

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA SUBKRONİK FORMALDEHİT
ZEHİRLENMELERİNİN KARACİĞERDE
NEDEN OLDUĞU HASARA KARŞI
CHRYSİN'İN ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mahmut ÇAY
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE**

MALATYA-2012

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA SUBKRONİK FORMALDEHİT
ZEHİRLENMELERİNİN KARACİĞERDE
NEDEN OLDUĞU HASARA KARŞI
CHRYSİN'İN ETKİLERİ**

Mahmut ÇAY

Danışman Öğretim Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2011/156 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. Hilal SAPMAZ



Danışman

Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE



Üye

Yrd. Doç. Dr. Aymelek ÇETİN



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

Tez çalışmam süresince, desteklerini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE'ye, yüksek lisans eğitimim süresince yardım ve tavsiyeleri ile her zaman yol gösterici olan bölüm başkanımız Prof. Dr. Nihat EKİNCİ'ye, Anatomi Anabilim Dalı hocalarımız Yrd. Doç. Dr. Aymelek ÇETİN'e, Yrd. Doç. Dr. Hilal IRMAK SAPMAZ'a ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, tecrübeleri ile çalışmama büyük katkı ve destek sağlayan Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Sinan BAKIRCI'ya, Serdar ÖZTÜRK'e ve Sadi BARAN'a teşekkür ederim.

Bugüne kadar desteklerini benden hiç eksik etmeyen saygıdeğer aileme ve müstakbel eşim Gülhan ÇALIŞGAN'a çok teşekkür ederim.

Bu projeye maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

ÖZET

Erkek ratlar üzerinde yapmış olduğumuz bu çalışmada, intraperitoneal (i.p) olarak uygulanan formaldehit'in karaciğer üzerindeki olumsuz etkileri araştırıldı. Ayrıca formaldehit (FA) maruziyetine karşı chrysin'in muhtemel koruyucu özellikleri değerlendirildi.

Bu amaçla, 42 adet Wistar albino cinsi erkek rat 6 gruba ayrıldı. Grup I, kontrol grubu olarak kullanıldı. Grup II'deki hayvanlar (FA-0,1), 60 gün boyunca haftada 3 gün 0,1 mg/kg dozunda formaldehite intraperitoneal olarak maruz bırakıldı. Grup III'teki ratlara (FA-1) 1mg/kg dozunda 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere intraperitoneal olarak formaldehit uygulandı. Grup IV'teki ratlara 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere 50 mg/kg dozunda chrysin oral olarak verildi. Grup V'teki ratlara 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere 50 mg/kg dozunda chrysin oral olarak uygulanırken, 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere 0,1 mg/kg dozunda formaldehit intraperitoneal olarak uygulandı. Grup VI'daki ratlara da chrysin 50 mg/kg dozunda 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere oral olarak uygulanmış olup, formaldehit ise 60 gün boyunca haftada 3 gün olmak üzere 1 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. Chrysin uygulaması Grup V ve Grup VI'da 1 gün önceden başlatıldı. Deney sonunda hayvanlar dekapite edildi. Biyokimyasal ve histolojik değerlendirmeler için karaciğer dokuları alındı.

Sıçanlardan alınan karaciğer dokularının bir kısmında tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), redükte glutatyon (GSH), süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve total protein analizleri yapıldı. Sadece formaldehit uygulanan gruplarda oksidatif hasarı gösteren TBARS, GSH ve CAT düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken SOD seviyesinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Formaldehit ile birlikte chrysin uygulanan gruplarda ise bu değişimlerin kontrol grubu lehinde düzeldiği gözlemlendi. Formaldehit uygulanan grupların karaciğer doku kesitlerinde ise apoptotik hücreler görüldü, hepatositlerin değişime uğradığı, Kupffer hücre sayısında artış olduğu ve histopatolojik hasarların meydana geldiği tespit edildi. Formaldehit ile birlikte chrysin uygulanan gruplarda ise, karaciğer doku kesitlerinde apoptozisin baskılandığı, Kupffer hücre sayısında azalma olduğu ve histopatolojik değişikliklerin de düzeldiği ortaya kondu.

Sonuç olarak, formaldehit maruziyetine bağlı olarak karaciğerde ciddi hasarların meydana geldiği ve bu hasarlara karşı chrysinin koruyucu etkiler gsterdiği ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, chrysin, karaciğer, rat.

THE LEVES OF CHRYSIN AGAINST THE DAMAGE OF SUBCHRONIC FORMALDEHYDE TOXICITY ON THE LIVER OF RATS

ABSTRACT

In this study, the adverse effects of intraperitoneally administered formaldehyde on the liver of rats were investigated. In addition, the possible protective effects of chrysin against the formaldehyde exposure were also evaluated.

For this purpose, 42 male Wistar albino rats were divided into 6 groups. Group I, was used as control, animals in Group II exposed to formaldehyde, at a dose of 0,1 mg/kg, intraperitoneally. In group III, rats administered formaldehyde at a dose of 1 mg/kg, for 60 days to 3 days a week intraperitoneally. Chrysin was given orally 3 times a week for 60 days at a dose of 50 mg/kg to rats in group IV. Chrysin was applied together with the formaldehyde to rats in group V. While chrysin was applied 50 mg/kg orally for 3 days a week for 60 days, formaldehyde was administered 3 times a week during for 60 days at a dose of 0,1 mg/kg intraperitoneally. Chrysin was started 1 day in advance to application. Rats in group VI administered formaldehyde in conjunction with the chrysin. Chrysin was applied 50 mg/kg, 3 days a week for 60 days orally and formaldehyde administered at a dose of 1 mg/kg during the 3 days per week for 60 days intraperitoneally. Chrysin was initiated 1 day in advance to application. The animals were decapitated at the end of the experiment. Liver tissues were taken for biochemical and histological evaluations.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and total protein were analyzed from a part of liver tissues of rats. The levels of TBARS, GSH, CAT were increased and the levels of SOD decreased in only formaldehyde exposed rats. In the groups of chrysin was applied with formaldehyde these changes were restored in favor of the control group. Apoptotic cells, changes in hepatocytes, an increase in the number of Kupffer cells and histopathological damage were observed in the only formaldehyde groups. In the groups treated formaldehyde with chrysin, it was showed that suppressed apoptosis a decreasing in the number of Kupffer cells and improvement in the histopathological changes.

In conclusion, it can be expressed that serious damages occurs to the liver by exposure of formaldehyde, and chrysin has protective effects against these damages.

Key words: Formaldehyde, chrysin, liver, rat

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Formaldehit.....	2
2.1.1. Formaldehitin Özellikleri.....	2
2.1.2. Kullanım Alanları.....	2
2.1.3. Formaldehitin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	3
2.1.3.1. Toksik Etkiler.....	3
2.2. Flavonoidler.....	4
2.2.1. Genel Bilgiler.....	4
2.2.2. Chrysin.....	5
2.2.2.1. Chrysinin Etki Alanları.....	5
2.3. Karaciğer.....	6
2.3.1. Karaciğerin Embriyolojisi.....	6
2.3.2. Karaciğerin Histolojik Yapısı.....	7
2.3.3. Karaciğerin Anatomik Yapısı.....	8
2.3.4. Ratlarda Karaciğerin Yapısı.....	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	12

3.1. Hipotez.....	12
3.2. Araştırma Tipi.....	12
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklem Büyüklüğü.....	12
3.4. Deney Grupları.....	12
3.5. Değerlendirme Yöntemi.....	14
3.5.1. Biyokimyasal Analizler.....	14
3.5.1.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması.....	14
3.5.1.2. TBARS Miktarının Ölçümü.....	14
3.5.1.3. GSH Miktarının Ölçümü.....	14
3.5.1.4. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	14
3.5.1.5. CAT Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	15
3.5.1.6. Protein Düzeylerinin Analizi.....	15
3.5.2. Histolojik Değerlendirme Yöntemi.....	15
3.5.3. İstatistiksel Analiz.....	15
4. BULGULAR.....	16
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	16
4.1.1. Grupların TBARS Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	16
4.1.2. Grupların GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	18
4.1.3. Grupların SOD Enzim Aktivite Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	20
4.1.4. Grupların CAT Enzim Aktivite Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	21
4.2. Histolojik Değerlendirme.....	23
4.2.1 Kontrol ve Chrysin Grupları.....	23
4.2.2. Formaldehit Grupları.....	28
4.2.3. Formaldehit+Chrysin Grupları.....	35
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46

KAYNAKLAR.....	47
EK 1. Etik Kurul Onayı.....	55
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

A.: Arteria

CAT: Katalaz

CH: Chrysin

FA: Formaldehit

FDH: Formaldehit Dehidrogenaz

GSH: Redükte glutatyon

H-E: Hematoksilen-eozin

i.p: intraperitoneal

kg: kilogram

mg: miligram

ml: mililitre

µm: micrometre

N.: Nervous

PAS: Periyodik asit schiff

ppm: parts per million

PV: Portal ven

rpm: Revolutions per minute

SOD: Süperoksit dismutaz

SV: Santral ven

TBARS: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri

V.: Vena

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Karaciğerde portal triad.	7
Şekil 2. Karaciğerde; v. centralis, sinüzoidler ve kupffer hücreleri.	8
Şekil 3A-3B. Karaciğerin diafragmatik ve visceral yüzleri.	9
Şekil 4. Rat karaciğerinin görünümü.	11
Şekil 5. İki farklı FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.	16
Şekil 6. FA-0.1 grubunda 0.1 mg/kg FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.	17
Şekil 7. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.	17
Şekil 8. İki farklı FA dozuna bağlı GSH değişikliği.	18
Şekil 9. FA-0.1 grubunda 0.1 mg/kg FA dozuna bağlı GSH değişikliği.	19
Şekil 10. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı GSH değişikliği.	19
Şekil 11. İki farklı FA dozuna bağlı SOD değişikliği.	20
Şekil 12. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı SOD değişikliği.	21
Şekil 13. İki farklı FA dozuna bağlı CAT değişikliği.	22
Şekil 14. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı CAT değişikliği.	22
Şekil 15. Kontrol grubu; santral ven (sv) çevresinde hepatosit kordonları (kalın oklar) ve sinüzoidler (ince oklar) izlenmekte, H-E X20.	23
Şekil 16. CH grubunda; santral ven (SV) ve hepatosit kordonlarının görünümü kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte, H-E X20.	24
Şekil 17. Kontrol grubunda; portal alandaki portal ven (pv) ve hepatic arter (ince ok) dalı ile safra kanalı (kalın ok), H-E X20.	24
Şekil 18. CH grubunda; portal alanın görünümü, H-E X40.	25
Şekil 19. Kontrol grubunda; eozinofilik sitoplazmalı, ökromatik nükleuslu hepatositlerin (oklar) görünümü, H-E X40.	25
Şekil 20. CH grubu; hepatositler (kalın oklar) ve nükleuslarının (ince oklar) görünümü kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte, H-E X40.	26
Şekil 21. Kontrol grubunda; hepatosit sitoplazması içinde pembe-mor renkte boyanmış glikojen, PAS X20.	26
Şekil 22. CH grubunda; PAS (+) hepatositlerin görünümü, PAS X20.	27

Şekil 23. Kontrol grubunda; sinüzoid lümeninde izlenen Kupffer hücreleri (oklar), PAS x40.	27
Şekil 24. CH grubunda; Kupffer hücrelerinin görünümü (oklar), H-E x40.	28
Şekil 25. FA-0.1 grubu; eozinofil boyanma şiddeti artmış (kalın oklar) ve hidropik değişikliklere bağlı olarak şişmiş hepatositler (ince oklar) izlenmekte, H-E x20.	29
Şekil 26. FA-0.1 grubu; eozinofilik sitoplazmalı (kalın oklar) ve şişmiş hepatositlerin görünümü (ince oklar), H-E x40.	29
Şekil 27. FA-1 grubu; eozinofilik sitoplâzmalı hepatositler (ince oklar) FA-0,1 grubuna göre daha yoğun izlenmekte. H-E x20.	30
Şekil 28. FA-1 grubu; eozinofilik sitoplâzmalı hepatositlerin nukleusları koyu olarak izlenmekte (ince oklar), hidropik değişiklikler (kalın ok).	30
Şekil 29. FA-0,1 grubu; etrafındaki hepatositlerden ayrılmış apoptotik hücrenin görünümü (ok); H-E X40.	31
Şekil 30. FA-1 grubu; apoptotik hücreler (oklar) belirgin olarak izlenmekte; H-E X40.	31
Şekil 31. FA-0,1 grubu; İki nukleuslu hepatositler (oklar); H-E X40.	32
Şekil 32. FA-1 grubu; binükleer hepatositlerin görünümü (oklar), H-E X40.	32
Şekil 33. FA- 0,1 grubu; PAS(+) (kalın oklar) ve (-) (ince oklar) boyanan hepatositlerin görünümü, PAS x20.	33
Şekil 34. FA-1 grubu; yoğunluğu azalmış PAS (+) hepatositler, PAS X20.	34
Şekil 34. FA- 0,1 grubu; Kupffer hücrelerinin görünümü (oklar), PAS X40.	34
Şekil 36. FA-1 grubu; Kupffer hücreleri, FA-0,1 grubuna göre daha yoğun olarak izlenmekte (oklar), PASX40.	35
Şekil 37. FA-0,1 + CH grubu; şiddetli eozinofilik boyanmış (kalın oklar) ve şişmiş (ince ok) hepatositler sağlam hepatositler arasında izlenmekte H-E X20.	36
Şekil 38. FA-0,1 + CH grubu; PAS (+) boyanan hepatositlerin görünümü, PAS X20.	36

- Şekil 39.** FA-0,1 + CH grubu; Kupffer hücreleri yoğunluğu, FA-01 grubuna benzer olarak görülmekte (oklar), PAS X40. 37
- Şekil 40.** FA-1+CH grubu; eozinofilik sitoplâzmalı ve piknotik nukleuslu hepatositler (oklar), H-E X20. 38
- Şekil 41.** FA-1 + CH grubu; PAS (+) hepatositlerin görünümü FA-1 grubuna benzer olarak izlenmekte, PAS X20. 38
- Şekil 42.** FA-1 + CH grubu; Kupffer hücre yoğunluğu, FA-1 grubuna göre azalmış olarak izlenmekte (oklar), PASX40. 39
- Şekil 43.** FA-1 + CH grubu; şişmiş hepatositler, FA-1 grubuna göre seyrek olarak izlenmekte (oklar), H-EX20. 39

TABLolar**Sayfa**

Tablo I. Çalışmada kullanılan FA ve CH'nin dozu, uygulama süresi ve deney gruplarının gösterilmesi.....	13
Tablo II. Grupların histolojik değerlendirme sonuçları.....	40

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Formaldehit (FA) suda çok iyi çözünebilen, renksiz ve keskin kokusu olan, aldehit ailesinin en basit üyesi bir kimyasaldır. FA, deri, sindirim ve solunum yolu ile vücuda alınır. FA vücuda girdikten sonra karaciğer ve eritrositlerde formik aside dönüşür. Bunu sağlayan, formaldehit dehidrogenaz enzimidir (FDH). FDH'nin katalizörlüğü ile oluşan reaksiyonda, glutatyon kofaktör olarak görev alır. FA, formik aside dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksite okside olarak da solunum yoluyla vücuttan atılır.

FA, Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından kanserojen özelliği açısından Grup 2A olarak sınıflanmıştır. Deneysel çalışmalarda FA'nın karaciğer dokusunda sentrilobüler vakuolizasyona ve lokal hücresel nekroz odaklarına sebep olduğu bildirilmiştir.

FA'nın ratlara uygulanması sonucu ise karaciğer dokusunda portal alan ve vena centralis etrafında mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüş olup FA'ya maruz kalan karaciğer dokusunda direkt mekanizma ile hasar meydana getirdiğini ve dokuda önce glikojenin yıkıldığı ortaya çıkmıştır.

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşiklerdir. Son yıllarda; üzerinde çok sayıda araştırma yapılan flavonoidlerden biri de Chrysin (CH)'dir. CH'nin etkileri üzerine çeşitli araştırmalar yapılmış ve bu etkilerin hedef sistemlerdeki oluşum mekanizmaları tespit edilmeye çalışılmıştır. CH'nin serbest radikal düzeyini azaltarak ve kanserojen maddeleri etkisiz hale getirerek toksik etki ve kanser oluşumunu engellemeye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Büyük bir çoğunluğu hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmalar sonucunda; CH'nin, antikarsinojenik, antioksidan, anti-inflamatuvar ve antiviral olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu veriler ışığında; düşük dozda FA maruziyetİ sonucu karaciğerde oluşabilecek hasarları inceledik. Karaciğerde oluşan hasarlara karşı kuvvetli antioksidan özelliği olan CH'yi koruyucu olarak kullandık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Formaldehit

2.1.1. Formaldehitin Özellikleri

Formaldehit (FA) suda çok iyi çözünebilen, renksiz ve keskin kokusu olan, aldehit ailesinin en basit üyesi bir kimyasaldır. FA, Alman kimyager August Wilhem von Hofman tarafından 1867 yılında keşfedilmiş, ancak saf FA olarak izole edilememiştir. Bir başka ünlü Alman kimyager, Friedrich August Kekule 'von Stradonitz, 1892 yılında saf FA'yı izole etmiştir. FA; bakır, gümüş ya da molibden alaşımı gibi bir metal katalizör aracılığı ile 400-650 °C'de, metanolün oksidasyonu sonucu elde edilir (1). FA'nın %37'lik suda çözünmüş şekline formalin adı verilir. Paraformaldehit ise polimerize olmuş katı şeklidir. FA'nın kimyasal formülü CH₂O olup, sıvı FA'nın miktarı mililitre (ml) cinsinden belirtilirken, gaz hali ise parts per million (ppm) olarak ifade edilir. FA, aşırı reaktif olduğu için bulunduğu her ortamdan gaz haline geçebilmektedir (2-5).

FA, deri, sindirim ve solunum yolu ile vücuda alınır. Solunum yolu ile vücuda giriş şekli; sigara dumanı ve ortamdan buharlaşan formalin oluştururken, sindirim yoluyla vücuda girişi, içme suyu, kahve, gıdalarda bulunan bazı katkı maddeleri, meyve ve sebzeler aracılığı ile olur (5-8).

FA vücuda girdikten sonra karaciğer ve eritrositlerde formik aside dönüşür. Bunu sağlayan, formaldehit dehidrogenaz enzimidir (FDH). FDH'nin katalizörlüğü ile oluşan reaksiyonda, glutatyon kofaktör olarak görev alır. FA, formik aside dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksite okside olarak da solunum yoluyla vücuttan atılır (8-11).

2.1.2. Kullanım Alanları

FA günlük hayatımızda ve çalışma alanlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tıp alanında; FA kullanımı laboratuvarlarda sık görülmektedir. Kadavra tahniti ve organ tespiti için anatomide; dokuların fiksasyonu için histoloji ve patoloji laboratuvarlarında; diş hekimliğinde kaplamaların yapısında; hemodiyaliz solüsyonlarında; sterilizasyon işlemlerinde; koruyucu madde olarak çeşitli ilaçlarda, FA'dan faydalanılmaktadır (6-8).

Günlük hayatta; temizlik malzemeleri, dezenfektan maddeler, diş macunu, fuel-oil, benzin, doğal gaz, dizel araçların eksoz dumanında, kozmetik ürünler ve kâğıt ürünlerinin yapısında da bulunmaktadır (4, 8, 11, 12).

Endüstriyel alanda ise; boya ve plastik sanayi, inşaat sanayi, mobilya, halı, kauçuk, kırtasiye malzemeleri, yapı izolasyon malzemeleri, laminat parke, duvar kaplamaları ve tekstil sanayinde kullanılmaktadır (4, 7, 8, 11, 12).

2.1.3 FA'nın İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

FA; organizma üzerinde çeşitli olumsuz etkiler göstermektedir (8).

2.1.3.1 Toksik Etkiler

Yapılan birçok deneysel çalışma sonucu FA maruziyetinin, insanda olumsuz etkilediği organlar, başlangıçta göz ve solunum yollarıdır. Gözdeki olumsuz etkileri; yanma hissi, kızarıklık, sulanma, göz mukozasında tahriş, ağrı ve bulanık görme şeklinde olabilir. Çok düşük konsantrasyonlarda bile (0,24 ppm) bu semptomlar açığa çıkabilir. Kronik etkilenmeler sonucunda ise kronik konjunktivite neden olabilmektedir (8, 13–15).

Solunum yollarındaki olumsuz etkiler ise, FA'nın düşük konsantrasyonlarında (0.5 ppm) bile ortaya çıkmaktadır. FA'ya kısa süreli maruziyetlerde; burun ve boğazda yanma hissi, öksürük, hırıltılı solunum gibi bulgular görülebilmektedir (8, 16). Yüksek doz (5–30 ppm) FA maruziyeti sonucu ise, nefes darlığı, pnömoni, inflamasyon ve pulmoner ödem gibi klinik tablolar ortaya çıkabilir (17–20).

FA, hazır gıdaların ambalaj bileşiminde ve korunmasında kullanıldığı için ağız yoluyla alımı mümkün olabilmektedir. Böyle bir maruziyet sonucunda gastrointestinal irritasyon ve histopatolojik olarak gastrit meydana gelir. FA hızlı bir şekilde formik aside dönüştüğünden dolayı üst gastrointestinal sistemde ciddi lokal korozif etki oluşturur. Bu oluşumun devamında karın ağrısı, bulantı, ishal, nekroz, perforasyon, ülserasyon ve kanama ortaya çıkar. Bunu takiben dolaşım bozukluğu, hematüri, metabolik asidoz, anüri, böbrek hasarı ve birkaç gün içerisinde ölüm gerçekleşir (18, 21).

Astımlı hastalarda düşük dozdaki FA maruziyeti sonucu, solunum yolu problemleri oluşmaktadır. FA seviyesinin 70–140 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ olduğu evlerdeki çocuklarda astım ve kronik bronşit prevalansı anlamlı bir şekilde yüksek çıkmaktadır. Bundan dolayı FA maruziyeti ile astım hastalığı arasında da anlamlı bir ilişki bulunmaktadır.

Ayrıca FA, mesleki astım hastalığının nedenlerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Formalin'in %2 ve üzerindeki solüsyonları, alerjik kontak dermatit gelişimine sebebiyet vermektedir (22, 23).

FA'nın olumsuz etki yaptığı en önemli sistemlerden biriside sinir sistemidir. FA'ya kısa süreli maruziyetlerde baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, irritabilite, keyifsizlik, uyku bozukluğu ve iştahsızlık görüldüğü gibi daha uzun süreli etkilenmelerde ise, duygu-durum bozuklukları, hafıza bozuklukları ve epilepsi belirtileri ortaya çıkabilmektedir. Bununla birlikte çalışma sahalarında FA'ya maruz kalan kişilerde, bu semptomların sık görülmesi FA'nın nörotoksositeye sebep olduğunu düşündürmektedir (24–26).

FA'nın sistemik olarak uygulanması sonucu beyin hücrelerinin gelişimini engellediği, hücre sayısı ve hacmi üzerinde olumsuz etki gösterdiği ve nöronal dejenerasyona sebep olduğu görülmektedir (27–29). Ayrıca yapılan deneysel çalışmalarda sistemik uygulanan FA'nın öğrenme testlerinde bozukluk ve ruhsal dengesizlik yaptığı bildirilmiştir. FA'dan akut etkilenme sonucu sıçanların hypothalamus'unda, dopamin ve serotonin seviyesinin birlikte düşmesine bağlı olarak motor aktivitede yavaşlama tespit edilmiştir. (30–32).

FA, Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından kanserojen özelliği açısından Grup 2A olarak sınıflanmıştır (6, 7).

FA'nın ratlara uygulanması sonucu ise karaciğer dokusunda portal alan ve vena centralis etrafında mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüş olup FA'ya maruz kalan karaciğer dokusunda direkt mekanizma ile hasar meydana getirdiğini ve dokuda önce glikojenin yıkıldığı ortaya çıkmıştır (33).

2.2. Flavonoidler

2.2.1. Genel Bilgiler

Bitki fenollerini genel olarak; karbon atomlarının sayısı temel alınarak farklı şekillerde gruplandırılmış olup, bunlar basit fenoller, flavonoidler, sinamik asitler, stilbenler, fenolik asitler, ligninler ve biflavonoidler olarak isimlendirilmektedir (34, 35). Kimyasal yapıları ve biyolojik fonksiyonları göz önüne alındığında, fenol grupları içerisinde en önemli yere sahip olanlardan biri flavonoidlerdir (35, 36). Flavonoidlerin en önemli özelliklerinden birisi önemli düzeyde antioksidan

özelliklerine sahip olmalarıdır. Yapılan çalışmalar sonucu genellikle bitkilerde bulunduğu ve insanlar tarafından sentezlenemedikleri tespit edilmiştir. (37-40). Flavonoidler, antiallerjen ve antibiyotik özellikte olmaları, enzim aktivitelerini düzenleyici, hücre çoğalmasını inhibe edici, ülser, ishal ve iltihabı önleyici ilaç gibi görev almalarından dolayı önem taşımaktadırlar (36, 41). Flavonoidler meyve, sebze ve çay gibi gıda gruplarında yaygın olarak bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu, koroner kalp hastalıkları ile kanser gibi hastalıkların engellenmesinde rol oynadıklarından dolayı flavonoidlere olan ilgi artmıştır. Bugüne kadar belirlenen flavonoid sayısı 8000'in üzerindedir (37, 42-44).

2.2.2. Chrysin

Son yıllarda; üzerinde çok sayıda araştırma yapılan flavonoidlerden biri de Chrysin (CH)'dir. CH, G.F. Jaubert tarafından 1926 yılında, propoliste bulunan çeşitli flavonoidlerden birisi olarak izole edilmiştir (45). Yapılan araştırmalar sonucu CH'nin, çarkıfelek veya mavi tutku çiçeği adıyla bilinen, *Passiflora caerulea*'da bulunan bir flavonoid olduğu tespit edilmiştir (46, 47). *Passiflora caerulea* bitkisi dışında; tükettiğimiz besinlerden, maydanoz, kekik, dolma biber, kereviz, bal ve propoliste de CH bulunmaktadır (48). CH; Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry) tarafından 5,7dihydroxy-2-phenyl-4-chromenone olarak isimlendirilmiş olup $C_{15}H_{10}O_4$ olarak formüle edilmiştir (49, 50).

2.2.2.1. CH'nin Etki Alanları

CH'nin etkileri üzerine çeşitli araştırmalar yapılmış ve bu etkilerin hedef sistemlerdeki oluşum mekanizmaları tespit edilmeye çalışılmıştır. CH'nin izole edildiği *Passiflora caerulea* bitkisinin yapraklarından yapılan çayın, stresi ve endişeyi azaltıcı etkisi olduğu iddia edilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar ile bu iddia güçlendirilmiş ve deney sonucu CH'nin anksiyolitik etkisi tespit edilmiştir (50, 51).

CH'nin serbest radikal düzeyini azaltarak ve kanserojen maddeleri etkisiz hale getirerek toksik etki ve kanser oluşumunu engellemeye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla; mide, kolon ve rektum kanseri (53), meme kanseri (54), tiroid kanseri (55) ve prostat tümörüne (56) karşı CH'nin etkisi araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Büyük bir çoğunluğu hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmalar sonucunda; CH'nin, antikarsinojenik (53-56), antioksidan (57-59), anti-inflamatuvar (60), antiviral (61) ve güçlü bir aromataz inhibitörü (62) olduğu düşünülmektedir.

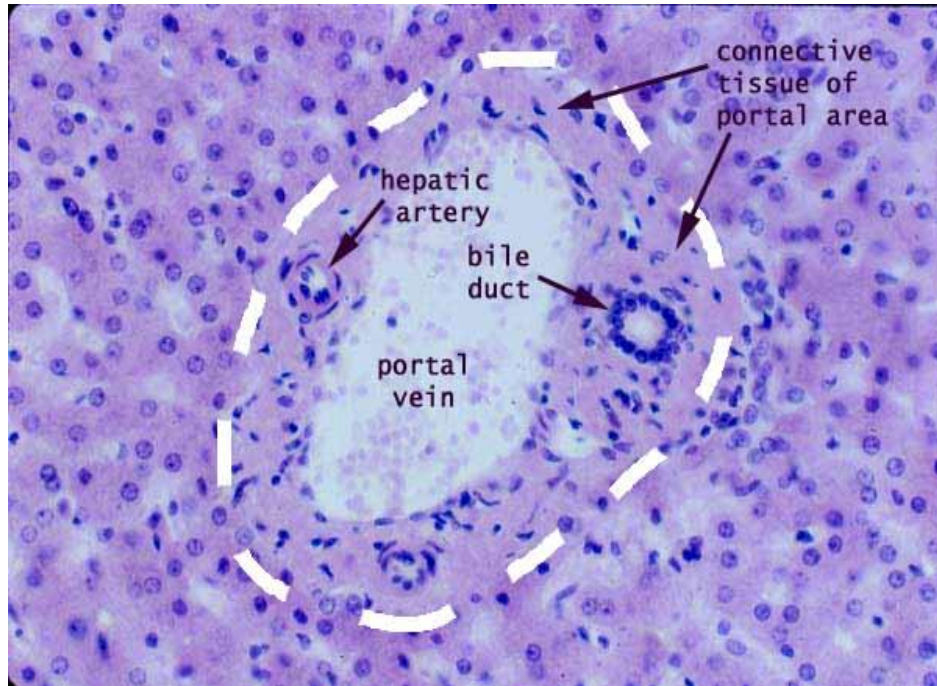
2.3.Karaciğer

2.3.1.Karaciğerin Embriyolojisi

Karaciğer ve pankreas taslakları intrauterin hayatın 3. haftasına doğru belirmeye başlar. İlk taslak halka şeklinde olup primitif bağırsak epitelinde görülür. Bu yapı “hepatopankreatik halka” olarak isimlendirilir. Hepatopankreatik halkada 4 adet taslak belirir. Bu taslaklardan biri ventral, biri dorsal ve ikisinde ventrolateral yerleşimlidir. Ventral taslak epitelyum kalınlaşması şeklinde belirir ve karaciğere aittir. Bilateral ve simetrik şekilde kalınlaşmış olan bu bağırsak parçasına lamina hepatica denir. Lamina hepatica'nın duvarının derinleşmesi ile “Diverticulum Hepaticum” meydana gelir. Diverticulum hepaticum; pars hepatica (kranial kısımdan) ve pars sistica (kaudal kısımdan) olmak üzere erkenden iki kısma ayrılır. Bir süre sonra pars hepaticadan, mezenkim dokusu içine doğru ince epitelyal hücre kordonları uzanırlar. Bu mezenkim dokusu diafragma ile “ductus omphalomesentericea” arasında bulunur ve ilerleyen evrelerde karaciğerin ventral kısmını oluşturacaktır (63, 64). Ayrıca karaciğer sinüzoidlerinin ilk taslağı da gelişmekte olan epitelyal yapının aralıklarında bulunan mezenkim dokusundan meydana gelir. Başlangıçta karaciğer hücre kordonları, birbirleri ile anastomozlar yapan hücre toplulukları şeklindeyken, sonradan lobulus denilen ufak topluluklar halinde içinde buldukları mezenkim tarafından sınırlandırılırlar. Portal dolaşıma ait ufak venler bu lobulusların etrafında oluşurken toplayıcı venler aracılığıyla V. hepatica'ya dökülen V. centralis ise ortasında oluşmaktadır. Kordonlar, başlangıçta simetrik görünümündedir. Gelişim ilerledikçe sağ lobulusun büyümesi hızlanmaya başlar. Karaciğer ağırlığı, intrauterin veya fetal gelişimin onuncu haftasında ortalama fetal ağırlığın %10'u civarındadır. Karaciğerdeki kan yapımı ise intrauterin hayatın beşinci ayına doğru en yüksek düzeye çıkar ve daha sonra doğuma kadar azalarak devam eder. Doğum sonrası, karaciğerin ağırlığı yenidoğanın vücut ağırlığının %5'ine düşer ve karaciğerde ancak birkaç kan adacığı bulunur (63-65).

2.3.2. Karaciğerin Histolojik Yapısı

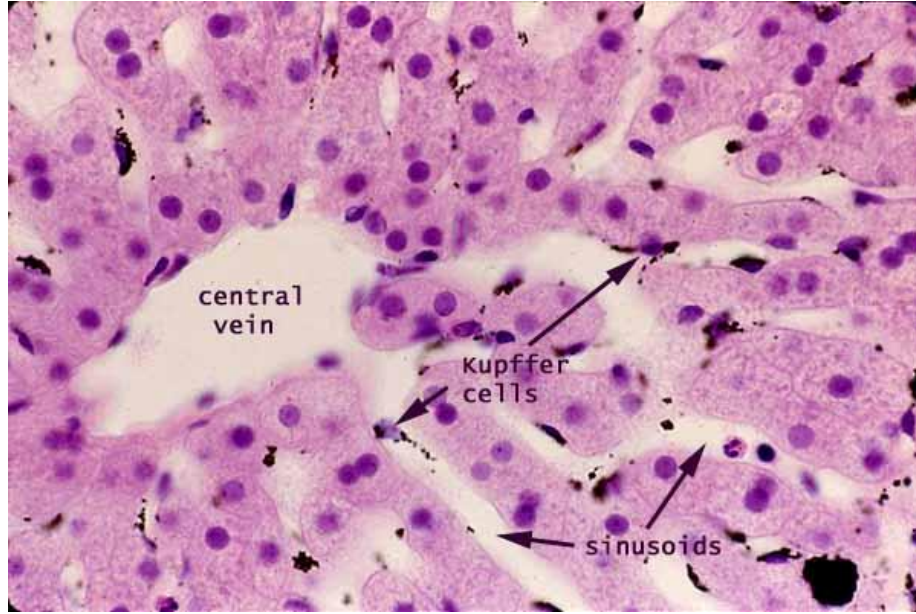
Karaciğerin etrafını saran zara “tunika fibroza” veya “Glisson kapsülü” denir. Bu zar, karaciğer içerisine girerek organın küçük lobüllere ayrılmasını sağlar. Karaciğer lobülleri (hepaton) longitudinal kesitlerde poligonal şekilde gözlenmektedir. Yükseklikleri yaklaşık 2 mm kadardır. Bu lobüllerin birbiri ile temas ettiği yerlerde geniş üçgen şeklinde bağ dokusu alanları vardır. Bu üçgen sahalar Glisson Üçgeni, Kiernan Aralığı veya Porta Mesafesi olarak isimlendirilir (65). Arter, ven ve safra kanalı bu alanda beraber seyrederek (portal triad). Portal triad, a. interlobularis, v. portanın ince dalı olan v. interlobularis ve ductus interlobularisten oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Karaciğerde portal triad (Southern Illinois University School of Medicine).

Glisson üçgeninde bulunan v. interlobularisten çıkan venler lobulus içerisinde birbirleriyle anastomoz yaparak v. centraliste toplanırlar. Lobulusun venlerine karaciğer sinüzoidleri denir. Karaciğer sinüzoidlerinin duvarlarında endotel ve kupffer hücreleri vardır (Şekil 2). Bu endotel ve kupffer hücreleri, retikuloendotelial sistemin unsurlarını oluşturur. Hücreler tarafından oluşturulan dizelerde sinüzoidler arasında ince kapiller aralık bulunmaktadır. Bu aralıklara “Disse Mesafesi” denir (64). Hücre kolonlarının içinde, kanaliküli biliferi denilen ve duvarları hücrelerin birbirine bakan yüzlerinden oluşan ince kanalcıklar bulunmaktadır. Kanaliküli

biliferinin görevi hücrelerin salgıladığı safrayı taşımaktır. Kanaliküli biliferiler birleşerek ductuli biliferi adını alırlar. Ductuli biliferinin de birkaç tanesi birleşerek ductus interlobularis ismini alır. Ductus interlobularisler ise Kiernan aralıklarında bulunmaktadır (64-65).



Şekil 2. Karaciğerde; v. centralis, sinüzoidler ve kupffer hücreleri (Southern Illinois University School of Medicine).

2.3.3. Karaciğerin Anatomik Yapısı

Karaciğer karın boşluğunda yer alan organların ve aynı zamanda vücuttaki bezlerin en büyüğüdür. Yetişkinde vücut ağırlığının % 2'sini, çocuklarda ise % 5'ini oluşturur. Ortalama ağırlığı yetişkin bir erkekte 1400 - 1600 gr., yetişkin bir kadında ise 1200-1400 gr'dır. Bağ dokusundan yapılmış kuvvetli bir fibröz kapsül (*Glisson kapsülü*, tunica fibrosa) karaciğeri her taraftan sarar ve karaciğerin damarları çevresinde organın içerisine uzantılar gönderir. Bu şekilde, karaciğerin şekli korunduğu gibi karaciğer dokusu lob ve lobüllere de ayrılmış olur. Karaciğerin büyük bir kısmı kostalar tarafından örtülüdür. Yalnız arcus costarum arasında kalan üçgen şeklindeki küçük bir saha karın ön duvarı ile doğrudan temas eder. Diaphragma'nın alt yüzüne gevşek bağ dokusu ile tutunan karaciğer, karın içerisindeki organların üzerine oturur. Karaciğerin diaphragma ile komşu olan konveks üst yüzüne *diafragmatik yüz (facies diaphragmatica)*, iç organlar ile komşu olan konkav alt yüzüne ise *visseral yüz (facies visceralis)* adı verilir (66) (Şekil 3A-3B).



Şekil 3. Karaciğerin diafragmatik ve visceral yüzleri (Sobotta Anatomi Atlası).

Yüzleri:

Facies diaphragmatica

Karaciğerin bu yüzü düzgün yüzeyli ve konvektir ve diaphragmanın alt yüzünün şekline uygunluk gösterir. Diafragmatik yüzün büyük bir kısmı periton ile örtülüdür. Ancak bu yüzün arka kısmı peritonsuzdur ve bu bölgeye *area nuda (pars affixa)* denir. Area nuda'da, karaciğer direkt olarak diaphragma ile temas eder ve aralarında sadece ince gevşek bağ dokusu tabakası bulunur. Pars posterior'da orta hattın hemen sağ tarafında, *sulcus venae cavae* bulunur. Bu sulcus'un sol tarafında karaciğerin *lobus caudatus*'u yer alır. Glandula suprarenalis dextra'nın üst kısmı da pars posterior ile komşu olup, burada bıraktığı iz *impressio suprarenalis* adı verilir. Bu iz sulcus vena cava'nın sağ tarafında gözlenir (Şekil 3A).

Facies visceralis

Facies visceralis; aşağıya, arkaya ve sola doğru bakar. Bu yüz, üzerinde yer alan bazı fissura ve fossa'ların bulunduğu kısımlar dışında periton ile örtülüdür. Bu yüzde ortada *porta hepatis*, porta hepatis'in sol üst tarafında *fissura ligamenti venosi*, sol alt tarafında *fissura ligamenti teretis*, sağ üst tarafında sulcus venae cavae ve sağ alt tarafında ise *fossa vesicae fella (biliaris)* bulunur. Porta hepatis, karaciğere giren ve çıkan oluşumların bulunduğu yerdir. Bu bölgeyi çevreleyen periton yaprakları mideye doğru uzanarak *omentum minus*'u oluşturur. Porta hepatis'in ön-alt kısmında *lobus quadratus* yer alır. Visseral yüzün sağ tarafında

organların bıraktığı izlere *impressio colica*, *impressio suprarenalis*, *impressio renalis* ve *impressio duodenalis* adı verilir. Visseral yüzün sol tarafında mide ve oesophagus'un bıraktığı izlere *impressio gastrica* ve *impressio oesophagea* adı verilir (67) (Şekil 3B).

Karaciğerin Lobları

Karaciğerin *lobus hepatis dexter* ve *lobus hepatis sinister* olmak üzere iki büyük lobu (Şekil 3A) ve visseral yüzde yer alan *lobus quadratus* ve *lobus caudatus* (Şekil 3B) olmak üzere iki küçük lobu vardır. Lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister'i diaphragmatik yüzde lig. falciforme hepatis, visseral yüzde ise fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venosi birbirlerinden ayırır. Fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venosi'nin birlikte meydana getirdikleri yarığa *fissura sagittalis sinister* adı da verilir. Fissura sagittalis sinister'in sağ tarafında kalan lobus caudatus ve lobus quadratus anatomik olarak lobus hepatis dexter'in birer parçası sayılır (68).

Karaciğerin segmentasyonu

Karaciğer loblarının anatomik ve fonksiyonel sınıflandırması birbirinden farklıdır. Anatomik olarak, lobus caudatus ve lobus quadratus lobus hepatis dexter'e ait olsa da, bu iki lob a. hepatica propria ve v. portae hepatis'in ramus sinister'leri ile beslenir. Ayrıca, bu lobların safra drenajı ductus hepaticus sinister tarafından sağlanır. Bu nedenle, lobus caudatus ve lobus quadratus fonksiyonel olarak lobus hepatis sinister'in bir parçasıdır (68).

Karaciğerin Damarları

Karaciğere a. hepatica propria ile arteriel kan ve v. portae hepatis ile de sindirilmiş besin maddelerinden zengin olan venöz kan gelir. Karaciğere gelen kanın %20'sini a. hepatica propria, %80'ini ise v. portae hepatis taşır. Truncus coeliacus'tan çıkan a. hepatica communis, a. gastroduodenalis ve a. gastrica dextra dallarını verdikten sonra a. hepatica propria adını alır. Porta hepatis'te a. hepatica propria ve v. portae hepatis sırası ile a. hepatica dextra, a. hepatica sinistra ve v. porta dextra, v. porta sinistra olmak üzere ikişer dala ayrılır. Karaciğerin venöz kanı v. hepatica'lar aracılığı ile karaciğerin arka kısmında v. cava inferior'a açılır. Bu damarlar karaciğer dokusu içerisinde intersegmental ve interlobüler dallara ayrılır (66, 67).

Sinirleri:

Karaciğeri innerve eden parasempatik sinir lifleri truncus vagalis anterior ve truncus vagalis posterior'un rr. hepatici'lerinden gelir. Sempatik sinir lifleri ise n. splanchnicus major'lardan plexus coeliacus aracılığı ile karaciğere gelir (67).

Lenfatikleri:

Karaciğerin lenf damarları porta hepatis'teki nodi lymphatici hepatis'e buradan da nodi lymphatici caeliaca'ya drene olur. Lenflerin bir kısmı diafragma bölgesindeki ve karın arka duvarındaki lenf nodüllerine drene olur (67-68).

2.3.4. Ratlarda Karaciğerin Yapısı

Karın boşluğunda geniş yer kaplayan karaciğer ortalama bir sıçanda yaklaşık 10 gr ağırlığındadır. Karaciğerin büyük bölümü diafragma altında yerleşmiştir. Karaciğer derin sulcuslar ile lobus dexter, lobus sinister, lobus caudatus ve orta lob olmak üzere 4 lobdan meydana gelir. Ligamentum teres hepatis'in oluşturduğu bir yarıkla ikiye ayrılan orta lob sol lobun üstüne şapka şeklinde yerleşmiştir. Lobus dexter sağ böbreğin üzerine oturmuş olup vena cava inferior'u sarmaktadır. Sıçanlarda safra kesesi bulunmadığı için karaciğerin tüm loblarından toplanan safra kanallarla boşalmakta ve bu kanalların birleşiminden oluşan canalis hepaticus bir tüp şeklinde doğrudan duodenuma açılmaktadır (Şekil 4) (69).



Şekil 4. Rat karaciğeri görünümü (69).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Hipotez: Ratlarda subkronik formaldehit zehirlenmelerinin karaciğerde neden olduğu hasarın araştırılması; chrysinin olası koruyucu yönünün belirlenmesi.

3.2. Araştırma Tipi: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 2011/ A-58 no'lu kararı ile onaylanmış deneysel hayvan çalışmasıdır.

3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklem Büyüklüğü: İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde (İNÜ-DEHÜM) üretilen ortalama 300 gr ağırlığında 42 adet genç erkek Wistar albino türü rat kullanıldı. Ratlar, İNÜ-DEHÜM'de, 60 gün süreyle 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörlerle sürekli havalandırılan $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'lik odalarda tutuldular. Deney süresi boyunca ad-libitum beslendiler. 60. günde ratlar dekapite edilerek, karaciğer dokuları alındı. Alınan karaciğer dokularının bir kısmı histolojik olarak değerlendirildi. Geri kalan karaciğer dokusundan da tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), redükte glutatyon (GSH), süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve total protein analizleri yapıldı.

3.4. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılan 42 adet rat 6 gruba ayrılmış olup her grupta 7 tane hayvan bulunmaktadır. Yaptığımız bu araştırmada iki farklı FA dozu uygulanmıştır (Tablo-1).

Tablo I. Çalışmada kullanılan FA ve CH'nin dozu, uygulama süresi ve deney gruplarının gösterilmesi.

Grup No	Sıçan sayısı	FA (mg/kg)	CH (mg/kg)	Uygulama Süresi
I	7	0	0	Haftada 3 gün / 60 gün
II	7	0,1	0	Haftada 3 gün / 60 gün
III	7	1	0	Haftada 3 gün / 60 gün
IV	7	0	50	Haftada 3 gün / 60 gün
V	7	0,1	50	Haftada 3 gün / 60 gün
VI	7	1	50	Haftada 3 gün / 60 gün

Grup 1: Kontrol grubu: Bu grupta bulunan 7 adet rata deney süresince hiçbir şey uygulanmadı. Deney sonunda dekapite edilen hayvanların karaciğer dokularının bir kısmı ile TBARS, GSH, SOD, CAT ve total protein analizleri yapıldı. Diğer bir kısım karaciğer dokusu ise histolojik değerlendirmede kullanıldı.

Grup 2: Formaldehit Grubu (FA-0.1): Bu gruba FA uygulandı (formalin, Sigma-Aldrich Formaldehyde %37 solution, Deisenhofen, Germany) (70). 0,1 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere intraperitoneal (i.p) olarak FA verildi. Deney sonunda dekapite edilen ratların karaciğer dokuları alınarak histolojik değerlendirme ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 3: Formaldehit Grubu (FA-1): Bu gruba FA uygulandı. 1 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere i.p olarak FA verildi. Deney sonunda dekapite edilen sıçanların karaciğer dokuları alınarak histolojik değerlendirme ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 4: Chrysin grubu (CH): Bu gruba mısır yağı içerisinde çözülmüş CH uygulandı (Chrysin %97, Sigma-Aldrich C80105, Germany) (59). 50 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere oral olarak CH verildi. Deney sonunda dekapite edilen sıçanların karaciğer dokuları alınarak histolojik değerlendirme ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 5: Formaldehit + Chrysin Grubu (FA-0.1+CH): Bu gruba CH ve FA birlikte uygulandı. 50 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere

oral olarak mısır yağında çözünmüş CH verildi. 0,1 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere i.p olarak FA uygulandı. CH uygulamasına bir gün önce başlandı. Deney sonunda dekapite edilen hayvanların karaciğer dokuları alınarak histolojik değerlendirme ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Grup 6: Formaldehit + Chrysin Gurubu (FA-I+CH): Bu gruba CH ve FA birlikte uygulandı. 50 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere oral olarak mısır yağında çözünmüş CH verildi. 1 mg/kg dozunda, 60 gün boyunca haftada üç gün olmak üzere i.p olarak FA uygulandı. CH uygulamasına bir gün önce başlandı. Deney sonunda dekapite edilen ratların karaciğer dokuları alınarak histolojik değerlendirme ve biyokimyasal analizler yapıldı.

3.5. Değerlendirme Yöntemi

3.5.1. Biyokimyasal Analizler

3.5.1.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması: Derin dondurucuda -80 °C'de muhafaza edilen karaciğer dokuları çalışma günü çıkarılarak tartıldı. %10'luk homojenat oluşacak şekilde fosfat tamponu ilave edilerek buz içinde 1-2 dakika süreyle 12000 devir/dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Doku homojenatları 5000 rpm'de, +4 °C'de, 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

3.5.1.2. TBARS Miktarının Ölçümü: Esterbauer ve Cheeseman'nin metodu ile TBARS tayini yapıldı (71). Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen meydana getirdikten sonra hızla soğutuldu. 10 dakika sonra hızla soğutulan örneklerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

3.5.1.3. GSH Miktarının Ölçümü: GSH analizi, Ellman'ın tarif ettiği yöntemle göre analiz tüpünde bulunan glutatyonun 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi ve oluşan bu rengin ışık şiddetinin 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunarak redükte glutatyon miktarının tayin edilmesi şeklinde ölçüldü (74).

3.5.1.4. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü: SOD enzim aktivitesi ölçümü nitroblue tetrazolium (NBT) ile ortaya çıkan O₂'nin indirgenmesi esasına dayanan Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (72).

3.5.1.5. CAT Enzim Aktivitesi Ölçümü: Katalaz aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre; 240 nm'de absorbansı H₂O₂ ile 0.500'e ayarlanmış pH 7 deki 50 mM fosfat tamponuna, numune eklenmesiyle 240 nm dalga boyunda absorbanlardaki düşüşün 10 sn aralıklarla kayıt edilmesi esasına dayanarak yapıldı (73).

3.5.1.6. Protein Düzeylerinin Analizi: Doku protein tayini Biüret yöntemi ile analiz edildi (74).

3.5.2. Histolojik Değerlendirme Yöntemi:

Deney sonunda alınan karaciğer dokuları % 10'luk FA içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda çeşme suyunda yıkanan dokular, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitlere hematoksilin-eozin (H-E) ve periyodik asit schiff (PAS) boyama metotları uygulandı. Boyanan preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskobu ile incelendi.

Karaciğer hasarını belirlemek için hepatositler; hücre şişmesi, sitoplazmada eozinofilik boyanmanın artması ve glikojen kaybına göre değerlendirildi. Dokular, hasar derecesine göre; 0: sağlam, 1: hafif hasar, 2: orta hasar, 3: şiddetli hasar olarak skorlandı.

PAS boyama metodu uygulanmış kesitlerde Kupffer hücreleri sayıldı. Bu sayım x40 büyütmede, 10 farklı alanda yapıldı.

3.5.3. İstatistiksel Analiz

Araştırma sonunda biyokimyasal analizlerden elde edilen verilerin normal dağılım gösterip göstermediği öncelikle Kolmogorov-Smirnov testiyle değerlendirildi. Normal dağılım gösteren veriler ortalama (X) ± standart hata olarak şeklinde ifade edildiler. Normal dağılım gösteren veriler için gruplar arasındaki karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı, gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda Duncan HSD testi yapıldı. p ≤ 0.01 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

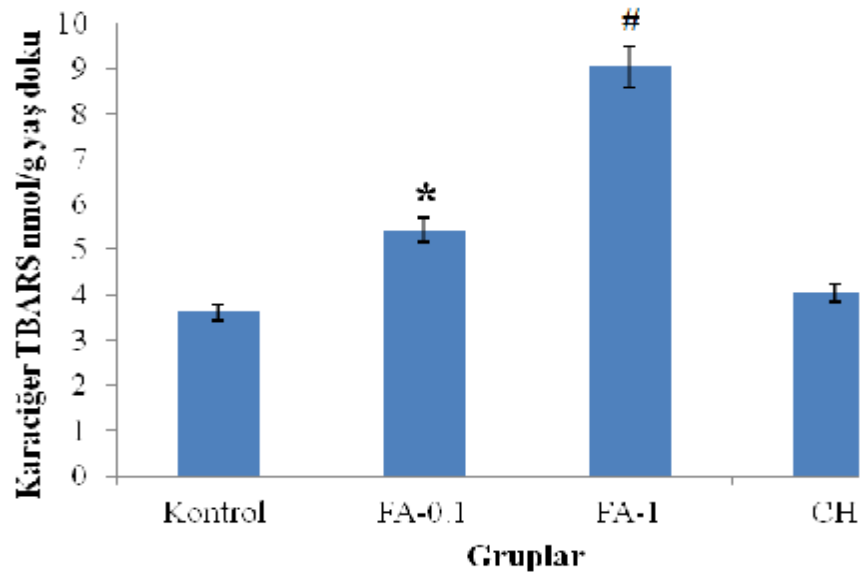
Histolojik değerlendirmenin istatistiksel analizleri SPSS 17.0 ve MedCalc 11.00 (Belgium) istatistik programları kullanılarak yapıldı. Bütün veriler aritmetik ortalama standart hata (± SE.) olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis ve Conover testleri kullanıldı. P < 0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Grupların TBARS Düzeylerinin Karşılaştırılması:

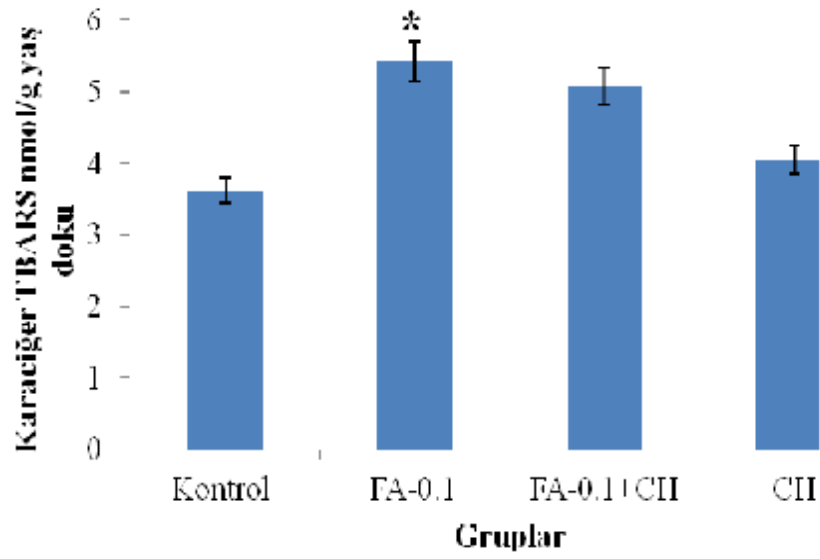
FA uygulanması FA-0,1 ve FA-1 gruplarında karaciğer TBARS düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırdı ($p \leq 0.01$) (Şekil 5). CH'nin koruyucu etkisi ile FA-0,1 ve FA-1 grubunda artan TBARS seviyesi kontrol grubu lehinde düştü (Şekil 6-7).



Şekil 5. İki farklı FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.

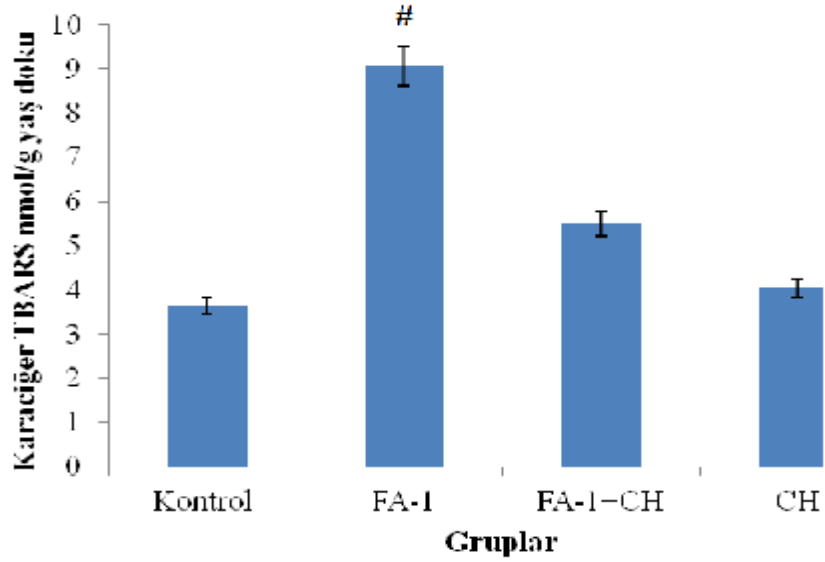
* $p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.



Şekil 6. FA-0,1 grubunda 0.1 mg/kg FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.

* $p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

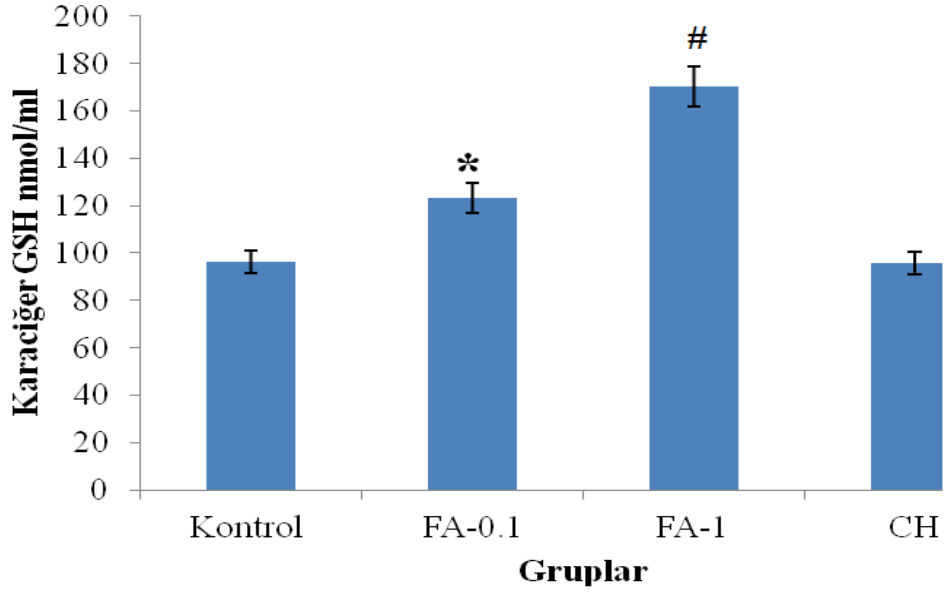


Şekil 7. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı TBARS değişikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

4.1.2. Grupların GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması:

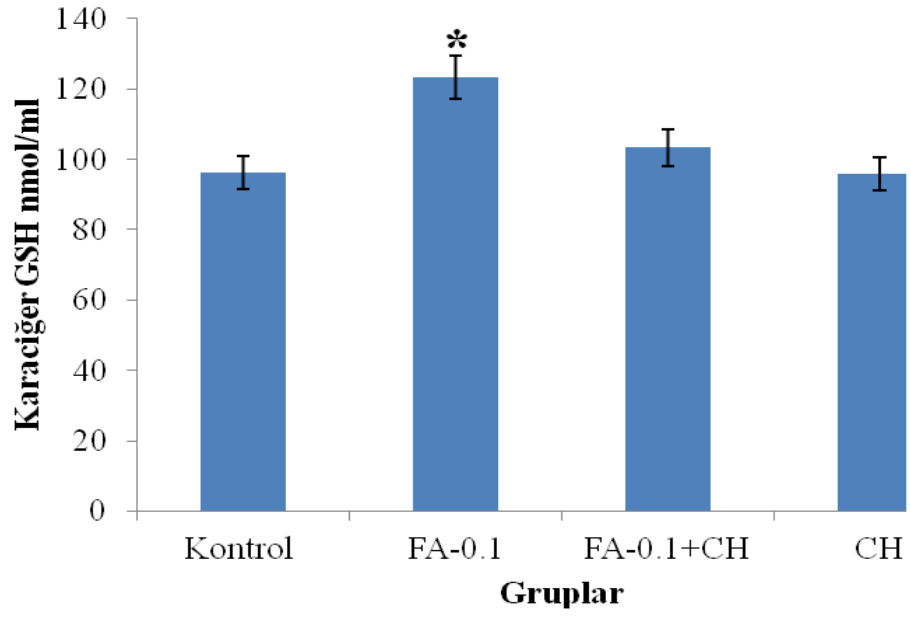
FA uygulanması FA-0,1 ve FA-1 gruplarında karaciğer GSH düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırdı ($p \leq 0.01$) (Şekil 8). CH'nin koruyucu etkisi ile FA-0,1 ve FA-1 grubunda artan GSH seviyesi kontrol grubu lehinde düştü ($p \leq 0.01$) (Şekil 9-10).



Şekil 8. İki farklı FA dozuna bağlı GSH değişikliği.

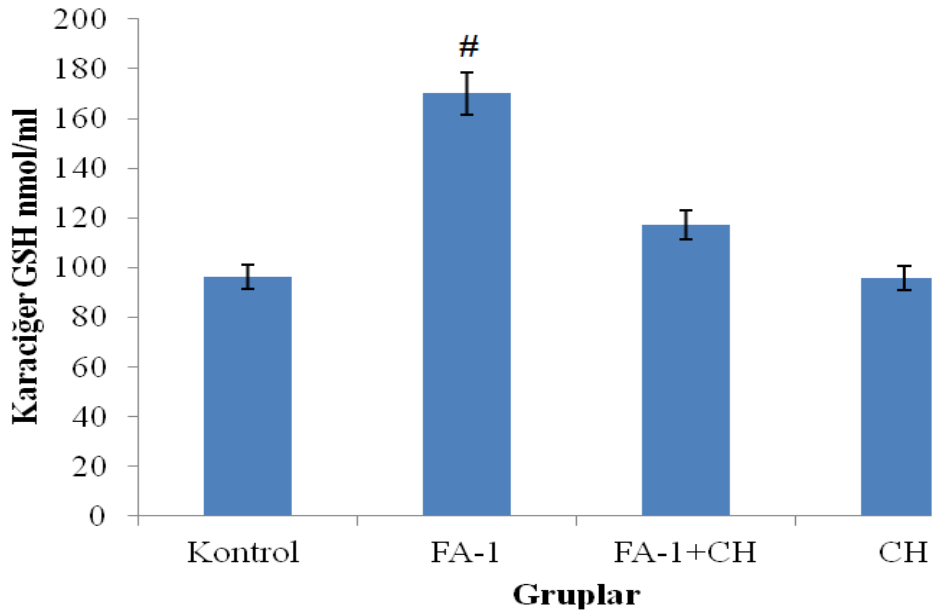
* $p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.



Şekil 9. FA-0.1 grubunda 0.1 mg/kg FA dozuna bağlı GSH değişikliği.

* $p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

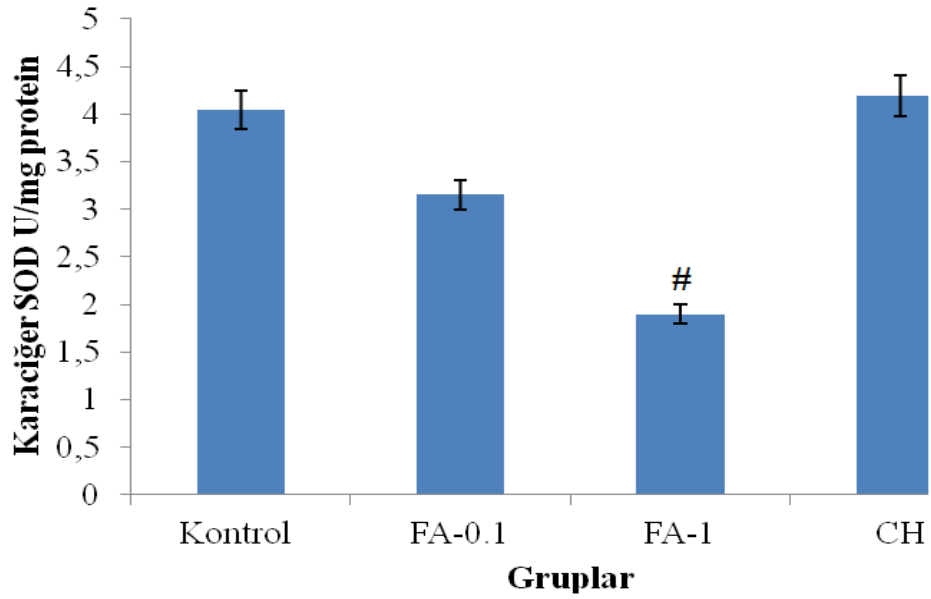


Şekil 10. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı GSH değişikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

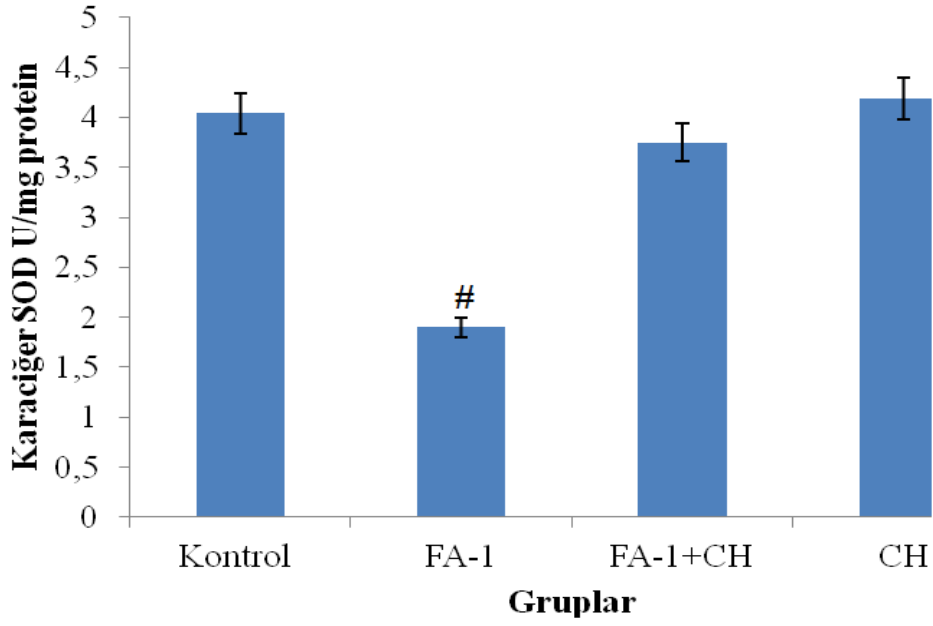
4.1.3. Grupların SOD Enzim Aktivite Düzeylerinin Karşılaştırılması:

FA-0,1 grubunda kontrol grubuna göre azalan SOD enzim düzeyi anlamlı bulunmamıştır. FA-1 grubunda ise SOD enzim aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşmüştür ($p \leq 0.01$) (Şekil 11). CH uygulaması sonucu FA-1 grubunda azalan SOD enzim aktivitesi FA-1+CH grubunda kontrol grubu lehinde anlamlı olarak artmıştır ($p \leq 0.01$) (Şekil 12).



Şekil 11. İki farklı FA dozuna bağlı SOD değişikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

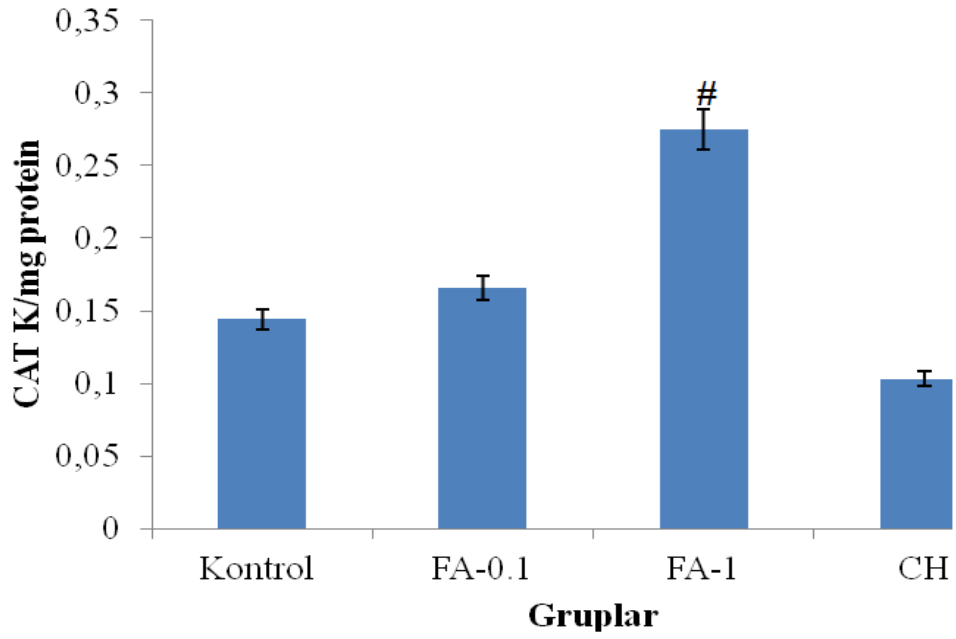


Şekil 12. FA-1 grubunda 1 mg/kg FA dozuna bağlı SOD değişikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

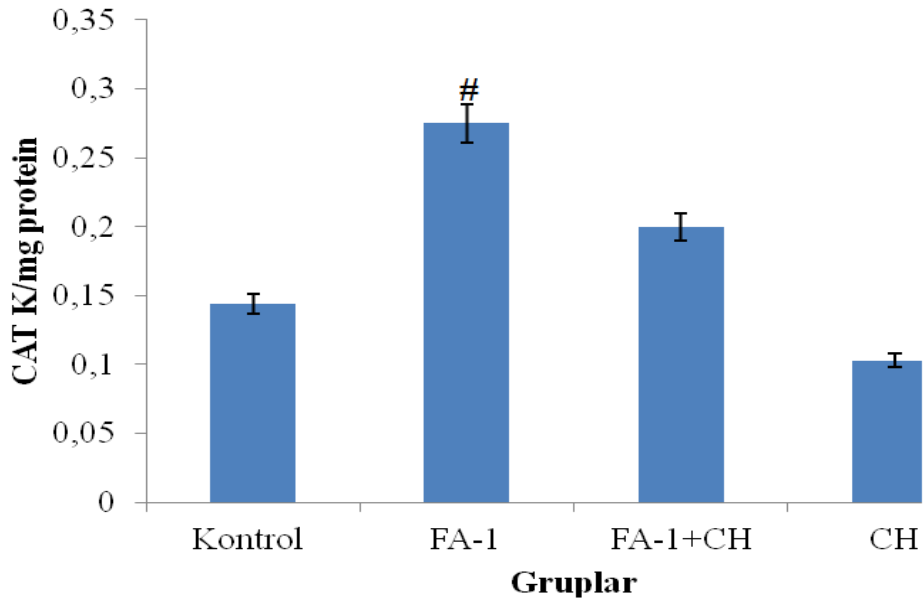
4.1.4. Grupların CAT Enzim Aktivite Düzeylerinin Karşılaştırılması:

FA-0,1 grubunda kontrol grubuna göre artan CAT enzim aktivitesi anlamlı bulunmamıştır. FA-1 grubunda CAT enzim düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükselmiştir ($p \leq 0.01$) (Şekil 13). Koruyucu olarak kullanılan CH uygulaması FA-1+CH grubunda CAT seviyesini kontrol grubu yönünde anlamlı olarak azalttı ($p \leq 0.01$) (Şekil 14).



Şekil 13. İki farklı FA dozuna bağlı CAT değışikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.



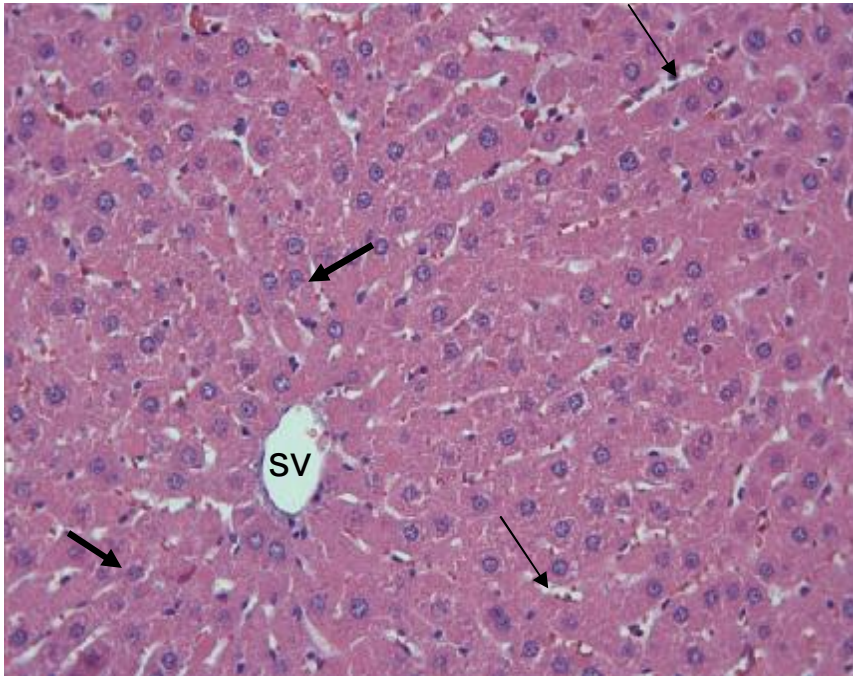
Şekil 14. FA-1 ve FA-1+CH grubunda CAT değışikliği.

$p \leq 0.01$ diğer gruplarla karşılaştırıldığında.

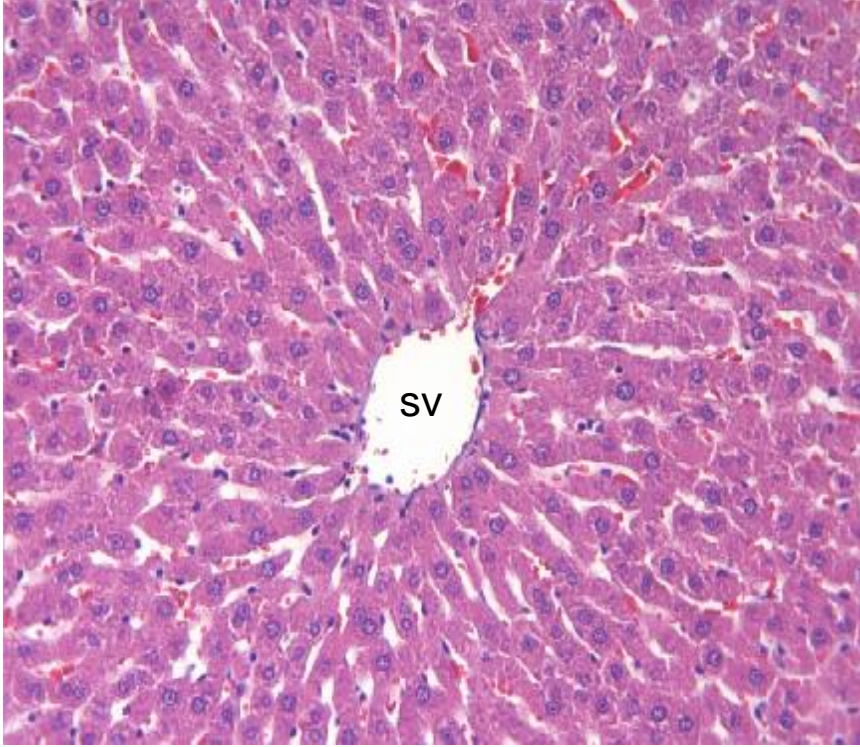
4.2. Histolojik Değerlendirme

4.2.1 Kontrol ve CH Grupları

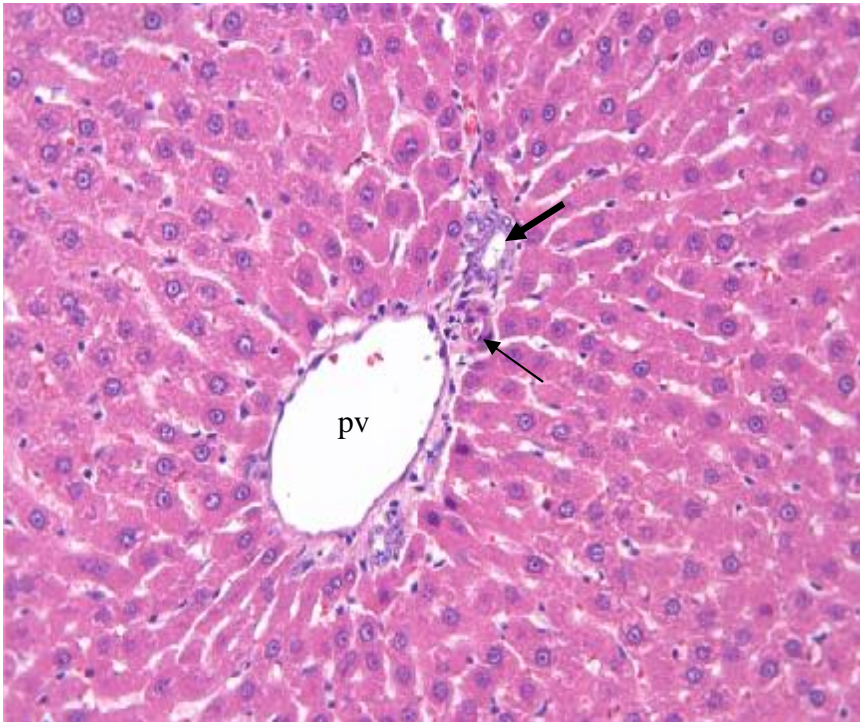
Bu gruplarda karaciğerin histolojik yapısı, normal görünümüne sahipti. H-E ile boyanmış kesitlerde hepatosit kordonları santral ven çevresinde düzenli ve ışınsal bir yerleşim göstermekteydi (Şekil 15, 16). Portal alanlarda, portal ven ve hepatik arterin dalları ile safra kanalikülleri izlendi (Şekil 17, 18). Hepatositlerin sitoplâzmaları eozinofilik olarak boyanmış, nukleusları yuvarlak ve ökromatik olarak gözlemlendi (Şekil 19, 20). PAS boyama metodu uygulanmış kesitlerde, sitoplâzma içerisindeki glikojenin pembe-mor renkte boyandığı izlendi (Şekil 21, 22).



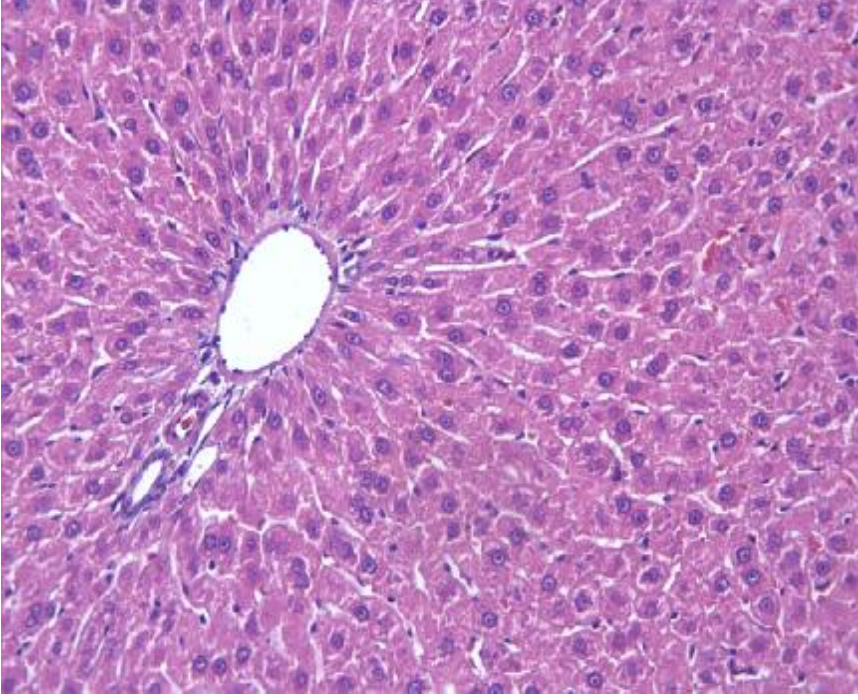
Şekil 15. Kontrol grubu; santral ven (sv) çevresinde hepatosit kordonları (kalın oklar) ve sinüzoidler (ince oklar) izlenmekte, H-E X20.



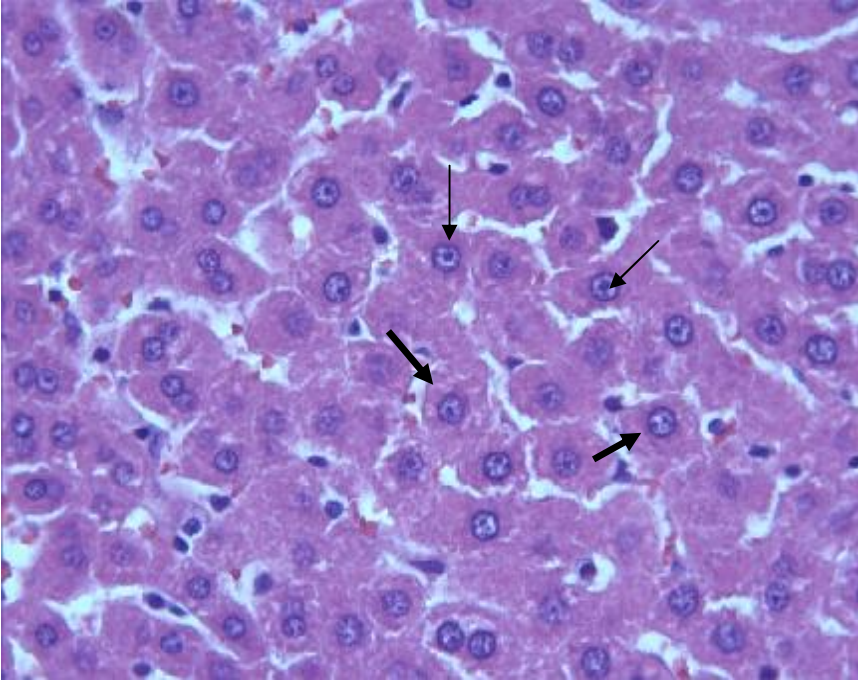
Şekil 16. CH grubunda; santral ven (SV) ve hepatosit kordonlarının görünümü kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte, H-E X20.



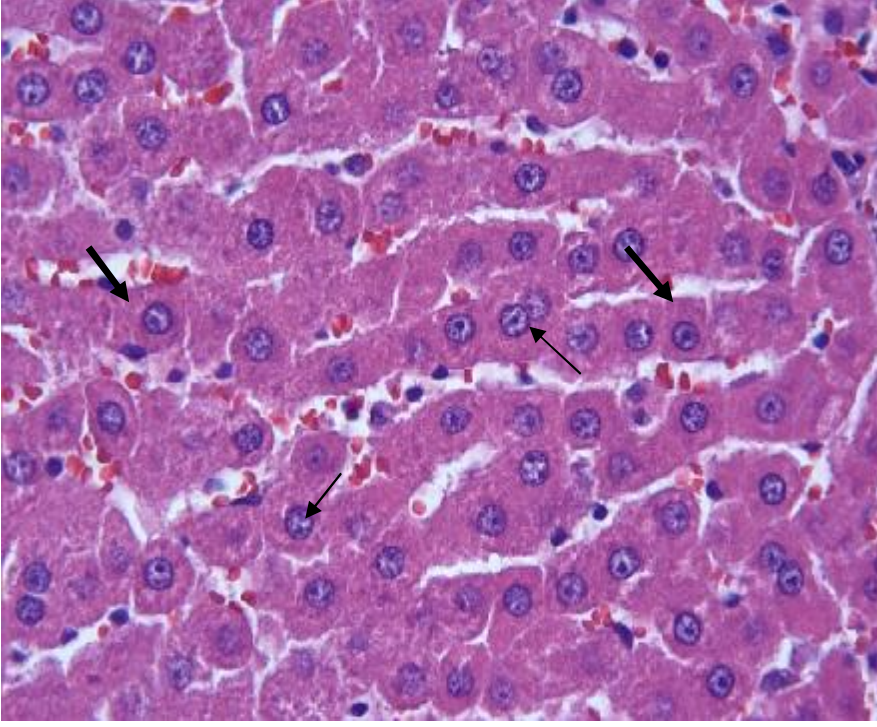
Şekil 17. Kontrol grubunda; portal alandaki portal ven (pv) ve hepatik arter (ince ok) dalı ile safra kanalı (kalın ok), H-E X20.



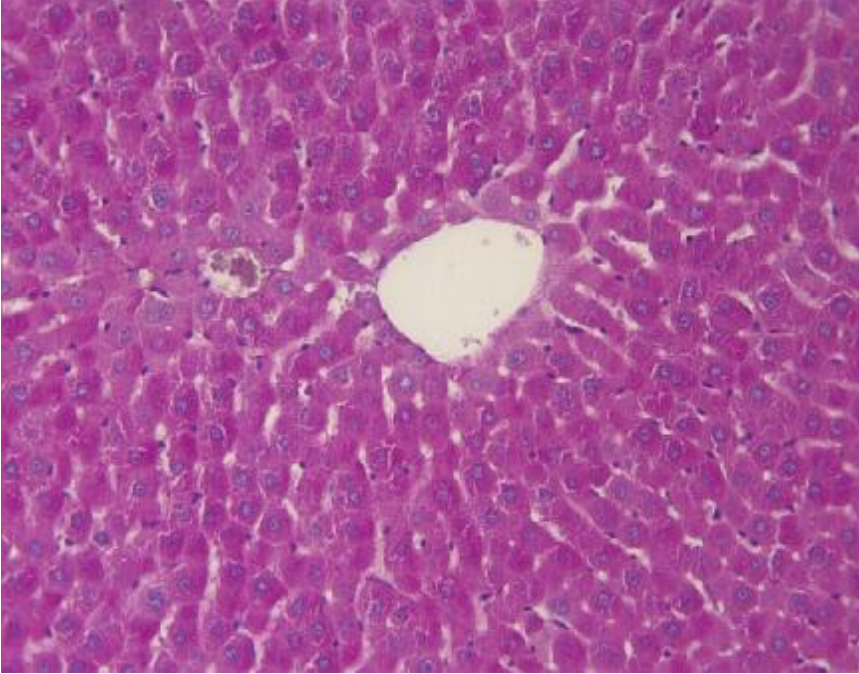
Şekil 18. CH grubunda; portal alanın görünümü, H-E X40.



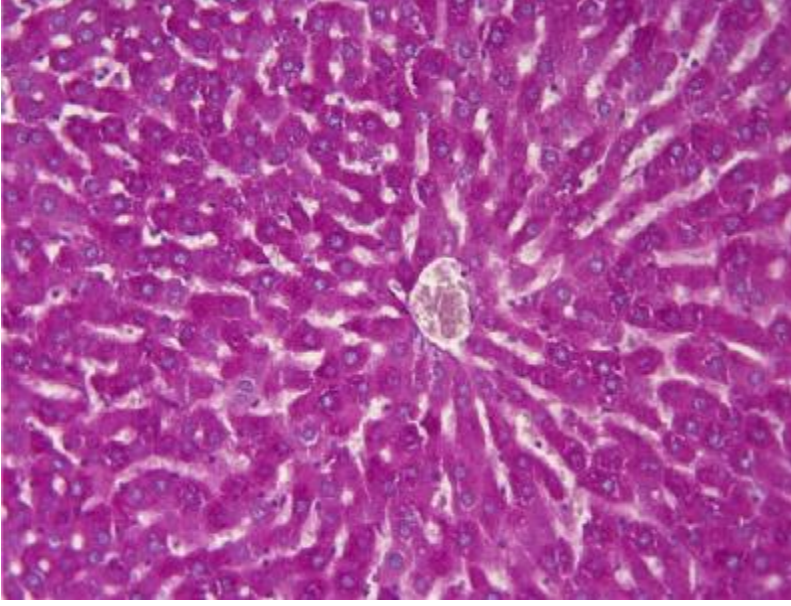
Şekil 19. Kontrol grubunda; eozinofilik sitoplazmalı, ökromatik nükleuslu hepatositlerin (oklar) görünümü, H-E X40.



Şekil 20. CH grubu; hepatositler (kalın oklar) ve nükleuslarının (ince oklar) görünümü kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte, H-E X40.

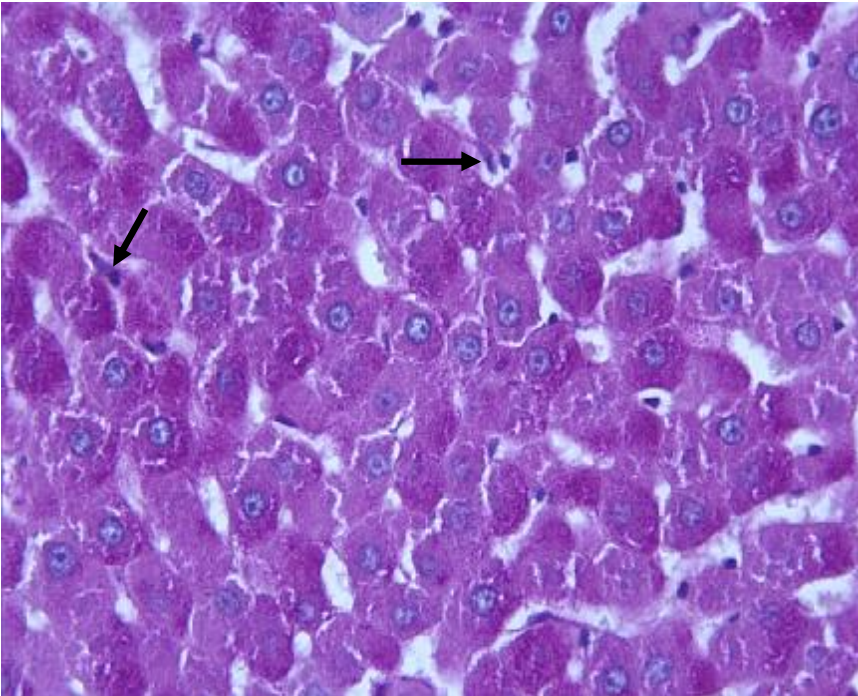


Şekil 21. Kontrol grubunda; hepatosit sitoplazması içinde pembe-mor renkte boyanmış glikojen, PAS X20.

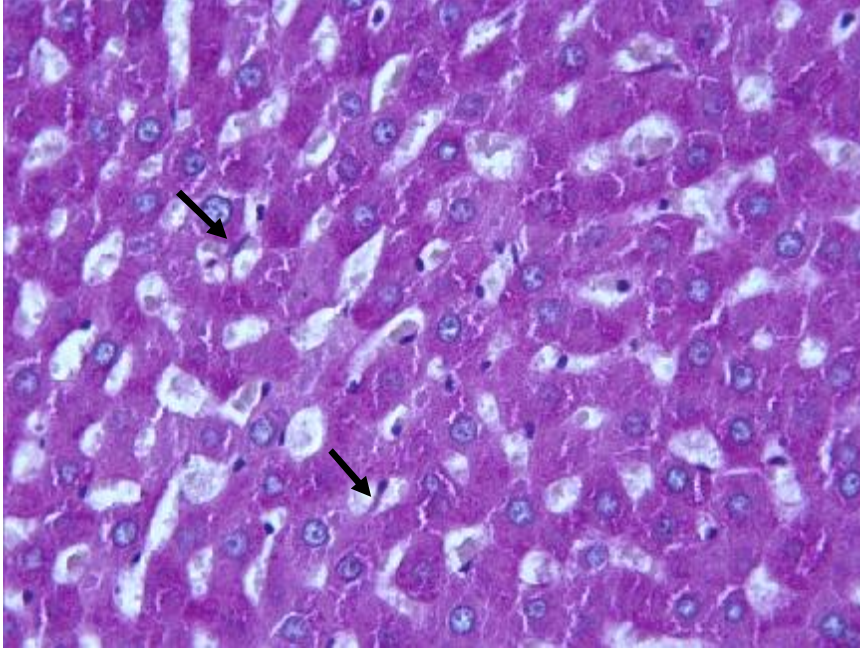


Şekil 22. CH grubunda; PAS (+) hepatositlerin görünümü, PAS X20.

PAS boyama metodu ile sitoplâzmaları pembe- mor renkte boyanan Kupffer hücreleri, sinüzoid lümenine ya da duvarına yerleşmiş olarak izlendi. Kupffer hücrelerinin sayısı kontrol grubunda 5.37 ± 0.36 , CH grubunda $5,70 \pm 0,39$ olarak bulundu (Şekil 23, 24).



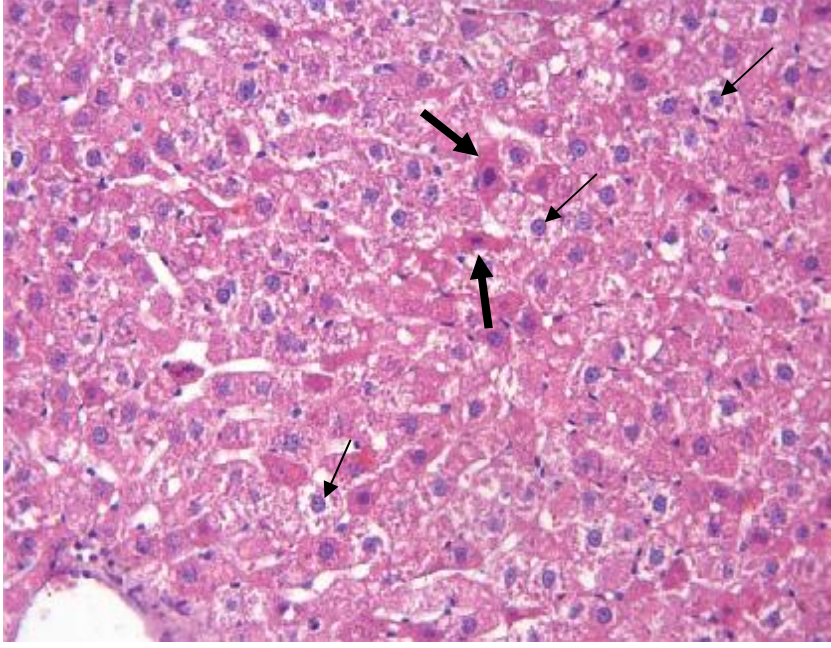
Şekil 23. Kontrol grubunda; sinüzoid lümeninde izlenen Kupffer hücreleri (oklar), PAS x40.



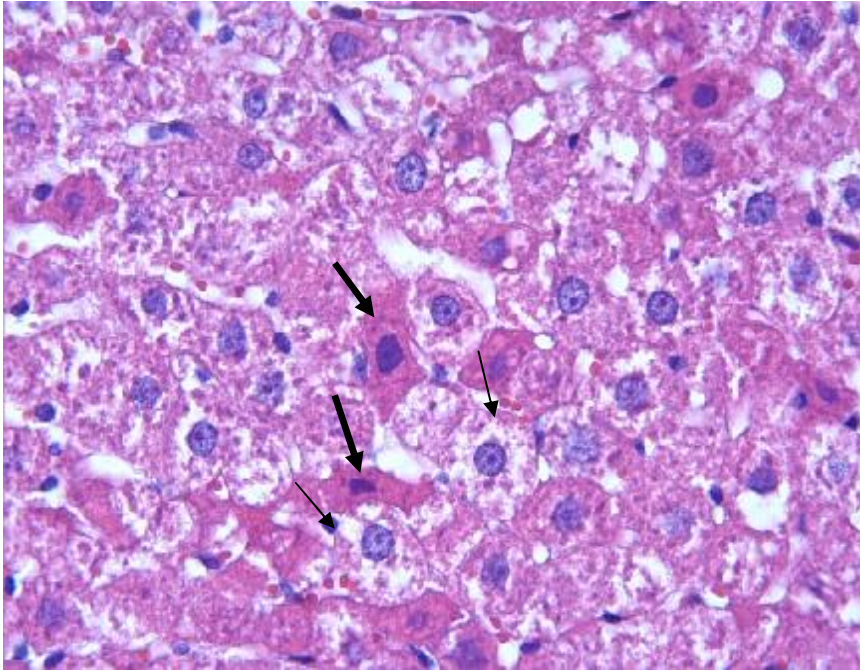
Şekil 24. CH grubunda; Kupffer hücrelerinin görünümü (oklar), H-E x40.

4.2.2. FA Grupları

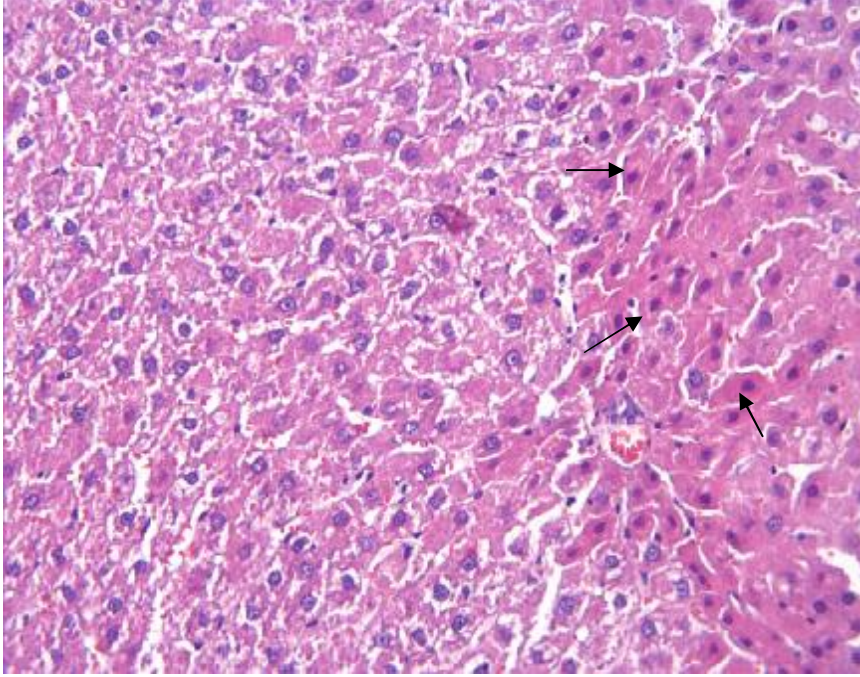
H-E ile boyanmış kesitlerde, bazı hepatositlerin sitoplâzmalarının, yoğun eozinofilik boyandığı izlendi. Bu eozinofil sitoplâzmalı hepatositlerin, nukleusları da koyu ve piknotikti. Bazı hepatositlerin de; hidropik değişikliklere bağlı olarak soluk boyanmış ve şişmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 25, 26, 27 ve 28). Hepatositlerdeki değişiklikler FA-1 grubunda daha yaygın ve belirgin olarak izlendi. Eozinofil boyanma şiddeti artmış hepatositler, FA-1 grubunda (2.29 ± 0.29) FA-0,1 grubuna (1.29 ± 0.18) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ($p=0.001$). Hidropik değişiklikler ise FA-0,1 grubunda 0.86 ± 0.14 , FA-1 grubunda ise 1.00 ± 0.31 olarak tespit edildi. Hidropik değişiklikler bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p<0.05$).



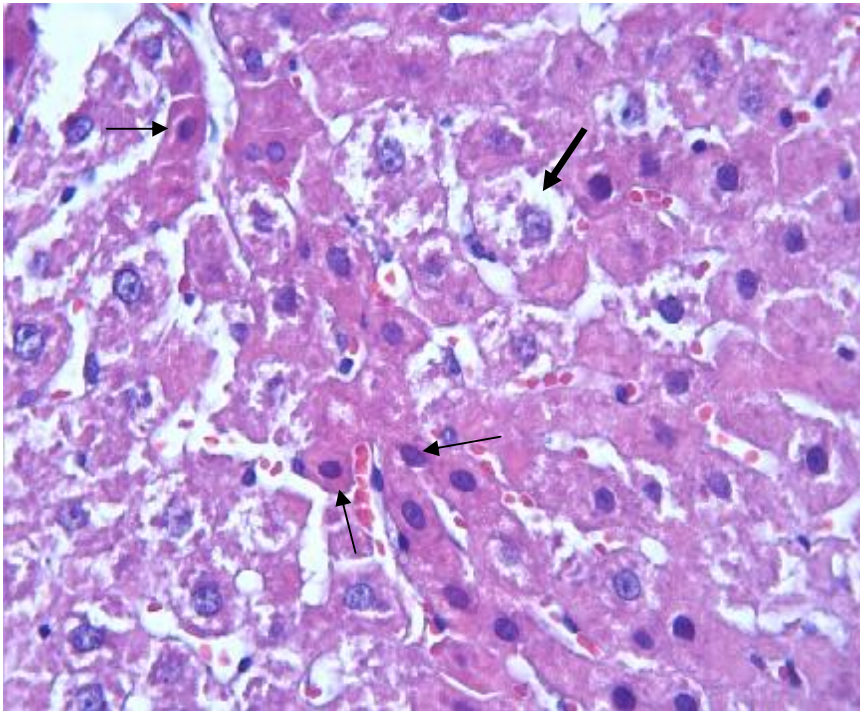
Şekil 25. FA-0,1 grubu; eozinofil boyanma şiddeti artmış (kalın oklar) ve hidropik değişikliklere bağlı olarak şişmiş hepatositler (ince oklar) izlenmekte, H-E x20.



Şekil 26. FA-0,1 grubu; eozinofilik sitoplâzmalı (kalın oklar) ve şişmiş hepatositlerin görünümü (ince oklar), H-E x40.

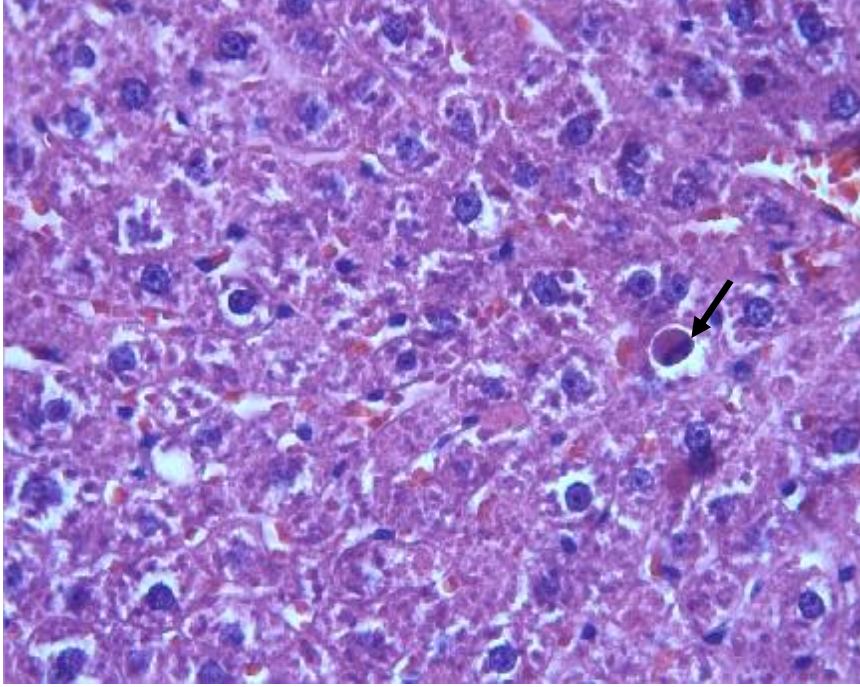


Şekil 27. FA-1 grubu; eozinofilik sitoplâzmalı hepatositler, (ince oklar) FA-0,1 grubuna göre daha yoğun izlenmekte. H-E x20.

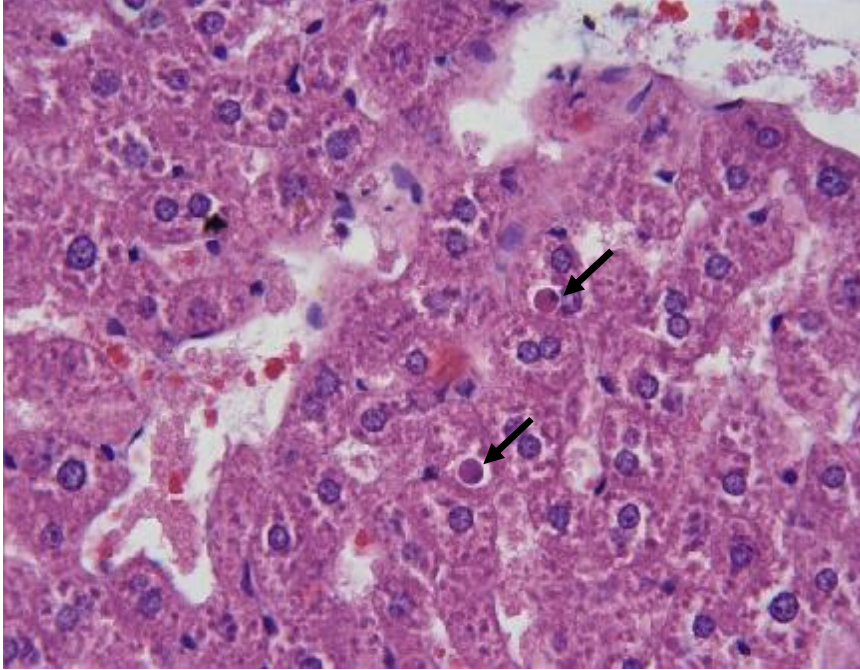


Şekil 28. FA-1 grubu; eozinofilik sitoplâzmalı hepatositlerin nukleusları koyu olarak izlenmekte (ince oklar), hidropik değişiklikler (kalın ok), H-E x40.

Ayrıca FA gruplarında bazı kesitlerde; apoptotik hücreler gözlemlendi. Apoptotik hücreler, çevrelerindeki hücrelerden belirgin bir halo ile ayrılan eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleusları ile ayırt edildi (Şekil 29, 30).

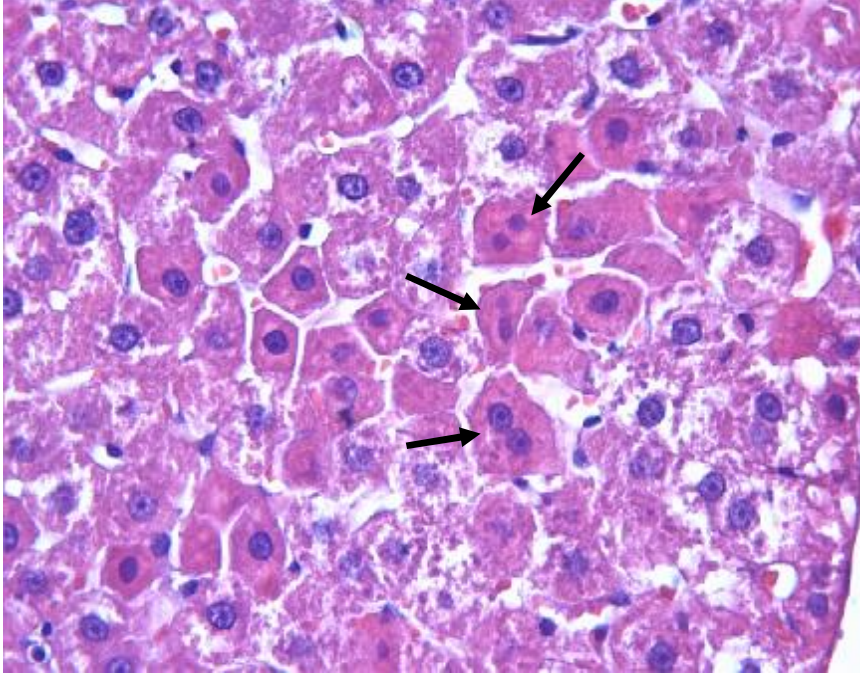


Şekil 29. FA-0,1 grubu; etrafındaki hepatositlerden ayrılmış apoptotik hücrenin görünümü (ok); H-E X40.

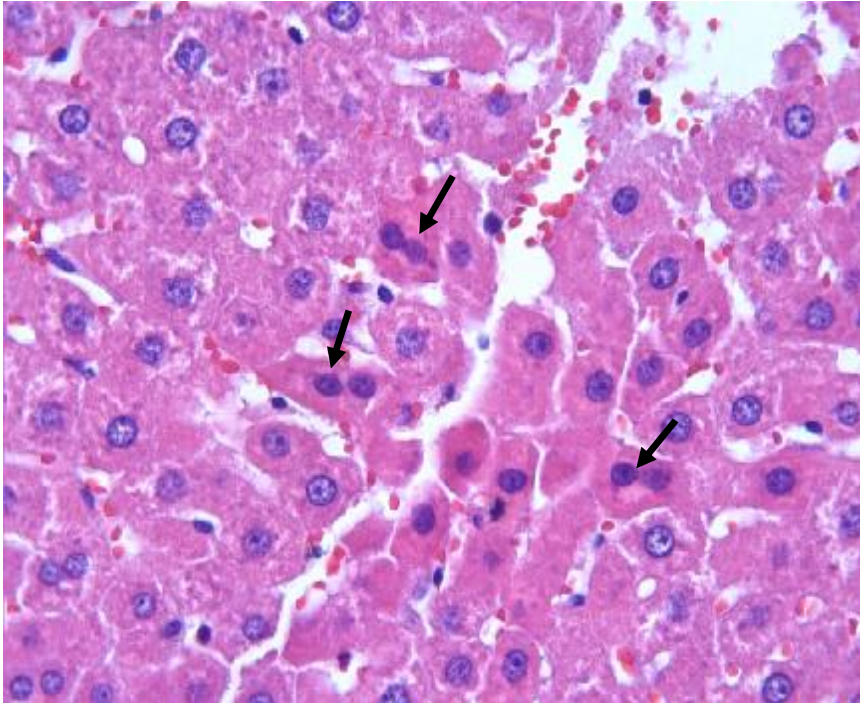


Şekil 30. FA-1 grubu; apoptotik hücreler (oklar) belirgin olarak izlenmekte; H-E X40.

FA gruplarında dikkat çeken diğer bir bulgu ise; kesit alanında çok sayıda rastlanan binükleer hepatositlerin izlenmesiydi (Şekil 31, 32).

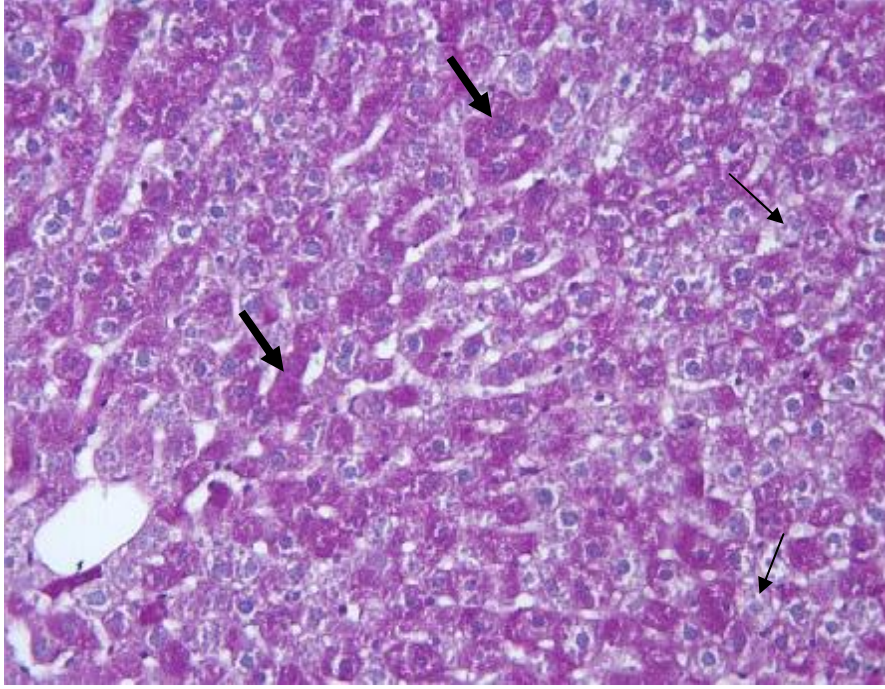


Şekil 31. FA-0,1 grubu; İki nukleuslu hepatositler (oklar); H-E X40.



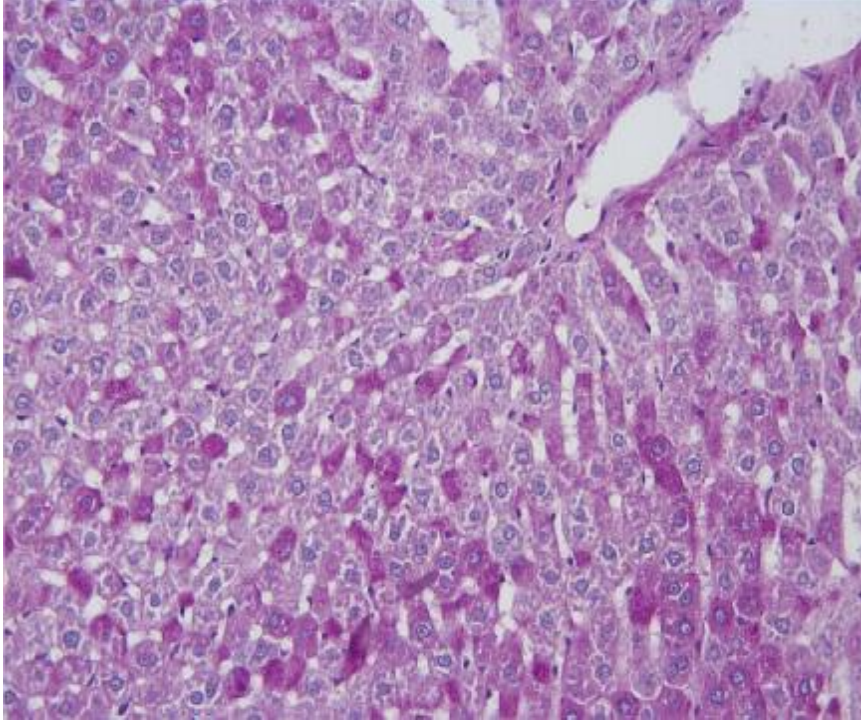
Şekil 32. FA-1 grubu; binükleer hepatositlerin görünümü (oklar), H-E X40.

PAS boyama metodu uygulanmış kesitlerde, hepatositlerdeki PAS(+) boyanmanın FA gruplarında, kontrol gruplarına (Kontrol ve CH) göre azaldığı gözlemlendi ($p=0.005$) (Şekil 33, 34). Bu azalma, FA-1 grubunda (1.86 ± 0.14) FA-0,1 grubuna (1.57 ± 0.20) göre daha belirgin olarak izlenmesine rağmen, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0.05$).

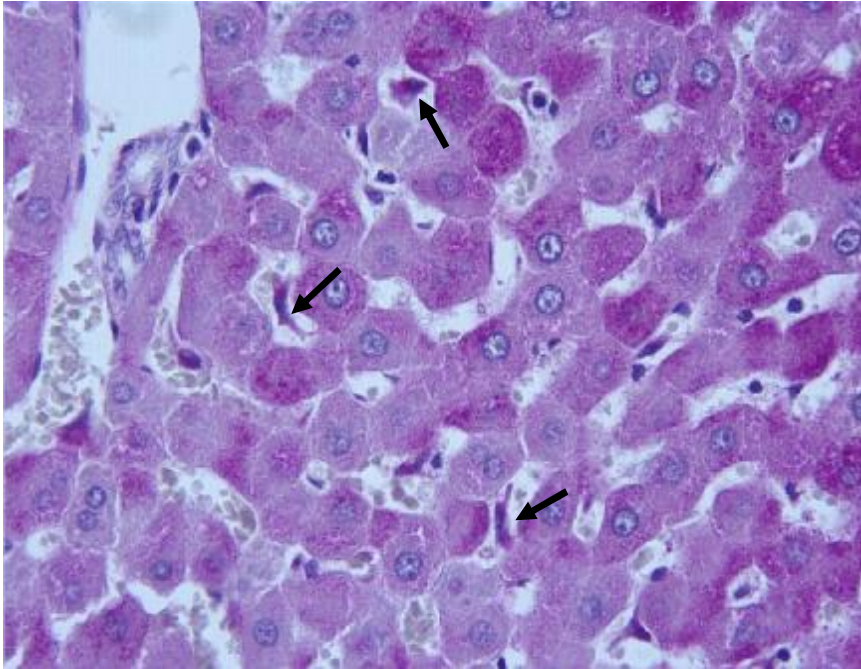


Şekil 33. FA-0,1 grubu; PAS(+) (kalın oklar) ve (-) (ince oklar) boyanan hepatositlerin görünümü, PAS x20.

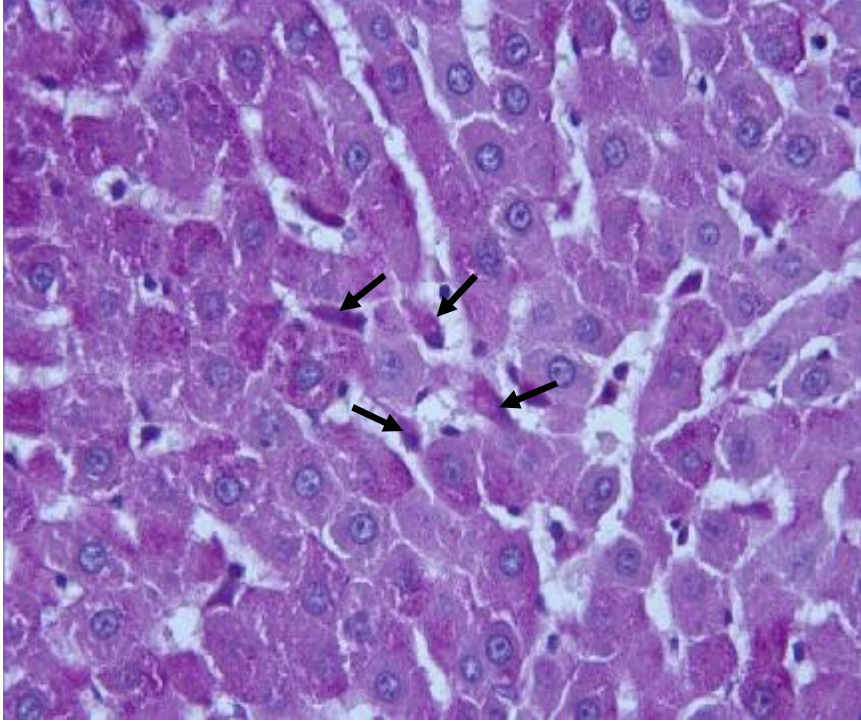
FA gruplarında, PAS boyama metodu ile (+) reaksiyon veren Kupffer hücrelerinin, kontrollere göre belirgin olarak arttığı saptandı (Şekil 35, 36). Diğer yandan; Kupffer hücre sayısı, FA-1 grubunda (11.80 ± 0.38) FA-0,1 grubuna (6.95 ± 0.35) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselmişti ($P<0,0001$).



Şekil 34. FA-1 grubu; yoğunluğu azalmış PAS (+) hepatositler, PAS X20.



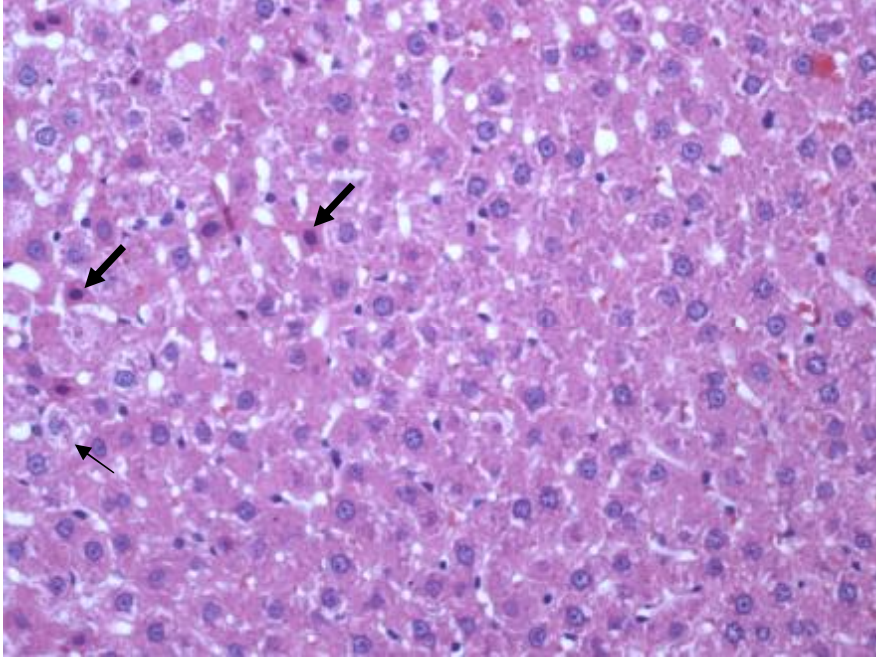
Şekil 35. FA-0,1 grubu; Kupffer hücrelerinin görünümü (oklar), PAS X40.



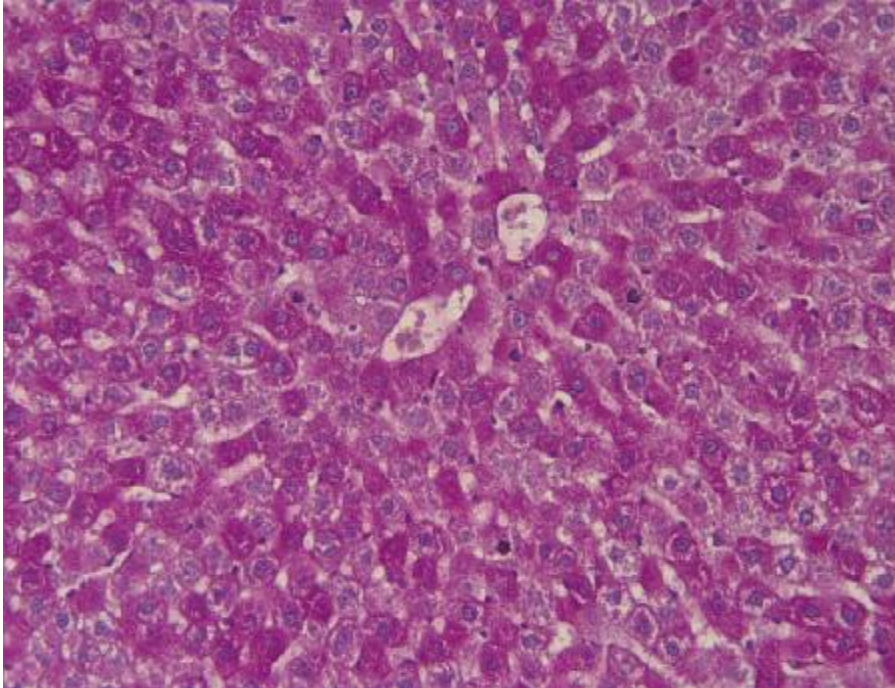
Şekil 36. FA-1 grubu; Kupffer hücreleri, FA-0,1 grubuna göre daha yoğun olarak izlenmekte (oklar), PASX40.

4.2.3. FA+CH Grupları

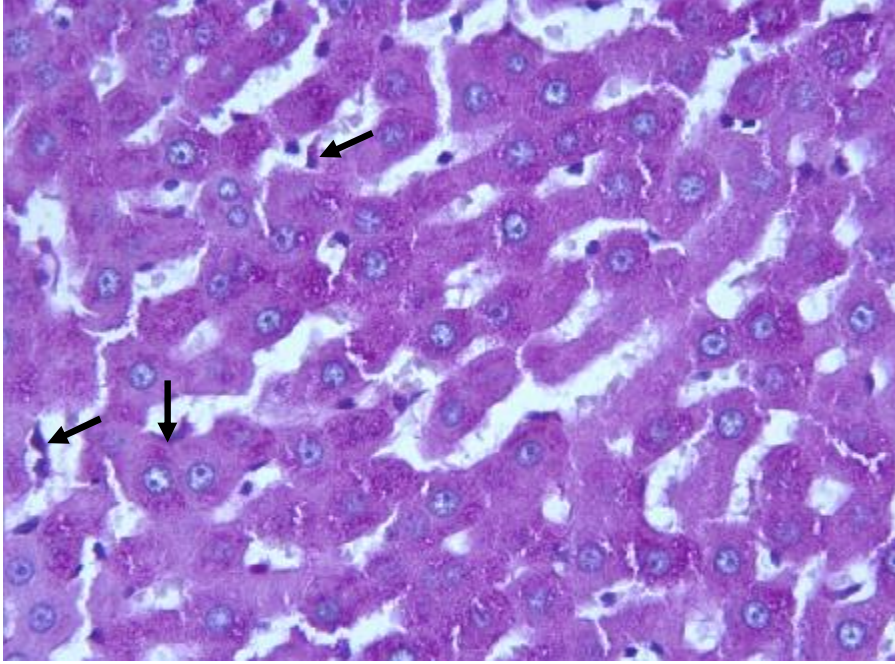
CH verilmesi, FA-0,1 grubunda izlenen histolojik değişiklikleri istatistiksel olarak etkilemedi ($p>0.05$) (Şekil 37, 38 ve 39).



Şekil 37. FA-0,1+CH grubu; şiddetli eozinofilik boyanmış (kalın oklar), ve şişmiş (ince ok) hepatositler sağlam hepatositler arasında izlenmekte H-E X20.

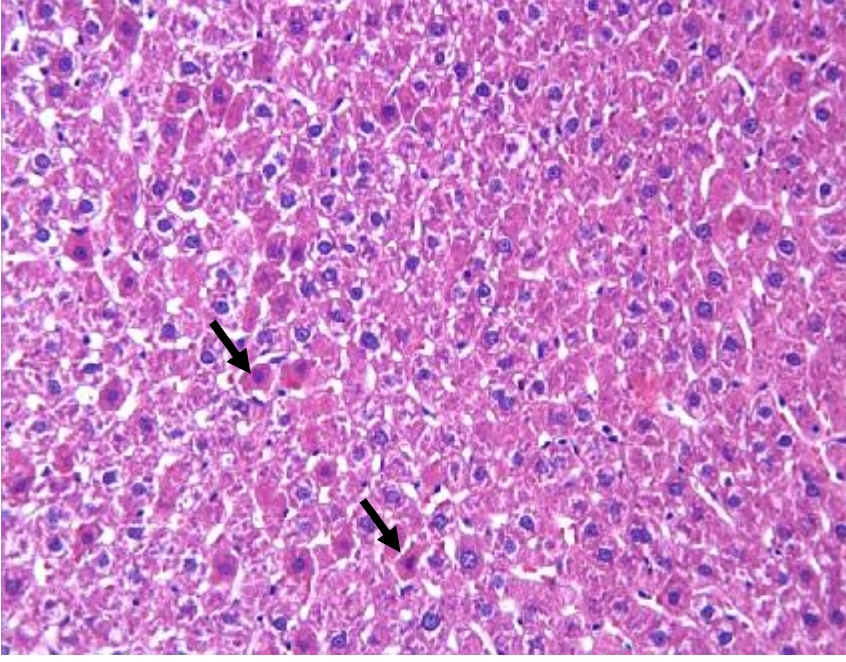


Şekil 38. FA-0,1+CH grubu; PAS (+) boyanan hepatositlerin görünümü, PAS X20.

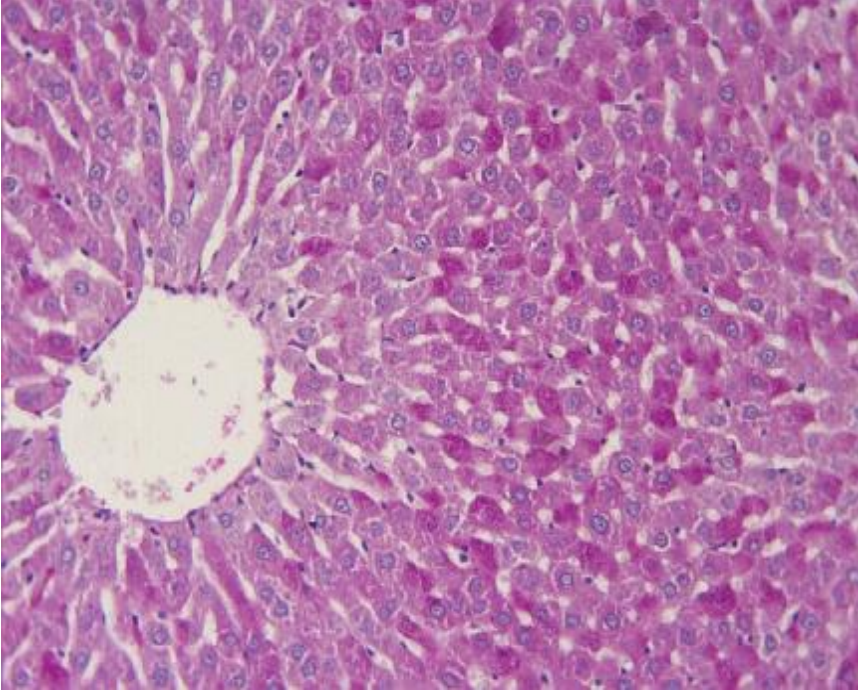


Şekil 39. FA-0,1 + CH grubu; Kupffer hücreleri yoğunluğu, FA-0,1 grubuna benzer olarak görülmekte (oklar), PAS X40.

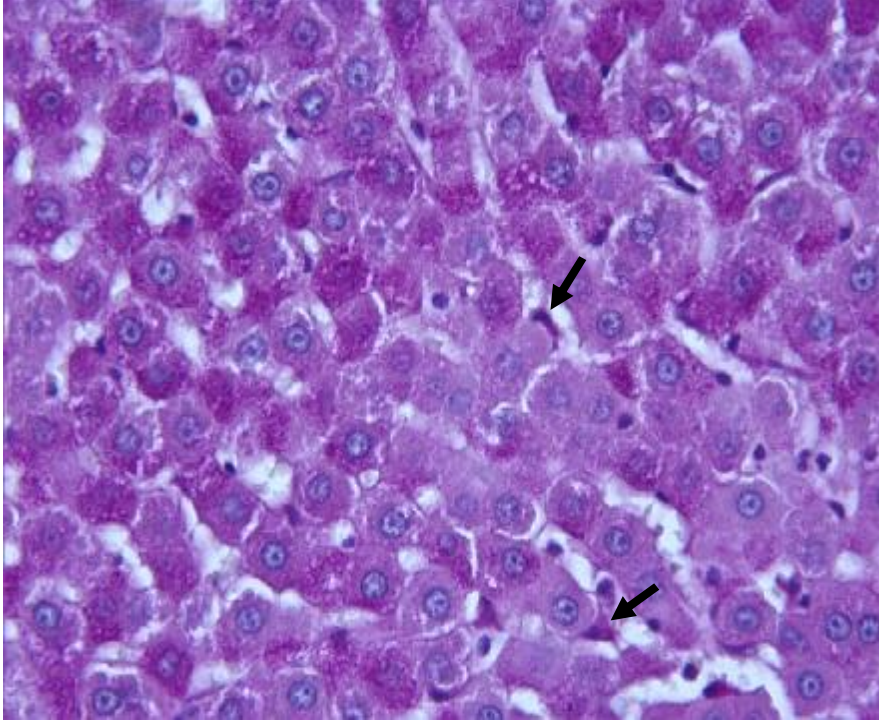
Diğer yandan, FA-1 grubunda izlenen eozinofil sitoplazma şiddeti artmış ve glikojen içeriği azalmış hepatositler, FA-1+CH grubunda azalmıştı, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 40, 41). Ancak CH tedavisi; FA-1 grubunda Kupffer hücre sayısını azalttı ve hücre şişmesini önemli derecede hafifletti (sırasıyla $p=0.001$ ve $p<0.0001$) (Şekil 42, 43). Grupların histolojik değerlendirme sonuçları tablo 2 de verildi.



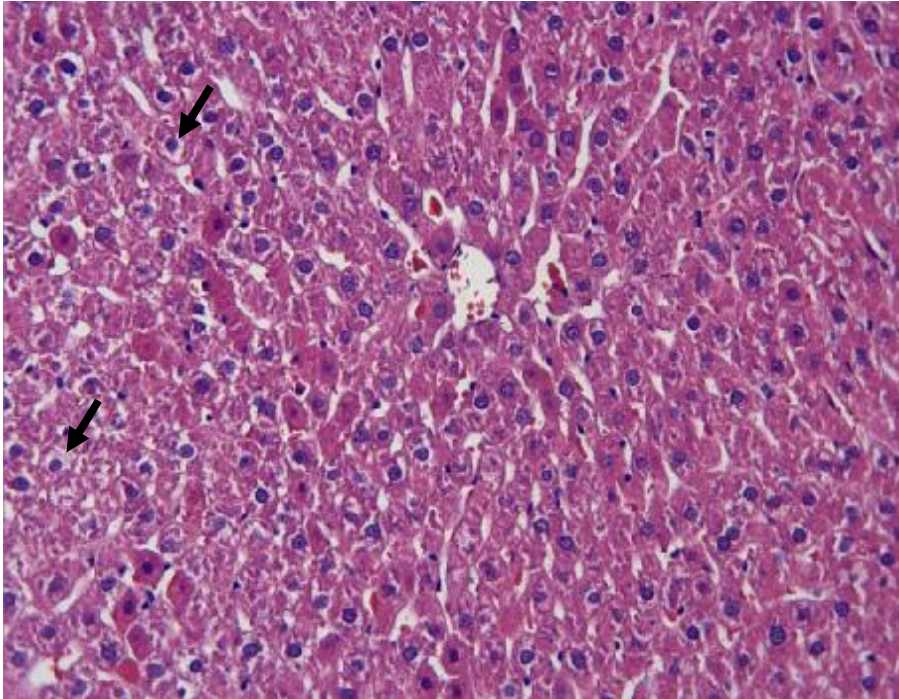
Şekil 40. FA-1+CH grubu; eozinofilik sitoplâzmalı ve piknotik nukleuslu hepatositler (oklar), H-E X20.



Şekil 41. FA-1+CH grubu; PAS (+) hepatositlerin görünümü FA-1 grubuna benzer olarak izlenmekte, PAS X20.



Şekil 42. FA-1+CH grubu; Kupffer hücre yoğunluğu, FA-1 grubuna göre azalmış olarak izlenmekte (oklar), PASX40.



Şekil 43. FA-1+CH grubu; şişmiş hepatositler, FA-1 grubuna göre seyrek olarak izlenmekte (oklar), H-EX20.

Tablo II. Grupların histolojik değerlendirme sonuçları.

Gruplar	Hidropik Değişiklikler	Eozinofilik Hepatositler	Glikojen Kaybı	Kupffer Hücre Sayısı
1.Kontrol	0.43 ± 0.30	0.14 ± 0.14	0.43 ± 0.20	5.37 ± 0.36
2.CH	0.57 ± 0.20	0.29 ± 0.18	0.57 ± 0.20	5.64 ± 0.35
3.FA-0.1	1.29 ± 0.18 ^{a,c}	0.86 ± 0.14 ^{c,d}	1.57 ± 0.20 ^{c,e}	7.44 ± 0.35 ^{c,f}
4.FA-0.1+CH	1.14 ± 0.26 ^a	0.71 ± 0.18	1.43 ± 0.20	6.90 ± 0.33
5.FA-1	2.29 ± 0.29 ^a	1.00 ± 0.3 ^d	1.86 ± 0.14 ^e	11.80 ± 0.38 ^f
6.FA-1+CH	1.29 ± 0.18 ^{a,b}	0.57 ± 0.20 ^g	1.71 ± 0.29 ^g	9.39 ± 0.35 ^b
	1. (3), (4), (5), (6) 2. (3), (4), (6) 3. (1), (2), (4) 4. (1), (2), (3), (5), (6) 5. (1), (4) 6. (1), (2), (4) P = 0,0014	1. (3), (4) 3. (1) 4. (1) P = 0,0519	1. (3), (4), (5), (6) 2. (3), (4), (5), (6) 3. (1), (2) 4. (1), (2) 5. (1), (2) 6. (1), (2) P = 0,0005	1. (3), (4), (5), (6) 2. (3), (4), (5), (6) 3. (1), (2), (4), (6) 4. (1), (2), (3), (5), (6) 5. (1), (2), (4), (6) 6. (1), (2), (3), (4), (5) P < 0,0001

^a Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artmış, p= 0,0014.

^b FA-1 grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalmış, p= 0,0014.

^c FA-0.1+CH ile karşılaştırıldığında fark anlamsız, p>0.05

^d Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yükselmiş, p= 0,0519

^e Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artmış, p= 0,0005

^f Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artmış, p< 0,0001

^g FA-1 ile karşılaştırıldığında fark anlamsız, p>0.05

5. TARTIŞMA

Deneysel olarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada i.p olarak uygulanan düşük dozdaki FA'nın karaciğer üzerinde oluşturduğu hasar biyokimyasal ve histolojik düzeylerde araştırılmıştır. Ayrıca önemli bir flavonoid olan CH'nin bu olumsuz etkilere karşı koruyucu özellikleri incelenmiştir. Deneysel çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz histolojik ve biyokimyasal bulgular, konu ile alakalı çalışmaların bulguları ile kıyaslanarak tartışıldı.

Günlük yaşantımızda kullandığımız endüstriyel ürünler, temizlik malzemeleri, kozmetik ürünler gibi birçok maddede ve çalışma alanlarının çoğunda FA yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (4, 6, 7, 8, 11, 12). FA maruziyeti sonucunda deri, göz, testis, solunum sistemi, santral sinir sistemi ve sindirim sistemi üzerinde toksik etkiler olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (8, 13, 17, 21, 24, 77, 78).

Bir organizma içerisinde, koruyucu etkiye sahip olan antioksidanlar ile fizyolojik aktivite sonucu veya herhangi bir patolojik durum neticesinde oluşan serbest radikaller arasındaki sistematik dengenin antioksidanlar aleyhine dönmesi oksidatif stresin oluştuğunu gösterir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan TBARS, oksidatif hasarı tespit etmekte kullanılan önemli bir parametredir (75, 76). Yaptığımız çalışmada FA uygulanan FA-1 ve FA-0,1 gruplarındaki sıçanların karaciğer dokularında TBARS değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi.

Enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemler, oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu rol üstlenmektedir. Antioksidan sistemler içerisinde enzimatik olarak CAT, SOD ve GSH bulunmaktadır (77, 78). Yaptığımız çalışmada, düşük dozda FA uygulanan FA-1 grubunda bulunan ratların karaciğer doku örneklerinde CAT ve

GSH enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği, SOD seviyesinin ise anlamlı olarak düştüğü görülmüştür. FA uygulanan FA-0,1 grubunda bulunan ratların karaciğer doku örneklerinde ise GSH enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilirken, CAT seviyesindeki azalma ve SOD düzeyindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Zararsız ve ark. (33), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında i.p yolla verdikleri yüksek doz FA sonucu karaciğer dokularında CAT, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde artış olduğunu ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA düzeyinde yükseliş gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Farooqui ve ark. (79) i.p yolla verdikleri yüksek doz FA'nın neticesinde safra sekresyonunda glutatyon konsantrasyonunun arttığını, buna karşılık karaciğer dokusunda glutatyon seviyesinin azaldığını belirlemişlerdir. Benzer olarak, Skrzydlewska (80) da yapmış olduğu çalışmada, formik asit ve FA'ya metabolize olan metanolün, sıçan karaciğer dokusunda SOD ve CAT enzim düzeylerinde yükselişe neden olduğunu bildirmiştir. Teng ve ark. (81) izole sıçan hepatositleri ile ilgili deneysel çalışmalarında, düşük konsantrasyonlu FA'nın bile oksidatif hasara yol açtığını tespit etmişlerdir. Dobrzynska ve ark (82) da, metanol uyguladıkları sıçanların karaciğer dokusunda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış olduğunu ortaya koymuşlardır. TBARS düzeyindeki bu artış, FA'nın karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonuna ve doğal olarak oksidatif hasara yol açtığını göstermiştir. Güleç ve ark. (83) ise ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada FA uygulanan karaciğer dokularında SOD ve CAT enzim aktivitelerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızın biyokimyasal verileri, düşük dozda uygulanan FA'nın karaciğerde oksidatif hasar oluşturması yönüyle yukarıdaki araştırmalar ile uyum

göstermektedir (33, 79-83). Yaptığımız çalışmada TBARS seviyesinin yükselişi, düşük dozdaki FA'nın karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonu ve bunun sonucunda oksidatif hasar oluşturduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada, akut patolojilerde oluşan aşırı serbest radikal üretimine karşılık bu artışı dengelemek üzere antioksidan enzimlerden olan SOD düzeylerinde artış meydana geldiği ifade edilmiştir (84). Çalışmamız subkronik olarak sürdüğünden, devam eden toksisiteye bağlı olarak SOD miktarının azaldığı ve buna bağlı olarak düşük SOD düzeylerinin tespit edildiğini düşünmekteyiz. Ayrıca uzun süreli devam eden FA maruziyetine bağlı olarak GSH ve CAT'ın transkripsiyonunda artış meydana gelmiştir. Fakat bu artışın, TBARS seviyesinin yüksekliği ve histolojik bulgular ışığında, oluşan toksisiteyi engelleyemediği düşünülmektedir.

DeneySEL olarak yapılmış önceki araştırmalarda, FA'nın karaciğer mikroskobik yapısında da değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. Beall ve ark. (85) FA'nın karaciğer dokusunda lokal hücreSEL nekroz odakları ve sentrilobüler vakuolizasyona yol açtığını bildirmişlerdir. Zararsız ve ark. (33) da ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada FA uygulanan grubun ışık mikroskobik incelenmesinde hepatositlerin bazılarının sitoplâzmalarında vakuolizasyon gözlemlemişler ve bazılarının ise hiperkromatik çekirdekli olduklarını saptamışlardır. Ayrıca, PAS ile yaptıkları boyamada portal alan etrafındaki hepatositlerin PAS (-) olduğunu, dolayısıyla glikojenin olmadığını tespit etmişlerdir. Gerçekleştirdiğimiz deneysel çalışmamızın ışık mikroskobik incelemelerinde ise; FA uygulanan FA-1 ve FA-0,1 gruplarının karaciğer doku örneklerindeki H-E ile boyanmış kesitlerde bazı hepatositlerin sitoplâzmalarının, yoğun eozinofilik boyandığı görüldü. Hepatositlerde görülen değişikliklerin FA-1 grubunda daha yaygın ve belirgin olduğu tespit edildi. Ayrıca

FA gruplarındaki bazı kesitlerde; apoptotik hücreler gözlemlendi. Apoptotik hücreler, çevrelerindeki hücrelerden belirgin bir halo ile ayrılan eozinofilik sitoplâzmaları ve piknotik nukleusları ile ayırt edildi. Kupffer hücre sayısı, FA gruplarında kontrol grubuna göre artış gösterdi. FA-1 grubundaki Kupffer hücre sayısı FA-0,1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselmişti. FA uygulamamız sonucunda karaciğerde meydana gelen mikroskobik değişiklikler açısından çalışmamız daha önce yapılan araştırmalar ile paralellik göstermektedir.

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşikler olup en iyi tanımlanmış flavonoidlerden biri CH'dir (46-48). CH'nin bu kuvvetli antioksidan özelliğinden dolayı FA'ya bağlı olarak meydana gelen karaciğer hasarını önleyebileceğini düşündük. FA'nın karaciğer üzerinde oluşturabileceği hasarlara karşı CH'nin koruyucu etkisini araştırdık.

Pushpavalli ve ark. (57) d-galactosamine uygulanmış ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada koruyucu olarak CH kullanmaları sonucunda CAT, SOD ve GSH değerlerinin kontrol grubu lehinde değiştiğini tespit etmişlerdir. Sathivelu ve ark. (58) sıçanların karaciğerlerinde etanol ile oluşturdukları oksidatif hasara karşı antioksidan olarak CH uygulamaları neticesinde CAT, SOD, GSH seviyelerinin kontrol grubu lehinde yükseldiğini bunun yanında TBARS değerinin ise kontrol grubu lehinde düştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca histolojik değerlendirme sonucunda CH'nin biyokimyasal sonuçlar ile paralel hareket ettiğini ortaya koymuşlardır. Çiftçi ve ark. (86) ratlar üzerinde uyguladıkları 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) sonrası karaciğerde oluşan güçlü oksidatif hasarı önlemek amaçlı CH kullanmaları neticesinde CAT, SOD, GSH ve lipid

peroksidasyon seviyelerinin anlamlı bir şekilde kontrol grubu lehinde değiştiğini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte histolojik değişimlerin biyokimyasal değişimler ile paralel olduğunu bildirmişlerdir.

Yapmış olduğumuz bu araştırmada da FA uygulaması sonrası CH uygulanan ratlara ait karaciğer dokularında yaptığımız biyokimyasal analizlerde FA-1+CH grubunda kontrol grubu lehinde bir değişim gözlemlendi. TBARS, CAT ve GSH seviyeleri anlamlı bir şekilde düşerken SOD düzeyi anlamlı olarak yükseldi ve kontrol grubuna yaklaştı. FA-0,1+CH grubunda ise CAT, SOD, GSH ve TBARS düzeyleri kontrol grubu lehinde değişim gösterirken istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu bağlamda FA-1+CH grubunda CH'nin oksidatif doku hasarını biyokimyasal düzeyde önlediği görüldü. Ayrıca FA ile birlikte CH uygulanan gruplarda Kupffer hücre sayısında azalma ve hücre şişmesinde önemli derecede hafifleme görüldü. Ancak eozinofili ve glikojen kaybı istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermedi. CH'nin antioksidan etkisine baktığımızda çalışmamızın biyokimyasal ve histolojik bulguları daha önce yapılmış olan araştırmalar ile genel olarak paralellik göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyokimyasal ve histolojik olarak ratlar üzerinde gerçekleştirdiğimiz bu çalışma neticesinde FA'nın karaciğer antioksidan savunma sistemini zayıflattığı ve dokuda oksidatif hasara sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, FA uygulaması sonucu karaciğer dokusu histolojik yapısının bozulduğu ve apoptozisin olduğu gözlemlendi. Bunun yanı sıra FA uygulamasına bağlı olarak karaciğerde oluşan oksidatif doku hasarının, mikroskopik değişikliklerin ve apoptozisin CH uygulaması ile baskılandığı ve gerilediği saptandı.

Bu sonuçlar ışığında;

1-Yaygın olarak kullanılan ve düşük dozda bile ciddi hasarı olan FA'nın kullanılmasının kısıtlanması için önlemler alınmalı.

2- FA'nın kullanılmasının zorunlu olduğu alanlarda gerekli koruyucu tedbirler sağlanmalıdır.

3- Önemli bir antioksidan olan CH'nin kullanılabilirliğini artırıcı çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1) The Perspective. Erişim:10 Temmuz 2012,
<http://www.theperspective.org/formaldehyde.html>
- 2) Formaldehyde Council Report. Air toxics, formaldehyde and risk characterization. Erişim:14 Temmuz 2012
<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/formaldehyde.pdf>
- 3) Smith, AE. (1992). Formaldehyde. *Occupational Medicine* , 42, 83-88.
- 4) Feron, VJ., Til, HP., Vrijer, F., Woutersen, RA., Cassee, FR., van Bladeren, PJ. (1991). Aldehydes: occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 259, 363–385.
- 5) Formaldehyde Sampling of FEMA Temporary- Housing Trailers. Erişim: 18 Temmuz 2012
http://www.atsdr.cdc.gov/substances/formaldehyde/pdfs/revised_formaldehyde_report_1007.pdf
- 6) IARC: International Agency For Research On Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 88. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol. Erişim: 18 Temmuz 2012
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/volume88.pdf>.
- 7) WHO Regional Office for Europe. (2001). Formaldehyde. Denmark: WHO Regional Office for Europe
- 8) Collins, JJ., Ness, R., Tyl, RW., Krivanek, N., Esmen, NA., Hall, TA. (2001). A review of adverse pregnancy outcomes and formaldehyde exposure in human and animal studies. *Regul Toxicol Pharmacol*, 34, 17-34.
- 9) Formaldehyde. Ten Carcinogenes in Toronto. Erişim: 20 Ağustos 2012
http://www.toronto.ca/health/pdf/cr_appendix_b_formaldehyde.pdf.
- 10) Formaldehyde. Chronic Toxicity Summary. Erişim: 20 Ağustos 2012
http://www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/50000.pdf.
- 11) Broder, I., Corey, P., Brasher, P., Lipa, M., Cole, P. (1991). Formaldehyde exposure and health status in households. *Environ Health Perspect*, 95, 101–104.

- 12) Naya, M., Nakanishi, J. (2005). Risk assessment of formaldehyde for the general population in Japan. *Regul Toxicol Pharmacol*, 43, 232–248.
- 13) Uchiyama, S., Matsushima, E., Kitao, N., Tokunaga, H., Ando, M., Otsubo Y. (2007). Effect of natural compounds on reducing formaldehyde emission from plywood. *Atmos Environ*, 41, 8825.
- 14) Bender, JR., Mullin, LS., Graepel, GJ., Wilson, WE. (1983). Eye irritation response of humans to formaldehyde. *Am Ind Hyg Assoc J*, 44, 463–465.
- 15) Arts, JHE., Rennen, MAJ., de Heer, C. (2006). Inhaled formaldehyde: Evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regul Toxicol Pharmacol*, 44, 144–160.
- 16) Ozga, G. (1984). Preliminary assessment on the health effects of formaldehyde. *Occupational Safety and Administration*, 14, 476–483.
- 17) Canbilen, A., Sezen, Ş., Avunduk, MC., Erdinç, Çon, N. (1999). Formaldehit ve toksik etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 9, 33–39.
- 18) Kriebel, D., Myers, D., Cheng, M., Woskie, S., Cocanour, B. (2001). Short term effect of formaldehyde on peak expiratory flow and irritant symptoms. *Arch Environ Health*, 56, 11–18.
- 19) Franklin, P., Dingle, P., Stick, S. (2000). Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *American Journal of Industrial Medicine*, 161, 1757–1759.
- 20) Blair, A., Stewart, PA., Hoover, RN. (1990). Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. *American Journal of Industrial Medicine*, 17, 683–699.
- 21) Krzyzanowski, M., Quackenboss, JJ., Lebowitz, MD. (1990) Chronic respiratory effects of indoor formaldehyde exposure. *Environmental Research*, 52, 117–125.
- 22) Agner, T., Flyvholm, MA., Menne, T. (1999). Formaldehyde allergy: A follow-up study. *American Journal of Contact Dermatitis*, 10, 12–17.
- 23) Kilburn, KH., Warshaw, R., Thornton, JC. (1987). Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. *Archives of Environmental Health*, 42, 117–120.

- 24) Malek, FA., Möritz, KU., Fanghanel, J. (2003). A study on the effect of inhalative formaldehyde exposure on water labyrinth test performance in rats. *Annals of Anatomy*, 185, 277–285.
- 25) Kilburn, KH., Warshaw, R., Thornton, JC., Husmark, I. (1989). An examination of factors that could affect choice reaction time in histology technicians. *American Journal Industrial Medicine*, 15, 679–686.
- 26) Sarsilmaz, M., Kaplan, S., Songur, A., Colakoglu, S., Aslan, H., Tunc, AT., Özen, OA., Turgut, M., Bas, O. (2007). Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study. *Brain Research*, 1145, 157–167.
- 27) Aslan, H., Songur, A., Tunc, AT., Ozen, OA., Bas, O., Yagmurca, M., Turgut, M., Sarsilmaz, M., Kaplan, S. et al. (2006). Effects of formaldehyde exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: a histopathological and stereological study. *Brain Research*, 1122, 191–200.
- 28) Zararsiz I, Kus I, Akpolat N, Songur A, Ogeturk M, Sarsilmaz M. (2006). Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell Biochemical Function*, 24, 237-244.
- 29) Pitten, FA., Kramer, A., Herrmann, K., Bremer, J., Koch, S. (2000). Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. *Pathology Research and Practice*, 196, 193-198.
- 30) Sorg, BA., Bailie, TM., Tschirgi, ML., Li, N., Wu, WR. (2001). Exposure to repeated low-level formaldehyde in rats increases basal corticosteron levels and enhances the corticosterone response to subsequent formaldehyde. *Brain Research*, 898, 314-320.
- 31) Sorg, BA., Hochstatter, T. (1999). Behavioral sensitization after repeated formaldehyde exposure in rats. *Toxicology of Industrial Health*, 15, 346-355.
- 32) Usanmaz, SE., Akarsu, ES., Vural, N. (2002). Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Enviromental Toxicology Pharmacology*, 11, 93-100.

- 33) Zararsız, İ., Sarsılmaz, M., Sönmez, M.F., Köse, E., Yılmaz, H.C., Ozan, E. (2005). Kadavra Tespitinde Kullanılan Formaldehitin Sıçan Karaciğerinde Oluşturduğu Hasar ve Buna Omega-3 Yağ Asitlerinin Etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, 3, 103-107
- 34) Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66 (4), 401-436.
- 35) Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve Sebzelerin Flavonoid İçeriği Üzerine İşlemenin Etkisi. *Akademik Gıda*, 7(6), 41-46
- 36) Robards, K., Antolovich, M. (1997). Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: review. *The Analyst*, 3, 122-130.
- 37) Peterson, J., Dwyer, J. (1998). Flavonoids, dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18 (12), 1995-2018.
- 38) Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. (2001). Introducing Natural Antioxidants. In *Antioxidants in Food, Practical Applications*, Edited by J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press LLC, Boca Raton, pp 147-158.
- 39) Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- 40) Sivam, G., (2002). Analysis of Flavonoids. In *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*, Edited by W.J. Hurst, CRC Press, LLC, Boca Raton, 34p.
- 41) Coskun, T. (2005). Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 69-84.
- 42) Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katan, M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57(1), 43-46.
- 43) Hollman, P.C.H., Buysman, M.P., van Gameren, Y., Cnossen, E., de Vries, J., Katan, M. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 31, 569-573.
- 44) Buslig, B.S., Manthey, J.A. (2002). Flavonoids in cell function. *Kluwer Academic Press, New York*.

- 45) Pastor, AM., Martín, GV., Estruch, GFB. (2006). Evaluación Citogenética Del Efecto Radioprotector Del Extracto Etanólico De Propóleos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- 46) Medina, JH., Paladini, AC., Wolfman, C., Levi de Stein, M., Calvo, D., Diaz, LE., Pena, C. (1990). Chrysin (5,7-di-OH-flavone), a naturally-occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties. *Biochemichal Pharmacology*, 40(10), 2227-31.
- 47) Wolfman, C., Viola, H., Paladini, A., Dajas, F., Medina, JH. (1994). Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacology Biochemichal Behaviour*, 47(1),1-4.
- 48) Lakhanpal, P., Rai, DK. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), 22-37.
- 49) Chrysin. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://mobilereagents.com/examplePages/47/47131.html>
- 50) Chrysin. Erişim: 28 Ağustos 2012.
<http://en.wikipedia.org/wiki/Chrysin>
- 51) Brown, E., Hurd, NS., McCall, S., Ceremuga, TE. (2007). Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin a *Passiflora incarnata* extract in the laboratory rat. *AANA. J.*, 75(5), 333–337.
- 52) Zanolli, P., Avallone, R., Baraldi, M. (2000). Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. *Fitoterapia*, 71-81, S117-S123.
- 53) Zheng, X., Meng, WD., Xu, YY., Cao, JG., Qing, FL. (2003). Synthesis and Anticancer Effect of Chrysin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 881–884.
- 54) Yin, F., Giuliano, AE., Law, RE., Van Herie, AJ. (2001). Apigenin inhibits growth and induces G2/M arrest by modulating cyclin CDK regulators and ERK MAP kinase activation in breast carcinoma cells. *Anticancer Research*, 21-1A, 413-420.
- 55) Yin, F., Giuliano, AE., Van Hearle, AJ. (1999). Growth inhibitory effects of flavonoids in human thyroid cancer cell lines. *Thyroid*, 9(4), 369-376.

- 56) Knowles, LM., Zigrossi, DA., Tauber, RA., Hightower, C., Milner, JA. (2000). Flavonoids suppress androgen-independent human prostate tumor proliferation. *Nutrition Cancer*, 38-1, 116-122.
- 57) Pushpavalli, G., Kalaiarasi, P., Veeramani, C., Pugalendi, KV. (2010). Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *Europe Journal Pharmacology*, 10;631(1-3), 36-41.
- 58) Sathiavelu, J., Senapathy, GJ., 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. Volume 61, Issue 6*, pages 809–817.
- 59) Ciftci, O., Ozdemir, İ., Aydin, M., Beytur, A. (2012). Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia*, 44(3), 181-186.
- 60) Cho, H., Yun, CW., Park, WK., Kong, JY., Kim, KS., Park, Y., Lee, S., Kim, BK. (2004). Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-2 and iNOS, by chrysin derivatives. *Pharmacology Research*, 49(1), 37-43.
- 61) Critchfield, JW., Butera, ST., Folks, TM. (1996). Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoid compounds. *AIDS Research Human Retroviruses*, 12, 39–46.
- 62) Jeong, HJ., Shin, YG., Kim, H., Pezzuto, JM. (1999). Inhibition of aromatase activity by flavonoids. *Archives of Pharmacal Research Volume 22, Number 3*, 309-312.
- 63) Kayalı, H., Şatıroğlu, G., Taşyürekli, M. (1992). *İnsan embriyolojisi*. İstanbul: Alfa Basım Yayım Dağıtım.
- 64) Petorak, İ. (1984). *Medikal embriyoloji-histoloji*. İstanbul: Osman Aykaç Matbaası.
- 65) Kayalı, H. (1992). *Özel histoloji*. İstanbul: İÜ CTF Yayını.
- 66) Arıncı, K., Elhan, A. (2006). *Anatomi Cilt 1*. Ankara: Güneş Kitabevi.
- 67) Standring, S. (2008). *Gray's Anatomy – International Edition 40th*. Elsevier Publishing.
- 68) Kuran, O. (1983). *Sistemik Anatomi*. İstanbul: Filiz Kitabevi.

- 69) Bayramiçli, M. (2005). *Deneysel Mikrocerrahi*. İstanbul: Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş.
- 70) Zararsız, I., Kus, I., Yılmaz, HR., Köse, E., Sarsılmaz, M. (2008). Deneysel Formaldehit Toksisitesi Sonucu Hipokampusta Oluşan Doku Hasarına Karşı Omega-3 Yağ Asitlerinin Antioksidan Etkileri. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 22 (2), 59-64.
- 71) Esterbauer, H., Cheeseman, KH. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Enzymology*, Volume 186, Pages 407-421.
- 72) Sun, Y., Oberley, LW., Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Che*, 34, 497-500.
- 73) Aebi, H. (1974). Catalase. In Bergmeyer Hu (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Pres, New York and London, 673-677.
- 74) Anonim (1998). Spectrophotometric Determination of total Protein-Biüret Method A New Approach Founded by the National Science Foundation. *Dorey and Draves University of Central Arkansas, Department of Chemistry Conway, AR 72035 Update :5/98*.
- 75) Ken D. O., Glen J. Van Der K. (2003). Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology*, 63(4), 447-463.
- 76) Khan Mohammad, M., Evans Denise, R., Vijayasudha G., Scheffer Russell E., Parikh Vinay, V., Mahadik Sahebarao, P. (2002). Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophrenia Research*, Vol 58(1), 1-10.
- 77) Zararsız, İ., Kuş, İ., Yılmaz, HR., Pekmez, H., Ögetürk, M., Sarsılmaz, M. (2004). Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, 9, 35-9.

- 78) Yarıktaş, M., Döner, F., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Delibaş, N. (2003). Baş boyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1, 65-7.
- 79) Farooqui, MY., Upreti, RK., Ahmed, AE., Ansari, GA. (1986). Influence of intraperitoneally administered formaldehyde on bile production and tissue glutathione levels in rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 53, 233-36.
- 80) Skrzydlewska, E. (1996). Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in rats after methanol intoxication. *Rocz Akad Med Białymst*, 41, 397-404.
- 81) Teng, S., Beard, K., Pourahmad, J., Moridani, M., Easson, E., Poon, R., (2001) The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chemico Biological Interactions*, 130-132, 285-96.
- 82) Dobrzynska, I., Skrzydlewska, E., Kasacka, I., Figaszewski, Z. (2000). Protective effect of N-acetylcysteine on rat liver cell membrane during methanol intoxication. *Pharm Pharmacologi*, 52, 547-52.
- 83) Gulec, M., Gurel, A., Armutcu, F. (2006). Vitamin E Protects Against Oxidative Damage Caused by Formaldehyde in the Liver and Plasma of Rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 290, Issue 1-2, pp 61-67.
- 84) Taysi, S., Gul, M., Sari, R.A., Akcay, F., Bakan, N. (2002). Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40, 684-688.
- 85) Beall, JR., Ulsamer, AG. (1984). Formaldehyde and hepatotoxicity. *Journal Toxicology Environmental Health*, 14, 1-21.
- 86) Ciftci O., Ozdemir I. (2011). Protective effects of quercetin and chrysin against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced oxidative stress, body wasting and altered cytokine productions in rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33 (3), 504-508.



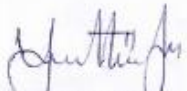



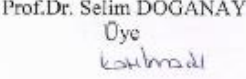
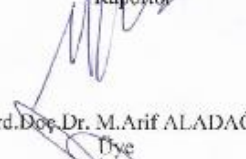

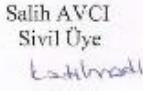

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 09-06-2011
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
 Araştırma Protokol no.su : 2011/A-58
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Türü : *Rattus norvegicus*
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60 Adet
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 6 ay/300gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Evren KÖSE'nin yürürlüktedeki olduğu "Ratlarda Subkronik Formaldehit Zehirlenmelerinin Karaciğer ve Testislerde Neden Olduğu Hasara Karşı Chrysin'in Etkileri" isimli 2011/A-58 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Denei 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	 Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	 Yrd. Doç. Dr. Mustafa KARAKAPLAN Raporör
 Prof. Dr. Ahmet KIZILAY Üye	 Prof. Dr. Selim DOĞANAY Üye katılmadı	 Yrd. Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ Üye
 Vet. Hek. M. Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye katılmadı	 Yasin FROĞLU Sivil Üye

ÖZGEÇMİŞ

23.08.1983 Kayseri’de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimini Kayseri’de tamamladım. 2008 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun oldum. 2009-2010 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladım. 2010 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı yüksek lisans programına yatay geçiş yaptım. Aynı yıl İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu görevi devam ettirmekteyim.

SCI kapsamındaki dergilerde yayınlanmış 1 adet yurt dışı, 2 adet yurt içi yayımlar bulunmaktadır. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan 2 adet bildirim bulunmaktadır.