebilmektedir (96). Yapılan çalışmalarda CH'nin, 5. ve 7. pozisyonlarında bulunan hidroksil grupları sayesinde serbest radikalleri süpürücü özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir (88, 97, 98).

2.2.4. İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

CH'nin vücut üzerinde birçok olumlu etkileri bulunmaktadır. CH'nin en fazla bilinen özelliği antioksidan özelliğidir. Yapısında bulunan antioksidan potansiyel ile glutatyon S-transferaz, glutatyon redüktaz, GSH-Px, CAT ve SOD gibi antioksidanların etkisine yardımcı olmaktadır (98).

Siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimleri önemli inflamatuvar mediatörlerdir. Eikosanoidler ise siklooksijenaz ve lipoksijenaz yollarının son ürünüdür ve çeşitli immunolojik yanıtlarda rol almaktadır. CH hem siklooksijenaz hem de 5-lipoksijenaz yolunu ayrıca eikosanoid biyosentezini inhibe ederek antienflamatuvar özellik göstermektedir (86, 88, 99).

CH'nin birçok kanser üzerinde antikanser özelliği de bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda CH'nin, lösemi üzerinde en etkili flavonoid olduğu ve U937 hücrelerinde oluşan apoptotik hücre parçalanmaları ve hücre canlılığını azaltarak etki

gösterdiği bulunmuştur. CH, Hela hücrelerinde oluşan apoptozisi ve proliferasyonu inhibe ederek servikal kanser türlerine de etki etmektedir (100-102). Ayrıca CH, malign glioma hücreleri, meme kanseri hücreleri ve prostat kanserleri üzerinde de çeşitli olumlu etkiler göstermektedir. CH ve diğer flavonoidler (apigenin, baicalein, baicalin, scutellarein ve wogonin)'in doza bağlı malign glioma hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. CH tedavisini takiben meme kanseri hücreleri üzerinde % 43 oranında proliferasyonun inhibe olduğu gözlenmiştir (102, 103). CH'nin, özefagus skuamöz hücreli karsinomu üzerine etkisini araştıran çalışmalar da bulunmaktadır (104).

CH'nin antihipertansif etkisi de bulunmaktadır. Spontan hipertansif ratlarda yüksek kan basıncını azalttığı bulunmuştur. Ayrıca sol ventrikül hipertrofisi ve endotel disfonksiyonunu da azalttığı bildirilmiştir (105).

CH'nin antiallerjik etkisi de bulunmaktadır. Sıçan ince bağırsak mukozal mast hücrelerinden histamin sekresyonunu inhibe ederek antialerjik etki gösterdiği bulunmuştur (106). CH'nin bir santral benzodiazepin reseptör agonisti olması nedeniyle sedasyon ve kas gevşemesi olmadan anksiyolitik etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (107).

CH'nin cildi koruyucu etkisi de bulunmaktadır. Memelilerde, adenilat siklaz enzimi melanin oluşumunda anahtar enzim olarak görev yapmaktadır. Yapılan bir çalışmada CH'nin, adenilat siklaz aktivitesini inhibe etmesiyle melanin oluşumunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu nedenle CH'nin güçlü bir şekilde melanin oluşumunu engellediği düşünülmektedir. Ayrıca cildi koruyan eylemleri ise onun yapısal düzenlenmesine atfedilmekte ve hiperpigmentasyonda da etkili bir inhibitör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (86).

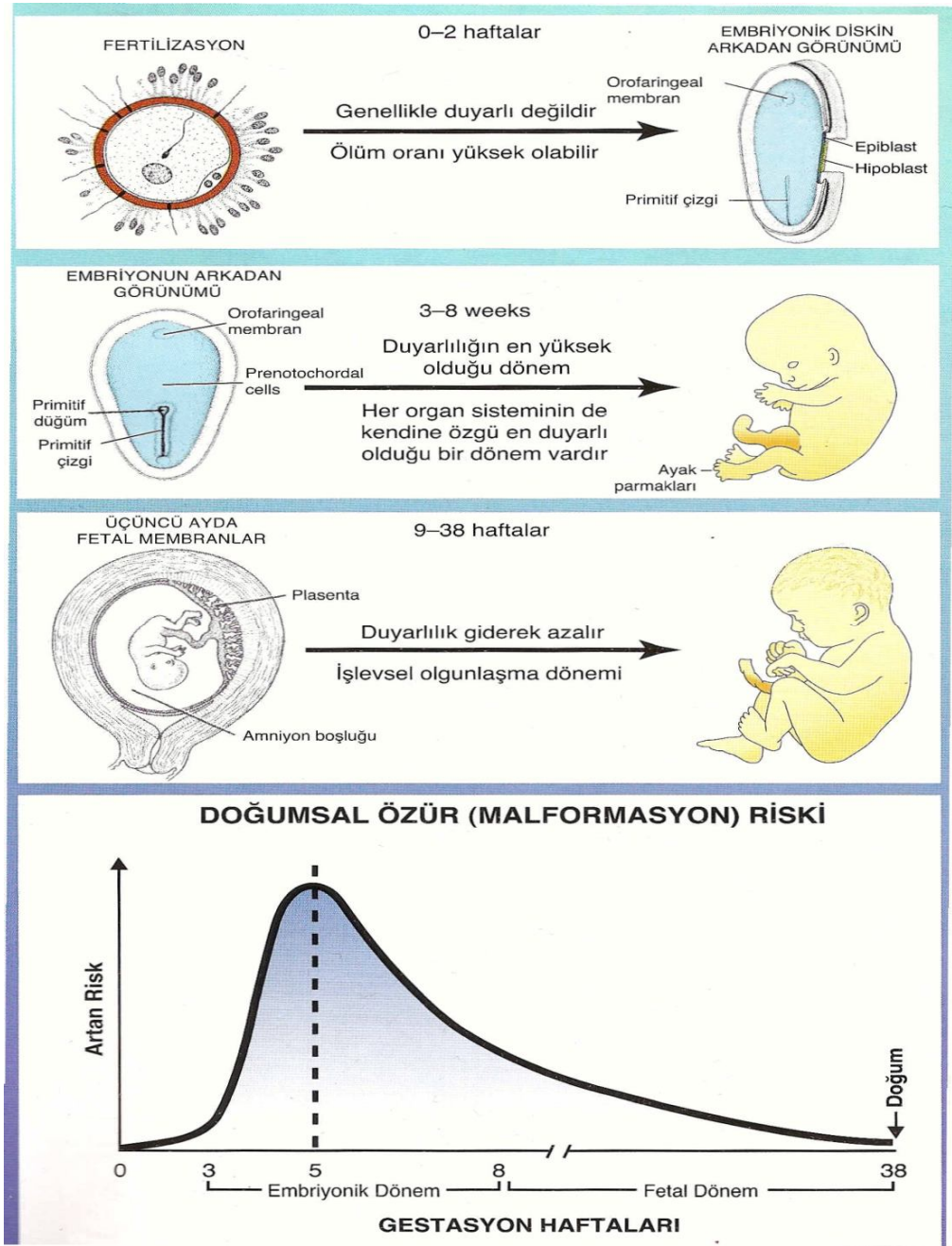
2.3. Fetusun Morfolojik Gelişimi

İnsanlarda gebelik süresi fertilizasyondan sonra 266 gün veya 38 haftadır. İnsan gelişiminin ilk 8 haftası tek hücreden organ taslaklarının ortaya çıkmasına kadar olan süreç olup bu sürece embriyogenez dönemi denir. Fetusun büyüdüğü ve kilo aldığı andan doğuma kadar olan döneme ise fetal dönem denilmektedir (108).

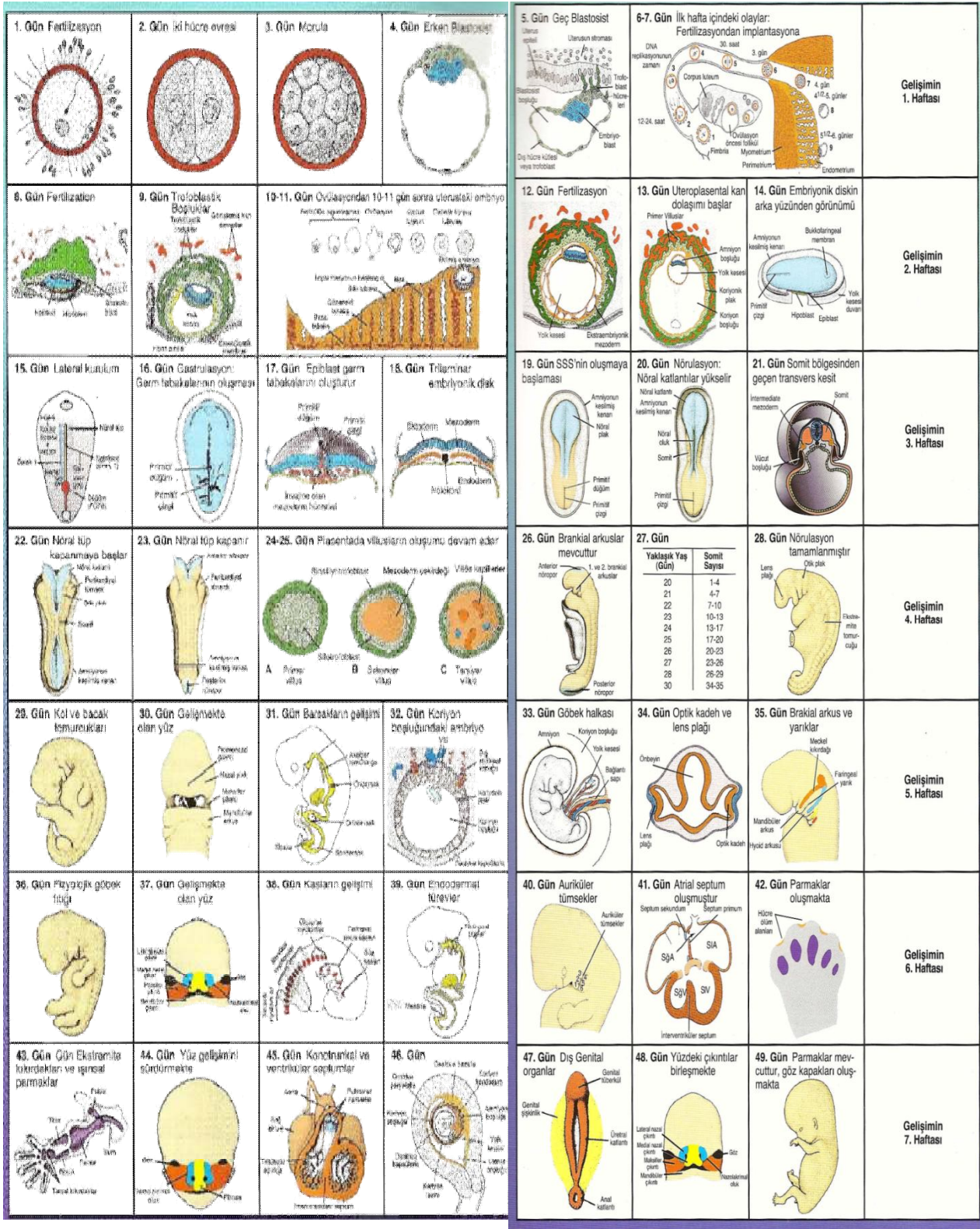
Fertilizasyon tuba uterinanın ampulla bölümünde dişi ve erkek gametlerinin birbiriyle kaynaşmasıyla oluşur. İki hücreli zigot, peş peşe bir seri mitotik bölünmeye

girer; yaklaşık 3 gün sonra, kompakt haldeki embriyo yeniden bölünerek 16 hücreli morula haline dönüşür. Morula uterus boşluğuna ulaştığında, uterus boşluğundaki sıvı zona pellusidayı eritip iç hücre kütesinin hücreler arası boşluğuna sızıp orada toplanmaya başlar. Bu evredeki embriyoya blastosit denir. Gelişimin 1. haftasının sonunda zigot morula ve blastosit evrelerinden geçerek uterus mukozasına gömülmüştür (108, 109). İkinci haftanın başında blastosit endometrium stroması içine kısmen gömülmüş durumdadır. İkinci haftanın sonunda ekstraembriyonik mezoderm trofoblast, amniyon ve ekzoköломik membran arasında kalan boşluğu doldurur. Bu doku içinde vakuollerin ortaya çıkmasıyla ekstraembriyonik kölom veya koriyon boşluğu meydana gelir. Ekstraembriyonik mezoderm ise ekstraembriyonik somatoplevral mezoderm ve ekstraembriyonik splanknoplevral mezoderm diye iki tabakaya ayrılır ve amniyon ve yolk kesesi boşlukları oluşur (108).

Gelişimin 3.-8. haftaları arasındaki embriyonik dönem her üç germ yaprağının (ektoderm, endoderm ve mezoderm) farklılaşarak kendisiyle ilgili doku ve organ sistemlerini oluşturduğu bir dönemdir. Bu süreçte embriyonun teratojenlerle karşılaşması büyük anomalilere yol açabilir. Organların oluşmasıyla vücut kabaca şekillenmiş olur (Şekil 2.2. ve Şekil 2.3.). Dokuzuncu haftanın başıyla doğum arasında kalan döneme fetal dönem denilmektedir. Bu dönem; doku ve organların olgunlaşmasıyla bedenin hızla büyümesini içerir (108).



Şekil 2.2. Fertilizasyon'dan doğuma kadar malformasyon riski (Langman Medikal Embriyoloji'den modifiye edilmiştir.).



Şekil 2.3. Gelişimin ilk 7 haftasında embriyonun günlük gelişimi (Langman Medikal Embriyoloji'den modifiye edilmiştir.).

2.3.1. Sıçan Fetusunun Morfolojik Gelişimi

Gebelik süresi sıçanlarda 21- 22 gün sürmektedir. Fertilizasyon sonucu oluşan gamet hücresi, 4. güne kadar bölünme evrelerinden (2 hücreli, 4 hücreli, 8 hücreli evre) geçer. Blastosit evresi fertilizasyondan sonra 5. günde; implantasyon evresi ise 5.- 7. günler arasında gerçekleşmektedir (110-113).

8. günde embriyo önemli bir büyüme ve iç farklılaşmaya uğrayarak primitif çizgi, kalp ve perikard taslakları ve üçüncü germ yaprağı şekillenmeye başlar (110 - 112). 9. ve 10. gün sıçanların organogenesis dönemidir (113, 114). Bu günlerde görülmeye başlayıp gebeliğin 16. gününe (dahil) kadar şekillenecek olan toplam 65 tane (4 oksipital, 8 servikal, 13 torakal, 6 lumbal, 4 sakral, 30 kaudal) somit, ilk defa görülmeye başlayarak 1.-4. oksipital somitler şekillenir. Somit sayısı artarak 13.-20. üst torakal somitler görülür (110, 111). 1. visseral arkus ve 2. visseral arkus görülerek ventrale doğru embriyonun katlanması artar. Kol ve bacak tomurcukları görülür (111-113).

11.-12. gün kuyruk tomurcuğu şekillenir, 3. visseral arkus belirginleşir, servikal kıvrımlar görülür (110, 112). İlk karaciğer bölmeciği görülür ve karaciğerin içinde hematopoez (kan hücrelerinin yapımı) başlar (111). Maksilla, mandibula ve frontonazal kemikler uzar. Meme taslakları, el plaklarının farklılaşması hızlanır (110, 112, 113).

13.-14. gün, burun uzantısı, yüzdeki çıkıntılar ve yarıklar şekillenir (110, 112). El ve ayak plaklarının yuvarlaklaşması, primer meme bezleri görülür (110-113). I. ve II. visseral arkuslarda kulak kepçesinin çıkıntıları görülür. Plevra-periton arasında dar bir kanal şekillenir (110, 112).

15.-16. gün, plevra-periton kanalı ve yüz yarıkları kapanır ve diyafragma oluşur. Kulak kepçesi çıkıntısı belirginleşir. 17.-18. gün, hematopoetik aktivite maksimum seviyededir, göz kapakları hızla gelişir. Auricula dış kulak yolunu çevreler, damak şekillenir (110-112). 19.-22. gün, fetal membranlar ve plasantanın gelişimi maksimum seviyededir, göz kapakları birbirine tam yaklaşır. Doğum oluşur (110, 112, 113). Karaciğerin hematopoetik aktivitesi gebeliğin tamamlanması ile sona erer (111).

2.3.2. Fetal Gelişimi Etkileyen Faktörler

Fetal büyüme, fetusun zamanla anatomik ölçülerinin değişimi olarak tanımlanmaktadır. Erken gelişim esnasında embriyonal dönemde uterus içi gelişme büyük oranda fetal genlerle belirlenmektedir. Fetal gelişme, boyut arttıkça çevresel ve epigenetik (DNA dizisindeki değişikliklerden kaynaklanmayan ama aynı zamanda kalıtsal olan, gen ifadesi değişikliği) faktörlerin etkisi altında kalmaktadır. Bu etkiler zararlı olursa, fetal dönemde ve daha sonraki gelişim dönemlerinde istenmeyen sonuçlar ortaya çıkmaktadır (114, 115). Gebelik döneminde ve laktasyon ile devam eden süreçte zararlı faktörlerin etkilerinin sonuçları; etkinin görüldüğü dönem, etkene maruz kalma süresi ve dozu ile değişebilmektedir (114, 116). Teratojen maddeye en duyarlı dönem insan fetuslarında gebeliğin 3.-8. haftaları iken, sıçan fetuslarında gebeliğin 9.-10. günleridir (108, 111, 112).

2.4. Karaciğer

2.4.1. Karaciğerin Embriyolojisi

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları dördüncü haftanın başında, pre-enteron'un (ön bağırsağın) kaudal parçasından öne doğru bir çıkıntı olarak belirir. Diverticulum hepaticum ya da karaciğer tomurcuğu, kalp taslağı ile mesenteron arasında uzanan splanknik mezodermal bir kitle olan septum transversum'a uzanır ve diaphragmanın centrum tendineum'u ile bu bölgedeki mesenterium ventrale'yi oluşturur. Karaciğer tomurcuğu, mesenterium ventrale'nin iki yaprağı arasında hızla büyüyerek ikiye ayrılır. Diverticulum hepaticum'un daha büyük olan kranial parçası primordium hepaticum adını alır. Çoğalan endodermal hücreler hepatik hücre kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epiteli meydana getirirler. Bu hepatik hücre kordonları, endotel döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak karaciğer sinuzoidlerinin taslaklarını meydana getirirler. Karaciğerin fibröz dokusu, hematopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversumdaki mezenkimden gelişirler (109, 117).

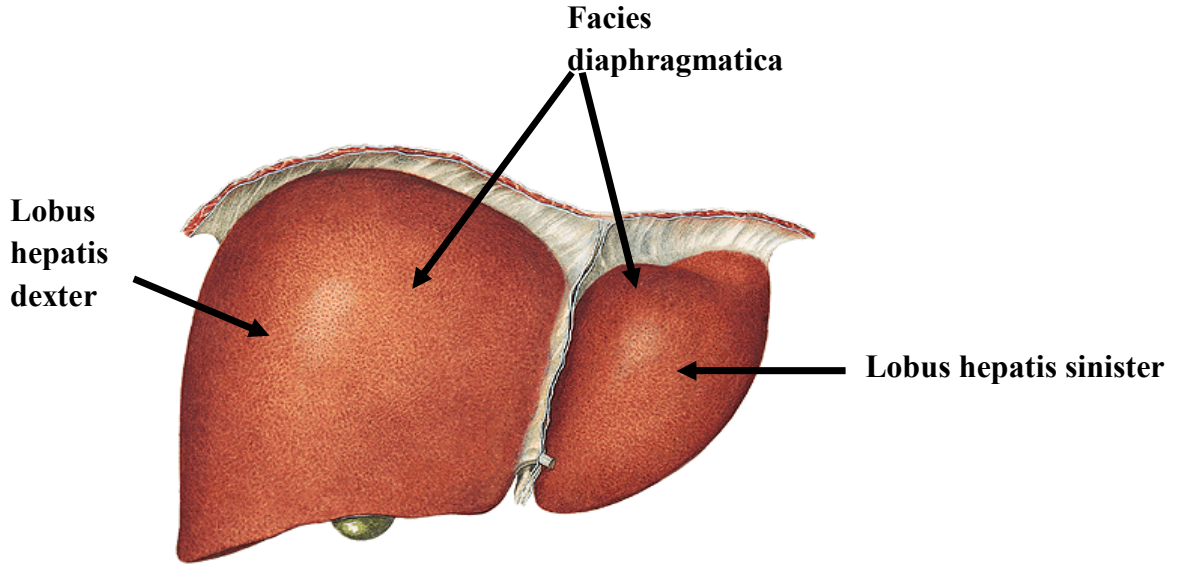
Karaciğer, beşinci haftadan onuncu haftaya kadar hızla büyüyerek karın boşluğunun büyük kısmını kaplar. Başlangıçta karaciğerin sağ ve sol loblarının büyüklüğü aynı iken, kısa bir süre sonra sağ lob daha fazla büyür. Altıncı haftada

başlayan hematopoesis, karaciğere parlak kırmızı bir renk verir. Karaciğerin yedinci ve dokuzuncu haftalar arasındaki büyüklüğünden de bu hematopoetik aktivite sorumludur. Hepatik hücrelerle damar duvarları arasında, beyaz ve kırmızı kürelerin üretildiği, hücre proliferasyonu ile karakterize geniş bir hücre şebekesi vardır. Dokuzuncu haftaya kadar fetusun total ağırlığının % 10'unu karaciğer oluşturur. Hematopoetik aktivite, gebeliğin son iki ayında yavaş yavaş azalır ve doğumda geride ancak birkaç hematopoetik hücre adacığı kalır. Bu dönemde karaciğerin ağırlığı artık toplam vücut ağırlığının % 5' i kadardır (108, 109, 117).

Karaciğerin bir başka önemli işlevi de, 12. haftadan itibaren karaciğer hücrelerinin safra üretmeye başlamasıdır. Bu sırada divertikulum hepaticumun küçük kaudal parçası safra kesesini ve bunun sapı ise sistik kanalı (ductus cysticus) oluşturur (108, 109, 117). Ductus cysticus, ductus hepaticus communis ile birleşerek ductus choledochus'u meydana getirmektedir (108, 109). Onüçüncü haftadan sonra ductus choledochus'tan geçerek duodenuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil rengini verir (108, 109, 117).

2.4.2. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer, karın boşluğunun üst tarafında regio hypochondrica dextra'nın tümünü ve regio epigastrica'nın büyük kısmını dolduran; regio hypochondrica sinistra'da da linea medioclavicularis sinistra'ya kadar uzanan vücuttaki en büyük bezdir (118-120, 122). Karaciğer 25- 30 cm uzunluğunda, sağ tarafı ön-arka yönde 14- 16 cm, yüksekliği ise 8 cm kadardır. Karaciğerin ağırlığı ise 1000- 2500 gr arasında değişebilmektedir (118, 119). Erişkinlerde yaklaşık olarak vücut ağırlığının % 2'si, çocuklarda ise % 5'i kadardır (118-120). Diaphragma ile komşu olan yüzüne facies diaphragmatica, karın organlarıyla komşu olan alt yüzüne facies visceralis denir (Şekil 2.4., Şekil 2.5.) (119-122).

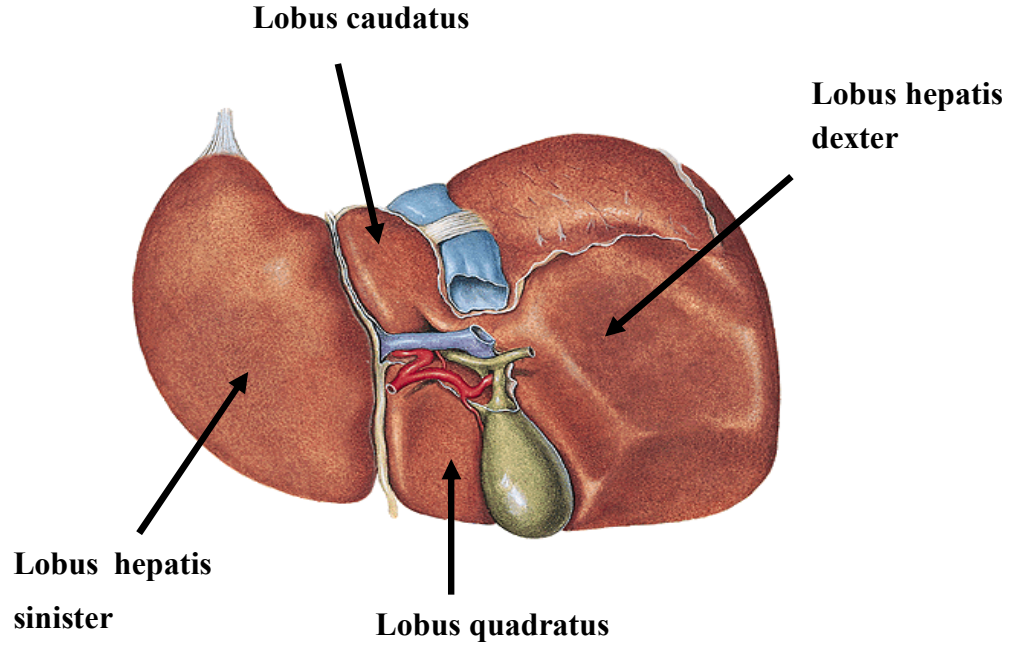


Şekil 2.4. Karaciğerin facies diaphragmatica'dan görünümü (Sobotta'dan modifiye edilmiştir).

Facies diaphragmatica: Büyük olan bu yüz diaphragma ile komşudur ve baktığı yönler göre pars superior, pars anterior, pars posterior ve pars dextra olmak üzere 4 bölüme ayrılır (Şekil 2.4.)(119-121).

Facies visceralis: Karaciğerin karın organları ile komşu olan konkav alt yüzüne facies visceralis denilir (119-122). Bu yüz arkaya, aşağıya ve biraz da sol tarafa bakar. Tespit edilerek çıkarılmış karaciğerin visceral yüzünde, komşu olduğu organların izleri bulunur. Bu yüzün ortalarında porta hepatis denilen büyük bir geçit bulunur. Porta hepatis'ten vena (v). porta hepatis ve etrafındaki sinir ağı ile birlikte arteria (a.) hepatica propria'nın dalları girer, safra kanalları ile lenf damarları da çıkarlar. Porta hepatis'in her iki tarafında arka kenardan ön kenara doğru sagittal yönde uzanan iki oluk bulunur. Geniş bir oluk şeklinde olan sağ taraftaki oluğa sulcus sagittalis dextra, ince bir yarık şeklinde olan sol taraftaki yarığa ise fissura sagittalis sinistra denilir. Sulcus sagittalis dextra'nın ön yarısına fossa vesica biliaris, arka yarısına ise sulcus vena cava denilir. Fissura sagittalis sinistra'nın ligamentum (lig.) teres hepatis'in oturduğu ön yarısına fissura ligamenti teretis, lig. venosum'un oturduğu arka yarısına ise fissura ligamenti venosi denilir. Bu iki sagittal oluğu ortada porta hepatis birleştirir, böylece H harfi şeklinde bir oluşum ortaya çıkar. Visseral yüzün porta hepatis, fossa vesica biliaris, sulcus vena cava, fissura ligamenti

teretis ve fissura ligamenti venosi hariç, her tarafı peritonla kaplıdır (Şekil 2. 5.) (119, 120).



Şekil 2.5. Karaciğerin facies visceralis'den görünümü (Sobotta'dan modifiye edilmiştir).

2.4.2.1. Karaciğerin Lobları

Karaciğere facies diaphragmatica'dan bakıldığında biri büyük, diğeri küçük olmak üzere iki lobdan oluşur. Ön ve üst yüzde bu iki lob birbirinden lig. falciforme hepatis aracılığıyla ayrılırlar. Karaciğere facies visceralis'den bakıldığında H harfi şeklinde görülen oluklar, karaciğeri 4 loba ayırır. Sulcus sagittalis dextra'nın sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinistra'nın solunda kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denilir. Bu iki oluk arasında bulunan ve porta hepatisin önünde kalan kısma lobus quadratus, arkasında kalan kısma ise lobus caudatus ismi verilir (119-122). (Şekil 2.4., Şekil 2.5.).

2.4.2.2. Karaciğerin Ligamentleri (Bağları)

Karaciğer diaphragmanın alt yüzüne ve karın ön duvarına 6 bağ aracılığıyla tutunur. Bunlardan beşi, lig. falciforme hepatis, lig. coronarium hepatis, lig. hepatorenale, lig. triangulare dextrum ve lig. triangulare sinistrum peritonun oluşturduğu bağlardır. Lig. teres hepatis ise embriyolojik v. umbilicalis'in kapanması ile oluşan bir bağdır Karaciğer ayrıca peritoneal bir yapı olan lig. hepatogastricum ve lig. hepatoduodenale aracılığı ile mide ve duodenuma bağlanır (118, 119, 120).

2.4.3. Karaciğerin Arterleri

Karaciğeri a. hepatica propria besler. Bu arter truncus coeliacus'un bir dalı olan a. hepatica communis'in dalıdır (118-122). Lig. hepatoduodenale içerisinde v. porta hepatis ve ductus choledochus ile birlikte uzanan bu arter porta hepatis'e gelince ramus dexter ve ramus sinister olmak üzere iki dala ayrılır. V. porta hepatis'in dalları ile birlikte karaciğerde dağılır. A. hepatica propria'nın dalları arasında anastomoz yoktur (118, 119, 122).

2.4.4. Karaciğerin Venleri

V. porta hepatis ve venae (vv.) hepatica olmak üzere iki grup veni vardır. V. porta hepatis, v. mesenterica superior ve v. lienalis'in 2. lumbal vertebra seviyesinde birleşmesiyle oluşur (118, 119, 121). A. hepatica propria ile birlikte lig. hepatoduodenale içinde uzanarak porta hepatis'e gelir. Karaciğerde a. hepatica propria ile birlikte uzanır ve sonunda, beraber seyrettiği arterle birlikte v. centralis'e açılır. V. centralis'ler birleşerek v. hepatica'ları oluşturur. Bu venler porta hepatis'ten giren kanları v. cava inferior'a taşırlar (119, 120).

Lenf Drenajı: Karaciğerin derinlerinden gelen lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e gelerek buradaki nodi lymphatici hepatici'ye açılırlar. Bunların bir kısmı safra kesesinin boynunun etrafındaki nodus cysticus ile foramen bursa omentalis çevresindeki lenf nodülleri olan nodus foraminalis'e açılır. Nodi lymphatici hepatici'den çıkan lenf damarları da nodi lymphatici coeliaci'den geçerek ductus thoracicus'a açılır. Derin lenf damarlarının bir kısmı v. hepatica'ları takip ederek diaphragmadaki foramen vena cava'ya gelirler. Bu lenf damarları nodi lymphatica

phrenici superiores'e, buradan da nodi lymphatici parasternales'e açılır. Karaciğerin yüzeysel lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e giden derin lenf damarları ile birleşir. Area nuda'dan kaynaklanan lenf damarları ise diaphragmadan geçerek nodi lymphatici phrenici superiores, nodi lymphatici mediastinales anteriores ve posteriores'lere ulaşırlar. Buradan çıkan lenf damarları ise truncus lymphaticus dexter ve ductus thoracicus'a açılırlar (119, 120).

2.4.5. Karaciğerin Sinirleri

Sempatikleri nervi (nn.) splanchnici'den, parasempatikleri ise sağ ve sol nervus (n.) vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus'u oluşturur. Buradan çıkan lifler de a. hepatica propria ve v. porta hepatis etrafında plexus hepaticus adı altında karaciğere gider (118-121). Sensitif lifler, sempatik liflerle birlikte uzanır ve 8.-11. torakal medulla spinalis segmentlerine gider (118, 119).

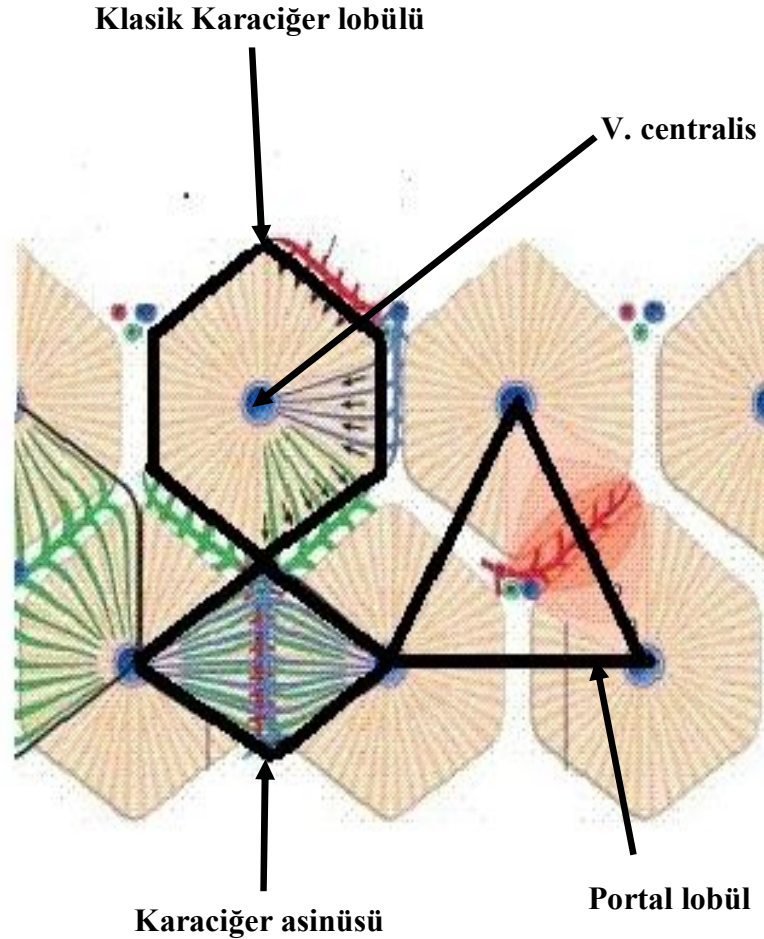
2.4.3. Sıçan Karaciğer Anatomisi

Sıçan karaciğeri sol, orta, sağ ve kaudal olmak üzere dört loba ayrılır. En büyük lob 4,5 cm uzunluğu, 2,5 cm genişliğinde ve 0,8 cm kalınlığında olan sol lobdur ve ortalama 350 gr'lık bir sıçanda 4,3 gr ağırlığındadır. İkinci büyük lob ise 3,4 gr ağırlığında olan orta lobdur. Orta lobda lig. teres hepatis'in oluşturduğu derin bir yarık (fissura ligamenti teretis) bulunur. 2,6 gr ağırlığındaki sağ lob superior ve inferior olmak üzere iki kısımdan oluşmasına karşın bu kısımlar birbirinden ayrılmaz. Sağ lobun alt kısmı v. cava inferior'u tamamen sarar ve bu da disseksiyonla kolayca ayrılamaz. Bu lob portal venin arkasında kaudal lobla da birleşir. 1,2 gr'lık ağırlığı ile en küçük lob kaudal lobdur. Kaudal lob ön ve arka segmentler şeklinde tanımlanmasına karşın özefagusu at nalı biçiminde saran tek bir yapıdır (123).

2.4.7. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer dıştan Glisson kapsülü tarafından sarılmıştır. Glisson kapsülünden ayrılan ince bağ dokusu uzantıları karaciğeri lob ve lobüllere ayırır (118, 121, 124-126). Bağ dokusu içerisinde damarlar, sinirler ve safra kanalları ilerler (118, 124, 127). Karaciğerin yapısal ve fonksiyonel birimleri karaciğer lobülleridir. Klasik karaciğer lobülü, portal lobül ve karaciğer asinüsü olmak üzere üç farklı karaciğer

lobülü tanımlanmıştır (118, 124, 125, 127) (Şekil 2.6).. Geleneksel olarak en çok kullanılan tanım ise klasik karaciğer lobülüdür (124, 126).



Şekil 2.6. Karaciğer lobüllerinin görünümü (Gray's Anatomy'den modifiye edilmiştir.).

Klasik Karaciğer Lobülü: Klasik hepatik lobül, 1 mm çapında ve 2 mm uzunluğunda, ortasında kan sinüzoidlerinin birleştiği v. centralis bulunan, periferde portal alanlarla sınırlı altı kenarlı bir prizma şekline sahiptir (124, 126, 127) V. centralis'ten başlayan hepatosit kordonları birbirleri ile anastomoz yaparak periferde doğru ışınal tarzda uzanır ve aralarında sinüzoid kapillerleri içerir. Genellikle altıgen şeklinde olan lobüllerin açı oluşturan köşelerinde yer alan portal alanlar; portal venin ve hepatik arterin birer dalını, bir safra kanalını (portal tirad), lenf damarlarını ve sinirlerini içeren bağ dokusu alanlarıdır (124, 127). Lobülün

periferinin son sırasındaki hepatositler ile bağ dokusu elemanları arasında kalan dar mesafeye Mall mesafesi denir. Bu alanın karaciğer lenfinin kaynaklandığı alanlardan biri olduğu düşünülmektedir (124, 126). Ayrıca bu alanlar fetusta ve kronik anemi durumunda ekstramedullar hematopoez yerleridir (126). Hekzagonal şekilli klasik karaciğer lobülünde portal alanlar bağ dokusunun devamı olan bir bağ dokusu ile sınırlanmıştır (Şekil 2.6.) (124).

Portal Lobül: Portal lobül ise ortada portal alanın olduğu üç adet v. centralis'in arasında yer alan üçgen şekilli alandır (124, 125, 127). Bu lobülün tanımlanması karaciğerin ekzokrin fonksiyonu olan safra salınımını vurgulamak için uygundur (124, 125). Safra öncelikle hepatositler arasında yer alan safra kanaliküllerine; daha sonra hücre içi bir kanalcık olan kolanjiyole boşaltılır (128). Portal alanın yakınında Hering kanalı ile birleşerek portal alanın üç elemanından biri olan canaliculus biliferi ile birleşir (Şekil 2.6.)(119, 121).

Karaciğer Asinüsü: Karaciğer asinüsü ise kısa ekseni iki portal alan arasında, uzun ekseni iki v. centralis arasında bulunan baklava dilimi şeklinde veya oval şekilli alandır. Kısa eksene en yakın bölüm 1. zon (birinci bölge), en uzak bölüm 3. zon (üçüncü bölge) olarak kabul edilir. İkinci zon (ikinci bölge) karaciğer asinüsünün santral bölgesidir. V. centralis'e 1. zondaki hücrelere oranla daha yakındırlar. Hücrelerin yerleşimleri beslenmelerini, zararlı etkenlere maruz kalma, dejenerasyon ve rejenerasyon oranlarını yakından etkiler (Şekil 2.6.)(118, 124-127).

Birinci zondaki hücreler portal alandaki kandan oksijeni, besin maddelerini ve zararlı ürünleri ilk olarak alan hücrelerdir (124-127). Ayrıca hepatositlerdeki glikojen ve plazma proteinin üretiminin en fazla olduğu kısımdır (127). Bu zon klasik karaciğer lobülünün periferine karşılık gelir (124-127). Ayrıca en önce rejenere olan ve en son ölen hücreler bu alanda bulunur (124, 125).

Üçüncü zon klasik karaciğer lobülünün santral bölgesine uyar. Bu zonun hücreleri v. centralise komşudur. Bu zondaki hücreler daha az oksijen almaları nedeniyle iskemiden çabuk etkilenirler (124-127). Bu hücrelerde yağ birikimi de erken ortaya çıkar. Aksine, toksik etkenlerden ve safra kanal tıkanıklıklarından en geç etkilenen hücrelerdir (124).

Hepatositler: Karaciğerin parankim hücreleri olan hepatositler v. centralis'den perifere doğru ilerleyen ışınal hücre kordonları şeklinde dizilmiş poligonal şekilli, sinuzoid boşlukları ile çevrili, ökromatik nükleuslu hücrelerdir (124, 127). Hücreler birbirlerine bakan yüzlerinde safra kanallıkları ve bir yandan da sinuzoid kapillerleri ile komşuluk kurarlar. Sitoplazmaları asidofil boyanan bu hücrelerde yuvarlak bir veya iki adet nükleus bulunur (124, 125). Nükleus içinde belirgin bir iki adet nükleolus izlenir (124). Hepatositler aktif sentez ve sekresyon yapan hücreler olduklarından dolayı organellerden zengindir (124, 127). Sitoplazmasındaki yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahip çok sayıda mitokondriyon bulunmaktadır (125, 126). Toksik ürünler veya ilaçların yıkımı ve konjugasyonu için gerekli enzimler agranüler endoplazmik retikulum membranlarında bulunurlar (124, 125, 127). Toksik ajanlara maruz kalındığında agranüler endoplazmik retikulum genişler. Agranüler endoplazmik retikulum kolesterol ve lipid sentezinden sorumludur (124). Hepatosit sitoplazmasında safra sekresyonunda rolü olan, salgılanan proteinlerin glikolizasyonuna ve lizozom enzimlerinin çeşitlenmeleri işlemine katkıda bulunan onlarca Golgi apparatusu bulunur (124, 125, 127). Hepatosit sitoplazmalarında sıklıkla görülen bir diğer organel peroksizomlardır. Peroksizamlar yüksek miktarlarda oksidazlar içermektedir (127). Oksidazlar aracılığıyla oksijen kullanımı serbest radikal oluşumuna yol açtığı için bu zararlı son ürünlerin de ortadan kaldırılması zorunludur. Oksijen son derece toksik olan H_2O_2 'eykılır (124). Peroksizomlarda H_2O_2 'i su ve oksijene yıkan CAT enzimi vardır (124, 127). Ayrıca peroksizomlar glukoneogenez ve pürin metabolizmasında da görev alırlar. Hepatosit sitoplazmasında glikojen ve lipid depolanır (124).

Hepatositler metabolik olarak son derece aktif hücreler oldukları için çeşitli patolojik durumlardan, toksik ajanlardan ve iskemiden kolayca etkilenirler. Hücreye zarar veren ajanların en önemli hedeflerinden biri membran sistemidir. Membrandan zengin endoplazmik retikulum, mitokondriyon gibi organeller çabuk zarar görür. Endoplazmik retikulum dilatasyonu, mitokondriyon ödemi, krista kaybı, myelin figür oluşumu en sık rastlanan organel değişiklikleridir. Hepatositler etkene bağlı apoptoz veya nekrozla ölüme gidebilirler. Apoptozda membran parçalanması olmaksızın

hücreler apoptotik cisim olarak bilinen parçalara bölünür. Nekrozda ise membranlar parçalanıp sitoplazmik organeller intersellüler alana dökülür (124).

Sinüzoidler: Ortalama çapları 9- 15 μm arasında olan hepatosit kordonları arasında izlenen düzensiz bir yapıya sahip kapillerlerdir (124, 126). Sinüzoidler portal alanda seyreden intralobüler damarlardan kanlanırlar. V. porta hepatis'den gelen venöz kan ve a. hepatica propria'dan gelen arteriyel kan sinüzoidlerde karışır. Kan akımı vena centralis'e doğrudur. Klasik karaciğer lobülünün merkezinde bulunan v. centralis, sublobüler venlere açılır. Bu damarlar daha sonra birleşerek v. hepatica'yı oluştururlar ve venöz kan sonunda v. cava inferior'a dökülür (124). Sinüzoid duvarının hücreleri ile hepatositlerin sinüzoidde bakan mikrovilluslu yüzeyi arasında Disse mesafesi (perisinüzoidal mesafe) olarak bilinen bir aralık bulunur (124, 125). Disse mesafesi kan ile hepatositler arasında madde değişiminin yapıldığı alandır. Bu alanda kan plazması serbestçe hareket eder. Mikrovillusların varlığı membranın yüzey alanının varlığını arttırmaya yöneliktir. Hepatositlerle plazma arasında yoğun bir madde transportu söz konusudur. Hepatositlerde sentezlenen protein ve lipoprotein gibi maddeler bu alandan geçerek kana ulaşır. Sinüzoid duvarında endotel hücrelerinden başka Kupffer hücreleri ve İto hücreleri bulunur (124).

Kupffer hücreleri: Kemik iliğinden köken alan mononükleer fagositoz sistemine ait olan makrofajlardır. Uzantılı ve yıldız şekilli bu hücrelerin gövdelerinin büyük bölümü lümende izlenir. Sitoplazmik uzantıları ile sinüzoid duvarına tutunurlar (124, 127). Bu hücreler kan yolu ile gelen antijenleri ve hasarlanmış eritrositlerden kaynaklanan sitoplazmik parçaları fagosit eder. Ferritin ve hemosiderin granüller şeklinde bu hücrelerde depolanabilir (118, 124, 126).

İto hücreleri (Karaciğerin yıldızsı hücreleri, Perisinüzodal lipositler): Normal şartlarda karaciğer hücrelerinin % 5- 8'ni oluşturan İto hücreleri lipid depolamaktadır. Perisinüzodal alanda yerleşen bu hücreler sitoplazmik lipid damlalarında retinil esterleri şeklinde A vitamini depolarlar (118, 124, 126, 127). Bu hücrelerden retinol olarak salınan A vitamini proteinlere bağlanarak retinaya ulaşır. Burada içerdiği 11-cis retinal proteini ile bağlanarak görmeyi sağlayan bir retina pigmenti olan rodopsini oluşturur. Karaciğer hasarını takiben İto hücreleri aktive

olur. Sitoplazmalarında lipid miktarı zamanla azalır. Hücrelerde proliferasyon, kontraktilite ve kemotaksis görülür. İto hücreleri kronik inflamasyon veya sirozda myofibroblastlara dönüşerek tip I ve tip III kollajen sentezlerler (118, 124, 127).

Pit hücreleri: Bu hücreler de Kupffer hücreleri gibi kemik iliği kökenli olup, lenfosit sub populasyonudurlar (124).

2.4.8. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğer endokrin ve ekzokrin sekresyon yapan bir organdır (120, 124).

Safra salgılanması: Safra, su, elektrolitler, safra pigmentleri ve safra tuzlarından oluşmaktadır. Safra tuzları bağırsaklarda lipidleri emülsiyon haline getiren, kolesterol ve lipidleri solüsyon halinde tutan maddelerdir. Karaciğer kolesterol, lesitin, yağ asitleri ve safra tuzlarından oluşan bir sıvı olan safra sekresyonu yaparak sindirim olayına katılmaktadır (120, 124, 127).

Protein sentezi: Hepatositlerde çeşitli plazma proteinleri (albumin, fibrinojen, protrombin ve koagülasyon faktörleri V, VII ve IX) ve ayrıca hücre için gerekli olan lipoproteinler, glikoproteinler, ve non-immun globülinler sentezlenir (122, 124, 127, 128).

Glikojen Depolanması: Karaciğere gıdalarla alınan glukozu glukoz-6- fosfat haline dönüştürür. Enerji gereksinimine göre glikojen şeklinde depolar ya da aksine ihtiyaç halinde glikolitik yolla yıkarak karbonhidrat metabolizmasında görev alır (120, 122, 128).

Detoksifikasyon ve İnaktivasyon: Böbrekten atılamayan pek çok zararlı ürün hepatositlerde oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon yolu ile zararsızlaştırılır. Gerekli enzimler agranüler endoplazmik retikulum membranında mevcuttur (122, 124).

Metabolik Fonksiyonları: Karaciğerin büyük miktarlarda glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glikoza çevirme ve glikogenez gibi karbonhidrat metabolizması üzerinde özgün fonksiyonları vardır. Karaciğer, diğer vücut fonksiyonları için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu yapar. Kolesterol, fosfolipid ve protein sentezi, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi

yapar. Protein metabolizması üzerinde ise amino asitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, plazma proteinlerinin oluşumu ve vücuttaki metabolik olaylar için önemli olan amino asitlerin birbirine dönüştürülmesi gibi önemli fonksiyonları bulunur (127, 128).

Makrofaj Sistemi: Barsak kapillerlerinden akan kan barsaklardan birçok bakteriyi de beraberinde götürür. Hepatik venöz sinüslerde yer alan büyük fagositik makrofajlar olan Kupffer hücreleri, sinüsler içinden geçen kanı etkili bir şekilde temizlemektedirler (124, 127, 128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

3.1.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Çalışma İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde (İNÜ-DEHÜM) gerçekleştirildi. Deney hayvanı olarak laboratuvar şartlarına kolay uyum sağlamaları, kısa sürede fazla döl vermeleri ve dayanıklı olmaları sebebiyle sıçanlar seçildi. Bu amaçla Wistar Albino cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 27.04.2012 tarihli ve 2012/A-58 no'lu onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Çalışmamızda kullanılan sıçanlar İNÜ-DEHÜM'den elde edildi. İstatistiksel değerlendirme yapabilmek için gerekli minimum sayı esas alınarak, ortalama ağırlıkları 200- 250 gr arasında olan, erişkin 4 aylık 67 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı.

3.1.2. Deney Hayvanlarının Bakımı

Sıçanlar çalışma süresince laboratuvar koşullarında en uygun aralıklarda tutuldu. Sıçanlar 12 saat aydınlık (07:00- 19:00), 12 saat karanlık (19:00- 07:00) olan ve otomatik olarak klima ile havalandırılan 19- 21° C'lik odalarda tutuldu. Çalışmada kullanılan her bir sıçan ayrı kafeslerde tutuldu. Çalışma boyunca sıçanlara çeşme suyu verildi. Çalışma sürecinde sıçanlar ad libitum şeklinde beslendi. Deney süresi boyunca sıçanların gıda ve su tüketimi takip edildi.

3.1.3. Deney Hayvanlarının Çiftleştirilmesi ve Gruplandırılması

Sıçanlar bir erkek bir dişi sıçan olacak şekilde akşam 17'de aynı kafeslere konuldular. Ertesi sabah dişi sıçanlardan alınan vajinal smear ışık mikroskopunda incelendi. Smearda sperm görülen sıçanlar 0,5 günlük gebe olarak kabul edildi. Deney planımızda 7 gruba ayrılmış 67 adet sıçandan 12 tanesi gebe kalmadığı için deney dışı bırakıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney Planı, Gruplardaki Sıçan Sayısı, Gebe Kalmayan Sıçan Sayısı ve Gruplarda Kalan Gebe Sıçan Sayısı.

Grup	Gruptaki sıçan Sayısı	Gebe Kalmayan Sıçan Sayısı	Grupta Kalan Gebe Sıçan Sayısı
Grup I	9	3	6
Grup II	9	2	7
Grup III	10	1	9
Grup IV	10	3	7
Grup V	10	-	10
Grup VI	10	1	9
Grup VII	9	2	7

3.1.4. Deney Gruplarına Yapılan Uygulamalar ve Uygulama Şekilleri

Grup I (Kontrol grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı intraperitoneal (i.p.) olarak 1 cc/kg serum fizyolojik (SF) uygulanan 6 adet sıçan.

Grup II (CH grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı oral olarak 20 mg/kg dozunda CH uygulanan 7 adet sıçan.

Grup III (FA-0,1 grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı i.p. olarak 0,1 mg/kg dozunda FA uygulanan 9 adet sıçan.

Grup IV (FA-1 grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı i.p. olarak 1 mg/kg dozunda FA uygulanan 7 adet sıçan.

Grup V (FA-0,1 grubu + CH grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı oral olarak 20 mg/kg dozunda CH ve i.p. olarak 0,1 mg/kg dozunda FA uygulanan 10 adet sıçan. İlk CH uygulaması FA'dan bir gün önce gebeliğin 6. günü uygulandı.

Grup VI (FA-1 grubu + CH grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı oral olarak 20 mg/kg dozunda CH ve i.p. olarak 1 mg/kg dozunda FA uygulanan 9 adet sıçan. İlk CH uygulaması FA'dan bir gün önce gebeliğin 6. günü uygulandı.

Grup VII (Yağ grubu): Gebelikleri vajinal smear ile pozitif olarak tanımlanan ve gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı oral olarak 2 cc/kg (0,4 cc) yağ uygulanan 7 adet sıçan (Tablo 3. 2).

Tablo 3.2. Deneyde kullanılan FA, CH, SF ve mısır yağının dozları ve uygulama süreleri.

Grup no	Gebe Sıçan Sayısı	Serum Fizyolojik (SF)(cc/kg)	FA dozu (mg/kg)	CH dozu (mg/kg)	Mısır yağı (cc/kg)	Süre
I	6	1	0	0	0	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
II	7	0	0	20	2	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
III	9	1	0,1	0	0	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
IV	7	1	1	0	0	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
V	10	1	0,1	20	2	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
VI	9	1	1	20	2	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.
VII	7	0	0	0	2	Gebeliğin 7.-20. günleri arası gün aşırı.

Deney süresince grup II’de yer alan bir gebe sıçan gebeliğin 13. gününde öldü. Ayrıca grup VII’deki bir gebe sıçan gebeliğin 19. gününde doğum yaptığı için deney dışı bırakıldı. Deneyin sonunda bütün sıçanlara gebeliğin 20. günü, i.p. yolla Ketamin (80 mg/kg)-Ksilazin (5 mg/kg) uygulanarak anestezileri sağlandı. Anne sıçanlara sezeryan yapılarak fetuslar ve plasentaları tek tek çıkarıldı. Tüm fetuslar çıkarıldıktan sonra anne sıçanların göğüs boşluğuna girilerek kalbe kesi atıldı ve ötenazi sağlandı. Sırasıyla fetusların ağırlığı hassas terazide tartıldı. Daha sonra fetuslar makroskopik anomaliler yönünden değerlendirildi. Median bir kesiyle fetusların batınına girildi ve karaciğerleri çıkarıldı. Karaciğerin ağırlığı hassas terazide tartıldı. Sonra fetuslara servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi yapıldı.

3.1.4.1. Uygulamaların Şekli ve Dozu

3.1.4.1.1. FA Uygulamaları

Çalışmamızda Deisenhofen- Germany, Sigma-Aldirch’den elde edilen, % 37’lik FA solüsyonu (formalin) kullanıldı. 0,1 mg/kg FA ve 1 mg/kg FA uygulandı. Gebe sıçanlar her uygulama öncesi tartıldı. FA, i.p. olarak enjekte edildi. Enfeksiyonu ve irritasyonu engellemek için insülin enjektörü kullanıldı.

3.1.4.1.2. CH Uygulamaları

Çalışmamızda Sigma-Aldirch’ten elde edilen % 97 saflıkta CH kullanıldı. Her hafta 500 mg CH, 50 cc mısır yağı içinde manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürüldü. Gebe sıçanlar her uygulama öncesi tartıldı. Gebe sıçanlara 20 mg/kg olacak şekilde oral gavaj yöntemiyle CH uygulandı. İlk CH uygulaması FA’dan bir gün önce gebeliğin 6. günü uygulandı. Diğer CH uygulamaları da FA uygulanan günlerde, FA uygulamalarından önce yapıldı.

3.1.4.1.3. SF Uygulamaları

FA, SF içinde çözdürüldüğü için kontrol grubuna gün aşırı i.p. olarak SF enjekte edildi. Gebe sıçanlar her uygulama öncesi tartıldı. Gebe sıçanın ağırlığına göre 1 cc/kg olacak şekilde i.p. şekilde SF enjekte edildi. Enfeksiyonu ve irritasyonu engellemek için insülin enjektörü kullanıldı.

3.1.4.1.4. Mısır Yağı Uygulamaları

CH, mısır yağı içinde çözdürüldüğü için çalışmamızda yağ grubu da oluşturuldu. Gün aşırı olarak oral gavaj yöntemiyle mısır yağı uygulandı. Gebe sıçanlar her uygulama öncesi tartılarak, ağırlığına göre mısır yağı 2 cc/kg olacak şekilde verildi.

3.1.5. Biyokimyasal Analizler

Çalışmada gebeliğin 20. günü her bir gebe sıçandan sezeryanla alınan fetuslardan 3'ünün dokuları tartıldıktan sonra biyokimyasal analizler yapılana kadar -30 °C'de bekletildi. Her grupta yer alan karaciğer dokularından rastgele 10 adet doku alındı. Dokular farklı parametreler için farklı çözeltiler içinde homojenize edildi ve homojenizatör ile 0,15 M'lık potasyum klorür çözeltisi içinde 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda GSH, GSH-Px, CAT, SOD, MDA ve protein düzeyleri ölçüldü.

GSH tayini: GSH analizi, Ellman'ın tarif ettiği metoda göre yapıldı (129). GSH ölçüm prensibi; analiz tüpündeki glutatyonun 5,5' ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi olarak özetlenebilir. Sonra bu rengin ışık şiddetinin 410 nm dalga boyunda, spektrofotometrede okunması ile redükte glutatyon miktarının tayin edilmesi şeklindedir. Doku GSH düzeyleri, nmol/gr yaş doku olarak ifade edildi.

GSH-Px tayini: GSH-Px analizi, Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (130). GSH-Px, H₂O₂ varlığında GSH'nin okside glutatyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. H₂O₂'nin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı ve ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtildi.

MDA tayini: Lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA'nın analizi, Ohkawa ve arkadaşlarının ölçüm metoduna göre yapıldı (131). Asit ortamda bulunan MDA tiyobarbutürik asitle ısıtıldığında, pembe renkli kromojen

oluşturmaktadır. On beş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm’de spektrofotometrik olarak okundu. Doku MDA düzeyleri nmol/gr yaş doku olarak ifade edildi.

SOD tayini: Süperoksit dismutaz enzim analizi, Sun ve arkadaşlarının modifiye ettiği metoda göre yapıldı (132). Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium’un süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Bu indirgenme sırasında oluşan formazonun 560 nm’de verdiği absorbanstan SOD aktivitesi ölçüldü. Çalışmamızda SOD aktivitesi ünite/gram (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

CAT tayini: CAT enzim analizi, Aebi’nin metoduna göre yapıldı (133). Bu metod; 240 nm’de H_2O_2 ’nin CAT tarafından ayrıştırılmasının hız değişimini saptamaktadır. Dakikalık absorban değişimleri ölçülerek, enzimin hız değişimi saptandı. Aktiviteler katal/gram (K/g) doku proteini olarak ifade edildi.

Protein Düzeylerinin tayini: Doku protein tayini Biüret yöntemi ile analiz edildi (134).

3.1.6. Histolojik Uygulamalar

Çalışmada gebeliğin 20. günü her bir gebe sıçandan sezeryanla alınan fetuslardan 3'ünün dokuları tartıldıktan sonra dokular % 10'luk FA solüsyonu ile tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku takip işlemi uygulandı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Histolojik Doku Takibi.

Sıra No	Madde	Süre
1	Akar su	12 saat
2	% 70 alkol	1 saat
3	% 70 alkol	1 saat
4	% 80 alkol	1 saat
5	% 80 alkol	1 saat
6	% 96 alkol	1 saat
7	% 96 alkol	1 saat
8	Absolü alkol	1 saat
9	Absolü alkol	1 saat
10	Ksilen	1 saat
11	Ksilen	1 saat
12	Sert Parafin I	2 saat
13	Sert Parafin II	2 saat

Doku takibi işleminden sonra karaciğer doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4µm kalınlığında kesitler alındı. Doku kesitlerine Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) histolojik boyaları uygulandı. Boya işleminden sonra preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskopuyla incelenerek fotoğraflandı. Analiz sistemi ölçümleri ise Leica Q Win Plus analiz sistemi kullanılarak yapıldı.

3.1.6.1. Boyama Metodları

Hematoksilen-Eozin ile Boyama Metodu

Doku örneklerinden mikrotom bıçağı ile 4µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra dokunun etrafındaki parafinlerin erimesi için 1 saat etüvde bekletildi. Sonra sırasıyla H-E boyama metodu uygulandı (Tablo 3.4.). Bu işlemler uygulandıktan sonra lamaların üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Tablo 3.4. Hematoksilen-Eozin ile Boyama Metodu.

Sıra No	Kimyasal Madde	Bekletilen Süre
1	Ksilen I	5 dakika
2	Ksilen II	5 dakika
3	Ksilen III	5 dakika
4	% 80 alkol	3 dakika
5	% 96 alkol	3 dakika
6	% 96 alkol	3 dakika
7	Absolü alkol	3 dakika
8	Absolü alkol	3 dakika
9	Distile suda yıkama	5 dakika
10	Hematoksilen	5 dakika
11	Çeşme Suyu	25 dakika
12	Eosin	2 dakika
13	% 96 alkol	3 dakika
14	% 96 alkol	3 dakika
15	Absolü alkol	3 dakika
16	Absolü alkol	3 dakika
17	Ksilen I	5 dakika
18	Ksilen II	5 dakika
19	Ksilen III	5 dakika

Periyodik Asit-Schiff Boyama Metodu

Doku örneklerinden mikrotom bıçağı ile 4µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra dokunun etrafındaki parafinlerin erimesi için 1 saat etüvde bekletildi. Sonra sırasıyla PAS boyama metodu uygulandı (Tablo 3.5.). Bu işlemler uygulandıktan sonra lamaların üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Tablo 3.5. Periyodik Asit-Schiff Boyama Metodu.

Sıra No	Kimyasal Madde	Bekletilen Süre
1	Ksilen I	5 dakika
2	Ksilen II	5 dakika
3	Ksilen III	5 dakika
4	% 80 alkol	3 dakika
5	% 96 alkol	3 dakika
6	% 96 alkol	3 dakika
7	Absolü alkol	3 dakika
8	Absolü alkol	3 dakika
9	Çeşme Suyu	5 dakika
10	Periyodik asit	5 dakika
11	Distile suda yıkama	5 dakika
12	Schiff solüsyonu	15 dakika
13	Çeşme Suyunda yıkama	10 dakika
14	Hematoksilen	5 dakika
15	Çeşme Suyunda yıkama	5 dakika
16	% 96 alkol	3 dakika
17	% 96 alkol	3 dakika
18	Absolü alkol	3 dakika
19	Absolü alkol	3 dakika
20	Ksilen I	5 dakika
21	Ksilen II	5 dakika
22	Ksilen III	5 dakika

3. 2. İstatistiksel Analiz

Morfolojik ve biyokimyasal veriler “SPSS 20.0 for Windows” istatistik programı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu “*Kolmogorov-Smirnov*” testiyle incelendi. Grupların karşılaştırılması “*Kruskal-Wallis H*” testiyle yapıldı. Anlamlı farklılık belirlendiğinde çoklu karşılaştırmalar “*Conover*” testiyle yapıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Fetustardan elde edilen morfolojik ve biyokimyasal veriler, ortanca (minimum- maksimum) olarak özetlendi. Histolojik istatistiksel analizler SPSS programı (SPSS for Windows version 17) ve MedCalc (2007, Belçika) istatistiksel yazılım programları ile yapıldı. Grupların genel karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Tüm sonuçlar aritmetik ortalama $\pm$ standart hata ($\bar{x} \pm SE$) olarak ifade edildi.

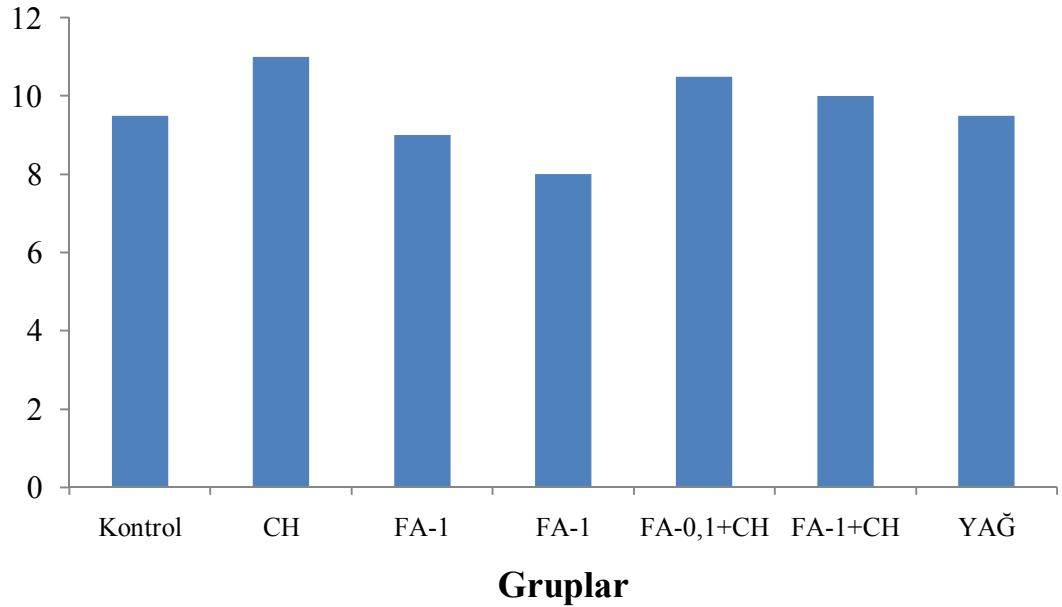
4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

Deney gruplarındaki gebe sıçanlardan sezeryan ile 518 fetus elde edildi. Gruplara ait fetus sayıları Tablo 4.1.'de belirtildi. Gruplardan elde edilen fetus sayısı ile ilgili yapılan istatistiksel analizde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,123$). Kontrol grubuna göre FA-0,1 ve FA-1 grubunda fetus sayısında bir azalma vardı ama bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4.1., Şekil 4.1.).

Tablo 4.1. Gruplara ait fetus sayısı.

GRUP	Fetus Sayısı
Kontrol	9,5 (8-12)
CH	11 (9-13)
FA-0,1	9 (7-12)
FA-1	8 (3-11)
FA-0,1+ CH	10,5 (7-14)
FA-1+ CH	10 (7-11)
YAĞ	9,5 (8-11)



Şekil 4.1. Gruplara ait fetus sayısı.

518 adet fetusun ağırlığı ve karaciğer ağırlığı tartıldı. Elde edilen verilerle yapılan istatistiksel analizde grupların morfolojik parametreleri ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Gruplardaki fetusların morfolojik parametreleri.

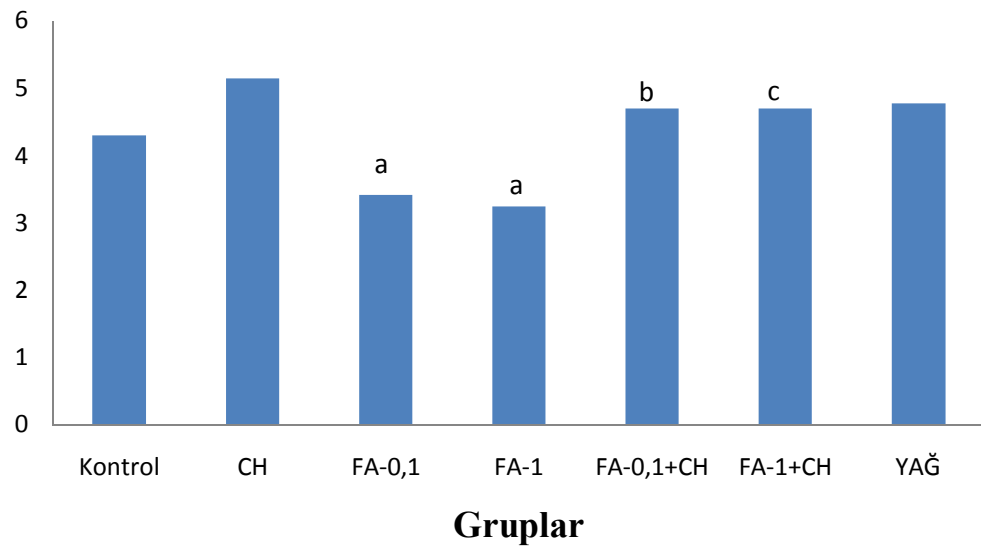
GRUP	Fetus ağırlığı (gr)	Karaciğer Ağırlığı (gr)
Kontrol (n=59)	4,3 (2,603-6,34)	0,24 (0,11-0,352)
CH (n=67)	5,14 (3,1-6,1)	0,26 (0,1-0,434)
FA-0,1 (n=87)	3,416 (1,36-6,32) ^a	0,23 (0,066-0,392)
FA-1 (n=53)	3,238 (0,964-4,392) ^a	0,21 (0,031-0,673) ^a
FA-0,1+CH (n=109)	4,697 (1,812-5,77)	0,26 (0,11-0,43)
FA-1+CH (n=86)	4,7 (2,647-5,87)	0,26 (0,115-0,427)
YAĞ (n=57)	4,77 (2,843-6,41)	0,25 (0,161-0,41)

n= Denek sayısı.

a=p<0.05, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.

4.1.1. Fetüslerin Ağırlığı

FA-0,1 ve FA-1 gruplarının fetus ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı. CH ile FA uygulanan gruplarda fetus ağırlığı sadece FA alan gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde arttı ($p<0.05$) (Tablo 4.2., Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Gruplara ait fetus ağırlığı değerleri.

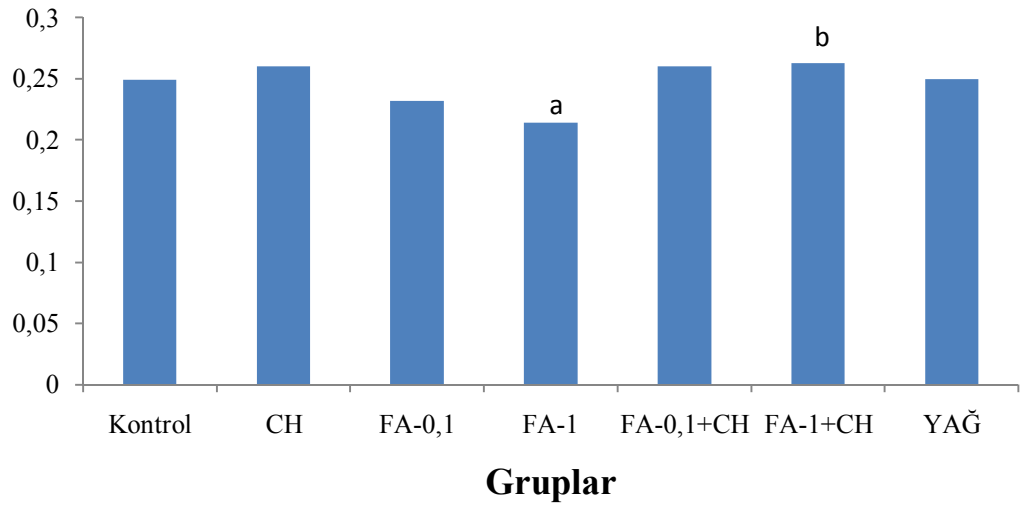
a= $p<0.05$, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.

b= $p<0.05$, FA-0,1 karşılaştırıldığında.

c= $p<0.05$, FA-1 karşılaştırıldığında.

4.1.2. Karaciğer Ağırlığı

FA-0,1 grubundaki fetusların karaciğer ağırlığı kontrol grubu arasında fark bulunmadı. FA-1 grubundaki fetusların karaciğer ağırlığı kontrol grubunda fetusların karaciğer ağırlığına göre anlamlı bir şekilde azaldı. Ayrıca FA-1+CH grubundaki fetusların karaciğer ağırlıkları FA-1 grubuna göre anlamlı şekilde arttı ($p<0.05$) (Tablo 4.2., Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Gruplara ait fetus karaciğer ağırlığının değerleri (gr).

a= $p<0.05$, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.

b= $p<0.05$, FA-1 ile karşılaştırıldığında.

4.1.3. Makroskopik Anomaliler

Fetuslar; meromelia, enfalosele, oligodaktili ve umbilikal herni gibi makroskopik anomaliler yönünden değerlendirildi. Kontrol, FA-0,1, FA-1, CH, FA-1+CH ve yağ grubunda herhangi bir anomali görülmedi. FA-0,1+CH grubunda boyunda şişlik olan bir fetus görüldü (Şekil 4.4.). Makroskopik anomaliler ile ilgili veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



Şekil 4.4. FA-0,1+CH grubunda boyunda şişlik bulunan fetusun görünümü.

Gebeliğin 20. günü sezeryan ile alınan fetusları morfolojik yönden incelerken FA-0,1 grubunda 9 fetusta farklı bölgelerde hematom (yüzde, sağ ayakta); FA-1 grubunda 11 fetusta ise farklı bölgelerde; FA-0,1+CH grubunda da 3 fetusta hematom tespit edildi (Şekil 4.5.). Diğer gruplarda hematom görülmedi.



Şekil 4.5. FA-0,1+CH grubunda fetusta görülen hematom.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

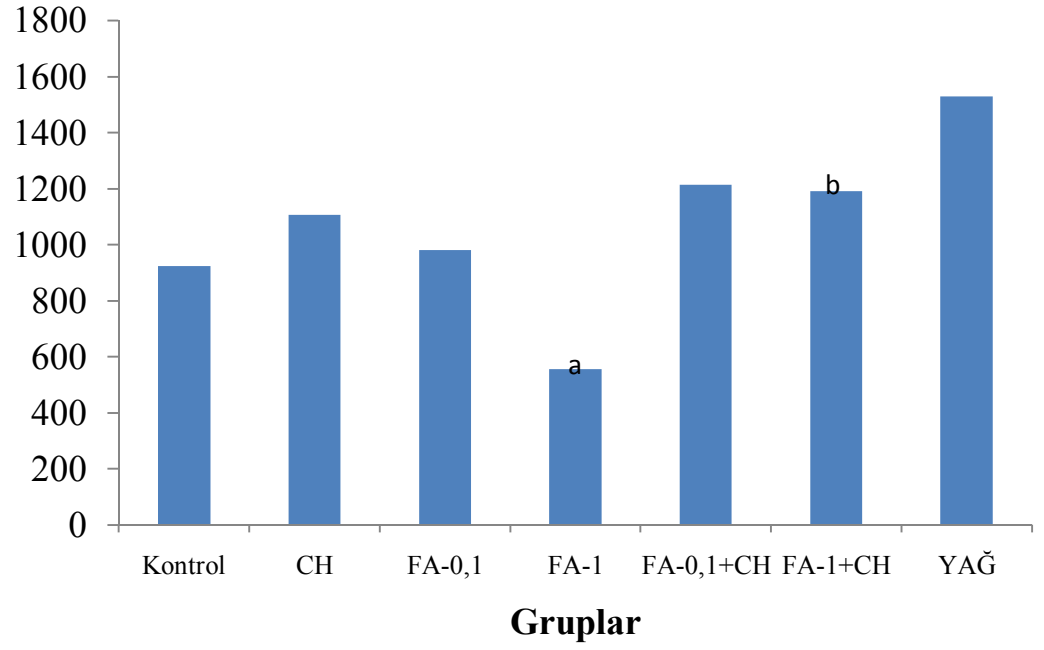
4.2.1. GSH Düzeyleri

GSH düzeyleri ile ilgili elde edilen veriler Tablo 4.3.'de belirtildi. FA-0,1 grubunun GSH düzeyi ile kontrol grubu karşılaştırıldığında artmıştı fakat bu artış anlamlı bulunmadı. FA-1 grubunda GSH düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı. Ayrıca FA-1+CH grubunda ise FA-1 grubuna göre GSH düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı ($p<0.05$) (Tablo 4.3, Şekil 4.6.).

Tablo 4.3. Biyokimyasal parametrelerin ortalama, minimum ve maksimum değerleri.

GRUP	GSH (nmol/gr yaş doku)	GSH-Px (U/g doku proteini)	MDA (nmol/gr yaş doku)	CAT (K/g doku proteini)	SOD (U/g doku proteini)
Kontrol	923 (577-2077)	312(228-338)	631 (335-941)	82 (46,9-109,5)	129 (58-190)
CH	1106 (583-1333)	354(288-384)	844 (472-1039)	100 (58,1-121,6)	125 (78-156)
FA-0,1	980 (782-1474)	331(273-443)	906 (680-1051)	85 (56,5-109,4)	153 (109-199)
FA-1	554 (423-1045) ^a	327(288-459)	723 (546-1028)	95 (65,5-117,2)	119 (105-145)
FA-0,1+CH	1214 (647-1365)	349(297-677)	541 (409-1162)	111 (70,7-146,1)	131 (113-254)
FA-1+CH	1189 (814-2051)	626(509-881)	631 (505-954)	106 (52,9-134,3)	143 (114-206)
YAĞ	1528 (570-2173)	540(479-618)	595 (476-787)	116 (97,9-145,6)	114 (46-140)

a= $p<0.05$, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.



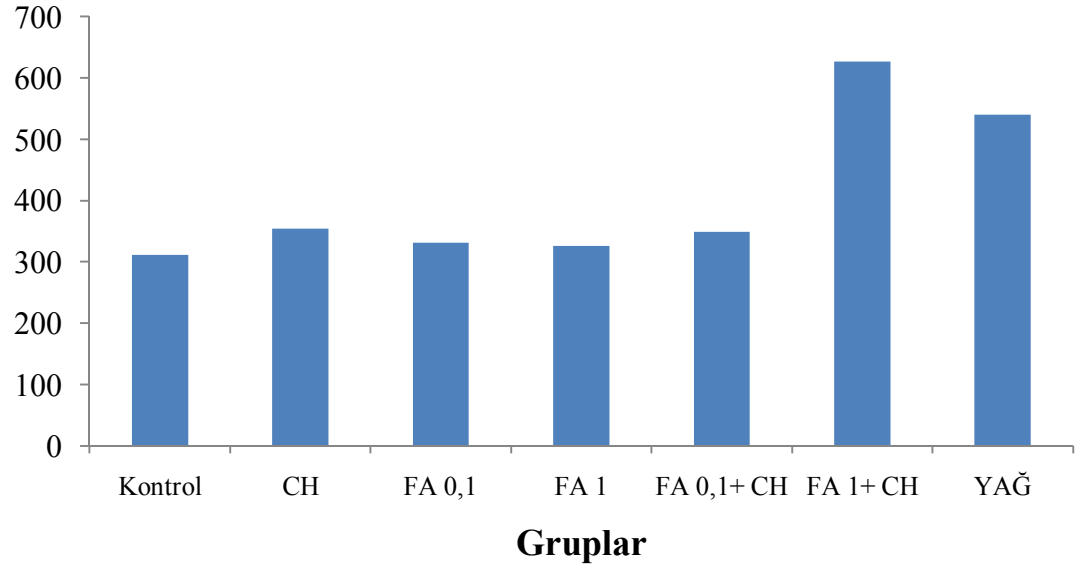
Şekil 4.6. Gruplara ait GSH düzeyleri.

a= $p<0.05$, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında.

b= $p<0.05$, FA-1 ile karşılaştırıldığında.

4.2.2. GSH-Px Enzim Aktivite Düzeyleri

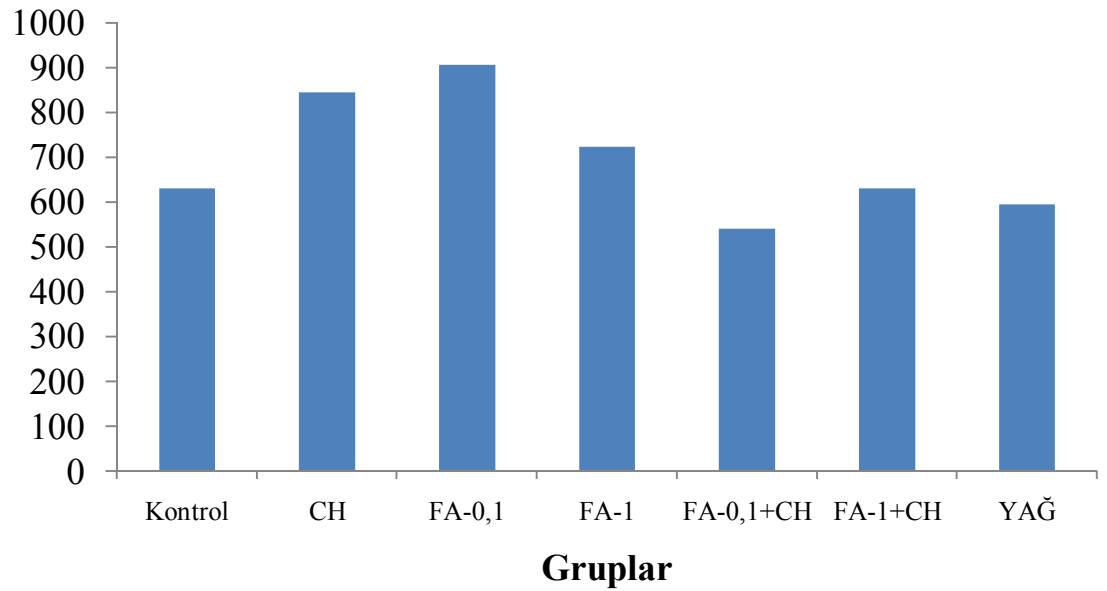
FA-0,1 grubunda ve FA-1 grubunda GSH-Px düzeyi kontrol grubuna göre arttı ama istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.3., Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Gruplara ait GSH-Px enzim aktivite düzeyleri.

4.2.3. MDA Düzeyleri

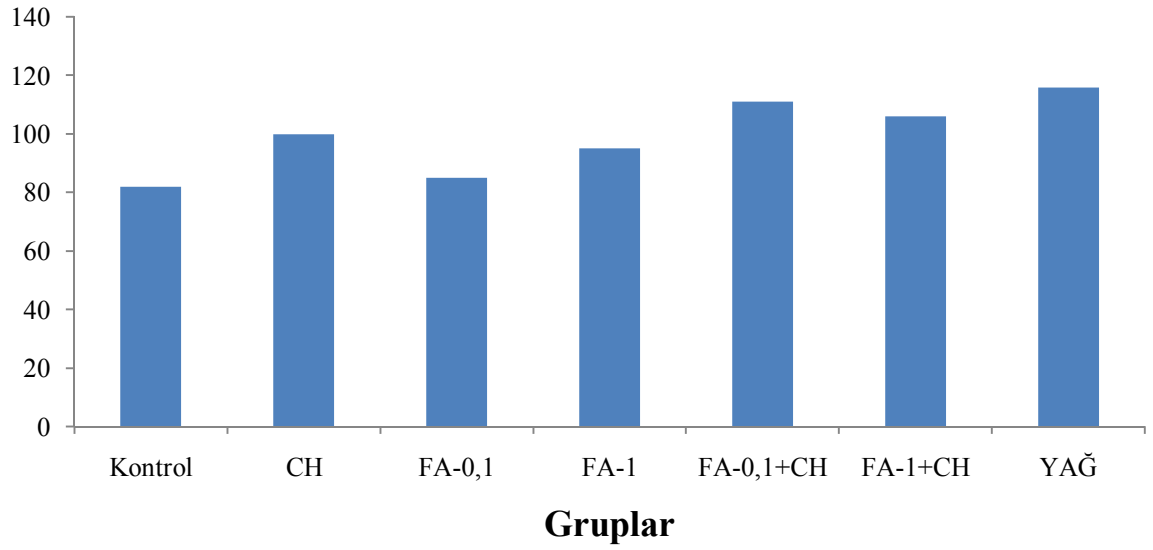
FA-0,1 ve FA-1 gruplarının MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre ciddi artışlar gözlemlendi, fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. FA-0,1+CH ve FA-1+CH gruplarındaki MDA düzeyleri sadece FA uygulanan gruplara göre önemli derecede azaldı, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.3., Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Gruplara ait MDA düzeyleri.

4.2.4. CAT Enzim Aktivite Düzeyleri

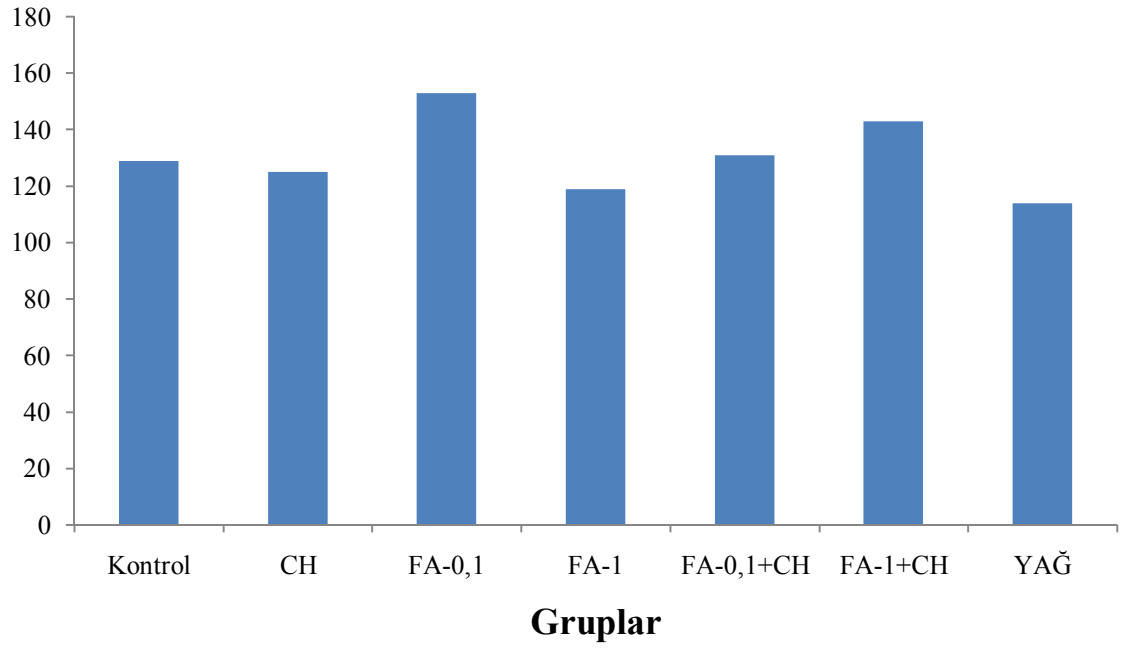
FA-0,1 ve FA-1 grubunun CAT düzeyleri kontrol grubuna göre artmasına rağmen, bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.3., Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Gruplara ait CAT enzim aktivite düzeyleri.

4.2.5. SOD Enzim Aktivite Düzeyleri

FA-0,1 grubunun SOD düzeyi ile kontrol grubuna göre artış oldu ama bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. FA-1 grubunun SOD düzeyi ile kontrol grubuna göre azaldı ama bu azalma istatistiksel anlamlılık seviyesine ulaşmadı. ($p>0.05$) (Tablo 4.4., Şekil 4.10.).



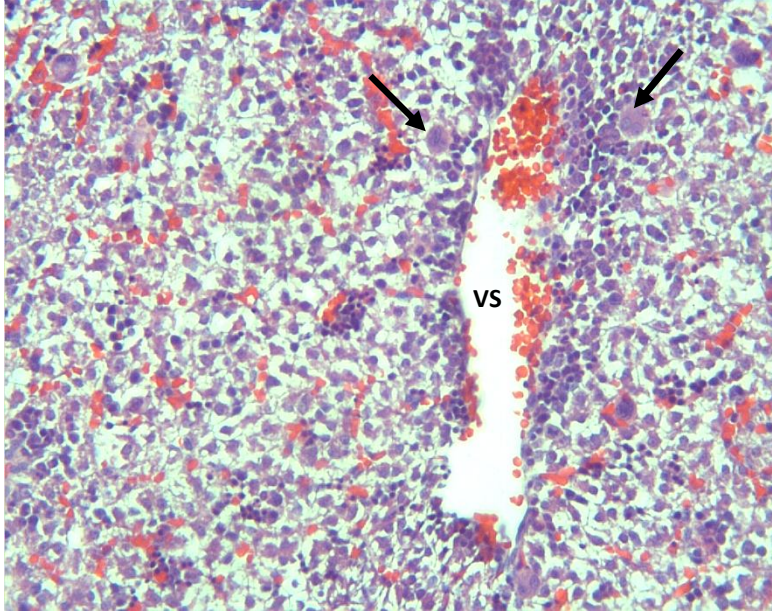
Şekil 4.10. Gruplara ait SOD enzim aktivite düzeyleri.

4.3. Histolojik Bulgular

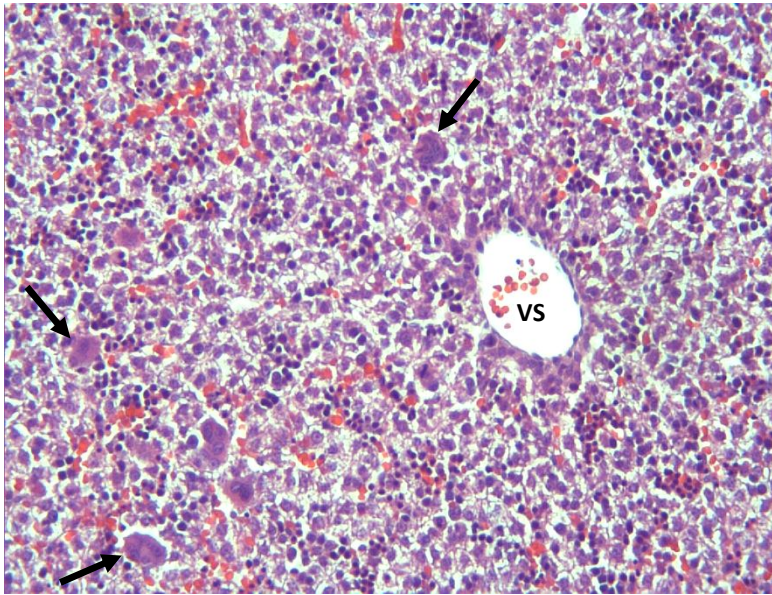
Deney sonunda, sıçanların karaciğerleri alınarak % 10 formol solüsyonu içinde tespit edildi. Tespit sonrası çeşme suyu ile yıkandılar. Dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden sonra dokular parafine gömüldü. Mikrotomla 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyondan sonra kesitlere H-E ve PAS boyama metodu uygulandı. Boyanan preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile incelendi ve değerlendirildi. MegakaryositlerX20 objektif kullanılarak, rastgele 10 alanda sayıldı.

4.3.1. Kontrol, Yağ ve Chrysin Grupları

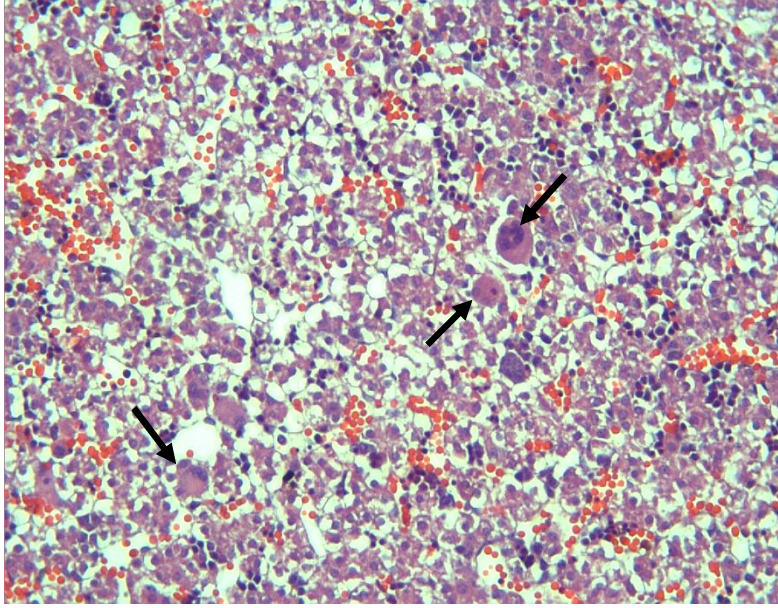
H-E boyama metodu uygulanan kesitlerde, her üç grupta da klasik karaciğer lobül yapısı tam olarak gözlenmedi. Safra kanalları dışında, portal alanların diğer yapıları ayırt edilmedi. Geniş bir vena sentralis etrafında düzensiz yerleşimli hepatositler ve içi eritrositlerle dolu sinuzoidler dikkat çekti. Hepatositler arasında çok nukleuslu, asidofil sitoplazmalı megakaryositler izlendi (Şekil 4.11., 4.12. ve 4.13.).



Şekil 4.11. Kontrol grubunda geniş bir vena sentralis (VS) etrafında izlenen hepatositler ve megakaryositler (oklar). H-EX20

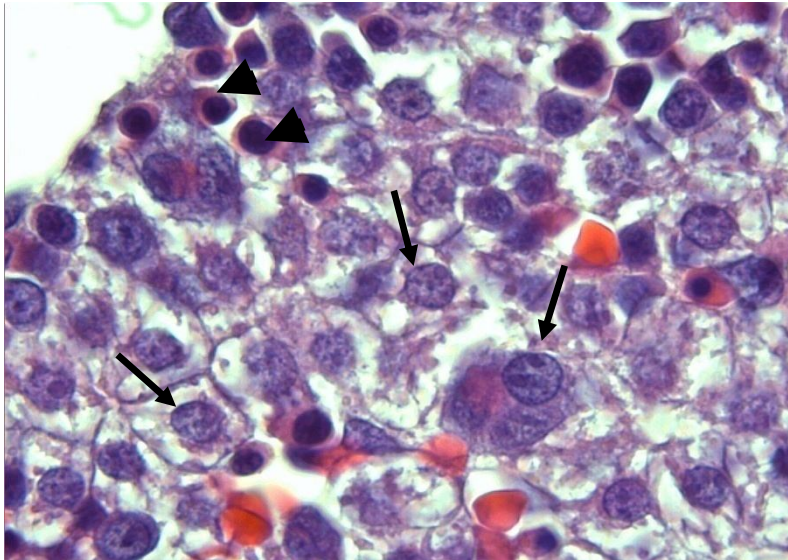


Şekil 4.12. Yağ grubunda vena sentralis (VS) ve megakaryositlerin görünümü (oklar). H-EX20.



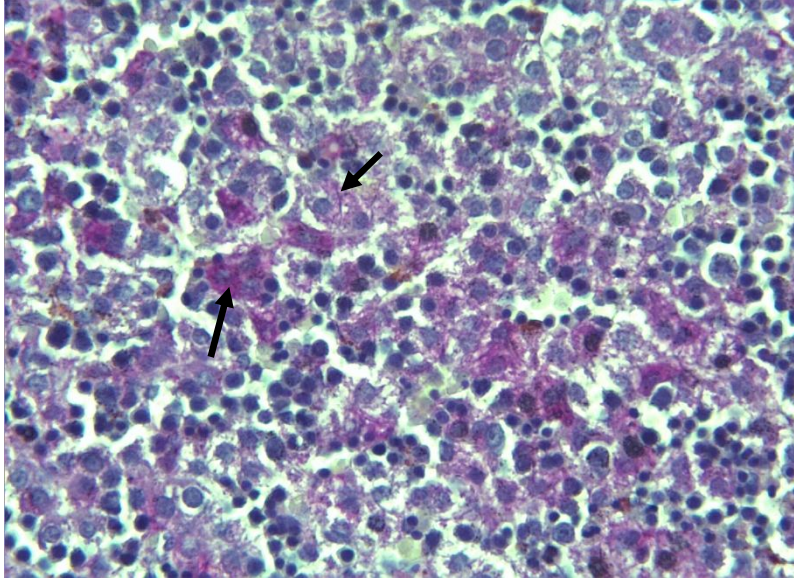
Şekil 4.13. CH grubunda megakoryositler (oklar). H-EX 20

Yuvarlak ya da oval şekilli ve ökromatik nukleuslara sahip hepatositler arasında hematopoetik hücre grupları izlendi (Şekil 4.14.).

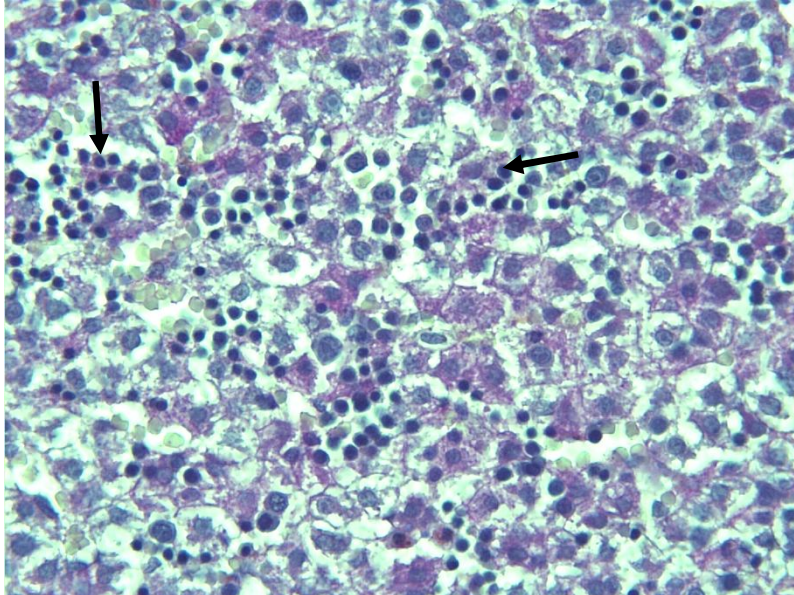


Şekil 4.14. Kontrol grubunda ökromatik nukleuslu hepatositler (oklar) arasında hematopoetik hücreler (ok başları) H-EX100.

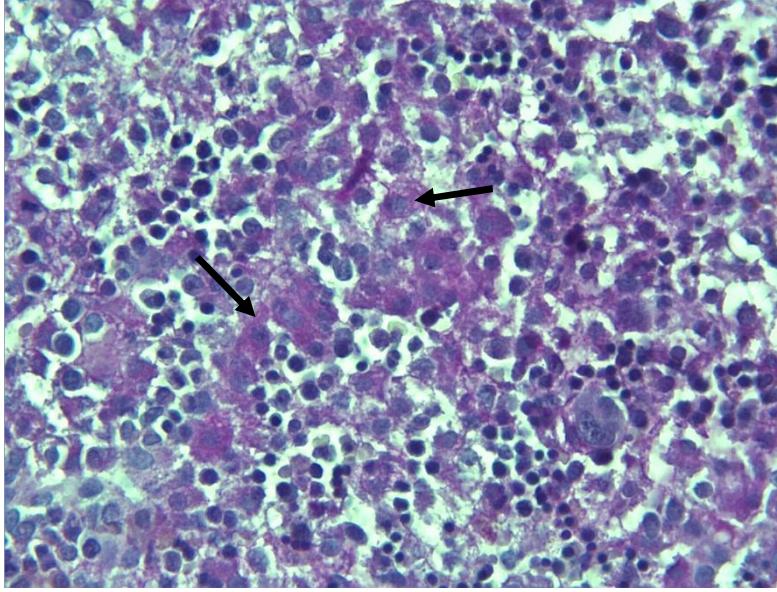
PAS boyama metodu uygulanan kesitlerde; tüm grupların parankima içerisinde bazı alanlarda hepatositlerin kırmızı-pembe renkte kuvvetli PAS (+) reaksiyon gösterdikleri tesbit edildi (Şekil 4.15., 4.16. ve 4.17.).



Şekil 4.15. Kontrol grubunda PAS (+) boyanan hücrelerin (oklar) görünümü, PASX40.



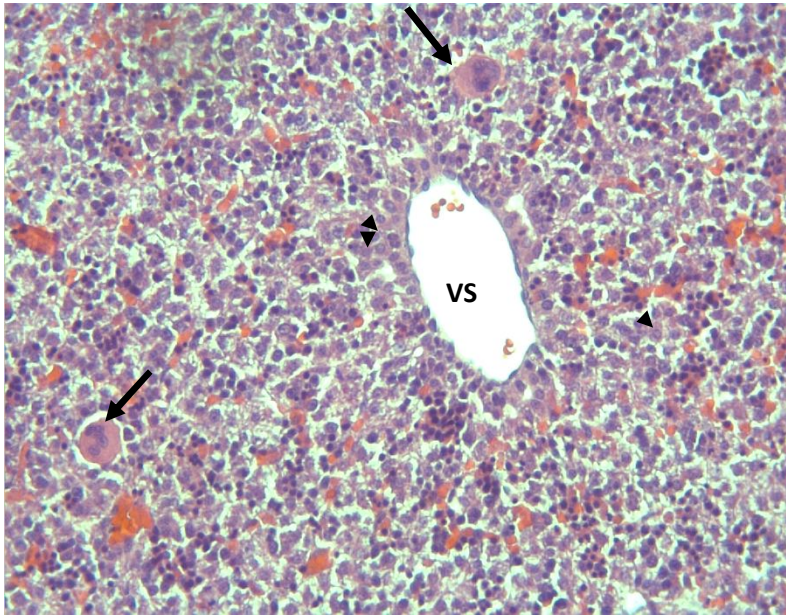
Şekil 4.16. Yağ grubunda PAS (+) boyanan hücreler arasında hematopoetik hücreler (oklar) izlenmekte, PASX40.



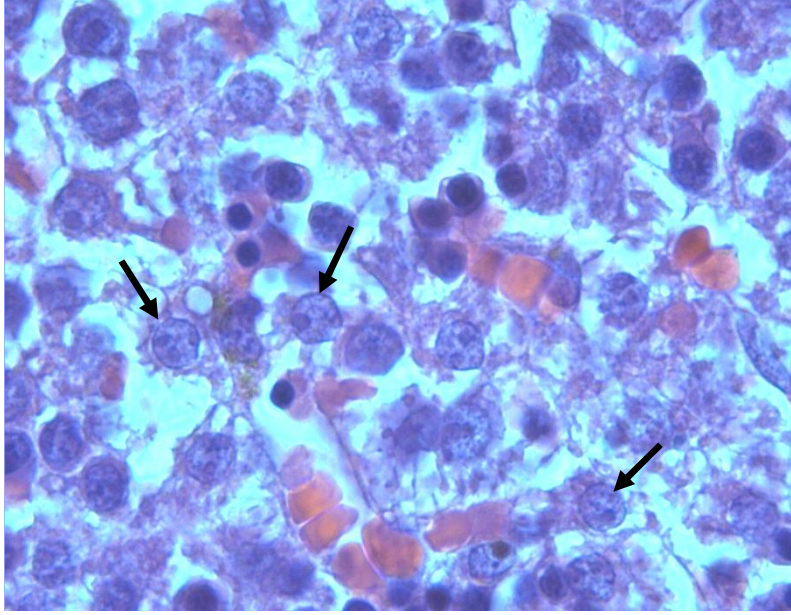
Şekil 4.17. CH grubunda hepatositlerin (oklar) görünümü, PASX40.

4.3.2. Formaldehit Grupları

FA-0,1 grubunda karaciğerin histolojik görünümü (Şekil 4.18.) ve hepatosit nükleuslarının yapısı kontrol gruplarına benzerdi (Şekil 4.19.).

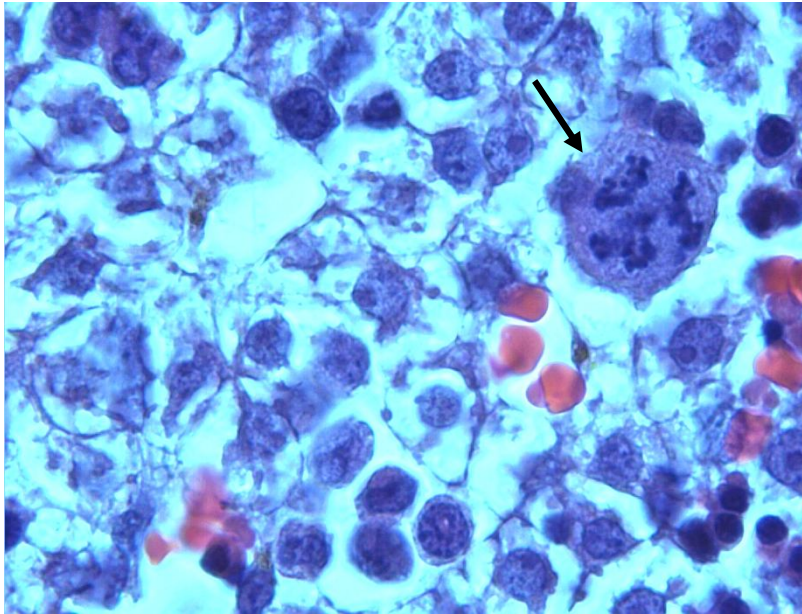


Şekil 4.18. FA-0,1 grubunda vena sentralis (VS) etrafında hepatositler (ok başları) arasında izlenen megakaryositler (oklar), H-EX20.



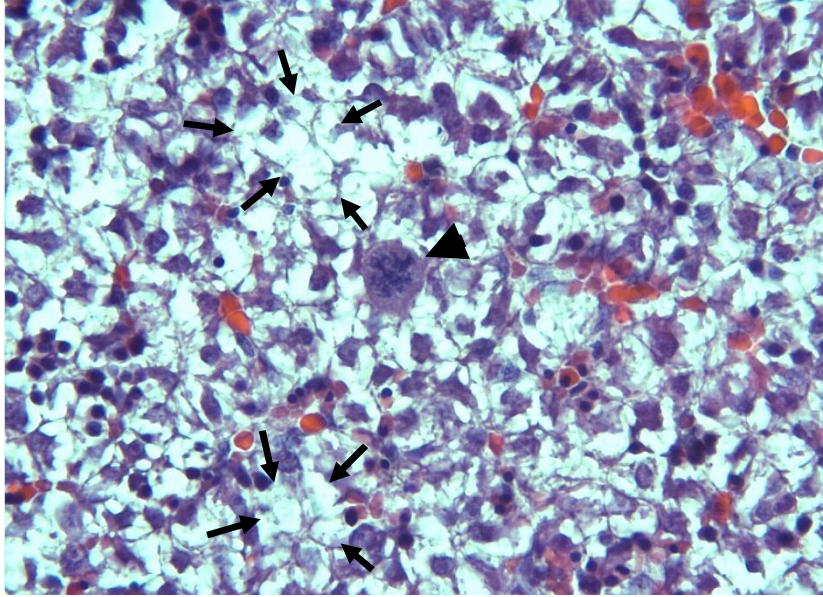
Şekil 4.19. FA-0,1 grubunda hepatosit nukleusları izlenmekte (oklar), H-EX100.

Ancak megakaryosit sayısı kontrol gruplarına göre azalmıştı. Diğer yandan FA-1 grubunda, dejenere megakaryositler dikkat çekti (Şekil 4.20.).



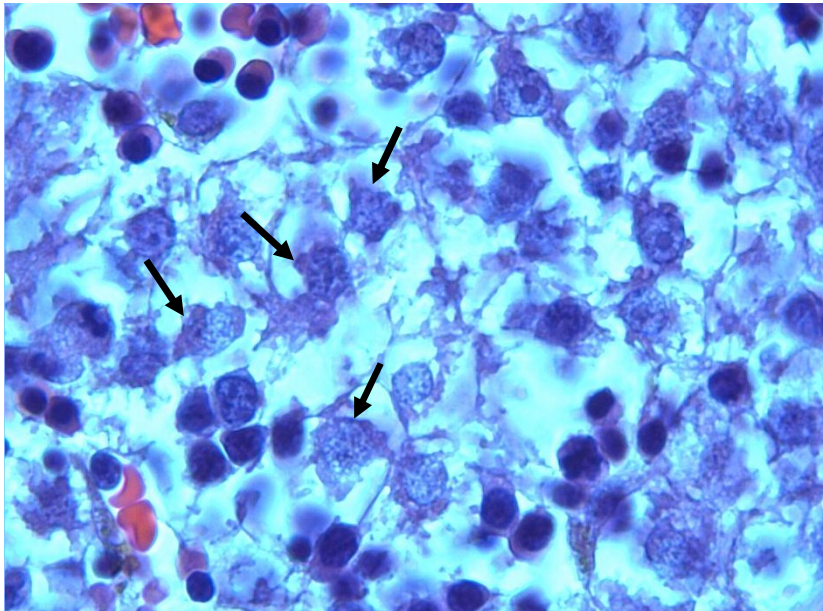
Şekil 4.20. FA-1 grubunda dejenere megakaryosit (ok), H-EX100.

Ayrıca parankima içerisinde, bazı alanlarda hepatosit ve hematopoetik hücrelerin olmadığı bölgeler fark edildi (Şekil 4.21.).



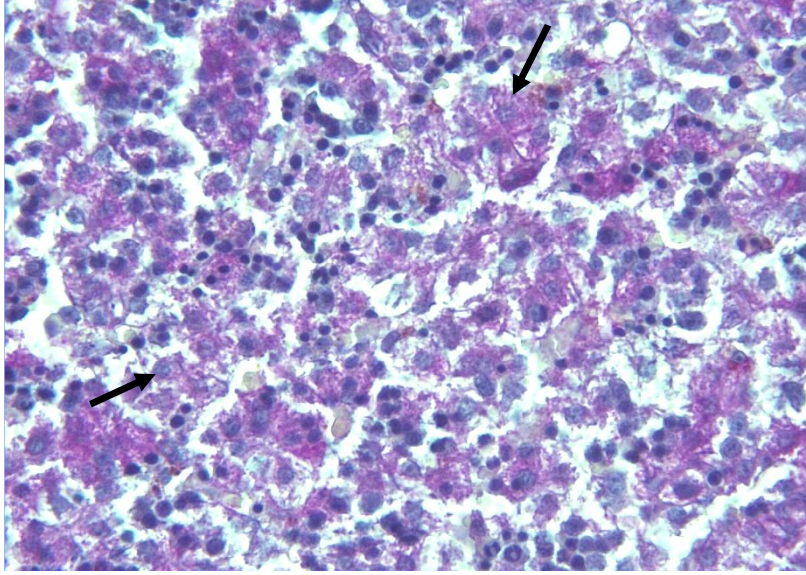
Şekil 4.21. FA-1 grubunda hepatosit ve hematopoetik hücrelerin olmadığı alanlar (oklar) ve degenere megakaryosit (ok başı), H-EX40.

Bu grupta konturları bozulmuş, nukleolusları belirgin olmayan, farklı şekillerde izlenen hepatosit nukleusları dikkat çekici idi (Şekil 4.22.).

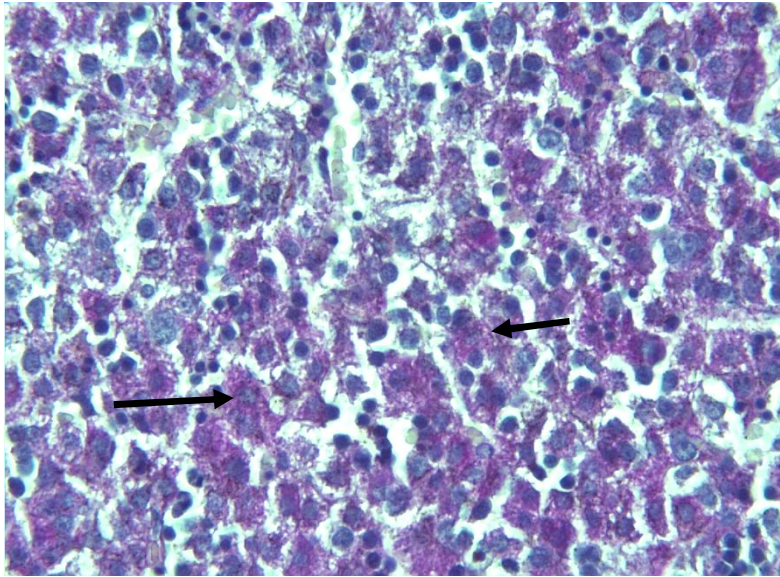


Şekil 4.22. FA-1 grubunda hepatositlerin farklı histolojik yapıları dikkat çekici idi (oklar), H-EX100.

Hepatosit sitoplazmasındaki PAS pozitif boyanma FA-0,1 ve FA-1 grubunda kontrollere benzer olarak izlendi (Şekil 4.23. ve Şekil 4.24.).



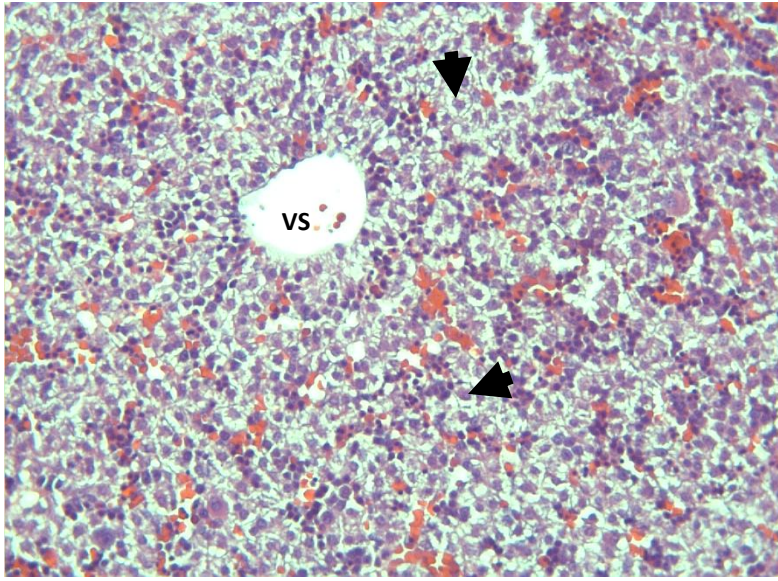
Şekil 4.23. FA-0,1 grubunda PAS(+) boyanan hepatositler (oklar), PASX40



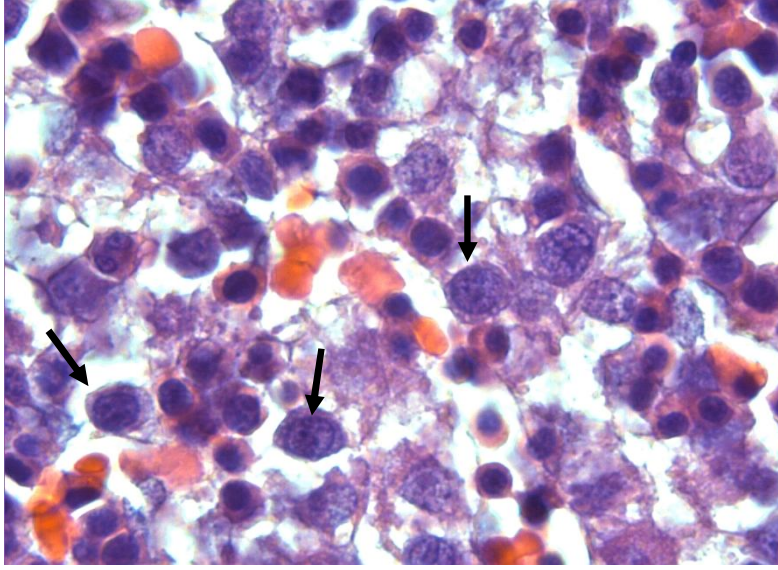
Şekil 4.24. FA-1 grubunda hepatositlerin (oklar) boyanma özellikleri, FA-0,1 grubuna benzer olarak izlenmekte, PASX40.

4.3.3. Formaldehit+Chrysin grupları

CH verilmesiyle megakaryosit sayısında FA gruplarına göre artış izlendi. Ancak bu artış istatistiksel olarak önemsiz bulundu. FA-0,1+CH grubunda megakaryositlerin ve hepatosit nukleuslarının görünümü normal olarak izlendi (Şekil 4.25. ve Şekil 4.26.).

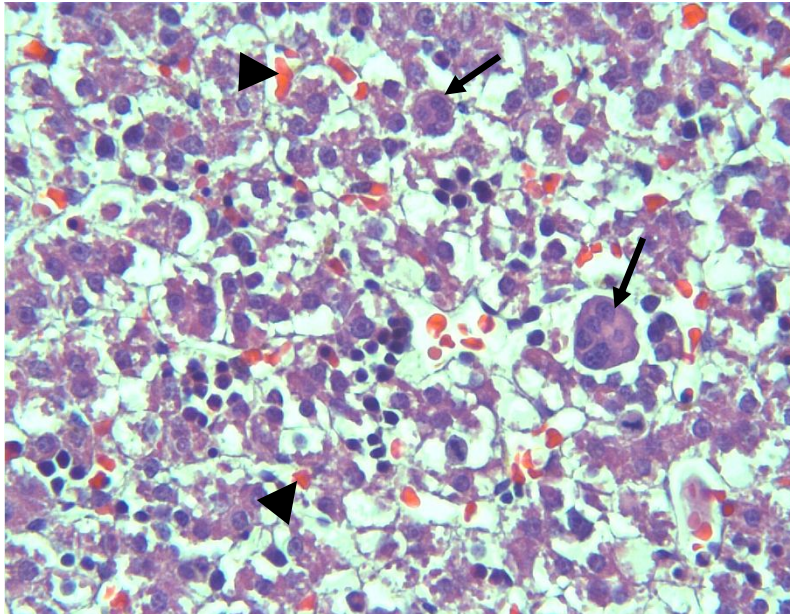


Şekil 4.25. FA-0,1+CH grubunda vena sentralis (VS) ve hepatositlerin (ok başları) görünümü, H-EX20.

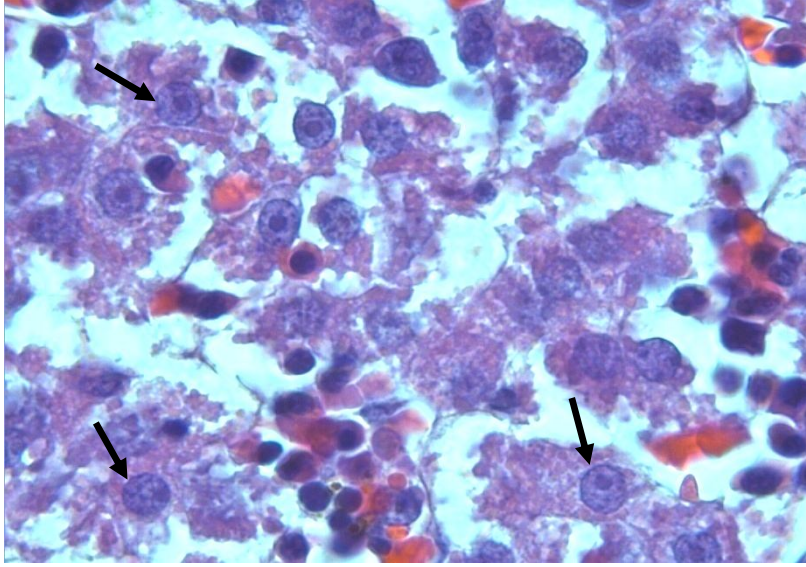


Şekil 4.26. FA-0,1+CH grubunda hepatosit nukleusları (oklar), H-EX100.

FA-1+CH grubunda ise, FA-1 grubunda izlenen hepatosit ve hematopoetik hücrelerin olmadığı alanların azaldığı, hepatosit nukleuslarının daha düzgün konturlu ve megakaryositlerin de kontrollerle benzer yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 4.27. ve Şekil 4.28.).

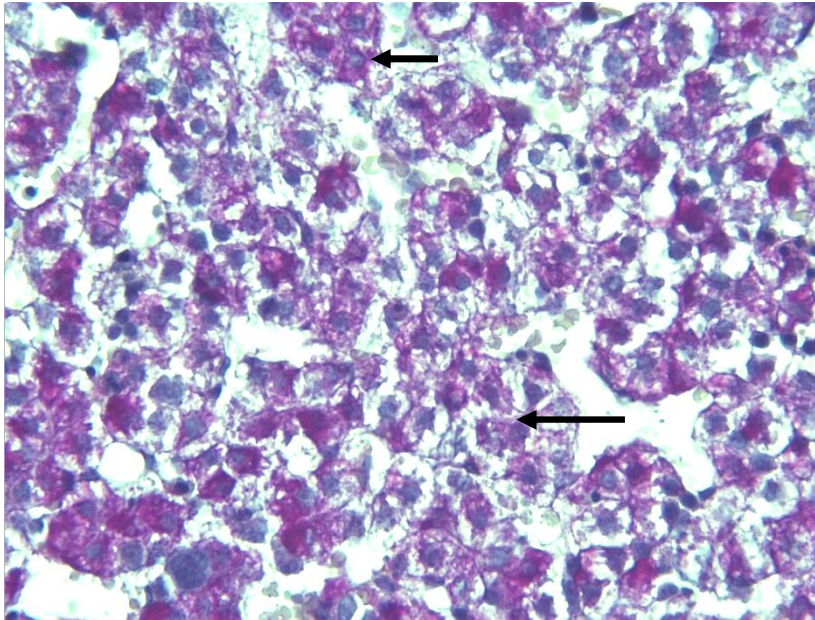


Şekil 4.27. FA-1+CH grubunda hematopoetik hücrelerin (ok başları) ve megakaryositlerin (oklar) görünümü, H-EX40.

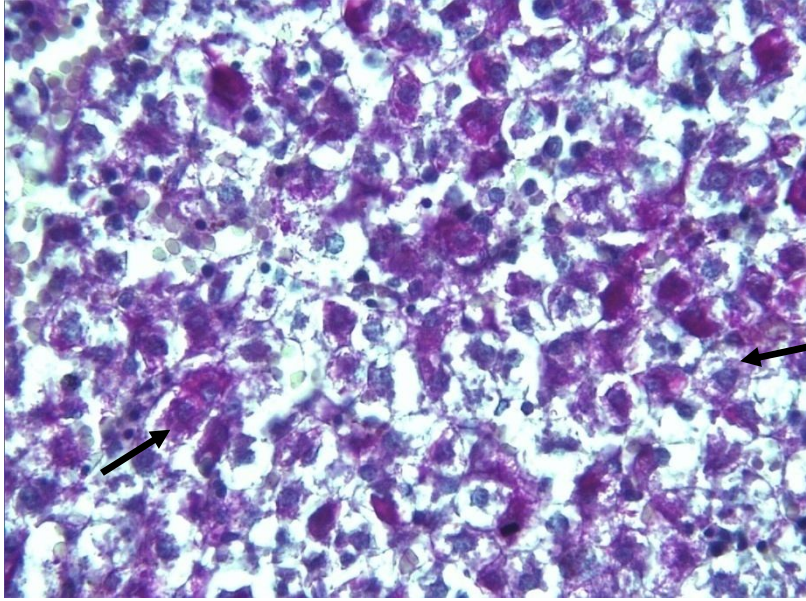


Şekil 4.28. FA-1+CH grubunda hepatosit nukleusları (oklar) normal histolojik yapıda izlenmekte, H-EX100.

PAS pozitif boyanma bakımından FA+CH grupları ile FA grupları arasında belirgin bir fark gözlenmedi (Şekil 4.29. ve Şekil 4.30.). Grupların megakaryosit sayıları Tablo 4.4' de verildi.



Şekil 4.29. FA-0,1+CH grubunda hepatositlerin (oklar) PAS (+) boyanma özellikleri, PASX40.



Şekil 4.30. FA-1+CH grubunda hepatositlerin (oklar) boyanma özellikleri FA-0,1+CH grubuna benzemektedir, PASX40.

Tablo 4.4. Grupların megakaryosit sayıları.

Gruplar	Megakaryosit sayısı
Kontrol	27.7 ± 2.9
Yağ	21.2 ± 2.3
CH	19.4 ± 2.1
FA-0,1	16.6 ± 2.4^a
FA-0,1+CH	$17.2 \pm 1.3^{a,b}$
FA-1	$14.0 \pm 2.2^{a,b}$
FA-1+CH	$15.9 \pm 1.8^{a,b,c}$

^a Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azalmış ($p < 0.001$).

^b FA-0,1 grubuna göre fark istatistiksel olarak önemsiz.

^c FA 1 grubuna göre fark istatistiksel olarak önemsiz.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda gebe sıçanlarda formaldehit maruziyetinin fetusların morfolojik yapıları ve karaciğer gelişimi üzerine muhtemel zararlı etkileri, ayrıca bu zararlı etkiye karşı chrysinin muhtemel koruyucu rolü; morfolojik ölçümler, histolojik uygulamalar ve biyokimyasal analizler ile araştırıldı.

FA, günlük yaşantımızda kullandığımız birçok üründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Deri, solunum ve sindirim yoluyla vücuda girerek insan sağlığı üzerinde toksik, karsinogenik etkileri olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Ayrıca üreme sistemi ve gebelik üzerine de olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (14, 15).

CH, çay, tahıl ve meyvelerde bulunmaktadır (84). 5,7-dihidroksiflavon molekül yapısında olan CH, vücutta doku hasarına neden olan serbest radikalleri süpürücü özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır (85, 86, 88, 89). CH'nin antienflamatuar, antikanser, antihipertansif, antialerjik ve anksiyolitik olmak üzere insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi bulunmaktadır (86, 88, 99-107). Ayrıca cildi koruyucu etkisi de bulunmaktadır (86). Yapılan literatür taramalarında CH'nin gebelik üzerine etkilerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

5. 1. Morfolojik Karşılaştırmalar

Hamsterlarda yapılan bir çalışmada gebeliğin 8., 9., 10. ve 11. günleri FA perkütan bir şekilde uygulandığında fetal ölümlerin arttığı, fetus ağırlığı ve uzunluğunun etkilenmediği görülmüş ve herhangi bir anomali saptanmamıştır. Fetal ölümlerinin artması sebebinin stres olduğunun düşünüldüğü ifade edilmiştir (47). Thrasher ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada sıçanlar gebelik boyunca 0,012 mg/m³ ve 1,0 mg/m³ dozlarında FA'ya inhalasyonla maruz bırakılmışlardır. Çalışmanın sonunda FA'ya maruz kalan gruplarda kontrol grubuna göre fetus sayısının azaldığı saptanmıştır. Ayrıca fetusların karaciğer ve akciğer ağırlığında azalma ve fetusların vücut, kalp, böbrek ve thymus ağırlığında ise artma tespit edilmiştir. Bu duruma DNA ve RNA konsantrasyonunun azalmasının neden olduğu ifade edilmiştir (36). Sıçanlarda yapılan diğer bir çalışmada ise gebeliğin 6. gününden 15. gününe kadar inhalasyonla 2 ppm, 5 ppm ve 10 ppm dozlarında FA'ya maruz bırakarak yaptığı

çalışmada fetus ağırlığına herhangi bir etkisi olmadığı bulunmuştur (49). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, gebelik süresi boyunca inhalasyonla 12 ppm dozunda FA'ya maruz bırakılmış ve yenidoğanların % 35.6' sı düşük doğum ağırlıklı ve % 64.4 ise çok düşük doğum ağırlıklı olduğu tespit edilmiştir (52). Saillenfait ve ark. Sprague-Dawley sıçanlarında yaptıkları bir çalışmada, gebeliğin 6. gününden 20. gününe kadar günde 6 saat boyunca 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, ve 40 ppm dozlarında inhalasyonla FA'ya maruz bıraktıklarında 20 ppm ve 40 ppm dozlarında FA'ya maruz kalanların fetus ağırlığında önemli bir düşüş bulunmuştur (48).

Çalışmamızda literatüre uygun olarak fetus sayısı hem FA-0,1 hem de FA-1 gruplarında azaldı, ama bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. FA-0,1 ve FA-1 gruplarında fetus ağırlığında anlamlı bir azalma saptandı. FA-1 grubunda karaciğer ağırlığında anlamlı olarak azalma tespit edildi. Çalışmamızda daha düşük dozlarda fetusların ağırlığının anlamlı azalmasını ve karaciğer ağırlığının azalmasını, FA'nın i.p. verilmesi ile sistemik etki oluşturmaya bağlandı. Sistemik olarak etki eden FA'nın protein sentezini inhibe ederek fetal ağırlıkları azaltmış olabileceği düşünülmektedir.

CH uygulaması, FA uygulanan gruplarda fetus ağırlığını ve karaciğer ağırlığını anlamlı olarak arttırdı. CH'nin serbest radikalleri süpürücü mekanizması ile antioksidan özellik göstermesinin bu artışların sebebi olduğu düşünüldü (88, 97, 98). Ayrıca CH, fetus sayısını arttırmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

5. 2. Biyokimyasal Karşılaştırmalar

Yüksek yapılı canlıların hücrelerinde sürekli serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşmakta ve bu radikallerin düzeyi, hücrelerin enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları tarafından detoksifiye edilerek kontrol edilmektedir. Hücrelerde bulunan enzimatik antioksidanlar: SOD, CAT, GSH-Px, GR, GST; nonezimatik antioksidanlar: GSH, melatonin, A; E ve C vitaminleri, selenyum, diğer antioksidan etkili organik ve inorganik moleküllerden oluşmaktadır (135). Patolojik durumlarda aşırı serbest radikal üretimine ya da antioksidanların miktarının azalmasına bağlı olarak dengenin oksidanlar lehine bozulması, hücreler için hasarlayıcı olayların

başlamasına neden olan oksidatif strese yol açmaktadır. Oksidatif stres, DNA, RNA, lipid, protein, karbonhidrat gibi hücre yapı taşlarının hasarlanmasına ve hücrelerin canlılığını yitirmesine neden olmaktadır. Özellikle hücrelerin membran lipidlerinin oksidasyona uğraması, yani hücrede aşırı lipid peroksidasyon ürünlerinin (MDA; 4-hidroksinonenal gibi) birikimi, hücreler üzerinde sitotoksik etki meydana getirerek kısa sürede hücrenin ölmesine neden olmaktadır (60, 136-138).

Toksik moleküllerin detoksifiye edildiği bir organ olması nedeniyle karaciğer dokusunun antioksidan kapasitesinin en üst düzeyde olması, etkili bir detoksifikasyon için anahtar rol oynamaktadır. SOD, toksik moleküllerce meydana getirilen oksidatif streste ilk oluşan ve oldukça toksik olan süperoksit radikalini, çok daha düşük toksik etkili bir radikal olan H_2O_2 'e dönüştürerek detoksifiye etmekte ve dokuları oksidatif hasara karşı korumaktadır (54, 66, 68). Çalışmamızda FA-0,1 grubunda FA toksisitesine cevap olarak fetal karaciğer hücrelerinin, SOD aktivite düzeylerini kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırarak bir dengeleme (hücre sel kompenzasyon) mekanizması geliştirdiği görülmektedir. Ancak FA-1 grubundaki fetuslarda, SOD aktivitesi kontrol grubuna göre azalmış, yani hücre sel bir kompenzasyon mekanizması gelişmemiştir. Muhtemelen FA-1 grubunda, karaciğer hücrelerinde SOD aktivitesini baskılayarak (transkripsiyonel ve/veya translasyonel seviyede) SOD aktivitesini azaltmıştır. Koruyucu olarak FA ile birlikte CH verilen fetuslarda, CH'nin antioksidan etkisi nedeniyle, özellikle sadece FA-0,1 grubundaki fetuslarda SOD aktivitesindeki artış (hücre sel kompenzasyon) ve FA-1 grubundaki fetuslarda SOD aktivitesindeki düşüş normalize edilmiş olduğu görülmektedir. Ancak, histopatolojik sonuçlar, SOD düzeyindeki bu normalizasyonu teyit etmemiştir. Çünkü FA-0,1 ve FA-1 gruplarında fetal karaciğer hücrelerinde megakaryosit sayısı ciddi derecede düşmüş, CH uygulaması bu düşüşü tam olarak geri çevirememiştir.

CAT ve GSH-Px vücudun tüm dokularında yaygın olarak bulunan ve SOD tarafından sentezlenen hidrojen peroksidin suya kadar yıkılarak detoksifiye edilmesini sağlayan en önemli antioksidan enzimlerdir. Oksidatif stresin kronikleştiği patolojilerde, hücrelerde oluşan H_2O_2 'nin büyük kısmı GSH-Px tarafından yıkılmaktadır. Kronik patolojilerde CAT'ın koruyucu etkisi çok daha zayıf kalmaktadır. CAT ve GSH-Px, karaciğer dokusunda yoğun olarak bulunmaktadır

(55, 61, 66, 68-70). FA-0,1 grubundaki fetusların CAT düzeylerinde ciddi bir değişiklik gözlenmemiştir, ancak FA-1 grubundaki fetuslarda CAT düzeyleri kontrol grubuna göre ciddi derecede artış göstermiştir. Tüm grupların fetal karaciğer GSH-Px düzeyleri karşılaştırıldığında: kontrol grubuna göre, FA-0,1 grubundaki fetusların GSH-Px aktivitesinde hafif bir aktivite artışı meydana gelirken; FA-1 grubunda, FA dozu 10 kat artmasına rağmen, ciddi bir GSH-Px aktivite artışı meydana gelmemiştir. FA-1 grubundaki fetuslarda ciddi bir GSH-Px artışının olmaması, bu grubun karaciğer GSH düzeyinin kontrol grubuna göre ciddi derecede düşük olması ve bunun sonucunda da GSH-Px aktivitesinin azalmasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Çünkü GSH, GSH-Px'in koenzimidir. Hücrelerde yeterli düzeyde GSH bulunamazsa, GSH-Px aktivitesi önemli derecede düşüş göstermektedir. Bunun sonucunda ise hücrelerin protein, lipid ve karbonhidrat gibi makro yapıtaşlarında meydana gelen oksidasyona bağlı olarak dokularda önemli düzeyde oksidatif hasarlanmalar oluşacaktır. FA-0,1 ve FA-1 grubundaki fetusların karaciğer MDA ve histopatoloji sonuçları bu durumu teyit etmiştir. Çünkü FA-0,1 ve FA-1 grubundaki fetusların, lipid peroksidasyonun en önemli göstergesi olan MDA düzeylerini ciddi derecede artırdığı, karaciğer hücrelerinde megakaryosit sayısını ise ciddi derecede düşürdüğü görülmektedir. FA ile birlikte CH uygulanan gruplarda fetusların karaciğer MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre ciddi artış göstermemesi, CH'nin FA'nın zararlı etkilerine karşı koruyucu etkisine bağlandı.

GSH, tüm vücut hücrelerinde yaygın olarak bulunan ve oksidatif hasara karşı hücreleri koruyan çok önemli bir nonenzimatik antioksidandır (139-141). Vücutta bulunan GSH'nin yaklaşık % 40'ı karaciğer dokusunda bulunmaktadır. GSH, birincil olarak hücrelerde oluşan serbest oksijen radikallerini süpürerek antioksidan etki gösterir. Hücrelerde oksidatif stresin etkisiyle oluşan H_2O_2 'yi, yeterli düzeyde GSH'nin varlığında GSH-Px'in aktivitesiyle suya yıkılarak ortadan kaldırılır. GSH, bu enzimin koenzimidir (142). Ortamda yeterli GSH yoksa, GSH-Px aktivitesi düşük düzeyde gerçekleşir ve H_2O_2 düzeyleri kontrol edilemez, oksidan/antioksidan denge oksidanlar lehine bozulur ve dokularda oksidatif hasarlanmalar meydana gelir. GSH, ikincil olarak da karaciğerde FA ile direkt etkileşerek FA'yı S-hidroksimetil-GSH'a çevirir ve FA'nın formik asite dönüşerek vücut dışına atılmasına katkıda bulunur (143). Sonuçlarımıza göre: FA-0,1 grubundaki fetusların GSH düzeylerinde ciddi bir

değişiklik gözlenmezken, FA-1 grubundaki fetusların GSH düzeyleri kontrol grubuna göre ciddi derecede düşüş göstermiş, bu ciddi düşüş, GSH-Px aktivitesindeki artışı da önemli derecede sınırlamıştır. Ayrıca, karaciğerde GSH düzeyinin ciddi derecede düşmesi, FA'nın karaciğerde GSH'la konjugasyonunu, formik aside yıkımını ve vücut dışına atılımını da sınırlayacaktır. FA ile birlikte CH uygulamasıyla fetusların GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre azalma olmamasının sebebi olarak CH'nin FA'nın toksik etkilerine karşı antioksidan özellik göstermesi olabileceği düşünüldü.

Yapılan literatür taramalarında gebelikte FA maruziyetiyle ilgili biyokimyasal verilere rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise pek çok biyokimyasal veri birlikte değerlendirilmiştir. Gebe ratlara FA uygulamasının özellikle 1 mg/kg dozda fetal karaciğerde GSH düzeylerini önemli derecede azaltarak, MDA seviyelerini ciddi düzeyde artırarak karaciğer dokusunda oksidatif strese neden olduğu ve fetal karaciğer hücresi megakaryosit sayısını anlamlı derecede azaltarak oksidatif hasara yol açtığı açıkça görülmektedir. Bununla beraber, FA ile beraber CH uygulamasının fetal karaciğerde GSH düzeylerini sadece FA uygulanan gruplara göre önemli derecede artırarak ve MDA seviyelerini ciddi düzeyde azaltarak fetal karaciğer dokusunda antioksidan etki gösterdiği söylenebilir. Son yıllarda yapılan çok sayıdaki araştırmanın sonuçlarına göre (144-150) FA maruziyeti, insan ve deney hayvanlarında karaciğer, akciğer, beyin, üreme hücrelerinde ve kan dokularında antioksidan enzim düzeylerini değiştirerek oksidatif strese neden olmaktadır. Bu durumun kronikleşmesi ile de oksidatif doku hasarlanmalarına yol açmaktadır. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

5. 3. Histolojik Karşılaştırmalar

Trasher ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, gebelik boyunca dişi sıçanlar 0,012 mg/m³ ve 1,0 mg/m³ dozlarında FA'ya maruz bırakılmışlardır. 1.0 mg/m³ FA'ya maruz kalan grupta histopatolojik olarak Kupffer hücrelerinde hipertrofi, parankim içerisinde birçok miyelopoetik merkez ve hepatosit glikojen içeriğinde azalma tespit etmişlerdir (36). Çalışmamızda ise FA-0,1 grubunda karaciğerin histolojik görünümünde değişiklik olmadı. Bu grupta hematopoetik sistemde öncül bir hücre olan megakaryosit sayısında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı. FA-1

grubunda ise parankim içerisinde hepatosit ve hematopoetik hücre yoğunluğunun azaldığı, hepatosit nükleuslarının konturlarının bozulduğu ve nukleoluslarının belirgin olmadığı gözlemlendi. Ayrıca bu grupta dejenere megakaryositler izlendi. Megakaryosit sayısında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi. FA'nın dozundaki artışın, oksidatif stresi arttırarak bu histopatolojik değişiklikleri oluşturduğu düşünüldü. FA ile birlikte CH uygulanan gruplarda ise sadece FA uygulanan gruplara göre megakaryosit sayısında artış olmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Muhtemelen, uygulama dozunun düşük ve/veya uygulama süresinin kısa olması, anne kanından fetusa geçiş oranının düşük olması nedenleriyle CH'nin, oksidatif hasara karşı fetal karaciğeri korumada yetersiz kaldığı görüşündeyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda gebelikte düşük doz FA maruziyetinin oksidatif strese neden olarak fetusların morfolojisini, karaciğerin histolojisini ve antioksidan parametreleri olumsuz etkilediği belirlenmiştir. CH ise morfolojik ve biyokimyasal parametrelerde olumlu yönde etki gösterirken histopatolojik değişiklikleri düzeltmekte yetersiz kalmaktadır.

Bu bilgiler doğrultusunda, farklı doz ve sürelerde FA verilen gebe sıçanlara CH verilerek daha ileri deneysel çalışmalar yapılmalıdır. FA kullanılan ortamlarda çalışanlar için gerekli tüm koruyucu önlemler alınmalıdır. İş ortamlarında kullanılan FA dozları, olabildiğince minimum seviyeye indirilmelidir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Who Discovered Formaldehyde. Erişim: 18 Ağustos 2012
<http://wanttoknowit.com/who-discovered-formaldehyde>.
- 2) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Formaldehyde, Division of Toxicology and Environmental Medicine, 2008.
- 3) Smith, A.E. (1992). Formaldehyde. *Occup Med.*, 42, 83-88.
- 4) Chronic toxicity summary. Formaldehyde. Erişim: 22 Ağustos 2012.
http://www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/50000.pdf.
- 5) Canbilen, A., Sezen, ř. , Avunduk, M.C. ,Çon, N.E.(1999). Formaldehit ve toksik etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 9(1), 33- 39.
- 6) Report of the Federal Panel on formaldehyde.1982. Erişim: 23 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1568898>.
- 7) Usanmaz, S.E., Akarsu, E.S., Vural, N. (2002). Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol*, 11, 93-100.
Erişim: 23 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21782590>.
- 8) Formaldehyde. Ten Carcinogenes in Toronto, Erişim : 24 ağustos 2012.
http://www.toronto.ca/health/pdf/cr_appendix_b_formaldehyde.pdf.
- 9) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Formaldehyde Sampling of FEMA Temporary- Housing Trailers, 2006.
- 10) IARC: International Agency For Research On Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 88. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and and 1-*tert*-Butoxy–2-propanol,

Erişim : 25 Ağustos 2012.

<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/volume88.pdf>.

11) Ünsaldı, E. , Çiftçi, M.K. (2010). Formaldehit, kullanım alanları, risk grubu, zararlı etkileri ve koruyucu önlemler. *YYÜ, Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(1), 71-75.

12) Schlink, K., Janßen, K., Nitzsche, S., Gebhard, S., Hengstler, J. G., Klein, S., Oesch, F. (1999). Activity of O6-methylguanine DNA methyltransferase in mononuclear blood cells of formaldehyde-exposed medical students, *Arch Toxicol*, 73, 15-21. Erişim : 26 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10207610>

13) Quievryn, G., Zhitkovich, A. (2000). Loss of DNA-protein crosslinks formaldehyde-exposed cells occurs through spontaneous hydrolysis and an active repair prpcess linked to proteosome function. *Carcinogenesis* , 21 (8),1573-1580.

Erişim : 26 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10910961>

14) WHO-ROE: World Health Organization, Regional Office for Europe, Formaldehyde, Copenhagen, 2001, Erişim : 26 Ağustos 2012.

<http://www.euro.who.int/document/e71922.pdf>

15) Köse, E. (2008). Formaldehit ve aroma soluyan sıçanlarda her iki uygulamanın GnRH seviyeleri ve testisler üzerindeki etkisinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.

16) Golden, R. (2011). Identifying an indoor air exposure limit for formaldehyde considering both irritation and cancer hazards. *Critical Reviews in Toxicology*, 41(8), 672–721. Erişim : 26 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3175005>

17) Arts, J.H.E., Rennen, M.A.J., de Heer, C. (2006). Inhaled formaldehyde: Evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regulatory Toxicology and Farmacology*, 44(2), 144-160. Erişim : 26 Ağustos 2012.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230005002072>

18) Franklin, P., Dingle, P., Stick, S. (2000). Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 161(5), 1757-1759. Erişim: 26 Ağustos 2012.

<http://ajrccm.atsjournals.org/content/161/5/1757.long>

19) Hayasaka, Y., Hayasaka, S., Nagaki, Y. (2001). Ocular changes after intravitreal injection of methanol, formaldehyde, or formate in rabbits. *Pharmacol Toxicol*, 89(2), 74-78. Erişim: 26 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11555323>

20) McGwin, G., Lienert, J., Kennedy, J.I. (2010). Formaldehyde exposure and asthma in children: a systemic review. *Environ Health Perspect*. 2010, 118(3), 313-317. Erişim: 26 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20064771>

21) Restani, P., Galli, C.L. (1991). Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. *Crit Rev Toxicol*, 21, 315-328. Erişim: 27 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1741947>

22) Gürel, A., Coşkun, O., Armutçu, F., Kanter, M., Özen, O.A. (2005). Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 29(3), 173–178. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15820619>.

23) Zararsız, İ., Meydan, S., Sarsılmaz, M., Songur, A., Özen, O. A., Söğüt, S. (2011). Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced cerebellar damage in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 27(6), 489–495. Erişim: 27 Ağustos 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21444354>

- 24) Kilburn, K.H. (1994). Neurobehavioural impairment and seizures from formaldehyde. *Arch Environ Health*, 49(1), 37–44. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8117145>
- 25) Sorg, B.A., Hochstatter, T. (1999). Behavioural sensitization after repeated formaldehyde exposure in rats. *Toxicol Ind Health*, 15(3-4), 346–355. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10416287>
- 26) Pitten, F.A., Kramer, A., Hermann, K., Bremer, J., Koch, S. (2000). Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. *Pathol Res Pract*, 196(3), 193–198. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10729924>
- 27) Zararsiz, İ., Kuş, İ., Akpolat, N., Songur, A., Ögetürk, M., Sarsılmaz, M. (2006). Protective effects of !-3 essential fatty acids agains formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell biochemistry and function*, 24 (3), 237–244. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15648056>
- 28) Zhang, L., Freeman, L.E.B., Nakamura, J., Hecht, S.S., Vandenberg, J.J., Smith, M.T., Sonawane B.R. (2010). FA and leukemia:epidemiology,potential mechanisms and implications for risk assesment. *Environ. Mol. Mutagen*, 51(3), 181-191. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2839060/>
- 29) Blair, A., Hayes, R.B., Hauptmann, M., Stewart, P.A., Lubin, J.H. (2004). Mortality from solid cancers among workers in fa industries. *Am J Epidemiol*, 159(12), 1117-1130. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://lifecenter.sgst.cn/biomedab/cn/biomedabDisplay.do?formatType=Abstract&operate=display&ids=15191929>.
- 30) Zeller, J., Neuss, S., Mueller, J.U., Kühner, S., Holzmann, K., Högel, J., Klingmann, C., Bruckner, T., Triebig, G., Speit, G.(2011). Assesment of genotoxic effects and changes in gene expression in humans exosed to formaldehyde by inhalation under controlled conditions. *Mutagenesis.*, 26(4), 555-561. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21460374>

- 31) Heck, H.D., Casanova, M., Starr, T.B. (1990). Formaldehyde Toxicity - New Understanding. *Crit. Rev. Toxicology*, 20(6), 397-426. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2198047>.
- 32) Speit, G., Schutz, P., Hogel, J., Schmid, O. (2007). Characterization of the genotoxic potential of formaldehyde in V79 cells. *Mutagenesis*, 22(6), 387–394. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17855734>.
- 33) Schmid, O., Speit, G. (2007). Genotoxic effects induced by formaldehyde in human blood and implications for the interpretation of biomonitoring studies. *Mutagenesis*, 22(1), 69–74. Erişim: 27 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17158519>.
- 34) Merk, O., Speit, G. (1998). Significance of formaldehyde-induced DNA-protein crosslinks for mutagenesis. *Environ. Mol. Mutagen.*, 32(3), 260–268. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9814441>.
- 35) Speit, G., Merk, O. (2002). Evaluation of mutagenic effects of formaldehyde in vitro: detection of crosslinks and mutations in Mouse lymphoma cells. *Mutagenesis*, 17(3), 183–187. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11971987>.
- 36) Thrasher, J.D., Kilburn, K.H. (2001). Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Archives of Environmental Health*, 56(4), 300- 311. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11572272>.
- 37) Shumilina, A.V. (1975). Menstrual and child bearing functions of female workers occupationally exposed to the effects of formaldehyde. *Gig Tr Prof Zabol*, 19, 18–21. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1213485>.
- 38) Taskinen, H.K., Kyyronen, P., Sallmen, M., Virtanen, S.V., Liukkonen, T.A., Huida, O., Lindbohm, M.L., Anttila, A. (1999). Reduced fertility among female

wood workers exposed to formaldehyde. *Am. J. Indust. Med*, 36 (1), 206–212. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10361608>.

39) Duong, A., Steinmaus, C., McHale, C.M., Vaughan, C.P., Zhang, L. (2011). Reproductive and developmental toxicity of formaldehyde: A systematic review. *Mutation Research*, 728(3), 118–138. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21787879>

40) Özen, O.A., Akpolat, N., Songur, A., Kuş, A., Zarasız, İ., Özaçmak, V.H., Sarsılmaz, M. (2005). Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. *Toxicol Ind Health*, 21(10), 249-254. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16463957>

41) Köse, E., Sarsılmaz, M., Meydan, S., Pekmez, H., Dabak, D.Ö., Kavaklı, A., Ögetürk, M. (2010). Solunum Yoluyla Formaldehit ve Lavanta Uygulanan Sıçan Testislerinin Değerlendirilmesi; Bir Histolojik Çalışma. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (3), 169-173.

42) Dulskiene, V., Grazuleviciene, R. (2005). Environmental risk factors and outdoor formaldehyde and risk of congenital heart malformations. *Medicina (Kaunas)*, 41, 787–795. Erişim: 28 Ağustos 2012.

43) Marozienne, L., Grazuleviciene, R. (2002). Maternal exposure to low-level air pollution and pregnancy outcomes: a population-based study. *Environ Health*, 1(1), 6. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12495448>.

44) Collins, J.J., Ness, R., Tyl, R.W., Krivanek, N., Esmen, N.A., Hall, T.A. (2001). A review of adverse pregnancy outcomes and formaldehyde exposure in human and animal studies. *Regul Toxicol and Pharmacol*, 34(1), 17-34. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502153>.

- 45) Woodbury, M.A., Zenz, C. (1983). Formaldehyde in the home environment: Prenatal and infant exposures. In: Formaldehyde Toxicity. *Hemisphere Publishing Corp:New York*, 203-211.
- 46) Dorairajan, G. (2010). *Formalin: Nephrotoxic teratogen?* *J. Obstet. Gynaecol. Res*, 36(6), 1256–1260. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21040205>.
- 47) Overman, D.O. (1985). Absence of embryotoxic effects of formaldehyde after percutaneous exposure in hamsters. *Toxicol Lett*, 24(1), 107-110. Erişim: 28 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3975924>.
- 48) Saillenfait, A.M., Bonnet, P., de Ceaurriz, J.(1989). The effects of maternally inhaled formaldehyde on embryonal and foetal development in rats. *Food Chem Toxicol*, 27(8), 545–548. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2792978>.
- 49) Martin, W.J. (1990). A teratology study of inhaled formaldehyde in the rat. *Reproductive Toxicology*, 4(3), 237-239. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2136043>.
- 50) Katakura, Y., Kishi, R., Okui, T., Ikeda, T., Miyake, H. (1993). Distribution of radioactivity from ¹⁴C-formaldehyde in pregnant mice and their fetuses. *British Journal of Industrial Medicine*, 50(2), 176-182. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8435351>.
- 51) Astakhova, L.F., Mukhambetova, L.K.H., Koganova, Z.I., Dolinskaia, S.I., Kazachkov, V.I., Zhurkov, V.S. (1996). Experimental study of the effect of formaldehyde during embryogenesis on the activity of rat liver enzyme systems in ontogenesis. *Vopr Med Khim*, 42(3), 217-222. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9139453>.

- 52) Al-Saraj, A.A. (2009). Teratogenic effect of formaldehyde in rabbits. *Iraqi J. Vet. Sci*, 23, 1–4. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.vetmedmosul.org/ijvs/2009no1e2.htm>
- 53) Koca, N., Karadeniz F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve Vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.
Erişim: 28 Ağustos 2012.
www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/7b16ecf8ca53723_ek.pdf?
- 54) Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Konya : Mimoza Yayınları.
- 55) Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G. (2002). Free Radicals, Antioxidant and Nutrition. *Nutrition*, 18 (10), 872-879. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12361782>
- 56) Yeh, C.C., Hou, M.F., Tsai, S.M., Lin, S.K., Hsiao, J.K., Huang, J.C., Wang, L.H., Wu, S.H., Hou, L.A., Ma, H., Tsai, L.Y. (2005). Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta*, 25, 175-181. Erişim: 28 Ağustos 2012.
www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16009358
- 57) Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals catalytic metal ions in human disease. An overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2172697>
- 58) Combs, G.F. (1998). The vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health 2nd ed. *Academic Press New York*.190-223, 252-257.
- 59) Kökoğlu, E.(1998). Serbest Radikal Reaksiyonlarının Kanserdeki Rolü. *Klinik Gelişim*, 11, 358-364. Erişim: 30 Ağustos 2012.

<http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/1998-1.html>

60) Nordberg, J., Arner, E.S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*, 31, 1287–1312. Erişim: 30 Ağustos 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11728801>

61) Akpoyraz, M., Durak, İ. (1995). *Serbest Radikallerin Biyolojik Temelleri. Ankara Tıp Mecmuası*, 48(2), 253-262. Erişim: 30 Ağustos 2012. http://dergiler.ankara.edu.tr/detail.php?id=36&sayi_id=866

62) Niwa, Y., Ishimoto, K., Kanoh, T. (1990). Introduction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. *Blood*, 76, 835-841.

63) Özdem, S.S., Şadan, G. (1994). Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Üni. Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(1), 63-71.

64) Durak, İ., Kaçmaz, M., Cimen, M.Y., Büyükköçak, Ü., Öztürk, H.S. (2001). Blood oxidant/antioxidant status of atherosclerotic patients. *Int. J. Cardiol*, 77(2-3), 293-297. Erişim: 01 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11182195>

65) Maxwell, S.R.J. (1995). Prospects for the use of antioxidants therapies. *Drugs*, 49(3), 345-361. Erişim: 01 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7774511>

66) Yalçın, A.S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 11(1-2), 342-346. Erişim: 01 Eylül 2012. <http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/1998-1.html>

67) Cunningham, J J., Ellis, S.L., Mcevigh, K.L., Levine, R.E., Calles-Escandon, J.(1991). Reduced mononuclear leukocyte ascorbic acid content in adults with

insulin-dependent diabetes mellitus consuming adequate dietary vitamin C. *Metabolism*, 40(2), 146-149. Erişim: 01 Eylöl 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1988772>

68) Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Med*, 36 (4), 327–358. Erişim: 01 Eylöl 2012.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16573358>

69) Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci*, 4, 339–345. Erişim: 01 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10077544>

70) Sözmen, E.Y. (2002). *Yaşlanma biyokimyası*. T. Onat, K. Emerk, E.Y. Sözmen (Ed.). *İnsan Biyokimyası*. (s. 665-674). Ankara: Palme Yayıncılık

71) Akyol, Ö. (2004). şizofrenide oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5 (ek sayı 1), 15–25.

72) Mayes, P.A.(1993). *Structure and function of the water-soluble vitamins*. R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell (Ed.). *Harper's Biochemistry*. 23 ed. Lange Medical Publication, London, 573-587.

73) Banarjee, A.K., Mandal, A., Chanda, D., Chakraborti, S. (2003). Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem*, 253(1-2), 307-312. Erişim: 01 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14619981>

74). Packer, L., Traber, M.G., Xin, W. (1996). Proceeding of the international symposium on natural antioxidant: Molecular mechanisms and health effects. *AOCS Press. Illinois*, 224-226, 569-574. . Erişim: 01 Eylöl 2012. <http://www.crcnetbase.com/isbn/9780935315691>

75) Dröge, K., Schulze-Osthoff, S., Mihm, S., Galter, D., Schenk, H., Eck, H.P., Roth, S., Gmünder, H. (1994). Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB J*, 8(14), 1131–1138. Erişim: 01 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7958618>

76) Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933-956. Erişim: 01 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8743980>

77) Cadenas, E., Packer, L. (2002). *Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.crcnetbase.com/doi/pdfplus/10.1201/9780203904046.fmatt>

78) Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Brampley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Research*, 22(4), 375-383. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7633567>

79) Van Acker, S.A., Van-Den Berg, D.J., Tromp, M.N., Griffioen, D.H., Van Bebbekom, W.P., Van Der Wijgh, J.F., Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidants activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(3), 331-342. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8720903>

80) Burçak, G., Andican, G.(2004). Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35(4), 159-169. Erişim: 02 Eylül 2012. www.ctf.edu.tr/dergi/online/2004v35/s4/a1.pdf

81) Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T. (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Office Journal of the Turkish Nephrology, Association*, 3-4, 92-95. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.tndt.org/pdf.php3?id=176>

- 82) Tekcan, M. (2009). Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *İnfertilite*, 37, 131-136. Erişim: 02 Eylül 2012. www.androloji.org.tr/images/File/37.Sayı/i2.pdf
- 83) Uzun, H., Uludağ, S., Güralp, O., Topçuoğlu, A. (2008). Gebelikte Oksidatif Stres ve Stres Bulguları. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi*, 22(1), 3-14. Erişim: 03 Eylül 2012. <http://www.logos.com.tr/jinekoloji.asp>
- 84) Middleton, E.Jr. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol*, 439, 175–182. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9781303>
- 85) de Groot, H., Rauen, U. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*, 12(3), 249–255. Erişim: 03 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9646056>
- 86) Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74(4), 418–425. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566638>
- 87) Yasuhisa, T., Hideki, H., Moneyoshi, Y. (1993). Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds. *The International Journal of Biochemistry*, 25(4), 491-494. Erişim: 02 Eylül 2012. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0020711X9390655X>
- 88) Çiftçi, O., Vardı, N., Ozdemir, İ. (2011). Effects of Quercetin and Chrysin on 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Induced Hepatotoxicity in Rats. *Inc. Environ Toxicol*. Erişim: 04 Eylül 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21544919>
- 89) Wang, X., Morris, M.E. (2007). Effects of the flavonoid chrysin on nitrofurantoin pharmacokinetics in rats: potential involvement of ABCG2. *Drug Metab Dispos*, 35(2), 268–274. Erişim: 04 Eylül 2012.

<http://dmd.aspetjournals.org/content/35/2/268.full>

90) Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32(7), 1141-1148. Erişim: 04 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6342623>

91) Kühnau, J. (1976). The Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet.*, 24, 117-191. Erişim: 04 Eylöl 2012. <http://www.citeulike.org/user/ecattell/article/4363731>

92) Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jime'nez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. American Society for Clinical Nutrition. *Am J Clin Nutri*, 79(5), 727–747. Erişim: 04 Eylöl 2012. <http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full>

93) Cook, N.C., Samman, S. (1996). Flavonoids–Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76. Erişim: 02 Eylöl 2012. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286395001689>

94) Yen, G.C., Chen, H.Y., Peng, H.H. (1997). Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Various Tea Extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (1), 30–34. Erişim: 04 Eylöl 2012. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9603994>

95) Machlin, L.J., Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal*, 1(6), 441–445. Erişim: 02 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3315807>

96) Korkina, L.G., Afanas'ev, I.B.(1997). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*, 38, 151–63. Erişim: 03 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8895808>

- 97) Pushpavalli, G., Kalaiarasi, P., Veeramani, C., Pugalendi, K.V. (2010). Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *Eur J Pharmacol*, 631(1-3), 36–41. Erişim: 05 Eylöl 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20056116>
- 98) Sathiavelu, J., Senapathy, G.J., Devaraj, R., Namasivayam, N. (2009). Hepatoprotective effect of chrysin on prooxidant–antioxidant status during ethanol-induced toxicity in female albino rats. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 61(6), 809–817. Erişim: 05 Eylöl 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505373>
- 99) Fishkin, R.J., Winslow, J.T. (1997). Endotoxin-induced reduction of social investigation by mice interaction with amphetamine and anti-inflammatory drugs. *Psychopharmacol*, 132 (4), 335–341. Erişim: 04 Eylöl 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9298510>
- 100) Monasterio, A., Urdaci, M.C., Pinchuk, I.V., Lopez-Moratalla, N., Martinez-Irujo, J.J. (2004). Flavonoids induce apoptosis in human leukemia U937 cells through caspase- and caspase-calpain-dependent pathways. *Nutr. Cancer*, 50(1), 90-100. Erişim: 04 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15572302>
- 101) Zhang, T., Chen, X., Qu, L., Wu, J., Cui, R., Zhao, Y. (2004). Chrysin and its phosphate ester inhibit cell proliferation and induce apoptosis in Hela cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 12(23), 6097-6105. Erişim: 04 Eylöl 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15519155>
- 102) Khoo, B.Y., Chua, S.L., Balaram, P. (2010). Apoptotic Effects of Chrysin in Human Cancer Cell Lines. *Int. J. Mol. Sci.*, 11(5), 2188-2199. Erişim: 06 Eylöl 2012.
<http://www.mdpi.com/1422-0067/11/5/2188>

103) Di Luzio, N.R., Hartman, A.D. (1967). Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of ethanol-induced fatty liver. *Fed Proc*, 26(5),1436–1442. Erişim: 06 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6051326>

104) Zhang, Q., Zhao, X.H., Wang, Z.J. (2009). Cytotoxicity of flavones and flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line (KYSE-510) by induction of G2/M arrest and apoptosis. *Toxicol. In Vitro*, 23(5), 797-807. Erişim: 06 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19397994>

105) Villar, I.C., Jiménez, R., Galisteo, M., Garcia-Saura, M.F., Zarzuelo, A., Duarte, J. (2002). Effects of chronic chrysin treatment in spontaneously hypertensive rats. *Planta Med*, 68(9), 847–850. Erişim: 07 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12357404>

106) Pearce, F.L., Befus, A.D., Bienenstock, J. (1984). Mucosal mast cells. III. Effect of quercetin and other flavonoids on antigen-induced histamine secretion from rat intestinal mast cells. *J Allergy Clin Immunol*, 73, 819-823.

107) Kubo, I., Kinst-Hori, I., Chaudhuri, S.K., Kubo, Y., Sánchez, Y., Ogura, T. (2000). Flavonols from *Heterotheca inuloides*: tyrosinase inhibitory activity and structural criteria. *Bioorg Med Chem*, 8(7), 1749–1755. Erişim: 07 Eylöl 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10976523>

108) Sadler, T.W. (2011). *Langman Medikal Embriyoloji*. (A.C. Başaklar, Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık.

109) Moore, K.L., Persaud, T.V.N. *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*.(6.bs) (M. Yıldırım, İ. Okar, H. Dalçık, Çev.). İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri (2002).

110) UNSW Embryology Erişim: 08 Eylöl 2012. http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Rat_Development.

- 111) Hebel, R., Stromberg, M.W. (1986). Anatomy and embryology of the laboratory rat. Almanya: Biomed Verlag. 53-54, 231-251.
- 112) Evans, H.E., Sack, W.O. (1973). Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves. External features and selected references. Anat. Histoloji, Embriyoloji. 2, 11-45.
- 113) Soysal, H. (2010). Rat fetuslarında fenitoin, folik asit ve vitamin E'nin kemik gelişimi üzerine etkileri. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- 114) Fowden, A. (2001). Growth And Metabolism. R. Harding, A.D. Bocking. (Ed.). Fetal Growth and Development (s.44-70). UK: Cambridge University Press.
- 115) Çetin, E., Malas, M. (2005). Fetal büyümeye etki eden çevresel faktörler. *S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 12(2), 65-72.
- 116) Atasü, T. (2000). *Gebelikte Fetusa ve Yenidoğana Zararlı Etkenler* (2..bs). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- 117) Şeftalioğlu, A. (1998). *Genel & Özel İnsan Embriyolojisi* (3. bs). Ankara:Genel Dağıtım Tıp & Teknik yayıncılık Ltd. Şti.
- 118) Standring, S. (2008). *Gray's anatomy.(Fortieth edition)*.London, UK:Livingstone Elsevier.
- 119) Arıncı, K., Elhan, A.(2006). *Anatomi* (4. bs.). Ankara: Güneş Kitabevleri.
- 120) Moore, K.L., Agur, A.M.R. *Temel klinik anatomi*.(2. bs). (A. Elhan, Çev.) Ankara: Güneş Kitabevleri.(2006).
- 121) Dere, F. (2010). *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*.(6.bs). Adana: Nobel Kitabevi.

- 122) Unur, E., Ülger, H., Ekinci, N.(2005). *Anatomi* (2.bs). Kayseri: Medical Kitabevi.= (153-155).
- 123) Bayramiçli, M. (2005). *Deneyisel Mikrocerrahi Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri*. İstanbul:ARGOS İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş.
- 124) Eşrefoğlu, M. (2009). *Özel Histoloji*. Malatya:Medipres Yayıncılık.
- 125)Erbengi, T.(1985). *Histoloji 2* (1. bs). İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım A. Ş.
- 126) Ovalle, W.K, Nahirney, P.C. *Netter Temel Histoloji*. (S. Müftüoğlu, F. Kaymaz, P. Atilla, Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri (2009).
- 127) Kierszenbaum, A. L. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. (R. Demir, Çev.). Ankara: Palme yayıncılık (2006).
- 128) Guyton, A.C., Hall, J.E. *Tıbbi Fizyoloji*. (H. Çavuşoğlu, Çev.). İstanbul: Yüce Yayınları A.Ş. ve Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. (2001).
- 129) Ellman, G.L. (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-77. <http://xa.yimg.com/kq/groups/19679329/334368542/name/tissue.pdf>
- 130) Paglia, D.E., Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70, 158-169. <http://garfield.library.upenn.edu/classics1989/A1989T143400002.pdf>
- 131) Ohkawa, H., Ohiski, N., Yagi, K. (1979). Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbutiric acid reaction. *Anal Biochemi*, 95, 351-358.

132) Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem*, 34(3), 497-500.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3349599>

133) Aebi, H. (1974). *Catalase*. (H.U. Bergmeyer, ed.). *Methods of enzymatic analysis*. New York and London :Academic Press Inc., 673-677.

134) Anonim (1998). Spectrophometric Determination of total Protein-Biüret Method A New Approach Founded by the National Science Foundation. Dorey and Draves University of central Arkansas, Depertmant of Chemistry Conway, AR 72035 Update:5/98.

135) Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human. *Am J Med*, 91(3C), 314-322.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1928205>

136) Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 19(9), 1807–1819.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17570640>

137) Davies, K.J., Delsignore, M.E.(1987). Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure. *J Biol Chem*, 262(20), 9908–9913. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3036877>

138) Sanchez, A.R, Almeida, A., Medina, J.M. (2002). Oxidative stress in preterm rat brain is due to mitochondrial dysfunction. *Pediat Res.*, 51(1), 34–39.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11756637>

139) Meister, A., Larsson, A. (1989). Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gama-glutamyl cycle. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D,

editors. The metabolic basis of inherited disease. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 855–68.

140) Martensson, J., Lai, J.C.K., Meister, A. (1990). High affinity transport of glutathione is part of a multi-component system essential for mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci*, 87(18), 7185–9.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC54708/>

141) Reed, D.J., Fariss, M.W. (1994). Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol Rev*, 36, 235–335.

<http://pharmrev.aspetjournals.org/content/36/2/25S.citation>

142) Hayes, J.D., McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res*, 31(4), 273–300. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10517533>

143) Teng, S., Beard, K., Pourahmad, J., Moridani, M., Easson, E., Poon, R., O'Brien, P.J. (2001). The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact*, 30;130-132(1-3):285-96. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11306052>

144) Bono, R., Romanazzi, V., Munnia, A., Piro, S., Allione, A., Ricceri, F., Guarrera, S., Pignata, C., Matullo, G., Wang, P., Giese, R.W., Peluso, M. (2010). Malondialdehyde-deoxyguanosine adduct formation in workers of pathology wards: The role of air formaldehyde exposure. *Chem Res Toxicol*, 23(8), 1342–1348. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20707408>

145) Im, H., Oh, E., Mun, J., Khim, J.Y., Lee, E., Kang, H.S., Kim, E., Kim, H., Won, N.H., Kim, Y.H., Jung, W.W., Sul, D. (2006). Evaluation of toxicological monitoring markers using proteomic analysis in rats exposed to formaldehyde. *J. Proteome Res*, 5(6), 1354–1366. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16739987>

146) Z. Lu, Z., Li, C.M., Qiao, Y., Yan, Y., Yang, X. (2008). Effect of inhaled formaldehyde on learning and memory of mice. *Indoor Air*, 18(2), 77–83.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18333987>

147) Ozen, O.A., Kuş, M.A., İ., Alkoç, O.A., Songur, A. (2008). Protective effects of melatonin against formaldehyde-induced oxidative damage and apoptosis in rat testes: an immunohistochemical and biochemical study. *Syst. Biol. Reprod. Med*, 54(4), 169–176. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18942024>

148) Lino dos Santos Franco, A., Damazo, A.S., Beraldo de Souza, H.R., Domingos, H.V., Oliveira-Filho, R.M., Oliani, S.M., Costa, S.K., Tavares de Lima, W. (2006). Pulmonary neutrophil recruitment and bronchial reactivity in formaldehyde-exposed rats are modulated by mast cells and differentially by neuropeptides and nitric oxide, *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 214(1), 35–42.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16427670>

149) Zeng, C., Peng, X., Qiao, Y. (2003). Reproductive toxicity of formaldehyde to male mice, *Chin. J. Human Sexuality*, 12, 1–4.

http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-XKXZ200304000.htm

150) Skrzydlewska, E., Farbiszewski, J. (1996). Diminished antioxidant defence potential of liver, erythrocytes and serum from rats with subacute methanol intoxication. *Vet. Hum. Toxicol*, 38, 429–433.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8948074>



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 27-04-2012
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2012/A-58
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : ☐E ☒D ☐Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 67 adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı: 200-250 gr.

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Nihat EKİNCİ'nin yürütücüsü olduğu "Gebe ratlarda formaldehit maruziyetinin fetusların morfolojik yapıları ile karaciğer dokusunun gelişimi üzerine zararlı etkilerinin araştırılması; Chrysin'in muhtemel koruyucu rolünün incelenmesi." isimli 2012/A-58 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Yusuf TÜRKÖZ

Başkan

katılmadı

Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN

Başkan Yard.

Prof.Dr. Selim DOĞANAY

Üye

katılmadı

Doç.Dr. M.Arif ALADAĞ

Üye

Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ

Üye

Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN

Üye

katılmadı

Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ

Üye

Salih AVCI

Sivil Üye

Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU

Sivil Üye

ÖZGEÇMİŞ

10 Eylül 1985 tarihinde Malatya’da doğdum. İlk ve orta öğretime Malatya’da tamamladım. 2003 yılında İnönü Üniversitesi Hemşirelik Bölümü’nü kazandım. 2007 yılında mezun olduktan sonra 3 yıl hemşirelik yaptım. 2010 yılında İnönü Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladım. 2011 yılı Şubat ayından itibaren İnönü Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.