

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**FORMALDEHİT ve AROMA SOLUYAN SIÇANLARDA  
HER İKİ UYGULAMANIN GnRH SEVİYELERİ ve  
TESTİSLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Evren KÖSE**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mustafa SARSILMAZ**

**ELAZIĞ / 2008**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Ömer L. ERHAN

.....

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mustafa SARSILMAZ

.....

F.Ü. Tıp Fakültesi

Anatomi Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Mustafa SARSILMAZ

.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. A. Oya SAĞIROĞLU

.....

Doç. Dr. Murat ÖGETÜRK

.....

Doç. Dr. İlter KUŞ

.....

Doç. Dr. Ahmet KAVAKLI

.....

Yard. Doç. Dr. Dürrin Özlem DABAK

.....

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında beni yönlendiren ve yetişmemde büyük emeği olan Danışman Hocam Prof. Dr. Mustafa SARSILMAZ'a tez çalışmama olan yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatın her döneminde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen eşim Tuba ve oğlum İsmail Enes'e; tez çalışmamda yardım ve katkılarından dolayı hocalarım Doç. Dr. A. Oya SAĞIROĞLU, Doç. Dr. Murat ÖGETÜRK, Doç. Dr. İlter KUŞ ve Doç. Dr. Ahmet KAVAKLI'ya, mesai arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Sedat MEYDAN, Araş. Gör. Dr. Ufuk TAŞ, Araş. Gör. Dr. Hilal IRMAK SAPMAZ, Araş. Gör. Dr. Serin AKBAYIR, Araş. Gör. Dr. Feyzi ÖZÇINAR ve Araş. Gör. Dr. Eda ÇELEBİ'ye teşekkür ederim.

Tezimin mikroskopik değerlendirmelerinde yapmış oldukları yardımlardan dolayı Doç. Dr. Nusret AKPOLAT, Yrd. Doç. Dr. Özlem DÜRRİN DABAK ve Araş. Gör. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, spermioqram analiz sonuçlarının elde edilmesinden dolayı Doç. Dr. Mustafa SÖNMEZ ve Dr. Gaffari TÜRK'e teşekkür ederim. Ayrıca sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>1. ÖZET</b>	1
<b>2. ABSTRACT</b>	2
<b>3. GİRİŞ</b>	4
3.1. Formaldehit	4
3.1.1. Formaldehitin Özellikleri	4
3.1.2. Kullanım Alanları	4
3.1.3. Formaldehitin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	5
3.1.3.1. Toksik Etkiler	5
3.1.3.2. Karsinojenik Etkiler	7
3.1.3.3. Genotoksik Etkiler	7
3.1.3.4. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri	8
3.2. Aromaterapi	9
3.2.1. Genel Bilgiler	9
3.2.2. Uçucu Yağlar (Esans Yağları)	9
3.2.2.1. Genel Özellikleri	9
3.2.2.2. Uçucu Yağların Elde Edilmesi	10
3.2.2.2.1. Buhar Distilasyon Yöntemi	10
3.2.2.2.2. Soğuk Pres Yöntemi	10
3.2.2.2.3 CO <sub>2</sub> Yüksek Basınç Yöntemi	11
3.2.2.2.4 Eriyikten Öz Çıkartma Yöntemi	11
3.2.3. Gül yağı (Oleum rosae)	11
3.2.3.1. Gül Yağının Etki Alanları	12
3.3. Koku Yolları Anatomisi	13

3.3.1 Primer Koku Merkezi	15
3.4 Gonadotropin-Releasing Hormon (GnRH)	16
3.5. Testisler	19
3.5.1. Embriyolojisi	19
3.5.2. Anatomik Yapı	21
3.5.3. Histolojik Yapı	23
<b>4. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>27</b>
4.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	27
4.2. Sıçanların Bakımı	28
4.3. Uygulama Şekli ve Dozu	28
4.3.1. Formaldehit Uygulamaları	28
4.3.2. Aroma Uygulamaları	28
4.4. İmmünohistokimyasal Çalışma	29
4.5. Histolojik Çalışma	31
4.6. Epididymis Sperm Analizleri	32
4.6.1. Sperm Yoğunluğunun Tespiti	32
4.6.2. Sperm Motilite Tayini	33
4.6.3. Anormal Spermatozoon Oranı	33
4.7. Biyokimyasal Çalışma	34
4.8. İstatistiksel Analiz	34
<b>5. BULGULAR</b>	<b>35</b>
5.1. Klinik Bulgular	35
5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	35
5.3. Histolojik Bulgular	39
5.4. Spermioqram Sonuçları	44

5.5. Biyokimyasal Bulgular	45
<b>6. TARTIŞMA</b>	46
<b>7. KAYNAKLAR</b>	54
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	67

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo I:</b> Çalışmada kullanılan FA, gül yağının dozu, uygulama süresi ve deney gruplarının gösterilmesi.	27
<b>Tablo II:</b> Çalışmada kullanılan gül yağının ana bileşenleri ve relatif yüzdeleri.	29
<b>Tablo III:</b> İmmünohistokimyasal boyama prosedürleri.	30
<b>Tablo IV:</b> İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi.	31
<b>Tablo V:</b> Histolojik takip serileri.	32
<b>Tablo VI:</b> Kontrol ve deney gruplarından alınan hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak GnRH boyanma şiddeti.	35
<b>Tablo VII.</b> Gruplara ait sperm yoğunluğu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranları.	44

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
<b>Şekil 1.</b> Regio olfactoria.	13
<b>Şekil 2.</b> Tractus olfactorius ve primer koku merkezi.	14
<b>Şekil 3.</b> GnRH'nin kimyasal yapısı.	16
<b>Şekil 4.</b> Hipotalamo-hipofizer-gonadal aks.	18
<b>Şekil 5.</b> Testisin yapısı.	21
<b>Şekil 6A, B.</b> Grup I'e ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+2) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte.	36
<b>Şekil 7A, B.</b> Grup II'ye ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+3) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte.	37
<b>Şekil 8A, B.</b> Grup III'e ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+3) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte.	38
<b>Şekil 9.</b> Grup I'e ait sıçan testisinin genel görünümü.	40
<b>Şekil 10.</b> Tüm gruplara ait Leydig hücre sayıları.	40
<b>Şekil 11A, B.</b> Grup II'ye ait sıçanların Leydig hücre çekirdeklerinde meydana gelen hasarlar.	41
<b>Şekil 12.</b> Grup III'te görülen Leydig hücre çekirdeklerindeki piknoz.	42
<b>Şekil 13.</b> Gruplara ait çekirdek hasarlı Leydig hücre sayıları.	43
<b>Şekil 14.</b> Gruplara ait tubuli seminiferi contorti çapları.	43
<b>Şekil 15.</b> Gruplara ait total testosteron değerleri.	45



## 1. ÖZET

Erkek sıçanlar üzerinde yapmış olduğumuz bu çalışmada, solunum yoluyla uygulanan formaldehit'in üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri araştırıldı. Ayrıca formaldehit maruziyetine karşı gül yağının muhtemel koruyucu etkileri de değerlendirildi.

Bu amaçla, 21 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan üç gruba ayrıldı. Grup I, kontrol olarak kullanılırken, Grup II'deki hayvanlar, 35 gün boyunca günde 1 saat 10 ppm dozunda formaldehite maruz bırakıldı. Grup III'teki hayvanlara ise, aynı dozda uygulanan formaldehit'in yanı sıra yine günlük olarak 1 ml gül yağı solunum yolu ile uygulandı. Deney sonunda hayvanlar dekapite edildi. İmmünohistokimyasal ve histolojik değerlendirmeler için hypothalamus ve testisler, spermiogram analizi için de epididymis dokuları alındı. Hayvanlardan alınan kan örneklerinde ise testosteron düzeyleri belirlendi.

Formaldehit'e maruz kalan sıçanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hypothalamus doku kesitlerinde daha şiddetli GnRH boyanmasının olduğu; testis ve epididymis incelemelerinde histopatolojik hasarların meydana geldiği; ayrıca testosteron seviyelerinde de bir düşüşün olduğu tespit edildi. Formaldehit maruziyetiyle birlikte gül yağı uygulanan grupta ise, hypothalamus kesitlerinde yine şiddetli bir GnRH boyanmasının görüldüğü; testis ve epididymis doku örneklerindeki histopatolojik değişikliklerin de düzeldiği ortaya kondu. Yine bu grupta testosteron seviyelerinin yükseldiği ve kontrol değerlerine yaklaştığı tespit edildi.

Sonuçta, formaldehit maruziyetine bağlı olarak üreme sisteminde ciddi hasarların meydana geldiği ve bu hasarlara karşı gül yağının koruyucu etkiler gösterdiği ifade edilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Formaldehit, gül yağı, GnRH, testis, sıçan.

## 2. ABSTRACT

**The investigation of the effects of both application on GnRH levels and testes, in the rats which formaldehyde and aroma inhaled.**

In this study which performed on male rats, harmful effects of formaldehyde applied inhalation on reproductive system were investigated. Apart from this, possible protective effects of rose oil were evaluated against formaldehyde exposure.

For this purpose, 21 adult male Wistar rats were divided into three groups. The Group I was used as the control group. The animals in Group II were exposed to 10 ppm formaldehyde for 35 days (1 hour a day). The animals in Group III were not only applied to the same formaldehyde dosage, but also applied 1ml rose oil per day via inhalation. At the end of the experiment, the rats were decapitated. When the hypothalamus and testes were used for immunohistochemical and histological evaluations, the epididymis tissues were taken for sperm analyzing. Testosterone levels were determined from the blood samples taken from animals.

When the rats were exposed to formaldehyde compared with the control group, it was determined that the hypothalamus tissue slices had much more severe GnRH staining. In the examination of testes and epididymis, the histopathological damages were found. In addition, it was proved that there was a decrease in the testosterone levels. In the group in which the rose oil was applied with formaldehyde exposure it was seen that the hypothalamus slices had a severe GnRH staining. In the tissues of testes and epididymis samples, it was found that the histopathological changes were improved. We also determined that the testosterone levels increased and they approached to the control levels in this group.

As a result, it can be expressed that serious damages occurred via formaldehyde exposure in reproductive system and that the rose oil had protective effects against these damages.

**Keywords:** Formaldehyde, rose oil, GnRH, testes, rat.

### 3. GİRİŞ

#### 3.1. Formaldehit

##### 3.1.1. Formaldehitin Özellikleri

Formaldehit (FA) renksiz, keskin kokulu ve suda çok iyi çözünebilen bir gazdır. Tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. %37'lik suda çözülmüş şekline formalin adı verilir. Polimerize olmuş katı şekline ise paraformaldehit denir. Aldehit ailesinin bir üyesi olan FA'nın kimyasal formülü  $CH_2O$  şeklindedir. Sıvı formaldehitin miktarı mililitre (ml) cinsinden belirtilirken, gaz hali ise part per million (ppm) olarak ifade edilir. Bulunduğu her ortamdan gaz haline geçebilmektedir (1-4).

FA'nın vücuda alınımı hem solunum hem de sindirim yolu ile olmaktadır. Sigara dumanı, ekzos gazı ve ortamdan buharlaşan formalin; solunum yoluyla vücuda giriş şeklini oluştururken, bazı gıdalarda kullanılan katkı maddeleri, kahve, içme suyu, meyve ve sebzeler de sindirim yoluyla vücuda girişini sağlar (4-7).

FA vücuda alındıktan sonra karaciğer ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörlüğünde formik aside dönüşür. Glutatyon bu reaksiyon esnasında kofaktör olarak görev alır. FA'nın vücuttan atılımı, formik aside dönüşerek idrar ve feçes yoluyla veya karbondioksite okside olarak solunum yoluyla gerçekleşir (7-10).

##### 3.1.2. Kullanım Alanları

Formaldehit insan yaşamında çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Tıp alanında, anatomiye kadavra tespiti ve uzun süre saklanması; histoloji ve patoloji laboratuvarlarında incelenecek dokuların hazırlanması; hemodiyaliz solüsyonlarında ve bazı ilaçlarda koruyucu madde olarak yararlanılmaktadır (5-7).

Endüstriyel alanda; boya, plastik, beton, alçı, kablo, kauçuk, kontrplak, laminat parke ve tekstil sanayinde kullanılmaktadır (3, 6, 7, 10, 11).

Günlük hayatta ise, diş macunu, kozmetik ürünler, ev temizlik malzemeleri, dezenfektan maddeler, kağıt ürünleri ve çeşitli yapıştırıcıların yapısında da bulunmaktadır (3, 7, 10, 11).

### **3.1.3 Formaldehitin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri**

Deri, solunum ve sindirim yoluyla organizmaya alınan formaldehit, insan vücudunda çeşitli olumsuzluklara neden olmaktadır (7).

#### **3.1.3.1 Toksik Etkiler**

FA'nın organizma üzerindeki toksik etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. İnsanlarda kısa dönem FA maruziyetinin ilk olarak etkilediği organlar, göz ve solunum yollarıdır. Gözdeki etkilenme, ağrı, kızarıklık, yanma hissi, bulanık görme şeklinde olabilir. Bu şikayetler 0,24 ppm kadar düşük konsantrasyonlarda bile ortaya çıkabilir (7, 12–14).

Solunum yollarındaki etkilenme, kızarıklık, şişlik, kaşıntı veya ağrı olarak kendini göstermektedir. Akut FA etkilenmelerinde sıklık sırasına göre burun, boğaz ve alt solunum yolları ile ilgili semptomlar ortaya çıkmaktadır. 0,5 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda bile solunum sistemi mukoz membranlarında toksik etkilere neden olmaktadır. Kısa süreli maruziyette burun, boğazda lokal irritasyon bulguları görülürken, doz arttıkça genel keyifsizlik, lakrimasyon, hapsirme-öksürme, dispne ve en son ölüm görülebilir. (7, 15). Akut olarak düşük doz FA maruziyeti sonrası üst solunum yollarında inflamatuvar hücre değişiklikleri gözlenmektedir. FA, 10–20 ppm seviyelerinde öksürük, nefes darlığı gibi şikayetlere neden olmaktadır (16–18). İnsanlarda alt solunum yolu hasarı yüksek doz (5–30 ppm) ve uzun dönem etkilenmelere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (19).

FA maruziyeti ve astım hastalığı arasında da bir ilişki bulunmaktadır. Astımlı hastalarda daha düşük dozdaki FA, solunum yolu problemlerine neden olmaktadır. Formaldehit seviyesinin 70–140 µg/m<sup>3</sup> olduğu evlerdeki çocuklarda astım ve kronik bronşit prevalansı anlamlı bir şekilde yüksektir. FA, mesleki astım hastalığının nedenlerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Formalin'in %2 ve üzerindeki solüsyonları, alerjik kontak dermatit gelişimine neden olmaktadır. Deri yama testinde, %0,05'lik FA solüsyonu alerjik reaksiyon gelişimine neden olabilmektedir (20, 21).

Sinir sistemi formaldehitten etkilenen en önemli sistemlerden biridir. Histoloji, patoloji ve kadavra tahniti teknisyenleri, diseksiyon yapan doktor ve öğrenciler ile diyaliz ünitesinde çalışan hemşireler mesleki olarak formaldehitten etkilenmektedirler. Bu etkilenme sonucu halsizlik, baş ağrısı, denge ve uyku bozukluğu ile ruhsal durum ve hafıza bozukluklarının görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca formaldehitin kullanıldığı endüstriyel alanlarda çalışan kişilerde, aşırı yorgunluk ve susuzluk hissi, iritabilite, letarji, davranış ve duygu-durum bozukluğu gibi belirtilerin olması nörotoksisiteyi düşündürmektedir (22–24).

DeneySEL olarak yapılan birçok çalışmada, sistemik olarak uygulanan FA'nın beyin hücrelerinin gelişimini engellediği, hücre sayısı ve hacimlerini olumsuz etkilediği, apoptozisi artırarak nöronal hasara neden olduğu gösterilmiştir (25–27). Sistemik olarak FA uygulanan ratlarda, davranış bozuklukları, ruhsal dengesizlik ve öğrenme ile ilgili testlerde bozukluklar görülmüştür. Sıçanlarda FA'dan akut etkilenme sonucu motor aktivitede yavaşlama tespit edilmiştir. Bu yavaşlama, hypothalamusta, dopamin ve serotonin seviyesinin birlikte düşmesine bağlanmıştır (28–31).

Formaldehit, gıdaların sterilizasyonunda ve ambalaj bileşiminde kullanıldığı için oral yolla alımı mümkün olabilmektedir. Bu şekilde maruziyet sonucu gastrointestinal irritasyon meydana gelir ve histopatolojik olarak gastrite yol açar. FA hızlı bir şekilde formik aside metabolize olduğundan üst gastrointestinal sistemde ciddi lokal korozif etki oluşturur. Bunu takiben bulantı, ishal, karın ağrısı, ülserasyon, nekroz, perforasyon ve kanama gelişir. Daha sonra dolaşım kollapsı, metabolik asidoz, hematüri, anüri, böbrek hasarı ve birkaç gün sonra ölüm meydana gelir (17, 32).

### **3.1.3.2 Karsinojenik Etkiler**

Yapılan kohort çalışmalarda, FA'ya maruz kalan sanayi işçilerinde kanser görülme sıklığında artış olduğu tespit edilmiştir. Formaldehitin neden olduğu kanserler arasında en sık nasopharynx ve cavitas nasalis kanserleri yer almaktadır. Akciğer kanserinden ölüm oranı, FA'ya maruz kalanlarda %30 daha fazladır. Amerikalı Anatomistler Birliği'ne üye 2239 erkek anatomistin ölüm sebepleri arasında en sık beyin kanseri ve lösemi yer almaktadır (15, 33–35).

Yapılan deneysel çalışmalarda, formaldehit'in solunum ve oral yoldan uygulanmasının kansere neden olduğu tespit edilmiştir. Solunum yolu ile maruziyet sonucu cavitas nasalis kanseri olduğu gösterilmiştir. Doz arttıkça, kanser görülme insidansında artış tespit edilmiştir. İçme suyuna karıştırılarak verilen FA'nın, gastrointestinal sistem tümörü ve lösemiye neden olduğu bildirilmiştir (6, 15, 36).

Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) FA'yı 'karsinojen' olarak sınıflandırmıştır (6, 7).

### **3.1.3.3 Genotoksik Etkiler**

Formaldehit genotoksik etkiye sahiptir. Bu özelliğini DNA-protein çapraz bağı oluşturarak göstermektedir. Bunun sonucunda, DNA'ya zarar verir veya DNA

tamirini engeller. Çeşitli mutasyonlar, kardeş kromatid değişimi ve kromozom kırıklarına neden olur. (37, 38). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda formaldehit'in bakteri ve memeli hücrelerinde mutasyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Sıçanlara intraperitoneal olarak uygulanan FA, sperm baş anomalileri ve dominant letal mutasyona neden olmaktadır (38–40).

#### **3.1.3.4 Üreme Sistemi Üzerine Etkileri**

FA her iki cinste germ hücrelerine zarar vererek primer ve sekonder infertiliteye neden olmaktadır. Aynı zamanda, menstruel fonksiyonları bozmakta ve teratojenik potansiyelinden dolayı embriyonal gelişimi tehdit etmektedir. Çalıştığı ortam gereği formaldehite maruz kalan gebelerde, spontan abortus meydana geldiği ve düşük doğum ağırlıklı bebek doğurdukları bildirilmiştir (8, 41–44).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda FA'nın sperm sayısında ve hareketliliğinde azalmaya, sperm anomalilerinde ise artmaya neden olduğu gösterilmiştir (45-49). Yapılan bazı çalışmalarda FA'nın testis morfolojisi üzerine olan olumsuz etkileri gösterilmiştir. Bunlar, testis ağırlık artış oranında azalma, Leydig hücre sayısında azalma ve çekirdek hasarında artma, tubuli seminiferi contorti'lerde atrofi, dejenerasyon ve tubül çapında azalma gibi etkilerdir. Bunların yanı sıra FA'ya maruz kalmış sıçanlarda testosteron seviyelerinde de azalma olduğu tespit edilmiştir (47–50).



## **3.2. Aromaterapi**

### **3.2.1 Genel Bilgiler**

Aromaterapi, aromatik bitkilerden elde edilen saf esansiyel yağların tedavi amacıyla kullanılmasına denir. Esansiyel yağlar, uçucu özellikte olup, kapalı şişelerde sıvı veya yarı katı halde bulunurlar. Açıkta bırakıldıklarında oda ısısında kolayca buharlaşırlar. Bu özelliğinden dolayı ‘uçucu yağ’ veya ‘eterik yağ’ isimleri verilir. Güzel kokulu olmalarından dolayı da ‘esans’ ismiyle anılırlar (51, 52)

Aromaterapi terimi ilk defa Fransız biyokimyacı Reneé-Maurice Gattefossé tarafından 1937 yılında kullanılmıştır. Fakat aromaterapinin esası olan saf esansiyel yağların kullanımı M.Ö. 5000–6000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Aromatik bitkiler ve onlardan elde edilen uçucu yağların ilk olarak Mısırlılar tarafından tıbbi tedavi ve parfümeride kullanıldığı bilinmektedir. Hint ve Çin uygarlıkları da esansiyel yağ ve bitkisel ilaçları tedavi yöntemi olarak kullanmışlardır. Daha sonra Yunan ve Romalılar bu tedavi yöntemlerini uygulamışlardır. Bilimsel anlamda ilk çalışmalar Müslüman bilim adamları tarafından yapılmıştır. Günümüzde kullanılan buharla distilasyon yöntemi, ilk defa İbn-i Sina tarafından uygulanmıştır (53-56).

### **3.2.2 Uçucu Yağlar (Esans Yağları)**

Uçucu yağlar, bitkilerin yaprak, çiçek, meyve, kök ve tohumları ile bazı ağaç kabukları ve çeşitli otlardan elde edilmektedir (53–56). Çiçekten elde edilenler gül ve lavanta yağları; yapraktan nane yağı; kabuktan tarçın yağı; meyveden anason yağı ve ottan kekik yağı örnek olarak verilebilir (51, 57).

#### **3.2.2.1 Genel Özellikleri**

Uçucu yağlar genelde renksiz veya açık sarı renklidir. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunurlar. Lipofilik çözücülerde çok iyi çözünmelerine rağmen, suda çok az çözünürler (1/200 oranında). Aromatik özellikleri güçlü olduğundan bu oranda bile

kokularını dış ortama verirler. Doğrudan ışık veya hava ile temasları reçine haline gelmelerine ve kalitelerinin azalmasına neden olur. Bu nedenle kapalı ve renkli şişelerde saklanmaları gerekmektedir. Uçucu yağların kimyasal analizinde, alkol, aldehit, keton, fenol, terpen, sesquiterpen, eter ve ester bulunduğu tespit edilmiştir. Bu uçucu yağ bileşenleri, bitkinin hayatının devamı, döllemenin olması ve zararlı haşerata karşı savunma görevi yaparlar (51, 52, 58).

### **3.2.2.2 Uçucu Yağların Elde Edilmesi**

Uçucu yağlar dört yöntemle elde edilir. Bunlar; buhar distilasyon, soğuk pres, CO<sub>2</sub> yüksek basınç ve solvent ekstraksiyon (eriyikten öz çıkartma) yöntemleridir.

#### **3.2.2.2.1 Buhar Distilasyon Yöntemi**

Uçucu yağ elde edilmesinde en sık kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde, içinde su ve elek bulunan bir çelik kazan kullanılmaktadır. Bitkiler elek üzerine konur. Yüksek ısı ve basınçtaki su buharı elekler arasından geçerek mekanik etkiyle bitkiden uçucu yağların açığa çıkmasına neden olur. İşlem sırasında su buharı ve uçucu yağ birlikte yükselerek, soğuk su içerisinde yerleştirilen borulardan geçirilir. Bu esnadaki yoğunlaşma nedeniyle sıvı forma dönüşür. Su ve uçucu yağ karışımı özellikli bir vazoda (florentin vazo) toplanır. Daha hafif olan uçucu yağ üstte kalır. Vazonun üstünde bulunan bir musluk yardımıyla uçucu yağ alınır (51, 52, 59).

#### **3.2.2.2.2 Soğuk Pres Yöntemi**

Uçucu yağ eldesinde kullanılan en sık ikinci yöntem olup, meyve kabuğunun mekanik olarak basınca maruz kalması sonucu uçucu yağ elde edilme metodudur. Genelde limon, portakal, mandalina gibi turunçgillerin kabuklarından yağ çıkarmada kullanılmaktadır (51, 52, 59).

### **3.2.2.2.3 CO<sub>2</sub> Yüksek Basınç Yöntemi**

Yüksek basınçta (22 atmosfer=660 fit okyanus derinliği) sıvı hale gelen CO<sub>2</sub> kullanılır. Elde edilen sıvı CO<sub>2</sub> ile bitki karıştırılır. Sıvı CO<sub>2</sub> bitkide bulunan uçucu yağların açığa çıkmasına neden olur. İşlem bittikten sonra CO<sub>2</sub> gaz haline gelene kadar, karışım düşük basınçta tutulur. CO<sub>2</sub> tamamen gaz haline geçtikten sonra geriye sadece saf uçucu yağ kalır. Bu yöntem, uçucu yağı hafif olan ve aromatik bileşenlerini kolayca kaybedebilen çiçeklere ait yağların üretiminde faydalıdır (Sümbül, yasemin gibi ) (51, 52, 59).

### **3.2.2.2.4 Eriyikten Öz Çıkartma Yöntemi**

Alkol, aseton, benzen gibi bir organik çözücü ile bitki karıştırılır. Bu eriticiler bitkide bulunan uçucu yağı ve diğer sabit yağları çözer. Ardından organik çözücü alçak basınçta buharlaştırılır. Geriye kalan sabit yağ-uçucu yağ karışımı alkolle (etanol) muamele edilir. Bu karışım, -15 °C’de bir gece bekletildikten sonra katılaştıran sabit yağ süzülür. Etanol özel vakumda uçurulduktan sonra saf uçucu yağ elde edilir. Hafif kokulu çiçekler için uygun olan bu yöntem, genelde parfüm üreticilerinin kullandığı yöntemdir. Çünkü bu şekilde çıkarılan uçucu yağ kokularının orijinal çiçek kokusuna en yakın olduğu kabul edilmektedir (51, 52, 59).

### **3.2.3 Gül yağı (Oleum rosae)**

Gülgiller (Rosaceae) familyasının Rosa cinsinden olan gül, uzun ömürlü, tırmanıcı bir bitkidir. Dünyada yaklaşık 1350 türü vardır. Türkiye’de gülün 24 türü bulunmasına rağmen, gül yağı eldesinde Rosa damascena Miller türü kullanılmaktadır. Bu tür; Isparta gülü, Şam gülü, Yağ gülü, Pembe yağ gülü ve Sakız gülü adları ile de bilinmektedir. Pembe renkli ve keskin kokuludur (59, 60).

Isparta gülü, uçucu yağ oranı diğer güllere nazaran daha yüksek olduğu için gül yağı eldesinde en sık kullanılmaktadır. Toplanan çiçeklerden su buharı distilasyonu

ile elde edilir. Yaklaşık 1 kg gül yağı çıkartabilmek için 4000 kg gül çiçeği kullanılmaktadır (51, 59).

Berrak görümlü, açık sarı renkli ve karakteristik kokulu olan gül yağında başlıca, asiklik terpenik maddeler bulunmakta ve yağın % 40-50'sini sitronellool, % 20'sini geraniol oluşturmaktadır. Gülün karakteristik kokusunu geraniol vermektedir. Ayrıca, geraniolün cis izomeri olan nerol, diğer terpenik maddeler, hidrokarbonlar ve %1- 4 kadar da aromatik bir madde olan feniletıl alkol bulunur (51, 59).

### **3.2.3.1 Gül Yağının Etki Alanları**

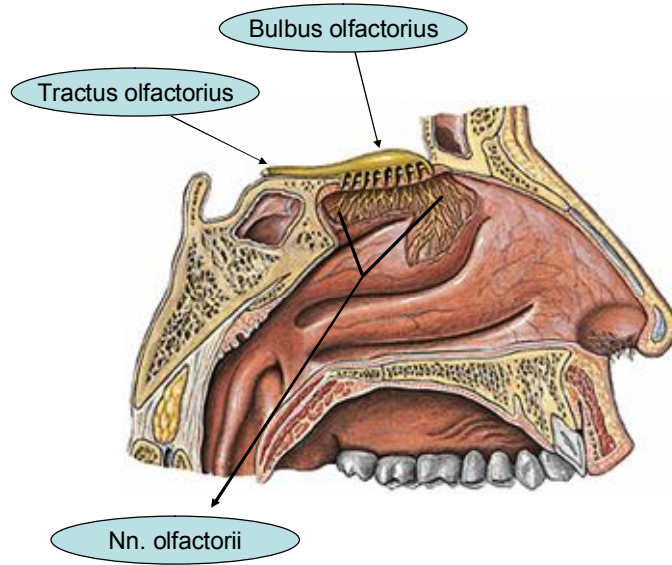
Gül esans yağı halk arasında güzel koku özelliğinden dolayı kullanıldığı gibi sakinleştirici etkisi ve cilt bakımı için de kullanılmaktadır (61, 62). Geleneksel tıpta, kozmetik kullanımının yanı sıra karın ve göğüs ağrısının tedavisinde etkili olduğu kabul edilmektedir. Kalbi kuvvetlendirdiği, menstrüel kanamaları ve sindirim sistemi rahatsızlıklarını tedavi ettiği bilinmektedir (63).

Osmanlı hekimlerinden İbn-i Sina ve İbn-i Baytar'a ait kitaplarda, gül yağının boğaz ağrısı, baş ağrısı, göz kızarıklıkları ve ağrılarına iyi geldiği, anlama kabiliyetini artırdığı, hafızayı kuvvetlendirdiği, vücudu rahatlattığı, heyecana bağlı kalp çarpıntılarını azalttığı bildirilmektedir. Gülsuyu şerbetinin ise karın ağrısı, mide bulantısı ve hazımsızlığa iyi geldiği ifade edilmektedir (60).

Günümüzde yapılan deneysel çalışmalarda, gül yağının antibakteriyel (61), anti-HIV (64), anksiyolitik (65–67), anti inflamatuvar, analjezik, hipnotik, anti-spazmodik, antitussif (63) ve antioksidan (68) etkileri gösterilmiştir.

### 3.3. Koku Yolları Anatomisi

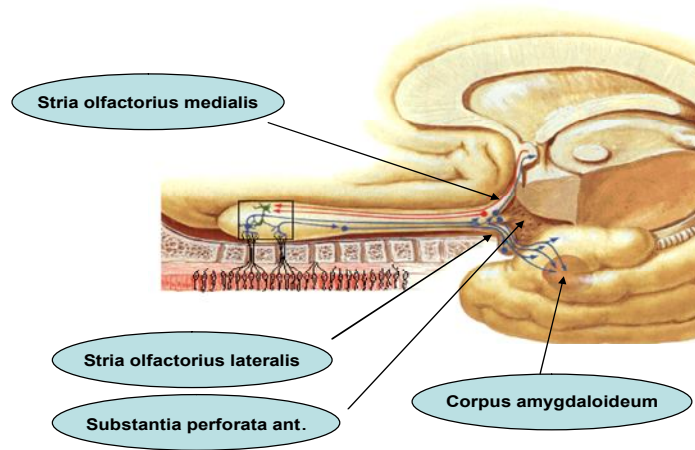
Koku reseptör hücreleri, concha nasalis superior'un üst kısmı ve bunun üstünde kalan dış duvar, cavitas nasi tavanı ve septum nasi'nin üst kısmını örten mukozada bulunur. Bu bölgeye regio olfactoria denilmektedir. Regio olfactoria'da koku, destek ve bazal hücreler olmak üzere üç çeşit hücre vardır. Koku hücreleri, destek hücrelerinin arasına yayılmış bipolar hücreler olup, yaklaşık sayısı 40 milyon civarındadır. Bu hücrelerin periferik uçlarında 6–8 adet silia bulunmaktadır. Bunlar burun boşluğuna giren kokuyu algılayarak bipolar hücre gövdesini uyarırlar. Santral uzantılarından birkaç tanesi bir araya gelerek fila olfactoria'yı yaparlar. Yaklaşık 20 kadar olan fila olfactoria'lar, koku yollarının I. nöronunu oluşturur (69–71) (Şekil 1).



Şekil 1. Regio olfactoria (Sobotta'dan modifiye edilmiştir).

Fila olfactoria'lar, os ethmoidale'deki foramina cribrosa'lardan geçerek fossa cranii anterior'da bulunan bulbus olfactorius'a ait mitral hücrelerde sonlanır. Bu hücreler de koku yollarının II. nöronunu oluşturur. Bulbus olfactorius'da, mitral hücrelerin yanı sıra daha küçük yapıda granüler ve silialı hücrelerde bulunmaktadır. Mitral hücrelerin santral uzantıları, tractus olfactorius adını alarak, lobus frontalis'in sulcus olfactorius'u içinde uzanır. Tractus olfactorius, substantia perforata anterior'un ön tarafında lobus frontalis'in alt yüzüyle birleşir. Birleşme yerinde oluşan üçgen sahaya trigonum olfactorium denilir. Trigonum olfactorium'un köşelerinden stria olfactoria lateralis ve stria olfactoria medialis çıkar (70, 71).

Tractus olfactorius'a ait liflerin çoğunluğunun bulunduğu stria olfactoria lateralis, substantia perforata anterior'un ön-dış kısmından geçerek area olfactoria lateralis'deki nöronlarla sinaps yapar (Şekil 2) (69, 72).



**Şekil 2.** Tr. olfactorius ve primer koku merkezi (Netter'den modifiye edilmiştir).

Stria olfactoria medialis'in lifleri ise substantia perforata anterior'u önden sınırlayarak içe-öne doğru kıvrılır ve commissura anterior'dan geçip karşı taraf tractus olfactorius içinde seyrederek bulbus olfactorius'da sonlanır (69, 72, 73).

### **3.3.1 Primer Koku Merkezi**

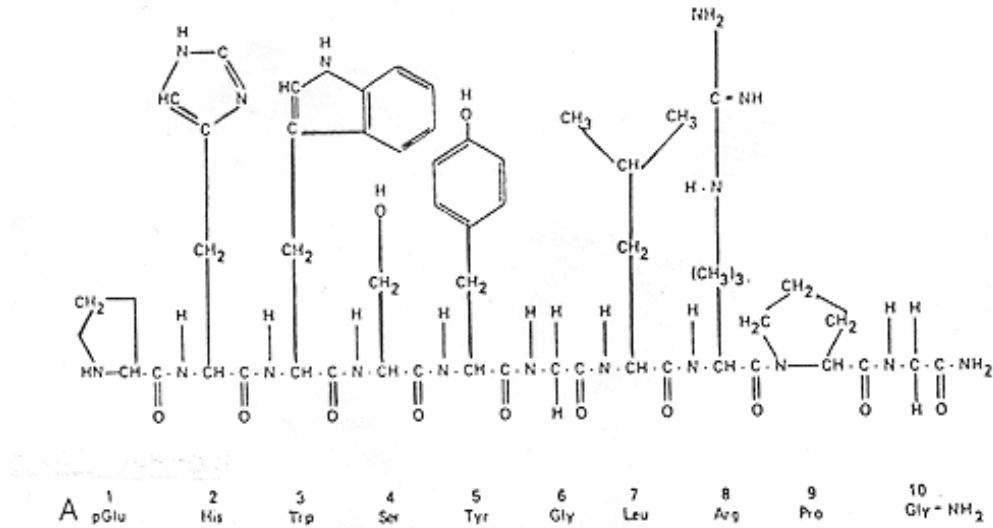
Area olfactoria lateralis'de bulunan corpus amygdaloideum'un bir bölümü, gyrus olfactorius lateralis ve area prepiriformis primer koku merkezini oluştururlar. Area entorhinalis ise, sekonder koku merkezi olarak kabul edilmektedir. Gyrus hippocampi'nin ön ucu olan bu bölge, liflerini genelde primer koku merkezinden almaktadır. Koku duyusu, diğer duyuların aksine thalamus'a uğramadan kortekse ulaşır. Ancak dolaylı da olsa mutlaka thalamus'a uğrar (70, 72).

Koku merkezlerinden medial önbeyin demeti aracılığı ile hypothalamus'daki çekirdeklere lifler gelmektedir. Bu demet insanlarda, hayvanlara göre, daha az gelişmiştir. Kokunun limbik sistem ile bağlantısını sağlayan hippokampus formasyonu, area entorhinalis'den lifler alır (69, 72, 73).

### 3.4 Gonadotropin-Releasing Hormon (GnRH)

GnRH, üreme sistemi üzerinde düzenleyici etkisi olan dekapeptid yapısında bir hormondur (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>) (Şekil 3). Aynı zamanda Lüteinize hormon-releasing hormon (LHRH) olarak da bilinir (74). Kimyasal formülü “C<sub>62</sub>H<sub>90</sub>N<sub>16</sub>O<sub>15</sub>” şeklinde olan GnRH, hypothalamus’da, az miktarda diğer beyin dokularında, gonadlarda ve plasentada üretilmektedir (75, 76).

GnRH sekrete eden nöronlar, hypothalamus’un hipotalamik ve preoptik nücleus’larında yaygın olarak bulunmaktadır. Yaklaşık olarak sayısı 800–2000 arasında olan bu hücreler, oval, yuvarlak veya fusiform şekillidirler. Yapı olarak unipolar veya bipolar hücrelerdir (76, 77).



Şekil 3. GnRH'nin kimyasal yapısı.



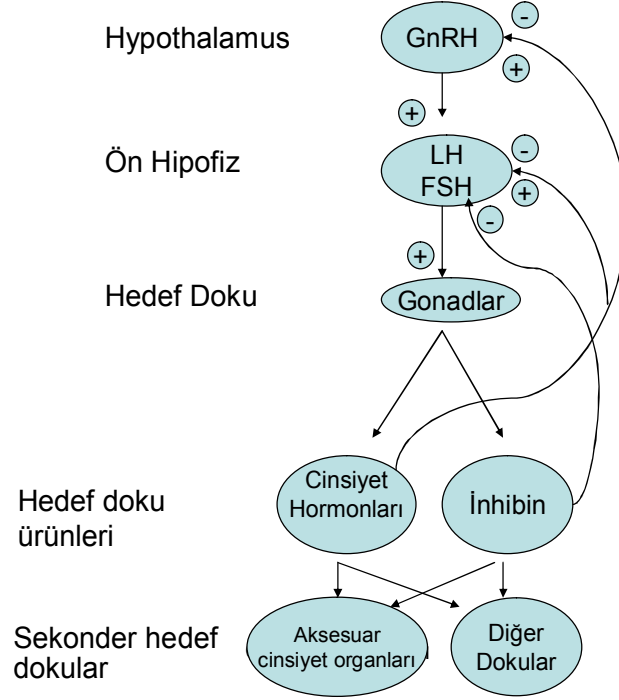
Hypothalamus'ta GnRH salgılayan nöronlar, embriyonel süreçte nazal plakdan gelişirler ve nazal plağın farklılaşmasının erken evrelerinde olfaktor koku hücrelerinden ayrılırlar. Sonunda bu nöronlar nervus olfactorius ve nervus terminalis aksonları aracılığıyla ön beyine taşınırlar (78, 79).

Olfaktör aksonların beyine doğru ilerlediğini ve GnRH hücrelerinin hypothalamus'a taşınmasında rol aldığını gösteren çalışmalarda NELF (nazal embriyonik luteinize hormon salgılatıcı hormon faktörü) adı verilen yeni bir protein bulunmuştur. NELF, yalnızca fetal hayat boyunca bulunur ve olfaktor duyu hücreleri ile GnRH nöronlarında tespit edilmiştir. Özel bir yöntemle NELF proteinin parçalanması sonucu, olfaktor aksonların gelişmesinde bozukluklar ve GnRH hücrelerinin taşınmasında aksaklıklar meydana gelmiştir (80).

Hypothalamus'da nörosekretuar hücrelerde sentezlenen GnRH, tractus tuberoinfundibularis aracılığı ile infundibulum ve eminentia mediana çevresindeki gl. hypophysialis'in portal kapiller sistemine taşınır (74–77, 81). GnRH, gl. hypophysialis üzerindeki özel reseptörlere bağlanır. Bu bağlanma ile fosfolipaz C-Ca<sup>2+</sup> yolağı aktiveleşir. Bu sayede hem kendi reseptör sayısını artırır hem de luteinize hormon (LH) ve follikül stimüle edici hormon (FSH) sentez ve salınımını uyarır (Şekil 4) (82).

GnRH'nın sekresyonu pulsatif olup, yaklaşık 60–120 dakikalık aralarla salgılanır. Bu epizodik salgılanma, gl. hypophysialis'den gonadotropinlerin (LH, FSH) salgılanmasını düzenler. Bu sayede üreme fonksiyonlarının sağlıklı ve devamlı olması sağlanır. GnRH'nın bu şekilde aralıklı salınmasının ne zaman ve nasıl başladığı ise henüz bilinmemektedir (76, 78, 81). GnRH'nın olmaması, düşük seviyede bulunması veya sürekli salınımı gonadotropin sekresyonunda bozukluklara

neden olur. Bunun sonucu olarak da üreme sisteminde ciddi arızalar meydana gelir (83).



Şekil 4. Hipotalamo-hipofizer-gonadal aks.

### 3.5. Testisler

#### 3.5.1 Embriyolojisi

Ürogenital sistem, embriyonun dorsal vücut duvarı boyunca yerleşen ara mezodermden gelişir. Plica ürogenitalis olarak isimlendirilen bu mezoderm kabartısı dorsal aortun her iki yanında uzanmaktadır. Gonadlar, bu kabartının medial tarafında bulunan plica genitalis'ten gelişmektedir (84, 85).

Genital bezlerin taslakları her iki cinsiyette de aynı yerde ve aynı hücreden meydana gelir ve bir süre farklılaşmamış halde kalırlar. Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmakla beraber, gonadların morfolojik farklılaşmaları insanlarda 7. haftadan sonra, sıçanlarda ise 13. günden sonra gözlenmektedir. Genital bez taslakları embriyonal hayatın erken evrelerinde her iki cinsiyet için aynı iken, cinsiyet belirleyici faktörlerin etkisi ile erkek veya dişi genital bez olarak gelişir. Y kromozomu üzerinde bulunan testis belirleyici faktör (TDF) cinsiyet ayrımında kilit rol oynar (86–89).

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar. Plica genitalis'i örten epitel tabakasına epithelium germinativum adı verilir. Bu epitelin altındaki mezenşimin yoğunlaşması ile mezenşim çekirdeği oluşur. Epitelin ve mezenşimin içerisinde diğer hücrelerden daha büyük ve farklı olan “primordiyal germ” hücreleri bulunmaktadır. Gebeliğin erken evrelerinde allontois endoderminde görülen bu hücreler, dorsal mesenterium yolu ile primitif gonadlara ameboid hareketlerle göç ederler (84, 89).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara göçlerinden hemen önce ya da göçleri esnasında, mezenşim içerisinde düzensiz şekilli primitif cinsiyet kordonları gelişmeye başlar Bu kordonlar her iki cinste de yüzey epiteli ile ilişkidir. Bu evredeki gonada, farklanmamış gonad denir (85, 90).

Üreme hücreleri primordiyal germ hücrelerinden meydana gelir. Bu hücreler önce hem epitel hem de mezenşim içerisinde bulunurken, daha sonra epitelyumu terk ederek sadece mezenşim çekirdeğinde yerleşirler (84).

Embriyo genetik olarak erkek ise, primordiyal germ hücreleri XY cinsiyet kromozom kompleksini taşırlar. Y kromozomu, farklılaşmamış gonadın medullası üzerine testisi belirleyici etki gösterir. Primitif cinsiyet kordonları, TDF kodlayan Y kromozomun etkisi ile uzunlamasına büyüyerek çoğalır ve hafif kıvrıntılı küçük borucuklar şeklinde mezenşim içerisinde sıralanırlar. Çoğalması devam eden primitif cinsiyet kordonları, insanlarda prenatal gelişimin 7. haftasında, sıçanlarda ise 14–15. günlerinde medullanın iç kesimlerine doğru ilerleyerek meduller kordonları oluşturur. Bu dönemde testis kordonlarının içi dolu olup, bazal membran ile çevrelenmiştir. Duvarında sertoli hücreleri ile primitif germ hücreleri bulunmaktadır. Bezin hilusuna doğru kordonlar, rete testis tubullerini oluşturacak olan ince hücre sıralarından oluşmuş olan bir ağ şekline dönüşür. Bu ince borucuklar düzdür ve primordiyal germ hücreleri bulundurmazlar. Düz borucukların proksimal uçları idrar kanalcıkları ile birleşirler (84, 85, 89–93).

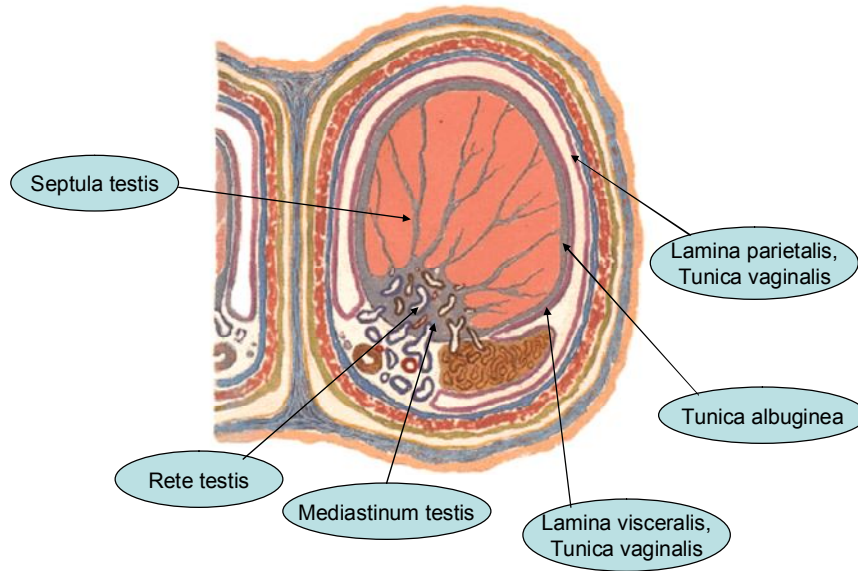
Lobulusları ayıran septula testis'ler mezenşimden köken alırlar. Bu bölmeler insanlarda embriyonal hayatın 8. haftasında, sıçanlarda ise 15. gününde bağ dokusundan meydana gelir. Rete testis taslakları arasında artan bağ dokusu mediastinum testis'i oluşur. Bu evrede, tunica albuginea, epithelium germinativum altında bulunan mezenşim tabakasından gelişerek testis kordonlarının yüzey epitelyumu ile olan ilişkisini keser (84, 85).

Mezenşimden köken alan fötal Leydig hücreleri, insanlarda prenatal dönemin 8. haftasında, sıçanlarda ise 17. gününde interstisyel dokuda görülmeye başlarlar (84, 94, 95).

Pubertaya kadar solid şekilde kalan testis kordonlarının içi, pubertada boşalarak tubuli seminiferi contorti'leri oluştururlar. Bunlar kanalize olduktan sonra, rete testis ile birleşir ve ductuli efferentes'lere katılırlar (84–86).

### 3.5.2 Anatomik Yapı

Testisler, scrotum içerisinde funiculus spermaticus'a asılı olarak bulunurlar. Oval şekilli ve yanlardan biraz basık olan testisler, septum scroti ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Testisler, dıştan içe doğru olmak üzere tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmışlardır (Şekil 5) (69, 96–98).



Şekil 5. Testisin yapısı (Netter'den modifiye edilmiştir).

### 1. Tunica vaginalis testis:

İki yapraktan oluşur. İç yaprağı olan lamina visceralis testis ve epididymis'in üzerini örterken; dış yaprağı lamina parietalis ise scrotum'un iç yüzünü örter. Lamina visceralis ve lamina parietalis embriyonal hayatta testislerin karın boşluğundan scrotum'a inerken önlerinde sürükledikleri peritoneum'dur (69, 96–99).

### 2. Tunica albuginea:

Testis'i saran sıkı yapılı, fibröz, mavimsi-beyaz renkli bir tabakadır. Bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler, farklı yönlere uzanarak birbirlerinin içine girerler. Tunica albuginea, testis arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis'i oluşturur. Burada testis'e ait damar ve sinirler ile beraber, rete testis adı verilen sperma kanalcıkları bulunur (69, 96–99).

Tunica albuginea'nın iç yüzünden çıkan, bağ dokusundan oluşmuş septula testis'ler, testis parankimasını 250–300 kadar lobüllere ayırırlar. Koni biçiminde olan bu lobüllerin tabanı testis'in dış yüzüne, tepeleride mediastinum testis'e doğru yönelmiştir. Her lobulus içinde tubuli seminiferi contorti adı verilen kıvrıntılı seyirli 3–4 adet kanalcık bulunur. Bu kanalcıkların etrafındaki bağ dokusunda, kan ve lenf damarları, sinirler ve interstisyel (Leydig) hücreler bulunur. Bu hücrelerden testosteron salınır. Duvarlarında ise spermatozoon üretilen spermatogenetik hücreler bulunur. Tubuli seminiferi contorti'ler tubuli seminiferi recti adı verilen kanalcıklar şeklinde devam ederler. Mediastinum testis'e ulaşan bu kanalcıklar seyri esnasında rete testis denilen ağı oluştururlar. Rete testis'ten ayrılan 12–14 kadar kanalcık ductuli efferentes testis'leri yapar. Bunlarda caput epididymis'i meydana getirirler (69, 98, 99).

### 3. Tunica vasculosa:

Tunica albuginea'nın iç yüzünde yerleşmiş bir damar ağı tabakası olup, tüm bölmelerin yüzlerini örter. Böylece, testis'in içindeki tüm lobuli testis'i de sarmış olur (69, 96, 98).

Testis ve epididymis, aorta abdominalis'in dalı olan a.testicularis'ten beslenir. Venleri ise önce funiculus spermaticus'u saran plexus pampiniformis'i, daha sonra da birbirleri ile birleşerek v.testicularis'i oluştururlar. Sağdaki v.cava inferior'a dökülürken sol taraftaki ise v.renalis sinistra'ya açılır. Sempatik sinir lifleri Th 10–11 medulla spinalis segmentlerinden, parasempatik lifler ise n.vagus'tan gelir (69).

### 3.5.3 Histolojik Yapı

Testisler dış tarafta bulunan sıkı bağ dokusundan oluşmuş tunica albuginea'dan uzanan septula testis'ler aracılığı ile lobüllere ayrılır. Her lobül içerisinde spermin üretildiği 1–4 adet tubuli seminiferi contorti ile Leydig hücrelerinin bulunduğu bağ doku yer almaktadır. Tubuli seminiferi contorti etrafında membrana basalis bulunmaktadır. Membrana basalis'in iç tarafında, tubuli seminiferi contorti duvarında birkaç kat sıralı modifiye çok katlı kübik epitel bulunur. Buradaki hücreler durum ve fonksiyon bakımından birbirinden ayrı olan sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücrelerdir (98, 99).

Sertoli hücreleri: Tabanları membrana basalis'e oturmuş, gövdeleri kanalcık boşluğuna kadar uzanan en büyük hacimli hücrelerdir. Spermatogonia dışındaki bütün spermatogenetik hücreleri sararak membran basalis ve birbirlerinden ayırırlar. Sayıları az olup düzenli aralıklarla yerleşen bu hücrelerin sınırları oldukça düzensizdir (98, 100).

Çekirdek kromatince fakir, büyük ve geniş olup, çekirdekçik belirgin olarak seçilir. Sertoli hücreleri organel bakımından zengindir. Mitokondri, düz endoplazmik

retikulum ve salgı granülleri çok sayıdadır. Hücrelerin fagositik özelliğini gösteren organeller arasına yerleşmiş çok sayıda lizozom bulunmaktadır. Bu hücreler birbirleriyle zonula okludens tipi bağlantı kurarlar. Bu bağlantı tubuli seminiferi contorti lümenini çepeçevre sararak kesintisiz bir hücre tabakası oluşturur. Bu tabaka kan-testis bariyeri olarak görev yapar (97, 98, 100, 101).

Spermatogonia'lardan sırasıyla spermatosit ve spermatid adı verilen hücreler oluşur. Bu hücreler sertoli hücrelerinin yan duvarları boyunca lümeneye doğru göç ederler. Spermatositler sertoli hücrelerinin yan duvarlarında, spermatidler ise apikal duvarlarındaki oyuklar içerisine yerleşirler (98, 100).

Sertoli hücreleri, spermiumların beslenme ve korunmasını sağlarlar. Spermatogenez esnasında oluşan artık spermatidler fagosite ederler. FSH kontrolü altında androjen-bağlayıcı-protein sekresyonu yapılır. Bu protein, testosteronu bağlayarak tubuli seminiferi contorti içerisinde birikmesini sağlar. Ayrıca, FSH salınım ve sentezini baskılayan inhibin isimli bir peptid salgılar. Embriyonal hayatta Müller kanalının regresyonunu sağlayan anti-Müllerian hormon üreten sertoli hücreleri, sperm transportu için kullanılan bir sıvı da salgılar (98, 100, 102, 103).

Spermatogenetik hücreler (Germ hücreleri) ve Spermatogenezis: Testis taslağındaki primordiyal germ hücrelerinden gelişen spermatogenetik hücreler, tubuli seminiferi contorti duvarında olgunlaşma evrelerine göre sıralanarak membrana basalis'den lümeneye doğru ışınal tarzda uzanan kolonlar meydana getirirler. Membrana basalis'e en yakın, spermatogenetik hücrelerin en primitif olanları spermatogonium'lardır. Bu hücreler primordiyal germ hücrelerinden meydana gelmektedir. Spermatogonium'lar nisbeten küçük, yuvarlak olup çekirdekleri soluk boyanmaktadır. Pubertaya kadar spermatogenetik hücrelerden sadece spermatogonium'lar mevcutken, pubertadan sonra hormonal etki ile bu hücreler



mitozla çoğalarak diğler tip hücreleri oluştururlar. Oluşan hücreler, çekirdeklerinin büyüklüğü, biçimi, kromatin dağılımı ve histokimyasal özelliklerine göre ikiye ayrılırlar (98–102).

Tip A hücre (Ana hücre): Oval çekirdeklidir. Mitoz ile çoğalınca yarısı Tip A olarak kalır, diğler yarısı da büyüyerek Tip B hücreye dönüşür (98, 100).

Tip B hücre: Tip A'dan büyük hücrelerdir. Mitozla çoğalan bu hücrelerden primer spermatosit'ler oluşur (85, 98, 100).

Primer spermatosit: Tubuli seminiferi contorti epitelyumunun ortasında bulunan, hacmi en büyük hücrelerdir. Oluştuktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz safhasına girerler. Bu safha uzun sürdüğünden dolayı çok sayıda görülen bu hücreler, 46 kromozom taşırlar (84, 85, 98, 100).

Sekonder spermatosit: Primer spermatositlerin mayoz bölünmesi sonucu oluşan 23 kromozomlu küçük hücrelerdir. Bunlar kısa sürede ikinci mayoz bölünmeye girdiklerinden kesitlerde görülmeleri güçtür (84, 85, 98, 100).

Spermatid: Sekonder spermatositlerin bölünmesi ile oluşan spermatidler 23 kromozom taşırlar ve şekil değışikliği ile spermium'a dönüşürler (84, 85, 98, 100).

İnterstisyel Doku: Tubuli seminiferi contorti'ler arasında bulunan gevşek bağ dokusudur. İnce kollajen ve retikulum ipliklerinden zengin olan bu doku, Leydig hücreleri, fibroblastlar, farklılaşmamış mezenkim hücreleri, mast hücreleri, kan ve lenf damarları ve testiküler sınırları içerir (93, 96).

Leydig Hücreleri: Tek veya gruplar halinde bulunan bu hücreler, geniş, poligonal biçimli asidofilik hücrelerdir. Leydig hücreleri'nin yüzeyi çok sayıda mikrovillus ile kaplıdır. Testosteron salgılamakla görevlidir (96–98, 101).

Hücre çekirdekleri yuvarlak ve kromatinden fakirdir. Belirgin bir veya iki adet çekirdekçiğı vardır. Sitoplazmalarında bol miktarda düz endoplazmik retikulum,

mitokondriler, golgi kompleksi, lipid damlacıkları ve lipofuksin pigment granülleri bulunur (96–98, 101).

Çalışmamızın amacı, günümüzde birçok alanda yaygın olarak kullanılan formaldehitin, solunum yolu maruziyeti sonucu erkek sıçanların üreme sistemi üzerinde oluşturduğu hasarları hücresel ve biyokimyasal seviyede incelemektir. Ayrıca, ülkemizde bol miktarda yetiştirilen gül çiçeğinden elde edilen gül yağının bu hasarlar üzerindeki koruyucu etkisini ortaya koymaktır.

## 4. GEREÇ ve YÖNTEM

### 4.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen 21 adet erişkin, Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar üç gruba ayrıldı.

**Kontrol Grubu (Grup I):** 35 gün boyunca 100X50X20 cm ebatlarındaki cam fanus içerisinde bir saat boyunca normal atmosfer havasına maruz bırakılan sıçanlar.

**Sadece FA Verilen Grup (Grup II):** 35 gün boyunca aynı ölçülerdeki fanus içerisinde bir saat boyunca, solunum yolu ile 10 ppm FA'ya (formalin, Sigma-Aldrich Formaldehide %37 solution, Deisenhofen, Germany) maruz kalan sıçanlar.

**FA ve Gül Yağı Verilen Grup (Grup III):** Aynı şekilde FA ve buna ilaveten, uygulamadan bir gün önce başlamak üzere her gün bir saat 1ml saf gül yağına (Gülbirlik, Isparta) maruz bırakılan sıçanlar (Tablo I).

**Tablo I:** Çalışmada kullanılan FA, gülyacı'nın dozu, uygulama süresi ve deney gruplarının gösterilmesi.

Grup No	Sıçan sayısı	FA dozu (ppm)	Gül Yağı (ml)	Cam Fanusta Kalma Süresi
I	7	0	0	1saat/35 gün
II	7	10	0	1saat/35 gün
III	7	10	1	1saat/36 gün

## **4.2. Sıçanların Bakımı**

Uygulamalar süresince sıçanlar oda sıcaklığında ve % 40–50 nem oranında tutuldu. Işık düzeni 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı. Uygulama esnasında hayvanlara su ve yem verilmedi. Uygulama haricinde yeme ve içmelerinde herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Hayvan yemleri, Yem Sanayii T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlanırken, içme suyu olarak çeşme suyu kullanıldı. Hayvanların düzenli fizik muayeneleri yapıldı. Uygulamaya başlamadan ve dekapitasyon işleminden hemen önce vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildi.

## **4.3. Uygulama Şekli ve Dozu**

Uygulamalar için 100X50X20 cm ebatlarında üç ayrı cam fanus kullanıldı. Fanuslardan biri FA, ikincisi aroma uygulaması, üçüncüsü ise kontrol grubundaki hayvanlar için kullanıldı.

### **4.3.1. Formaldehit Uygulamaları**

Fanusun bir tarafına hayvanlar konurken, diğer tarafa ise 5x5 cm boyutundaki pamuklu beze, ortamın havasında 10 ppm FA olacak şekilde % 37'lik FA (formalin, Sigma-Aldrich Formaldehyde %37 solution, Deisenhofen, Germany) damlatıldı (1 ppm= 1,25 mg/m<sup>3</sup>). Solunan havadaki FA konsantrasyonu dijital formaldehit cihazı (Enviromental Sensors Co., Boca Raton FL 33431 USA) ile ölçüldü.

### **4.3.2. Aroma Uygulamaları**

Sıçanlar fanusun bir tarafına bırakıldı. Diğer tarafa ise gül yağı, 5x5cm ebadındaki pamuklu beze 1 ml dozunda damlatıldı. Uygulamaya Grup III' te, FA uygulamasından bir gün önce başlandı. Uygulamada kullandığımız gül yağının içeriği Tablo II'de verilmiştir.

**Tablo II:** Çalışmada kullanılan gül yağının ana bileşenleri ve relatif yüzdeleri (Anadolu Üniversitesi; Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi Raporu, 2007, Eskişehir).

Bileşik	%
Sitronellool	33,88
Geraniol	17,29
Nonadekan	11,06
Nerol	8,14
Heneicosan	3,49
Metil Öjenol	3,05
Geranil asetat	2,10
Fenil etil alkol	1,64
Heptadekan	1,28
Etanol	1,26
Linalool	0,88
$\alpha$ -pinen	0,61

#### 4.4. İmmünohistokimyasal Çalışma

Dekapitasyon işleminden sonra çıkarılan hypothalamus dokuları %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin takiplerden sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardaki hypothalamus dokularından 5 $\mu$ m kalınlığında kesitler alınarak, poly-L-lysine ile kaplı lamalar üzerine yerleştirildi. Daha sonra lamalar immunohistokimyasal olarak boyandı. Boyamada polimer bazlı görüntüleme kiti kullanıldı. Primer antikor olarak monoklonal anti-gonadotropin releasing hormon uygulandı (Tablo III).

**Tablo III:** İmmünohistokimyasal boyama prosedürleri.

Sıra	İşlem	Süresi
1	Deparafinizasyon	1 saat
2	Distile su	5 dakika
3	Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS)'de (pH: 7,6)	5 dakika
4	%3'lük H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'de	10 dakika
5	Mikrodalga uygulama	3x5 dakika
6	Enzim (pepsin)	10 dakika
7	PBS'de (pH: 7,6)	5 dakika
8	Primer antikor +4C°'de	72 saat
9	PBS'de (pH: 7,6)	5 dakika
10	Sekonder antikor (Anti-polyvalent biotinylated)	10 dakika
11	PBS'de (pH: 7,6)	5 dakika
12	Horse radish peroksidaz	10 dakika
13	PBS'de (pH: 7,6)	5 dakika
14	AEC Kromojen	10 dakika
15	Distile su	5 dakika
16	Zit boya olarak Mayer's hematoksilen	1 dakika
17	Akarsuda	1 dakika
18	Kurulama	
19	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

Kesitler Olympus BX-50 araştırma mikroskobu ile değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti esas alındı. Stoplazmik immun boyanmanın şiddeti 0'dan +3'e kadar sayı ile semikantitatif olarak skorlandı (Tablo IV).

**Tablo IV:** İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi.

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Hafif
+2	Orta
+3	Şiddetli

#### 4.5. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan testisler, Bouin solüsyonunda tespit edildi. Dehidratasyon işleminden sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo V). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Mikrotomda 5µm kesitler alınarak, Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson Trikrom ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BX-50) incelendi. Büyük büyütmede (X40) Leydig hücreleri saptandı ve her grupta 100 interstisyel alan tespit edilerek sayıldı.

Bütün gruplara ait preparatlarda Leydig hücrelerinde meydana gelen çekirdek hasarları (piknoz, karyoreksis, karyolizis) incelendi. Tubuli seminiferi contorti'lerdeki etkilenmeyi saptamak için, mikroskoba eklenen oküler mikrometre aracılığı ile her gruba ait tubül çapları ölçüldü.

**Tablo V:** Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol (x4)	12 saat
2	%80 Alkol	1.5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1.5 saat
13	Sert parafin	3 saat

#### **4.6. Epididymis Sperm Analizleri**

##### **4.6.1 Sperm Yoğunluğunun Tespiti**

Epididimal sperm yoğunluğu Türk ve ark. ile Sönmez ve ark.'nın bildirdiği hemositometrik metodun bir modifikasyonu kullanılarak tespit edildi (104, 105). Bu amaçla, sağ epididymis, petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0.9'luk NaCl) bistüri ve makas yardımıyla iyice parçalandı ve iki dakika boyunca bir pensle parçacıklar ezildi. Sonra epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkubasyona bırakıldı. Bekleme süresini takiben spermatozoon ihtiva eden süpernatant, alyuvar pipetinin 0,5 çizgisine kadar; 5g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml distile su içeren



solüsyon da 101 çizgisine kadar çekildi. Dolayısıyla süpernatant 1:200 oranında sulandırılmış oldu. Yaklaşık 10 µl sulandırılmış süpernatant önceden lamel yapıştırılmış neubauer laminin her iki sayım (toplam 400 küçük kare, 0,1 mm<sup>3</sup> hacim) alanına lamelin kenarına pipetin ucu değdirilerek yerleştirildi. Neubauer lamı ışık mikroskobuna yerleştirilip 5 dakika beklenerek solüsyon içerisindeki spermatozoonların tüm alana homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Her iki sayım alanındaki tüm karelere düşen spermatozoonlar ışık mikroskobunun 200'lük büyütmesinde sayıldı.

#### **4.6.2 Sperm Motilite Tayini**

Sıçanların sperm motilitesi, Sönmez ve ark.'nın bildirdiği metota istinaden ısıtma tablalı ışık mikroskobunda tayin edildi (106). Bunun için bir lam mikroskobun ısıtma tablasına yerleştirilerek sıcaklığının 37 °C'ye ulaşması sağlandı. Birkaç damla Tris buffer solüsyonu [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] ısıtma tablası üzerindeki lama damlatıldı. Daha sonra sol cauda epididymis'ten kesit yapılarak alınan ve spermatozoon ihtiva eden küçük bir damla süspansiyon bu solüsyon üzerine yerleştirilip lamel yardımıyla karıştırılarak homojen bir hal alması sağlandı. Bu işlemden sonra 400 büyütmede motilite yüzdesi belirlendi. Motilite tahminleri sol cauda epididymis'ten alınan bir damla süspansiyon için 3 farklı saha incelenerek yapıldı. Bu 3 farklı sahanın ortalama değerleri yüzde, motilite oranı olarak hesaplandı.

#### **4.6.3 Anormal Spermatozoon Oranı**

Anormal spermatozoon oranını tayin etmek için birkaç damla Tris buffer solüsyonu temiz, kuru ve önceden ısıtılmış (37 °C) bir lama damlatıldı. Ardından bu lam üzerine, sol cauda epididymis'ten alınan küçük bir damla süspansiyon ve birkaç damla Eozin-Nigrozin karışımı boya (1.67 g eozin, 10 g nigrozin, 2,9 g sodyum

sitrat, 100 ml distile su) eklendi. Bu karışım bir lam yardımıyla homojen hale getirildi. Daha sonra bu karışımdan ince frotiler çekilerek çok kısa sürede kuruması sağlandı. Kurutma işleminden sonra frotiler ışık mikroskopunun 400'lük büyütmesinde incelendi. Bir frotide toplam 300 spermatozoon incelenip baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranı yüzde olarak ifade edildi (104).

#### **4.7. Biyokimyasal Çalışma**

Serum total testosteron analizi için alınan kan, serumu ayrıldıktan sonra çalışmaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Testosteron seviyeleri ticari elecsys kiti ile tam otomatik kemiluminesans metodu kullanılarak yapıldı.

#### **4.8. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler için bilgisayar ortamında "SPSS 12.0 for Windows" istatistik programı kullanıldı. Tüm gruplar arasındaki değerlendirmelerde "Kruskal Wallis Testi", ikili karşılaştırmalarda ise "Mann-Whitney U Testi" uygulandı.  $P<0.05$  değeri en düşük anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Klinik Bulgular

FA uygulanan gruplarda, uygulamanın 10. gününden sonra tüylerde sararma başladı. Grup II'deki hayvanlarda görülen sararma, Grup III'e göre daha belirgindi. FA irritasyonuna bağlı olarak sık göz kırpması, kesik nefes alma, burun temizliğinde artma, sık aksırma ve aşırı yalanma bulguları saptandı.

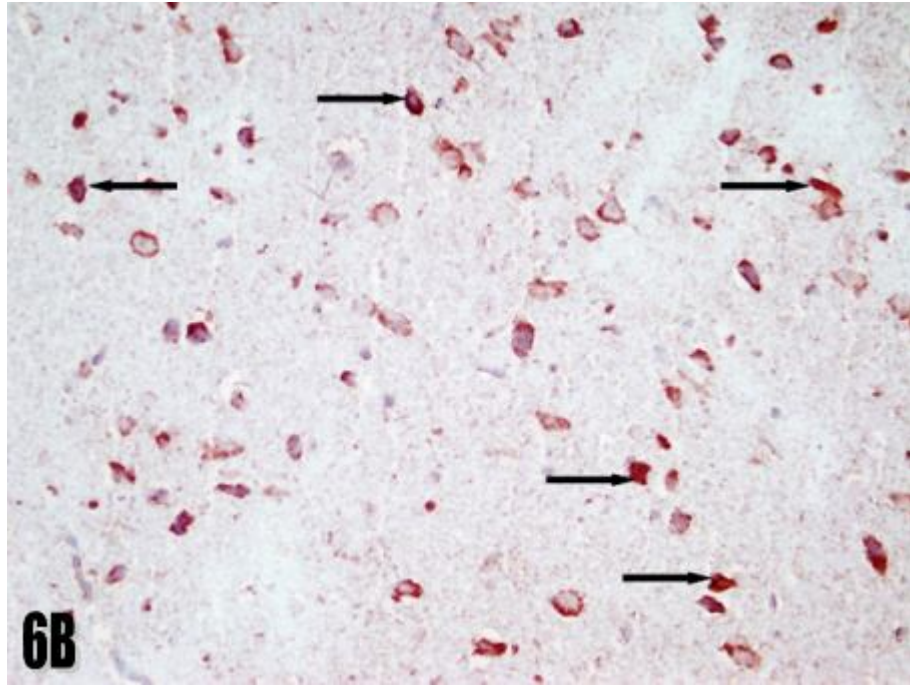
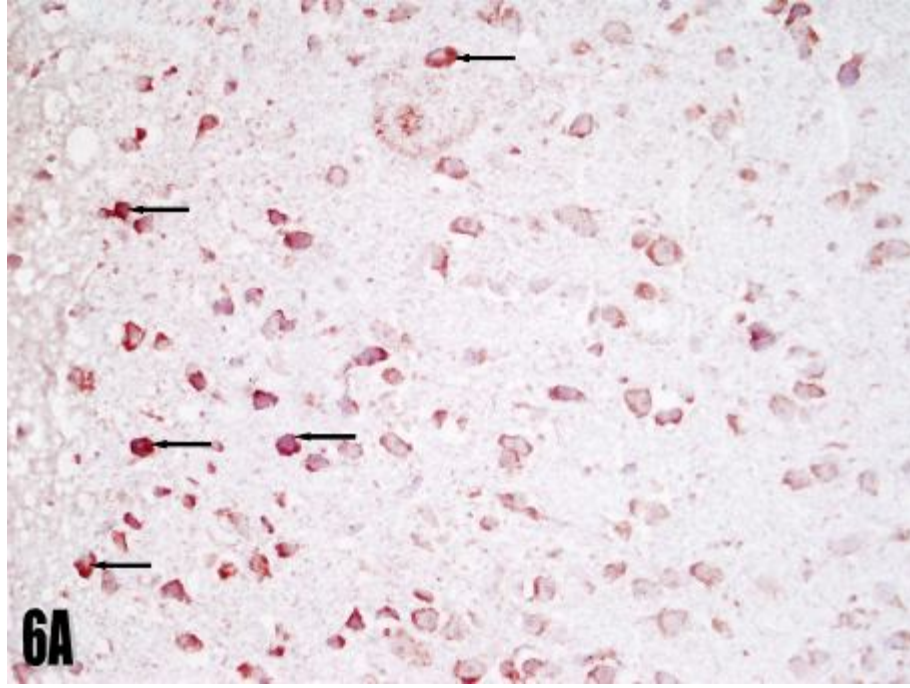
Grup II'ye ait hayvanların vücut ağırlık artışı, Grup I'e göre daha az olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ). Grup III'e ait hayvanlardaki kilo artışı ise Grup II'ye göre daha fazla idi ( $p<0,05$ ).

### 5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

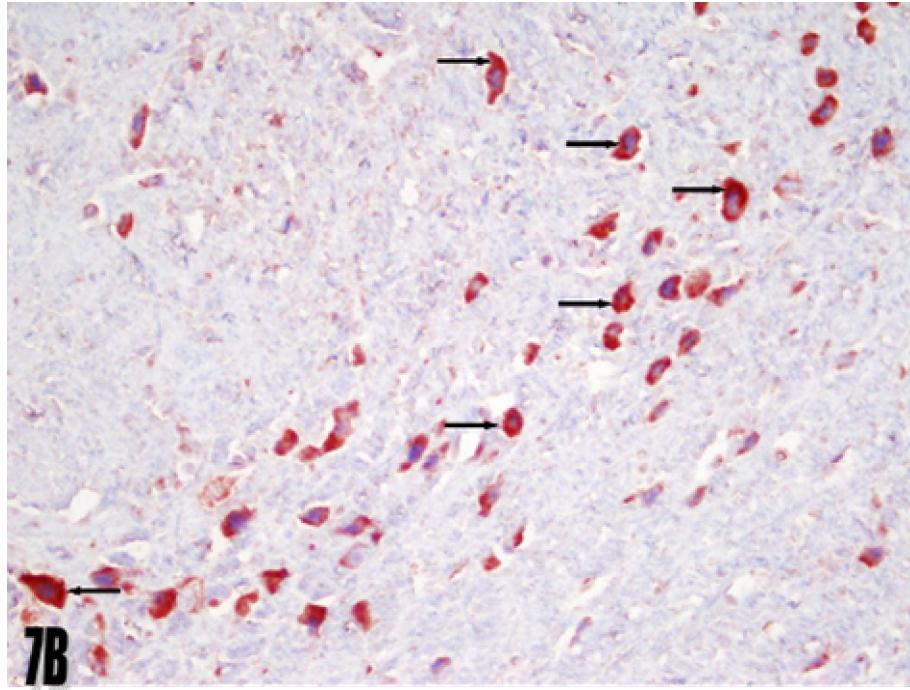
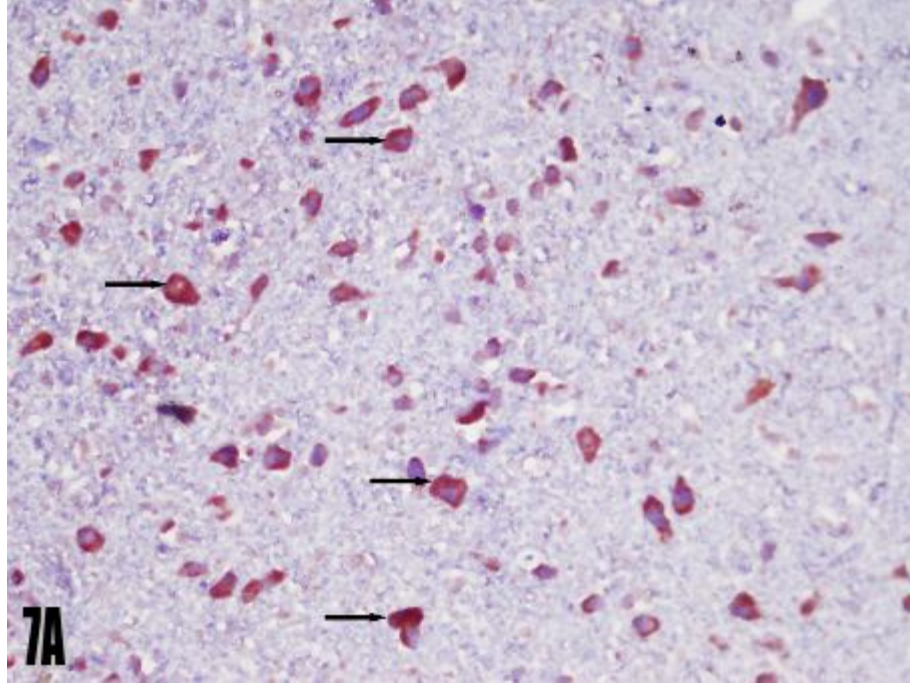
Her gruptan alınan hypothalamus kesitleri, immünohistokimyasal olarak monoklonal GnRH ile boyanarak incelendi. Grup I'e ait hypothalamus doku kesitlerinde immünohistokimyasal GnRH boyanmasının orta şiddette (+2) olduğu gözlemlendi (Şekil 6A, 6B). Grup II'de ise şiddetli bir derecede (+3) GnRH boyanmasının meydana geldiği tespit edildi (Şekil 7A, 7B). Grup III'teki hayvanlara ait hypothalamus dokularının immünohistokimyasal GnRH boyanmasının yine şiddetli derecede (+3) olduğu belirlendi (Şekil 8A, 8B) (Tablo VI).

**Tablo VI.** Kontrol ve deney gruplarından alınan hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak GnRH boyanma şiddeti.

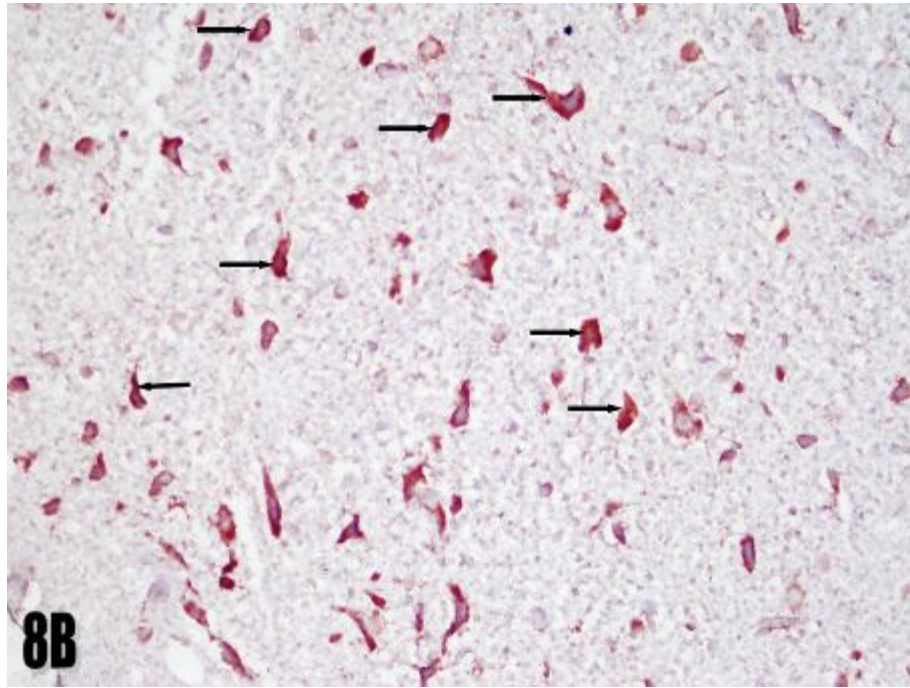
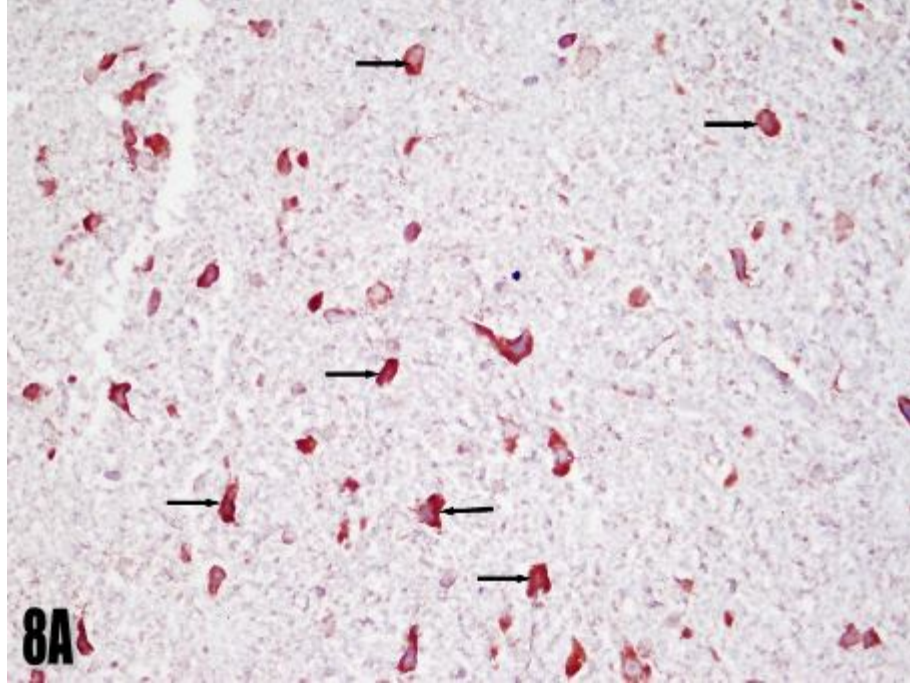
Gruplar	Boyanma şiddeti
I	+2
II	+3
III	+3



Şekil 6A, 6B. Grup I'e ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+2) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte (x 40).



Şekil 7A, 7B. Grup II'ye ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+3) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte (x 40) .



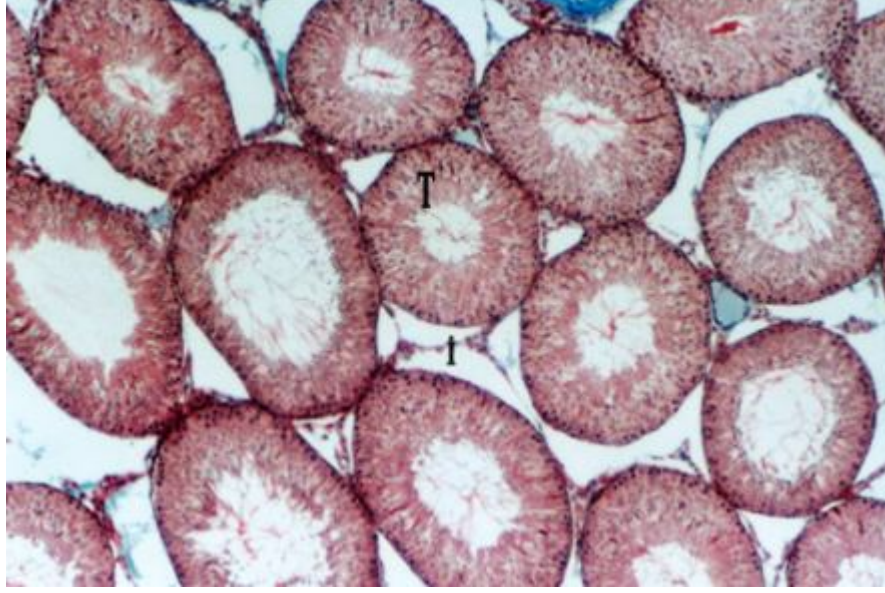
Şekil 8A, 8B. Grup III'e ait hypothalamus kesitlerinde immünohistokimyasal olarak (+3) şiddette GnRH boyanması (→) görülmekte (x 40).

### 5.3. Histolojik Bulgular

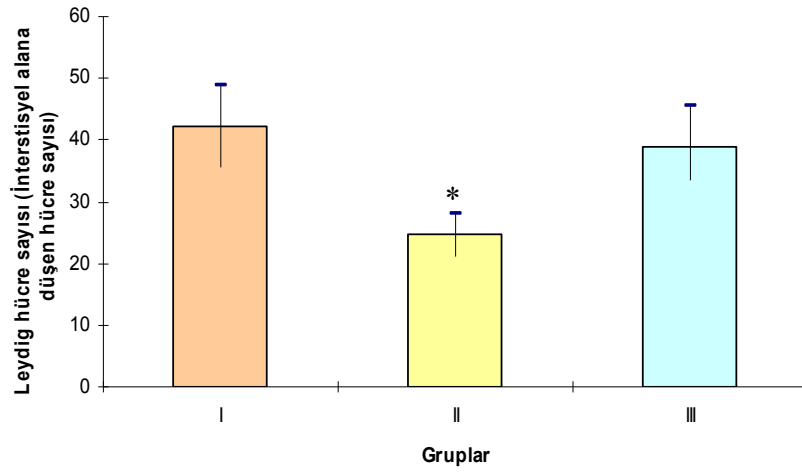
Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom ile boyanan preparatlar incelendiğinde, Grup I'e ait testis dokularının normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 9). Grup II'deki sıçanlara ait testis dokularında ise Leydig hücre sayısında belirgin azalma vardı ( $p<0,001$ ). Grup III'teki Leydig hücre sayısı, Grup II'ye göre kıyaslandığında anlamlı bir artış olduğu ( $p<0,001$ ) ve kontrol değerleriyle istatistiksel anlamda eşit olduğu belirlendi ( $p>0,05$ ) (Şekil 10).

Grup II'deki sıçanların Leydig hücrelerine ait çekirdek hasarları, Grup I'e göre belirgin olarak artmıştı ( $p<0,001$ ) (Şekil 11A, B). Grup III'te görülen çekirdek hasarlı Leydig hücre sayısı, Grup II'deki hayvanlardan daha azdı ( $p<0,001$ ) (Şekil 12, 13).

Grup II'deki hayvanlara ait tubuli seminiferi contorti çapları, Grup I'e göre anlamlı bir şekilde azalmıştı ( $p<0,001$ ). Grup III'e ait hayvanların tubuli seminiferi contorti çapları, Grup II'ye göre yüksekti. Fakat bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Şekil 14).

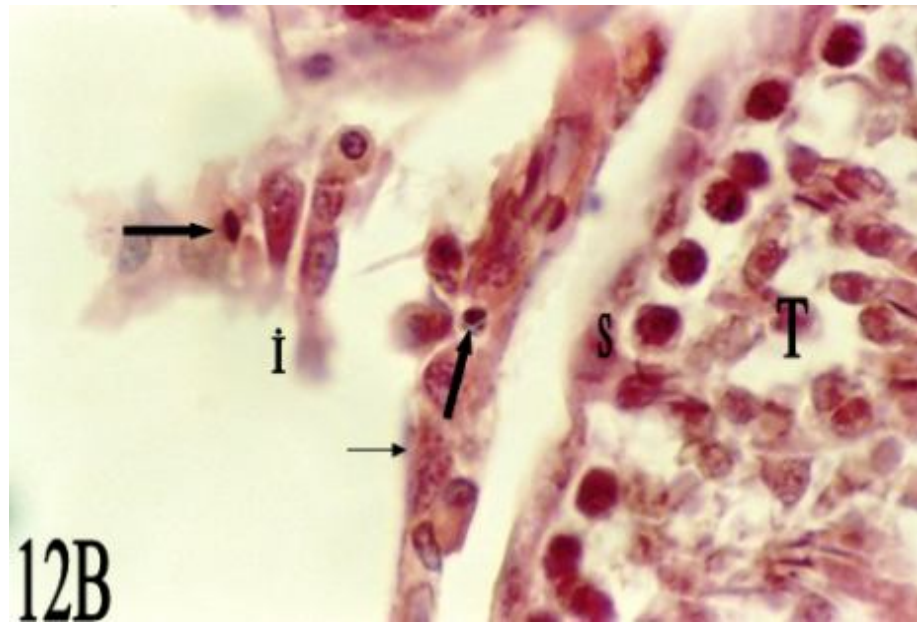
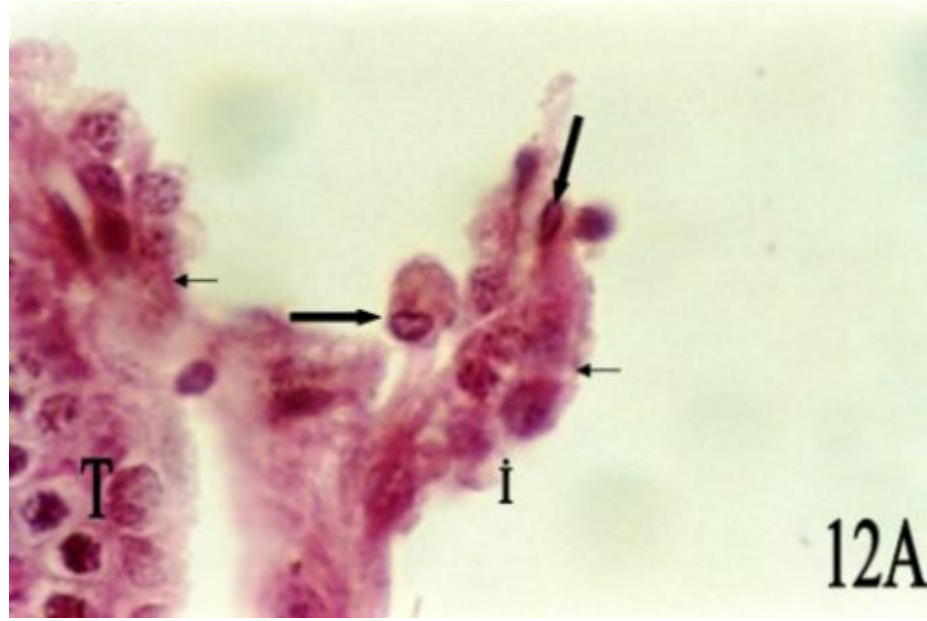


**Şekil 9.** Grup I'e ait sıçan testisinin genel görünümü (X40, Masson Trikrom), (T: Tubül, İ: İnterstisyel alan).

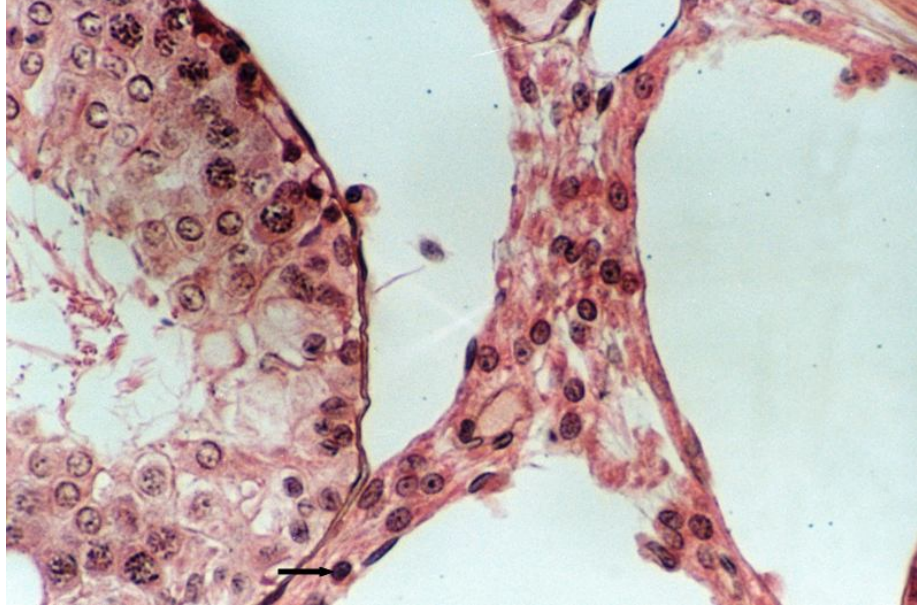


**Şekil 10.** Tüm gruplara ait Leydig hücre sayıları (\*  $p < 0,001$ , diğer gruplar ile karşılaştırıldığında).

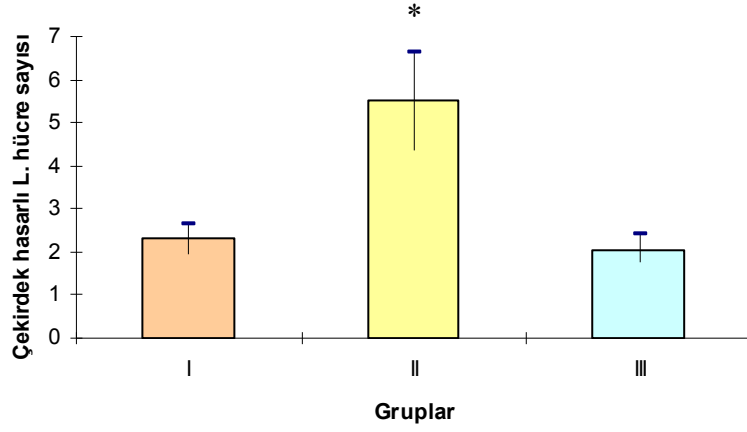




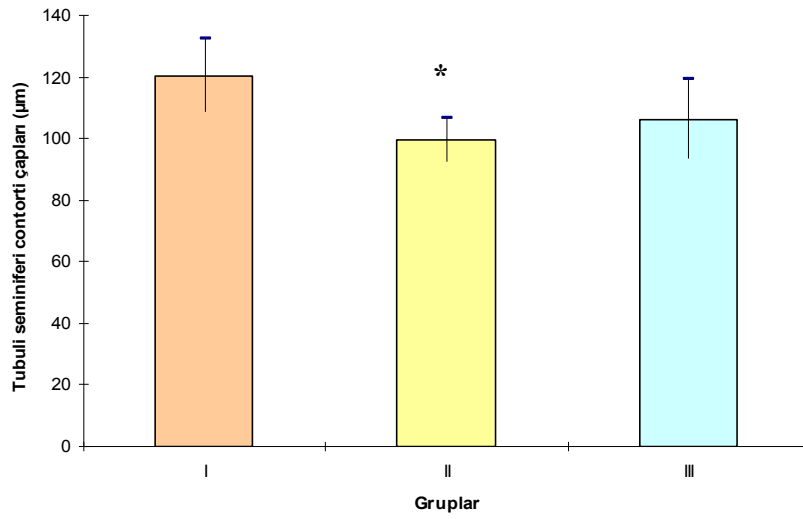
**Şekil 11A, B.** Grup II'ye ait sıçanların Leydig hücre çekirdeklerinde meydana gelen hasarlar. A) Karyolitik hücreler (kalın ok), hasarlanmış Leydig hücreleri (ince ok), İ: İnterstisyel alan, T: Tubuli seminiferi contorti (X400, H&E). B) Piknotik hücreler (kalın ok), hasarlanmış Leydig hücreleri (ince ok), İ: İnterstisyel alan, T: Tubuli seminiferi contorti, S: Sertoli hücresi (X400, H&E).



**Şekil 12.** Grup III'te görülen Leydig hücre çekirdeklerindeki piknoz (ok), (Grup II'ye oranla daha az görülmektedir) İ: İnterstisyel alan, T: Tubuli seminiferi contorti (X400, H&E).



**Şekil 13.** Gruplara ait çekirdek hasarlı Leydig hücre sayıları (\* $p<0,001$  olup, diğer gruplarla kıyaslandığında).



**Şekil 14.** Gruplara ait tubuli seminiferi contorti çapları (\*  $p<0,001$  olup, Grup I ile kıyaslandığında).

#### 5.4. Spermogram Sonuçları

Sağ cauda epididymis'ten sperm yoğunluğu, sol cauda epididymis'ten de sperm motilitesi ve anormal sperm oranı belirlendi. Grup II'ye ait hayvanların epididimal sperm yoğunluğu ve sperm motilitesi, Grup I'e göre anlamlı bir şekilde düşerken, anormal sperm oranı ise artmıştı. Grup III'e ait sıçanlardaki epididimal sperm yoğunluğu, Grup II'ye göre anlamlı olarak artarken, anormal sperm oranı ise azalmıştı. Sperm motilitesinde de bir artış vardı. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ) (Tablo VII).

**Tablo VII.** Gruplara ait sperm yoğunluğu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranları (ortalama±st. sapma, n=7).

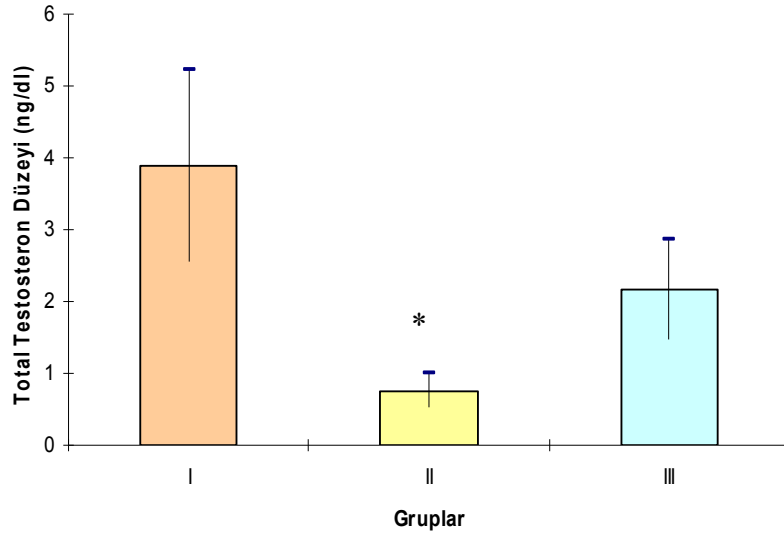
Gruplar	Sperm yoğunluğu ( $10^6/g$ )	Sperm motilitesi (%)	Anormal sperm oranı (%)
I	321,20±35,06	83,83±7,75	5,53±1,23
II	223,15±12,26 <sup>a</sup>	72,14±5,33 <sup>b</sup>	15,10±2,13 <sup>a</sup>
III	326,57±38,48	77,14±4,33	7,77±1,95

<sup>a</sup>  $p<0,001$ , diğer gruplar ile karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>  $p<0,001$ , Grup I ile karşılaştırıldığında.

### 5.5. Biyokimyasal Bulgular

Grup II'ye ait sıçanların total testosteron değerleri, Grup I'e göre anlamlı bir şekilde düşmüştür ( $p<0,05$ ). Grup III'teki hayvanların total testosteron değerleri ise Grup II'ye göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (şekil 15).



**şekil 15.** Gruplara ait total testosteron değerleri (\*  $p<0,05$  olup, diğer gruplarla kıyaslandığında).

## 6. TARTIŞMA

Çalışmamızda solunum yolu ile uygulanan FA'nın üreme sistemi üzerine oluşturduğu hasar araştırıldı. Ayrıca aromaterapide sık kullanılan gül yağının bu olumsuz etkilere karşı koruyucu özellikleri gösterildi. Deneysel çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz klinik, immünohistokimyasal, histolojik ve biyokimyasal bulgular, gerek anabilim dalımızda önceden yapılan çalışmalar, gerekse yurt dışı çalışmaların bulguları ile kıyaslanarak tartışıldı.

Grup II ve III'teki hayvanların tüylerinde sararma, sık göz kırpma, kesik nefes alma, burun temizliğinde artma, aşırı yalanma ve sık aksırma gibi klinik bulgular tespit edilmiştir. Solunum yoluyla FA'ya maruz kalan sıçanların 10. günden sonra tüylerinde sararma meydana geldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (47, 48, 50, 107, 108). Yukarıda bahsettiğimiz sararma dışındaki diğer klinik bulgular, FA'nın göz ve solunum yolları mukozası üzerinde neden olduğu irritasyona bağlı olarak gelişmektedir. IARC'nin bildirdiğine göre, FA solunum yolları ve göz mukozasında irritasyona neden olmaktadır (6). Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, 1.2 mg/m<sup>3</sup> dozunda uygulanan FA, solunum yolları ve göz üzerinde irritasyona neden olduğu gösterilmiştir (7).

Grup II'ye ait hayvanların vücut ağırlık artış oranı, Grup I'e göre azalmıştır. Sarsılmaz ve ark.'nın 28 gün (subakut), günde 8 saat uyguladıkları 10–20 ppm dozundaki FA, vücut ağırlık artış oranında belirgin bir azalmaya neden olmuştur (47). Bizim çalışmamızda da vücut ağırlık artış oranında azalma olmasına rağmen, Sarsılmaz ve ark.'nın bulgularındaki belirgin azalma kadar olmayışı, uygulama süresinin daha kısa tutulmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Literatür

taramalarımızda FA'nın ağırlık artış oranındaki azalmaya etkisi, FA'nın protein sentezini inhibe etmesine bağlanmaktadır (109, 110).

FA'nın bir başka etkisi, hypothalamus'ta bulunan GnRH sekresyonu yapan hücreler üzerinde olmuştur. Çalışmamızda, Grup II'deki hayvanlara ait hypothalamus dokularındaki immünohistokimyasal GnRH boyanması, Grup I'den daha şiddetli olarak tespit edilmiştir. Üreme sisteminin ana düzenleyici hormonu olan GnRH'nın salınımında çeşitli faktörler görev almaktadır. Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron hormonunun seviyesinin azalması, (+) feedback uyarısı ile GnRH salınımını artırmaktadır (72, 111). Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, Grup II'ye ait hayvanların testosteron seviyelerinin belirgin şekilde azalmış olması GnRH sekrete eden hücreler üzerinde (+) feedback etki göstermesine neden olmuştur. Dolayısıyla daha şiddetli GnRH boyanması meydana gelmiştir. Yukarıda izah edilen mekanizma bu artışı açıklamakla beraber, bir başka kanaatimizde, sonraki paragraflarda görüleceği üzere, FA'nın muhtemel feromen özelliği de, GnRH artışına neden olabilmektedir.

Formaldehit'in etkilediği organlardan birisi de testislerdir. Gerçekleştirmiş olduğumuz bu deneysel çalışmada, Grup I ile kıyaslandığında Grup II'deki hayvanlara ait Leydig hücre sayısında azalma ve bu hücrelerin çekirdeklerindeki hasarlarda ise bir artış tespit edilmiştir. Sarsılmaz ve ark. sıçanlar üzerinde, hem subakut hem de subkronik dönemde uyguladıkları FA'nın, Leydig hücreleri ve çekirdekleri üzerinde elde ettikleri bulgular, çalışmamızı desteklemektedir (47, 48). Chowdhury ve ark. 30 gün boyunca her gün intraperitoneal olarak uyguladıkları FA'nın (5, 10, 15 mg/kg dozlarında) Leydig hücrelerinin yapısı ve fonksiyonlarında bozulma meydana getirdiğini bildirmişlerdir (45). Tubül çapları açısından yapılan mikroskopik incelemelerde, Grup II'ye ait hayvanların tubuli seminiferi contorti

çaplarında Grup I'e göre belirgin azalma olduğunu tespit ettik. Özen ve ark., 91 gün boyunca (subkronik) uyguladıkları 5–10 ppm dozundaki formaldehitin tubül çaplarında belirgin azalmaya ( $p < 0,001$ ) neden olduğunu göstermişlerdir (50). Benzer şekilde, Golalipour ve ark. 18 hafta boyunca solunum yolu ile uyguladıkları FA'nın (haftada 4 gün, günde 4 ve 2 saat; haftada 2 gün günde 2 saat) tubül çapında ve tubül epitel yüksekliğinde belirgin azalma meydana getirdiğini ifade etmişlerdir (112). Zhou ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, iki hafta boyunca (günde 12 saat  $10 \text{ mg/m}^3$  dozunda) solunum yolu ile uygulanan FA, tubuli seminiferi contorti'lerde atrofi ve dejenerasyona neden olmuştur (49). Yapılan bu çalışmalar bulgularımızı desteklemektedir.

Epididymis dokularında yaptığımız spermium analizlerinde; Grup II'deki hayvanlarda Grup I'e göre, total spermatozoon sayısında ve sperm hareketliliğinde azalma olduğu görüldü. Yine bu değerlendirmelerde anormal sperm sayısında ise artış olduğu belirlendi. Zhou ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, solunum yolu ile verilen FA'nın (günde 12 saat  $10 \text{ mg/m}^3$  dozunda) sperm sayısı ve hareketliliğinde azalma, anormal sperm oranında da bir artış bildirilmiştir (49). Yine deneysel olarak yapılmış diğer araştırmalarda intraperitoneal olarak uygulanan formaldehitin sperm sayısı ve hareketliliği üzerine olumsuz etkiler gösterdiği ortaya konmuştur (46, 113, 114). Spermilerin içerisinde geliştikleri tubuli seminiferi contorti'lerin hasar görmesi, sperm sayısı üzerinde olumsuz etki meydana getirerek sperm sayısında azalmaya neden olmuştur. Zhou ve ark. ile ve Tang ark. intraperitoneal uygulanan FA'nın, tubuli seminiferi contorti'lerde atrofi ve dejenerasyona; bundan dolayı da sperm sayısında azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (113, 114). Yine Leydig hücrelerinin hasar görmesi sonucu sperm hareketliliğinde belirgin azalma ortaya çıkmıştır. Henkel ve ark. sperm motilitesi ile Leydig hücrelerinden salınan



testosteron hormonu arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu ifade etmişlerdir (115). Tang ve ark.'nın fareler üzerinde yaptığı çalışmada ise, anormal sperm sayısında artış olduğu bildirilmiştir (114). Keza Odeigah ratlar üzerinde yaptığı çalışmada, intraperitoneal yoldan uyguladığı FA sonucu sperm baş anomalileri tespit etmiştir (39). Çalışmamızda elde ettiğimiz sperm analizlerine ait bulgular, hem daha önce yapılmış olan araştırmalar ile uyum göstermekte, hem de çalışmamızın histolojik bulgularını desteklemektedir.

Üreme fonksiyonları üzerinde önemli bir görevi olan serum testosteron seviyeleri de formaldehitten olumsuz bir şekilde etkilenmektedir. Yaptığımız çalışmada, Grup II'ye ait hayvanların total testosteron seviyelerinin Grup I'e göre belirgin azaldığı tespit edilmiştir. Chowdhury ve ark. ile Zhou ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, intraperitoneal yoldan uygulanan formaldehitin serum testosteron seviyelerinde belirgin bir azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (45, 113). Özen ve ark. solunum yolu ile uyguladıkları FA'nın testosteron düzeyinde bariz bir düşüşe neden olduğunu ifade etmişlerdir (50). Bu çalışmalarda, Leydig hücrelerindeki hasarın testosteron seviyelerindeki azalmaya sebep olduğu vurgulanmıştır (45, 50, 113).

Formaldehitin çeşitli dokularda oksidatif hasara neden olduğu çok sayıda deneysel araştırmada ortaya konmuştur (116, 117, 118, 119). Özen ve ark.'nın testis dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada, solunum yoluyla uyguladıkları FA'nın, bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) yapısında bulunan bakır ve çinko seviyelerini düşürdüğünü ifade etmişlerdir. Bu düşüşten dolayı testiste oksidatif hasarın meydana geldiğini; bu oksidatif hasarın da spermatozoal anormalliklere neden olabileceği ifade edilmiştir (116). Testisle ilgili diğer bir çalışmada da, bir ay boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg dozunda uygulanan FA, antioksidan

enzimlerden SOD ve glutatyon peroksidaz seviyelerini azalttığı ve oksidatif hasarı gösteren malondialdehit değerlerini de artırdığı bildirilmiştir (120). Yukarıdaki çalışmalarda görüleceği üzere FA testis dahil birçok organda oksidatif hasar oluşturmaktadır (116–120). Çalışmamız sonucunda tespit ettiğimiz, Leydig hücreleri, Leydig hücre çekirdekleri, tubül çapları, epididimal sperm analizleri ve testosteron seviyelerindeki değişikliklerde, FA'nın oksidatif hasar oluşturması sebep olarak sayılabilir.

Aromaterapide sıkça kullanılan gül yağının yukarıda bahsedilen formaldehitin olumsuz tesirine karşı koruyucu özellik gösteren etkileri aşağıda tartışılacaktır.

Grup III'e ait hayvanlarda Grup II'ye benzer şekilde tüylerde sararma gözlemlendi. Ayrıca Grup II'deki hayvanlarda FA'ya bağlı olarak gelişen, sık göz kırpması, kesik nefes alma, burun temizliğinde artma, aşırı yalanma ve sık aksırma gibi klinik bulgular Grup III'te de görüldü. Grup II'de görülen bu klinik bulguların Grup III'te de devam etmesini, FA'nın akut etkisinin devam ettiğine bağlamaktayız.

Vücut ağırlık artış oranı yönünden Grup II ve Grup III kıyaslaması yapıldığında, Grup III'e ait hayvanların vücut ağırlık artış oranında anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Ateşşahin ve ark.'nın antioksidan özelliği bilinen melatonin ile yaptıkları bir çalışmada, melatonin hormonunun vücut ağırlık artış oranında bir yükselmeye neden olduğu vurgulanmıştır (121). Aynı şekilde biz de, gül yağının antioksidan olduğunu ve vücut ağırlık artış oranındaki yükselmenin de bundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Yapılan deneysel çalışmalarda gül yağının antioksidan aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Wei ve Shibamoto, uzun dönem antioksidan aktiviteyi göstermede kullanılan Aldehit/Karboksilik asit testinde; gül yağının, referans alınan  $\alpha$ - tokoferol'e göre % 100'e yakın oranda antioksidan aktivite gösterdiğini

bildirmişlerdir (68). Yine aynı çalışmada 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) serbest radikal temizleme ve Malonaldehyde/Gas Chromatography (MA/GC) testlerinde, gül yağı % 70 civarında antioksidan aktivite göstermiştir. Bu testlerde de referans olarak kullanılan  $\alpha$ -tokoferol'un, yaklaşık olarak % 90 civarında antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur (68). Benzer olarak, thiobarbituric acid (TBA) testinde, gül yağının içeriğinde bulunan sitronellol, nerol ve geraniol'un MA oluşumunu çeşitli seviyelerde inhibe ettiği bildirilmiştir (122).

Grup III'e ait hypothalamus dokuları incelendiğinde, GnRH boyanmasının Grup II gibi (+3) şiddette olduğunu tespit ettik. Grup II'ye ait hypothalamus dokularında GnRH boyanmasının (+3) şiddette olmasını, daha önceki paragraflarda da izah edildiği gibi testosteron hormonunun düşmesine bağlamaktayız.

Üreme sistemi ile cinsi davranışları etkileyen ve dış ortamdan vücuda gelen kimyasal habercilere feromen denilmektedir (123). Fonksiyonlarını koku yolu ile gösteren bu maddeler, kısa dönemde davranışları etkilerken; uzun dönem uygulandıklarında ise hypothalamus'ta GnRH sekresyonunu artırarak, hipotalamo-hipofizer-gonadal aks üzerinde pozitif etki gösterirler (124). Aromaterapide kullanılan uçucu yağlar bir kısım etkilerini, koku yollarının limbik sistem ve hypothalamus ile olan anatomik bağlantıları sayesinde göstermektedir (125). Sakinleştirici ve rahatlatıcı özelliği yanında afrodisyak etkileri nedeniyle kullanılan gül yağı, bir feromen gibi etki göstererek GnRH sekresyonunda artışa neden olduğu kanaatindeyiz.

Grup III'e ait testis dokuları Grup II'ye göre kıyaslandığında, Leydig hücre sayılarında artma ( $p < 0,001$ ), çekirdek hasar sayısında ise belirgin bir azalma görülmektedir ( $p < 0,001$ ). Tubuli seminiferi contorti çapları değerlendirildiğinde ise; Grup II'ye göre bir artış olduğu tespit edildi. Fakat bu artış istatistiksel olarak

anlamli değildir ( $p>0,05$ ). Yapılan bazı çalışmalarda da, testiste oksidatif hasar sonucu meydana gelen bozulmaların, uygulanan çeşitli antioksidanlar ile düzeldiği ifade edilmiştir (49, 104, 120). Zhou ve ark.'nın uyguladıkları E vitamini, FA maruziyeti sonucu testiste oluşan oksidatif hasarı ve histopatolojik bozulmaları engellemiştir (49). Türk ve ark.'nın testisler üzerinde yaptıkları çalışmada da, siklosporin A'nın neden olduğu oksidatif hasar ve histolojik bozulmanın likopen tarafından önlendiği bildirilmiştir (104). Bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere testiste, antioksidanlar tarafından oksidatif hasarın engellenmesi ile histopatolojik bozulmalarda düzelme görülmüştür. Çalışmamızda, Grup III'teki testise ait histopatolojik bozulmaların Grup II'ye göre anlamli bir Şekilde düzelmesini, gl yağının antioksidan etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Grup III'e ait hayvanların total spermatozoon sayısı, Grup II'ye göre anlamli bir Şekilde artarken, anormal sperm oranı da azalmıştı ( $p<0,05$ ). Sperm hareketliliğinde de anlamli olmayan bir artış mevcuttu ( $p>0,05$ ). Sönmez ve ark. homosistein uyguladıkları sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, E vitamini ve melatonin hormonunun epididymis'teki antioksidan enzim aktivitelerini artırdığını ve sperm analizlerinde bir düzelme olduğunu bildirmişlerdir (105). Sönmez ve ark.'nın yaptıkları diğer bir çalışmada da, ratlara uygulanan askorbik asitin sperm kalitesi ve antioksidan enzimler üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu ifade edilmiştir (106). Çalışmamızda elde ettiğimiz, sperm sayısı ve hareketliliğindeki artış ve anormal sperm oranında görülen azalmanın, gl yağının antioksidan özelliğinden kaynaklandığı kanaatindeyiz. Yine dolaylı olarak, Leydig hücreleri ve tubuli seminiferi contorti'lerde görülen düzelmeler, sperm sayısı, hareketliliği ve anormal sperm oranında bir iyileşmeye neden olmuştur.

Grup III'teki hayvanlara ait total testosteron seviyeleri Grup II'deki hayvanlara göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Yukarıda anlatılan gül yağının antioksidan aktivitesi sayesinde testosteron seviyelerinde düzelme meydana gelmiştir. Henkel ve ark. ile ve Joensen ark. Leydig hücreleri ve testosteron düzeyi arasında doğru orantılı bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir (115, 126). Bizde yaptığımız çalışma sonucunda, testosteron hormonunu üreten Leydig hücrelerinin sayıca artmasını ve bu hücrelerde çekirdek hasarlarının azalmasını, testosteron seviyelerindeki bu anlamlı artışın nedeni olarak düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, Grup II'deki hayvanların Leydig hücre sayıları ile tubül çaplarındaki azalma, çekirdek hasarlarındaki artış, sperm sayısı ve hareketliliğindeki düşme, anormal sperm oranındaki artma ve serum testosteron seviyelerindeki azalma, solunum havasında bulunan formaldehit'in üreme sisteminde olumsuz etkiler meydana getirdiğini göstermektedir. Gül yağı uygulamasının da, antioksidan özelliği sayesinde bu saydığımız olumsuzlukları kısmen giderdiğini ifade edebiliriz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Formaldehyde Council Report. Air toxics, formaldehyde and risk characterization. <http://www.formaldehyde.org>, Erişim tarihi:14.11.2007.
2. Fedarel Panel on Formaldehde: Report of the Federal Panel on Formaldehyde. Environ Health Perspect 1982; 43: 139–145.
3. Smith AE. Formaldehyde. Occup Med 1992; 42: 83-88.
4. Feron VJ, Til HP, de Vrijer F, Woutersen RA, Cassee FR, van Bladeren PJ. Aldehydes: occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. Mutat Res 1991; 259: 363–385.
5. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Formaldehyde Sampling of FEMA Temporary- Housing Trailers, 2006.
6. 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, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/volume88.pdf>. Erişim tarihi: 12.11.07.
7. WHO-ROE: World Health Organization, Regional Office for Europe, Formaldehyde, Copenhagen, 2001.
8. Collins JJ, Ness R, Tyl RW, Krivanek N, Esmen NA, Hall TA. A review of adverse pregnancy outcomes and formaldehyde exposure in human and animal studies. Regul Toxicol and Pharmacol 2001; 34: 17-34.
9. Formaldehyde. Ten Carcinogenes in Toronto, [http://www.toronto.ca/health/pdf/cr\\_appendix\\_b\\_formaldehyde.pdf](http://www.toronto.ca/health/pdf/cr_appendix_b_formaldehyde.pdf). Erişim tarihi: 23.01.2008.

10. Formaldehyde. Chronic Toxicity Summary,  
[http://www.oehha.ca.gov/air/chronic\\_rels/pdf/50000.pdf](http://www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/50000.pdf). Erişim tarihi: 23.01.2008.
11. Broder I, Corey P, Brasher P, Lipa M, Cole P. Formaldehyde exposure and health status in households. *Environ Health Perspect* 1991; 95: 101–104.
12. Naya M, Nakanishi J. Risk assessment of formaldehyde for the general population in Japan. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005; 43: 232–248.
13. Uchiyama S, Matsushima E, Kitao N, Tokunaga H, Ando M, Otsubo Y. Effect of natural compounds on reducing formaldehyde emission from plywood. *Atmos Environ* 2007, (Baskıda).
14. Bender JR, Mullin LS, Graepel GJ, Wilson WE. Eye irritation response of humans to formaldehyde. *Am Ind Hyg Assoc J* 1983; 44: 463–465.
15. Arts JHE, Rennen MAJ, de Heer C. Inhaled formaldehyde: Evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006; 44: 144–160.
16. Occupational Safety and Administration. Preliminary assessment on the health effects of formaldehyde. *Occup Safety and Health Rep* 1984; 14: 476-483.
17. Canbilen A, Sezen Ş, Avunduk MC, Erdinç Çon N. Formaldehit ve toksik etkileri. *Genel Tıp Dergisi* 1999; 9: 33–39.
18. Kriebel D, Myers D, Cheng M, Woskie S, Cocanour B. Short term effect of formaldehyde on peak expiratory flow and irritant symptoms. *Arch Environ Health* 2001; 56: 11-18.
19. Franklin P, Dingle P, Stick S. Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1757–1759.
20. Krzyzanowski M, Quackenboss JJ, Lebowitz MD. Chronic respiratory effects of indoor formaldehyde exposure. *Environ Res* 1990; 52: 117–125.

21. Agner T, Flyvholm MA, Menne T. Formaldehyde allergy: A follow-up study. *Am J Contact Dermat* 1999; 10: 12–17.
22. Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC. Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. *Arch Environ Health* 1987; 42: 117-120.
23. Malek FA, Möritz KU, Fanghanel J. A study on the effect of inhalative formaldehyde exposure on water labyrinth test performance in rats. *Ann Anat* 2003; 185: 277–285.
24. Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC, Husmark I. An examination of factors that could affect choice reaction time in histology technicians. *Am J Ind Med* 1989; 15: 679–686.
25. Sarsilmaz M, Kaplan S, Songur A, Colakoglu S, Aslan H, Tunc AT, et al. Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study. *Brain Res* 2007; 1145: 157–167.
26. Aslan H, Songur A, Tunc AT, Ozen OA, Bas O, Yagmurca M, et al. Effects of formaldehyde exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: a histopathological and stereological study. *Brain Res* 2006; 1122: 191–200.
27. Zararsiz I, Kus I, Akpolat N, Songur A, Ogeturk M, Sarsilmaz M. Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 237-244.
28. Pitten FA, Kramer A, Herrmann K, Bremer J, Koch S. Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. *Pathol Res Pract* 2000; 196: 193-198.



29. Sorg BA, Bailie TM, Tschirgi ML, Li N, Wu WR. Exposure to repeated low-level formaldehyde in rats increases basal corticosteron levels and enhances the corticosterone response to subsequent formaldehyde. *Brain Res* 2001; 898: 314-320.
30. Sorg BA, Hochstatter T. Behavioral sensitization after repeated formaldehyde exposure in rats. *Toxicol Ind Health* 1999; 15: 346-355.
31. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 2002; 11: 93-100.
32. Restani P, Galli CL. Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. *Crit Rev Toxicol* 1991; 21: 315-328.
33. Blair A, Stewart PA, Hoover RN. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. *Am J Ind Med* 1990; 17: 683-699.
34. Marsh GM, Youk AO, Buchanich JM, Erdal S, Esmen NA. Work in the metal industry and nasopharyngeal cancer mortality among formaldehyde-exposed workers. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007; 48: 308-319.
35. Stroup NE, Blair A, Erikson GE. Brain cancer and other causes of deaths in anatomists. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77: 1217-1224.
36. Feron VJ, Arts JH, Kuper CF, Slootweg PJ, Woutersen RA. Health risks associated with inhaled nasal toxicants. *Crit Rev Toxicol* 2001; 31: 313-347.
37. Shaham J, Gurvich R, Kaufman Z. Sister chromatid Exchange in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res* 2002; 514:115-123.
38. Speit G, Schmid O. Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells. *Mutat Res* 2006; 613: 1-9.
39. Odeigah PG. Sperm head abnormalities and dominant lethal effects of formaldehyde in albino rats. *Mutat Res* 1997; 389: 141-148.

40. Thomson EJ, Shackleton S, Harrington JM. Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res* 1984; 141: 89–93.
41. Itami T, Ema M, Kawasaki H. Teratogenic evaluation of p-tert-butylphenol formaldehyde resin (novolak type) in rats following oral exposure. *Drug Chem Toxicol* 1993; 16: 369–382.
42. Taskinen HK, Kyyrönen P, Sallmén M, Virtanen SV, Liukkonen TA, Huida O, et al. Reduced fertility among female wood workers exposed to formaldehyde. *Am J Ind Med* 1999; 36: 206–212.
43. Taskinen H, Kyyronen P, Hemminki K, Hoikkala M, Lajunen K, Lindbohm ML. Laboratory work and pregnancy outcome. *J Occup Med* 1994; 36: 311–319.
44. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Archives of Environmental Health* 2001; 56: 300–311.
45. Chowdhury AR, Gautam AK, Patel KG, Trivedi HS. Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1992; 36: 162–168.
46. Majumder PK, Kumar VL. Inhibitory effects of formaldehyde on the reproductive system of male rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39: 80–82.
47. Sarsılmaz M, Özen O.A, Akpolat N, Kuş İ, Songur A. Subakut dönemde solunan formaldehitin sıçanların Leydig hücreleri üzerindeki histopatolojik etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1999; 13: 37–40.
48. Sarsılmaz M, Özen O.A. Subkronik dönem boyunca formaldehit soluyan sıçanların leydig hücrelerindeki histopatolojik değişiklikler. *Fırat Tıp Dergisi* 2000; 2: 1–5.

49. Zhou DX, Qui SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl* 2006; 8: 584–588.
50. Ozen OA, Akpolat N, Songur A, Kus I, Zararsiz I, Ozaçmak VH, Sarsilmaz M. Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. *Toxicol Ind Health* 2005; 21: 249–254.
51. Ergen A. Lavanta ve Gül Uçucu Yağlarının Karbondioksit ile Süperkritik Ekstraksiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2003.
52. Koç H. Doğrudan, Doğadan Bitkilerle Sağlıklı Yaşama. 1. Baskı, Ankara: Ümit Ofset, 2002.
53. Lis-Balchin M. Essential oils and ‘aromatherapy’: their modern role in healing. *J R Soc Health* 1998; 118: 126.
54. Anonim (2005). Aromatherapy- History & Modern Use of Essentail Oils. [http://www.spiritual.com.au/articles/healing/aromatherapy\\_krimmer.htm](http://www.spiritual.com.au/articles/healing/aromatherapy_krimmer.htm). Erişim tarihi: 02.03.2005.
55. Buckle RJ. Aromatherapy in the USA. *Int J Aromatherapy* 2003; 13: 42–46.
56. Cooke B, Ernst E. Aromatherapy: a systematic review. *Br J Gen Pract* 2000; 50: 493–496.
57. Tanker M, Tanker N. Farmokognozi. Ankara: Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, Yayın no:65, 1990.
58. Toroğlu S, Çenet M. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metotlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 2006; 9; 12–20.

59. Kürkçüoğlu M. Türk Gül Yağı, Koncreti ve Absolüsünün Üretimi ve Özellikleri. Doktora tezi, Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995.
60. Altıntaş A. Gül Gülsuyu Tarihte, Tedavide ve Gelenekteki Yeri. 1. baskı, İstanbul: Tempo Matbaacılık, 2007.
61. Basim E, Basim H. Antibacterial activity of Rosa damascena essential oil. *Fitoterapia* 2003; 74: 394–396.
62. Rose Oil Info and Uses-Rosa Damascena. Erişim: <http://www.bulgarianroseotto.com/info.html>. 23.01.2008.
63. Boskabady MH, Kiani S, Rakhshandah H. Relaxant effects of Rosa damascena on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 377–382.
64. Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hay AJ. The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from Rosa Damascena. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229: 73–79.
65. Almeida R, Simone CM, Faturib CB, Catallanib B, Leite JR. Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacol, Biochem Behav* 2004; 77: 361–364.
66. Umezu T, Ito H, Nagano K, Yamakoshi M, Oouchi H, Sakaniwa M, Morita M. Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. *Life Sci* 2002; 72: 91–102.
67. Bradley BF, Starkey NJ, Brown SL, Lea RW. The effects of prolonged rose odor inhalation in two animal models of anxiety. *Physiology & Behavior* 2007; 92: 931–938.
68. Wei A, Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 1737–1742.

69. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 2001.
70. Gray H. Gray's Anatomy. 38 th ed. London: Churchill Livingstone, 1995: 1225, 1848–1855.
71. Moore KL. Clinically Oriented Anatomy. 3rd ed., Baltimore: Williams&Wilkins, 1992: 149-152, 853-854.
72. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çeviri Editörü). 9. Baskı, İstanbul: Nobel, 1996.
73. Dere F. Anatomi. 3. Baskı, Adana: Okullar Pazarı Kırtasiye ve Tic. Pazarlama Ltd. Şti., 1994.
74. Tsai PS. Gonadotropin-releasing hormone in invertebrates: structure, function, and evolution. Gen Comp Endocrinol 2006; 148: 48–53.
75. Ata A. Sütçü Sığırlarda Erken Post-Partum Dönemde GnRH Kullanımının Dölverimi Üzerine Etkisi. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi 2000; 26: 375–388.
76. Adams TE. Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals. Anim Reprod Sci 2005; 88: 127–39.
77. Boehm U, Zou Z, Buck LB. Feedback loops link odor and pheromone signaling with reproduction. Cell 2005; 123: 683–695.
78. Schwanzel-Fukuda M, Pfaff DW. Origin of luteinizing hormone-releasing hormone neurons. Nature 1989; 338: 161–164.
79. Wray S. Development of luteinizing hormone releasing hormone neurones. J Neuroendocrinol 2001; 13: 3–11.
80. Kramer PR, Wray S. Nasal embryonic LHRH factor (NELF) expression within the CNS and PNS of the rodent. Brain Res Gene Expr Patterns 2001; 1: 23–26.

- 81.** Clarke IJ, Pompolo S. Synthesis and secretion of GnRH. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 29–55.
- 82.** Parker KL, Schimer BP. Gonadotropin-releasing hormone and gonadotrops. Laurence LB (editor), Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11 th edition, New York. The McGraw-Hill Companies, 2006: 1500–1503.
- 83.** Papalexi E, Persson A, Björkqvist M, Petersén A, Woodman B, Bates GP et al. Reduction of GnRH and infertility in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 1541–1546.
- 84.** Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (çeviri editörü). 9. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2005.
- 85.** Moore KL, Persaud TVN. The developing human, clinically oriented embriyology. Philadelphia: 5 th ed., W.B. Saunders Co., 1993.
- 86.** Şeftalioğlu A. Genel özel insan embriyolojisi. 2. Baskı, Ankara: Ferya Matbaacılık, 1998: 513–531.
- 87.** Satoh M. The histogenesis of the gonad in rat embryos. *J Anat* 1985; 143: 17–37.
- 88.** Satoh M. Histogenesis and organogenesis of the gonad in human embryos. *J Anat* 1991; 177: 85–107.
- 89.** Karl J, Capel B. Sertoli cells of the Mouse testis originate from the coelomic epithelium. *Dev Biol* 1998; 203: 323–333.
- 90.** Tevosian SG, Albrecht KH, Crispino JD, Fujiwara Y, Eicher EM, Orkin SH. Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Development* 2002; 129: 4627–4634.

91. Fraser BA, Sato AG. Morphological sex differentiation in the human embryo: A light and scanning electron microscopic study. *J Anat* 1989; 165: 61–74.
92. Agelopoulou R, Magre S, Patsavoudi E, Jost A. Initial phases of the rat testis differentiation in vitro. *J Embryol Exp Morphol* 1984; 83: 15–31.
93. Jost A, Magre S, Agelopoulou R. Early stages of testicular differentiation in the rat. *Hum Genet* 1981; 58: 59–63.
94. Codesal J, Regadera J, Nistal M, Regadera-Sejas J, Paniagua R. Involution of human fetal Leydig cells. An immunohistochemical, ultrastructural and quantitative study. *J Anat* 1990; 172: 103–114.
95. Kerr JB, Knell CM. The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal rat testis. *Development* 1988; 103: 535–544.
96. Trainer T.D. Histology of the normal testis. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 797-809.
97. Fawcett D.W. A textbook of histology. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1986.
98. Leeson T.S., Leeson C.R., Paparo A.A. Text / Atlas of Histology. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1988.
99. Kuran O. Sistematik Anatomi. 3. Baskı, İstanbul: Filiz Kitabevi, 1993.
100. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. (Çeviri editörü; Prof. Dr. Yener Aytekin). İstanbul: Nobel Kitabevi, 2003.
101. Ross M.H, Romrell LJ, Kaye GI. Histology. A Text and Atlas. 3 rd., Baltimore: Williams&Wilkins, 1995.
102. Tanyolaç A. Özel Histoloji. 3. Baskı, Ankara: Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., 1993.
103. Bortolussi M, Zanchetta R, Belvedere P, Colombo L. Sertoli and Leydig cell numbers and gonadotropin receptors in rat testis from birth to puberty. *Cell Tissue Res* 1990; 260: 185–191.

- 104.** Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 2007; 67: 778–785.
- 105.** Sönmez M, Yüce A, Türk G. The protective effects of melatonin and vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. *Reproductive Toxicology* 2007; 23: 226–231.
- 106.** Sönmez M, Türk G, Yüce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels in male wistar rats. *Theriogenology* 2005; 63: 2063–2072.
- 107.** Til HP, Woutersen RA, Feron VJ, Clary JJ. Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4-week drinking-water study in rats. *Food Chem Toxicol* 1988; 26: 447–452.
- 108.** Woutersen RA, Appelman LM, Wilmer JW, Falke HE, Feron VJ. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in rats. *J Appl Toxicol* 1987; 7: 43–49.
- 109.** Ma TH, Harris MM. Review of the genotoxicity of formaldehyde. *Mutat Res* 1988; 196: 37–59.
- 110.** Feldman MY. Reactions of nucleic acids and nucleoproteins with formaldehyde. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1973; 13: 1–49.
- 111.** Özbey İ. Erkeklerde hipotalamo-hipofizer-gonadal aksın yapısı. *Androloji Bülteni* 2006; 25: 132–137.
- 112.** Golalipour MJ, Azarhoush R, Ghafari S, Gharravi AM, Fazeli SA, Davarian A. Formaldehyde exposure induces histopathological and morphometric changes in the rat testis. *Folia Morphol (Warsz)* 2007; 66: 167–171.



113. Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Wang ZY. Reproductive toxicity of formaldehyde to adult male rats and the functional mechanism concerned. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006; 37: 566–569.
114. Tang M, Xie Y, Yi Y, Wang W. Effects of formaldehyde on germ cells of male mice. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003; 32: 544–548.
115. Henkel R, Maass G, Schuppe HC, Jung A, Schubert J, Schill WB. Molecular aspects of declining sperm motility in older men. *Fertil Steril* 2005; 84: 1430–1437.
116. Ozen OA, Yaman M, Sarsilmaz M, Songur A, Kus I. Testicular zinc, copper and iron concentrations in male rats exposed to subacute and subchronic formaldehyde gas inhalation. *J Trace Elem Med Biol* 2002; 16: 119–122.
117. Ozen OA, Songur A, Sarsilmaz M, Yaman M, Kus I. Changes of zinc, copper and iron levels in the lung of male rats after subacute (4-week) and subchronic (13-week) exposure to formaldehyde. *J Trace El Exp Med* 2003; 16: 67–74.
118. Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N, Pekmez H, Yılmaz HR, Sarsılmaz M. Formaldehit maruziyeti sonucu sıçan akciğerinde oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi: Işık mikroskopik ve biyokimyasal çalışma. *Van Tıp Dergisi* 2004; 11: 105–112.
119. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, Özdem Türkoğlu A, Pekmez H, Sarsılmaz M. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004; 13: 1–7.
120. Kuş MA. Sıçanlarda formaldehit maruziyetiyle testislerde oluşan morfolojik değişiklikler üzerine melatonin hormonunun koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.

121. Atessahin A, Sahna E, Türk G, Ceribaşı AO, Yılmaz S, Yüce A, Bulmuş O. Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats. *J Pineal Res* 2006; 41: 21–27.
122. Roberto G, Maratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem* 2000; 69: 167–174.
123. Grammer K, Fink B, Neave N. Human pheromones and sexual attraction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118: 135–142.
124. Stowers L, Marton TF. What is a pheromone? Mammalian pheromones reconsidered. *Neuron* 2005; 46: 699–702.
125. Broughan C. Odours, emotions, and cognition - how odours may affect cognitive performance. *International Journal of Aromatherapy* 2002; 12: 92–98.
126. Joensen UN, Jørgensen N, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Testicular dysgenesis syndrome and Leydig cell function. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102: 155–161.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

13.03.1978 tarihinde İskenderun'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İskenderun'da tamamladım. 1994 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2001 yılında mezun olduktan sonra 2002–2003 yıllarında Elazığ ili Ağın ve Keban ilçelerinde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2003 yılı Nisan dönemi TUS sınavında başarılı olarak, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında uzmanlık yapmaya başladım.

Evli, bir çocuk sahibiyim.