

44451

**GIDA RENKLENDİRİCİLERİNDEN
ERİTROSİN'İN TERATOJENİK ETKİLERİ VE ATOPIK
HASTALIKLARIN ETİYOLOJİSİNDEKİ ROLÜ**

Onur KILIÇCIOĞLU

Osmangazi Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Erineç ARAL

OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak, 1995

KABUL VE ONAY SAYFASI

Onur KILIÇCIOĞLU'nun Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "Gıda Renklendiricilerinden Eritrosin'in Teratojenik Etkileri ve Atopik Hastalıkların Etiyolojisindeki Rolü" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

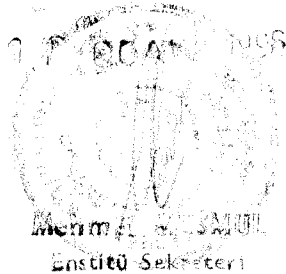
29.03.1995

Üye: Doç. Dr. Ergin ACIKALIN (Üye)

Üye: Prof. Dr. Refik SOYLU (Üye)

Üye: Y. Doç. Dr. Erinc ARAL (Danışman)

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31.03.1995 gün ve 30.1/694 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Gıda katkı boyaları, günlük yaşamımızın vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. Yediğimiz yiyeceklerde, kullandığımız ilaç ve kozmetiklerde, pekçok içerde farkında olmasak da katkı maddeleri ile karşılaşmaktayız. Bu tip maddelerin, görünüş güzelliği sağlaması ve ürünü koruyucu özellikleri olmasının yanında, bir kimyasal olmasından kaynaklanan zararlı etkileri de bulunmaktadır. Çalışmamız; renklendiricilerin gebeler tarafından da tüketildiği düşünülerek planlanmıştır.

Eritrosin (FD&C Red No.3, di sodium salt of 2,4,5,7-tetraiodofluorescein); yiyeceklerde, ilaçlarda ve kozmetiklerde sıkça kullanılan bir renk katkı maddesidir. Yapılan çalışmalar; gıda katkı maddelerinden bazılarının, kısa ve uzun süreli kullanımına bağlı olarak, potansiyel karsinogen, toksik, teratojenik etkilerinin olduğunu göstermiştir. Eritrosinin de, tümör destekleyicisi ve akut bir toksisiteye sahip olduğu belirtilmektedir. WHO/FDA tarafından önerilen, eritrosinin günlük kabul edilebilir dozu 100 ppm'dir. Türkiye'de eritrosinin kullanımına; hakkındaki araştırmalar sonuçlanana dek geçici olarak izin verilmiştir. Renklendiriciler ayrıca besin intoleransına bağlı olarak, allerjik reaksiyonlara da neden olmaktadır.

Kontrol ve eritrosin verilen grup olmak üzere, iki farklı grup olarak planladığımız araştırmamızda, eritrosin 17 Wistar-albino rata gebeliklerinin 7-8-9-10 ve 11. günlerinde 2 mg/ml olarak hazırlanmış ve bu çözeltilerden 5 ml alınarak gavaj yolu ile verilmiştir. Pozitif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. Genetik inceleme için, eritrosin verilen annelerin fetuslarından alınan doku örnekleri birinci aşamada incelenirken, ikinci aşamada annelerinde eritrosin kullanılmamış fetusların, doku örneklerinden hazırlanan kültürlerle 0.1 mg/ml, 1 mg/ml ve 10mg/ml dozlarında eritrosin eksojen olarak verilerek incelenmiştir.

Gebeliklerinin 20. gününde servikal dislokasyonla öldürülen annelere uygulanan laparotomi sonrasında; implantasyon ve rezorpsiyon alanları, fetal ölüm, major malformasyonlar, fetus boy ve ağırlığı yönünden ilk incelemeleri yapıldı. Ölçümlerde istatistiksel bir anlamlılık yoktu. Plasenta ağırlıklarında yapılan ölçümlerde istatistiksel bir anlamlılık gözlenirken, fetus gelişme geriliği ile bir korelasyon yoktu.

Fetusların rutin histolojik takip ve H&E ile boyanmış preparatlarında, ışık mikroskopik incelemeleri yapıldı. Ayrıca; fetus deri kesitleri Toluidine Blue ile boyanarak, mast hücreleri incelendi. Yapılan incelemelerde, sadece eritrosin verilen grubun fetus deri kesitlerinde mast hücreleri sayısında belirgin bir artış ve eksositoz gözlemlendi. Elde edilen bu bulgu, istatistiksel olarak da anlamlıydı ($U=12$ $p<0.01^{**}$).

Genetik incelemeye alınan örneklerde her iki grupta da kromozomal değişime rastlanmazken, eksojen olarak eritrosin eklenen kültürlerde doza bağımlı olarak hücre sayısının ve canlılığının belirgin derecede azaldığı gözlemlendi. Bu hücrelerde vakuolizasyon dikkat çekici idi.

Araştırmamız sonucunda, kullandığımız eritrosin dozlarının; önemli gelişme bozukluklarına neden olmadığı görülmesine rağmen, derideki mast hücrelerini sayıca arttırmıştır. Eritrosinin daha önceki araştırmaların doğrultusunda, atopik hastalıklara neden olan faktörlerden birisi olabileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca tüm bu bulgular dışında eksojen eritrosin uygulanan kültürlerdeki aşırı kontaminasyon; gıda sektörünün bu konuda uyarılmasına gereksinim olduğunu vurgulamaktadır.

SUMMARY

Food additives and colors are an extensively used practice in the present time. Without knowing the presence of them in foods, drugs, cosmetics and liquids we consume food colors. Colors are added to foods and beverages to compensate for color lost during processing and to enhance their eye appeal but they may have adverse effects because of their chemical origin. We designed the study in the fact that these colors may be being used by pregnant women.

Erythrosine (FD&C Red No. 3, di sodium salt of 2,4,5,7-tetraiodofluorescein); is used extensively as a color additive in foods, drugs and cosmetics. Previous studies have shown that some of the food additives, depending of their long term and short term use, have potential carcinogenic, toxic and teratogenic effects. It has been proposed that erythrosine may cause acute toxicity and it has a tumor inducer property. The WHO/FDA recommends an acceptable daily intake of 100 ppm for this food additive. In Turkey this color has temporary permission of use until studies are completed about it. In addition food colors may cause allergic reactions due to food intolerance.

In our study 17 pregnant rats are divided into two groups: Control and erythrosine group. 7 Wistar-albino rats were administered 5 ml erythrosine (2 mg/ml) by gavage at 7-8-9-10 and 11th days of their pregnancy. 10 rats in positive control group are given distilled water by gavage. For genetic examination fetal eye, skin and fascia tissue specimens from rats given erythrosine during pregnancy were used and culture of fetal tissue specimens treated with 0.1 mg/ml, 1 mg/ml and 10 mg/ml dosage of exogenous erythrosine were used. This rat were not given erythrosine during pregnancy.

At 20th day of pregnancy, pregnant rats in both groups killed by cervical dislocation and laparotomy applied. All specimens are examined for implantations and resorption

areas, fetal death, major malformations, fetal weight and height. There was no statistical difference between groups. Although placental weight measurements showed statistical difference, there was no correlation with fetal retardation.

Routine fetal histologic studies and light microscopic examination of the sections dyed with H&E was applied. Mast cells are examined in the fetal dermal sections dyed with Toluidine Blue. In erythrosine group the number of mast cells were increased and there was an exostosis. This was statistically significant ($U=12$ $p<0.01^{**}$).

While there was no chromosomal change in both groups, the number and vitality of the cells were significantly lower in the exogen erythrosine given culture appropriate to dosage.

Our study showed that erythrosine did not cause any developmental disorders but increased the number of the mast cells in the fetal skin. With respect of the previous studies we think that erythrosine may be one of the cause for atopic diseases. In addition to this the high contamination in exogen erythrosine cultures may prove that food sector should be wormed about this matter.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iii
İÇİNDEKİLER	v
TEŞEKKÜR	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1 . GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 . GENEL BİLGİLER	3
2.1. GIDA KATKI MADDELERİ-RENKLENDİRİCİLER	3
2.2. ATOPIK HASTALIKLAR ve ETİYOLOJİ	7
2.2.1. Hipersensitivite ve Atopi	7
2.2.2. Astma	9
2.2.3. Allerjik Astma	10
2.3. BAZI RENKLENDİRİCİLERİN TERS ETKİLERİ ve MEKANİZMALARI	11
2.4. TOKSİK MADDELER ve ETKİ MEKANİZMALARI	12
2.4.1. Genotoksik Etki	13
2.4.2. Kanserojenik Etki	14
2.4.3. Teratojenik Etki	14
2.4.3.1. Konjenital malformasyonlar	14
2.4.3.2. Teratojenler	16
2.4.3.3. Embriyonun gelişme dönemlerine göre teratojene duyarlılığın değişmesi ve etkileri	17

2.4.3.4. Teratojen etkiyi değiştiren faktörler	19
2.4.3.5. Teratojenik mekanizmalar	20
2.5. BİR RENK KATKISI OLARAK ERİTROSİN	21
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	23
3.1. TEST MATERYALİ	23
3.2. HAYVANLARIN SEÇİMİ ve BAKIMI	23
3.3. DENEYSEL İŞLEMLER	23
3.3.1. Histoloji	24
3.3.2. Genetik	24
4. BULGULAR	26
4.1. BİRİNCİ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI	26
4.2. İKİNCİ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI	31
4.3. ÜÇÜNCÜ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI	31
4.4. DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI	35
4.4.1. Kontrol Grubu ve I. Deney Grubu (Endojen Eritrosin)	35
4.4.2. II. Deney Grubu (Eksojen Eritrosin)	35
5. TARTIŞMA	36
RESİMLER	47
KAYNAKLAR	62

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimi hazırlamam sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç.Dr. Ergin AÇIKALIN'a, diğer hocalarıma ve danışmanım Sayın Yrd.Doç.Dr. Erinç ARAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin yazımında yardımcı olan Sayın Vedat ŞENGÜNEŞ'e ve her türlü desteği, hoşgörüyü gösteren tüm yakınlarıma da teşekkür ederim.

KISALTMALAR DİZİNİ

Ig-E	: İmmunglobülin - E
WHO	: World Health of Organization
FDA	: Food and Drug Administration
FD&C	: Food, Drug & Cosmetic
C. I.	: Color Index
E.E.C.	: European Economic Community
DNA	: Deoksiribonükleik asit
m-RNA	: haberci - ribonükleik asit
t-RNA	: taşıyıcı - ribonükleik asit
A.B.D.	: Amerika Birleşik Devletleri
M.S.S.	: Merkezi Sinir Sistemi
ATP	: Adenozintrifosfat
USFDA	: United States of Food and Drug Administration
gr	: gram
ml	: mililitre
mg	: miligram
i.v.	: intra venöz
SCES	: Sister chromatid exchanges
H&E	: Hematoxylin & Eosin

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılı Eskişehir doğumluyum. 1982 yılında Eskişehir Reşat Benli İlkokulu'ndan, 1985 yılında Eskişehir Osmangazi Ortaokulu'ndan, 1988 yılında da Eskişehir Ahmet Kanatlı Lisesi'nden mezun oldum. 1988-89 öğretim yılında, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. 1991-92 öğretim yılında, bu bölümden mezun oldum. 1992-93 öğretim yılında Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans sınavını kazandım. 1994 yılında Osmangazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu'nun açtığı Araştırma Görevlisi sınavını kazanarak, göreve başladım. Halen aynı yerde, görevime devam etmekteyim.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Besinlerde, ilaçlarda ve kozmetiklerde kullanılan katkı maddelerinden renklendiricilerin, İ.Ö. 5000 yılından beri kullanıldıkları bilinmektedir. Günümüz koşullarında ise bu maddeler, güzelliğinden her gün birşeyler yitiren dünyamızda, besin sanayiinin gelişimine paralel olarak, teknolojinin yaşamımıza kattığı vazgeçilmeyen maddelerdir (2,35).

Besinleri korumak, daha lezzetli kılmak ve görünümelerini güzelleştirmek amacıyla eklenen gıda katkı maddeleri, değişik mekanizmalarla ürtiker, anjionörotik ödem ve anafilaktik şok gibi reaksiyonlara neden olmaktadır (2,43).

Gıda renklendiricilerinden eritrosinin ayrı ayrı incelendiği araştırmalarda, kronik uygulamada olumsuz bir etkisinin olmadığı, ancak düşük bir akut toksisiteye neden olduğu belirtilmektedir (9,46,47,57).

Gıda renklendiricileri doğal, sentetik, asidik, nötr veya bazik olabilir. Yüzlerce renklendirici olmasına karşın, besinlerde pek azı kurallara uygun olarak kullanılmaktadır (24,67).

Ülkemizde ise Gıda Katkı Madeleri Yönetmeliği ve bu yönetmeliğe uyma zorunluluğu olmasına karşın, tüketiciye sunulan pek çok tüketim maddesinin yönetmeliğe uygun olarak kullanılmadığı bilinmektedir. Gıda katkı maddelerinden bazılarının, kısa ve uzun süreli kullanımına bağlı olarak, potansiyel karsinogen, toksik, teratojenik etkileri bulunmaktadır. Teratojenik etkiler, embriyonun gelişim devrelerine uyumlu olarak değişmekle beraber, doğacak bebekleri büyük bir riske sokar (6,9,13,14,20,33,36,46,-47,48,57,71,73).

Besin allerjileri olarak tanımlanan ve genelde insidansı %0.3-0.7, bazen %2.7'lere varan immunolojik ve nonimmunolojik mekanizmalarla oluşan anormal tablolar, dikkat çekicidir. Allerji şikayetleri olan kişilerin sayısında artış olması, sürekli tüketilen katkı yiyeceklerin, faktörlerden biri olabileceğini düşündürmektedir (5,26,70).

Ekzema, astma, rinit, hipertrofik sinüzit, ürtiker ve migren gibi.. birbirleri ile ilişkili görülmeyen, ancak ortak yönleri olması nedeni ile aynı grupta toplanan hastalıklar "atopik hastalıklar" olarak adlandırılır. Atopik hastalıklarda ortak yön; bazofil lökositler ile mast hücrelerinden mediyatör salınımı ve çoğu kez hipersensitiviteye bağımlı olmayan nonimmunolojik mediyatör salınımının artmasıdır. Mast hücreleri granüller içerirler. Bu granüllerde, heparin ve bazı önemli inflamasyon mediyatörleri (asid mukopolisakkaritler, histamin, bradikinin, serotonin, lökotrienler, eozinofil kemotaktik faktör, peroksidaz...) bulunduğu gösterilmiştir. İnsanda en az iki tipte, farklı mast hücresi bulunduğu belirtilmektedir. Bağ doku mast hücreleri, vücudun her yerinde yaygın olarak bulunurlar. Mukozal mast hücreleri ise, akciğer ve barsak mukozasında yer alırlar. Mast hücrelerinde fagositik aktivite yoktur. Bu hücreler sinirler aracılığı ile uyarılabilirler ve bu yoldan histamin ve diğer mediyatörlerini sentezleyip, ortama verebilirler. Mast hücreleri, yüzey reseptörleri aracılığı ile IgE bağlayabilirler. Bu özelliklerinden dolayı, anafilaktik allerjinin majör hücreleridir (2,4,5,25,32,43,63,64,70).

Kimyasal maddeler embriyonun gelişmesini etkileyerek bir veya birden fazla organ sisteminde bozukluklara yol açarlar. İnsanlarda oluşan konjenital malformasyonların %1-5'inin ilaç ve kimyasal maddelerle ilgili olduğu hesaplanmıştır.

WHO/FDA'nın izin verdiği limit eşik değer sınırları içerisinde kullanılan yada kullanımına geçici olarak izin verilen gıda katkı maddeleri dikkatsizce ne olur? Özellikle Türkiye'de tüketiciye sunulan pek çok tüketim maddesinin, kontrolsüz ve hijyenik olmayan, son derece ilkel koşullarda üretildiği bilinmektedir.

Çalışmamızda, besinlere kırmızı renk kazandıran eritrosinin fetus üzerindeki etkilerini teratojenik, atopik ve genotoksik düzeyde incelemeyi amaçladık. Araştırmamızın tüketici sağlığı, özellikle anne ve bebek sağlığını koruma yönünde katkısı olacağı inancındayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GIDA KATKI MADDELERİ-RENKLENDİRİCİLER

Günümüz teknolojisinde, gıda katkı maddelerinin gıda endüstrisinde çok yaygın kullanılır bileşikler haline gelmiştir. Endüstrileşme ile katkı maddelerine her geçen gün bir yenisi eklenmektedir (9,20,53).

Gıda katkı maddelerinin, resmi gazete tanımı şu şekildedir: Normal şartlarda tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya tipik gıda ana bileşeni (ingrediyen) olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan/olmayan ve gıdanın üretilmesi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında teknolojik amaçla veya beklenen sonucu elde etmek için, mamule ya da bir komponentini elde etmek için yan ürüne, doğrudan veya dolaylı olarak ve bilinerek katılan maddelere; “Gıda Katkı Maddeleri” denir (Resmi Gazete, 7 Haziran 1990).

Gıda katkı maddelerinden renklendiriciler, *günümüz modern dünyasının* vazgeçemediği maddelerdir. Boya ve pigmentler; gıdaların üretimi sırasında, işlenme ve depolanma sürecinde oluşabilecek renk kayıplarını gidermek, gıda çekiciliğini arttırmak için, yiyecek ve içeceklere eklenirler. Özellikle besinlerin renkli olmaları, tüketimi arttırıcı bir etkidir. Besinlere, ilaçlara ve kozmetiklere katılan renklendiricilerin, İ.Ö. 5000 yıllarından beri kullanıldığı bilinmektedir. Dünyada halen 100.000 kadar değişik boya maddesinin, yaklaşık 800.000 farklı tonunun bulunduğu hesaplanmıştır (6,14,35,42).

Renklendiriciler başlıca şekerlemelere katılır. Şekerlemelerde, daha cazip hale getirmek için kullanılan renklendiricilerin, gıda tüzüğüne uygun olması koşulu aranmaktadır. Hileli kullanılan renklendiricileri, tüzük engeller. Domates salçası, pasta,

meyva suları, dondurma ve benzeri ürünlerde ise, doğal renklendiricilerin kullanılması gerektiğinden; sentetik renklendiriciler sakıncalıdır (11,13,14,20,42,48).

Gıda renklendiricileri; 1923 yılında ilk olarak İngiltere’de Sağlık Bakanlığının görevlendirdiği bir komite tarafından değerlendirildi. Bu komitenin amacı; gıda renklendiricilerinin sağlığa zararlı olup-olmadığını, eğer zararlı ise; bunun hangi dozda gerçekleştiğini bulup, ilan etmektir. Komitenin sonuçları bildirdiği raporunda; renklendiricilere numaralar verildi ve zararlı olanların yiyeceklerde kullanımı yasaklandı (11,67).

1960’lı yılların başından itibaren, gıda renklendiricileri üzerinde toksikolojik testlerle çalışılmaktadır. Bu amaçla FDA (Food and Drug Administration), tüketici sağlığı açısından toksikolojik araştırmalara girerek, alınan sonuçlara göre miktarları yeniden düzenlemiştir. “Sertifikalı ve Sertifikasız Renk Maddeleri” adı altında iki ana grupta toplanan renk katkılarının yasal tanımı ve sınıflandırılması yapılmıştır. Sertifikalı (onaylı) renk maddelerinin, gıdalarda kullanılma miktarlarına göre, zararlı ve zararsız olduğuna dair limitler saptanmıştır. Renk katkılarına “sıfır toksisite”de olmaları şeklinde, ikinci bir kısıtlama getirilmiştir (14,67).

Bir renklendirici, genel olarak bir organik maddedir. Birçok bitkide bazı doğal renklendiriciler bulunur. Son zamanlarda doğal renklendiricilerin yerini; hemen hemen sentetik renklendiriciler almıştır. Sentetik organik renklendiricilere “maden kömürü katranı boyaları” denir (42,67).

Gıda renklendiricilerini üç sınıfa ayırabiliriz:

1- Kömür katranı renklendiricileri

- a) İzin verilmiş, suda çözünen asidik renklendiriciler ve yağda çözünen asidik renklendiriciler
- b) İzin verilmemiş, suda çözünen asidik veya bazik renklendiriciler ve yağda çözünen renklendiriciler

2- Doğal veya bitkisel renklendiriciler

3- Madeni renklendiriciler

Son iki grup, genellikle “pigmentler” adını alır. Sentetik kömür katranı renklendiricileri, geçen yüzyılın ortasından beri bilinmektedir ve bunlardan bazılarının

zehir karakterleri olduğu, daha 1858'te anlaşılmıştır. Bununla birlikte doğal renklendiriciler de, gıdalara katılmadan önce g6rdükleri işlem esnasında kontamine olabilirler. Bu nedenle, bir renklendiricinin bitkisel ve hayvansal kaynaklardan elde edilmesi, onun saf olduğu garantisini vermez (Keskin, H., 1990).

K6mür katranı renklendiricileri gelişigüzel kullanılmazlar. Amerika'da hükümetçe kullanılmalarına izin verilenler "Sertifikalı (onaylı) boyalar" adını alırlar. Yani; imalatçı tarafından verilen uygun örnekler, FDA'nın belirlediği koşullara göre kimyasal, biyokimyasal, toksikolojik ve tıbbi analizlere tabi tutularak, renklendiricinin zararlı maddeler içerip içermediği saptanır (Keskin, H., 1990).

Genellikle sentetik k6mür katranı renklendiricileri, tekstil sanayinde veya başka ticari amaçlar için sentez edilirler. Hemen hemen bütün renklendiriciler, üretimleri esnasında mutlaka sülfat asit veya nitrat asidi ile işlemlendirilir ki; bunların her ikisi de genellikle arsenik ile muamele edilmiştir. Hatta bu şekilde, arsenikle işlemlendirilmiş sülfat asidi ve ticari glikozla yapılan biradan zehirlenme olduğu görülmüştür. Renklendiricilerin üretiminde kullanılan kaplardan da, tehlikeli bileşikler geçebilir. Buna karşı, özel ağaç, cam, emaye kaplar kullanmakla tedbirler alınmıştır (Keskin, H., 1990).

Zararsız renklendiricilerin de saflık standartlarının saptanması gereklidir. Klinik, tıbbi, fizyolojik, biyolojik, kimyasal, fizikokimyasal testlerle, güvenli olanların belirlenmesi gereklidir. Bu iř, Amerika'da FDA tarafından yürütölmektedir. Zararlı maddelerden arındırılan renklendiriciler, FD&C renklendiriciler olarak indekslenir. Bunlarda arsenik, As_2O_3 olarak %0.00014, kurşun %0.001'den fazla olamaz (Keskin, H., 1990).

Yiyeceklerdeki renklendirici maddeler; doğal, sentetik, asidik, nötr veya bazik olabilir. Aynı zamanda çoğunlukla yağda veya suda ç6zünebilir olarak sınıflandırılabilirler. Tanımlama öncesi, yiyecekten izole edilmelidirler. İzolasyon; yün üzerine boyama, quinoline çıkarımı, polyamide kolonu kullanımı, kromatografik yöntemler, spektral absorpsiyon testleri ile olabilir (24,42).

Doğal ya da sentetik renklendiricilerden, özellikle gıdalarda kullanılanlar üzerinde Hueper'in 1956'da yaptığı çalışmalar; bu bileşiklerin potansiyel karsinojen olabileceklerini ortaya çıkarmıştır. 1956'dan beri, renklendiricilerin karsinojenik, mutajenik, toksikolojik

özelliklerine ait çalışmalar süregelmektedir (6,35,36,46,47,57).

Belli bir renk, genelde değişik üreticiler tarafından, değişik isimlerle anılır. Her renklendirici, kendi C.I. (Color Index) numarası ile diğerlerinden ayrılır. İzin verilen renklendiriciler, EEC (European Economic Community) tarafından belirlenen ve E. 100'den başlayan numaralara sahiptirler. Kullanımına izin verilen renklendiricilere harfler ve numaralar verilmiştir (24,67).

Örn; FD&C Blue No.1; renklendiricinin yiyecek (Food = F), ilaç (Drug = D) ve kozmetikler (Cosmetic=C)'de kullanılabileceğini gösterir (24,67).

Bazı ülkeler, kullanılmasına izin verilen ya da yasaklanan renklendiricilerin listesini belirtmekte, bazıları ise yapay renklendiricilerin besin maddelerinde kullanımlarını kesinlikle yasaklamaktadır. Ülkemizde bu konuya 6 Mart 1988 tarih ve 19746 numaralı Resmi Gazete'de yayımlanan "Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği" ile yeni bir düzenleme getirilmiştir. Bu yönetmeliğin geçici 3. maddesi, birtakım renklendiricilerin kullanımına, haklarındaki araştırmalar sonuçlanana dek, geçici olarak izin verilmiştir. Yine 7 Haziran 1990 tarih, 20541 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan yönetmelikte; xylitol, sunset yellow, tartrazin, patent blue V, ponceau 4R, butylated hydroxyanisol (BHA), butylated hydroxy toluen (BHT), dodesil gallat, oetil gallat, antocianin, erythrosine, sıvı parafin'e; bu konudaki araştırmalar sonuçlanana dek, geçici olarak izin verilmiştir (35,67).

1974'ün ilk yarısında, İsveç'te gıda katkısı olarak kullanılan renklendiricilerin kullanımı hakkında yoğun tartışmalar oldu. FDA; bir renk raporu çıkararak yeni düzenlemeler getirmiştir. Renk maddelerinin toksisite ve karsinojenik özellikleri incelendiğinde, her zaman güvenilir olmadıkları görüldü. Bundan dolayı metabolizmaları ve özellikleri hakkında, sürekli araştırmalara halen gereksinim vardır (20,48).

Hayvan toksisite testleri, insandaki kullanıma uygun gıda ve renk katkılarını belirlemek yönündedir. Bu testlerin herbirindeki amaç; insanda toksik etkilere neden olan potansiyelin; katkı maddelerine bağlı olup olmadığını belirlemek ve kullanıma uygun miktarları tanımlamaktır. Bu kalitatif ve kantitatif çalışmalarda, toksikologlar, genelde iki tahminde bulunurlar:

1- Hayvanlarda görülen toksik etkiler, insanlarda da risk noktasında olabilir.

2- Doz-cevap ilişkisi, derecesi, başlangıç zamanı, toksikolojik etkilerin sürekliliği; dozla ilgilidir ve doz artırıldıkça, test hayvanlarındaki gözlenen toksik etkiler de artacaktır (8,53).

Bu konudaki farmakolojik çalışmalar; absorpsiyon, yayılma, metabolizma ve ekstrezyonları yönündedir. İn vivo çalışmalarda da; biyokimyasal, fizikokimyasal ve enzim sonuçları belirlenmiştir. Sonuçta; bu maddelerin güvenlilik sınırları belirlenmiştir. Yapılan hayvan çalışmaları; gıda ve renk katkılarının toksisite sınırlarını belirlemede oldukça önemlidir. Bundan dolayı; toksisite çalışmaları iyi planlanmalı ve doğru anlamlandırılmalıdır (8,53).

Hayvanlarda ilaçların teratojenik testleri için, uluslararası raporlarda genel olarak kabul edilen teratojenik etkilerde üç kriter vardır:

- 1- Malformasyonun tipi ve artış frekansı
- 2- Fetal ölümlerin frekansındaki artış
- 3- Fetus gelişme geriliğindeki artış (8,48).

2.2. ATOPIK HASTALIKLAR ve ETİYOLOJİ

2.2.1. Hipersensitivite ve Atopi

Organizmanın yabancı bir madde ile karşılaştığında, kazandığı değişik şekilde reaksiyon verme yeteneğine “allerji” denir. Bu olayda antikor yapımına neden olan ve oluşan antikorla spesifik reaksiyonlara giren maddelere “antijen” adı verilir. Oluşan bir seri immun reaksiyon, doku zedelenmelerine yolaçan immunopatolojik reaksiyonlar şeklinde de olabilir. Bunlara ise “aşırı duyarlılık reaksiyonları-hipersensitivite” denir. Antijenin, antikor veya immunokompetan lenfositlerle birleşmesi ile başlayan reaksiyonlar zincirinde, bu birleşme mast hücresi veya bazofil lökosit yüzeyinde olursa, mediyatör salınımı başlar. Salınan mediyatörler vasküler ve diğer düz kasların kontraksiyonu, inflamatuvar hücrelerin kemotaksisi gibi mekanizmalar aracılığı ile fizyopatolojik değişikliklere neden olur (2,43,70).

Mast hücreleri veya bazofil lökositlerin yüzeyine Fc parçası ile tutunan spesifik

antikorların (IgE ve IgG4) antijen ile birleşmesi sonucunda ortaya çıkan mediyatörlerin, anafilaktik tipte reaksiyon (erken aşırı duyarlılık) oluşturduğu bilinmektedir. Oluşan anafilaktik reaksiyon ise; “sistemik anafilaksi” ve “atopik allerji” şeklinde iki ayrı grupta toplanmaktadır (5,15).

Atopinin nedeni; immun sistemin primer bozukluğu, diğer efektör dokuların etkilenmesi, otonomik dengenin primer bozukluğu ile β -adrenoreseptörler aracılığı ile antikor üretiminden sorumlu hücrelerin etkilenmesi şeklinde yorumlanır (Bilgehan, H., 1989).

Atopik hastalıklarda oluşan reaksiyonların mekanizmalarının anlaşılmasındaki ilk aşama, mast hücreleri ve olaya katılan diğer hücrelerin mediyatör salınma mekanizmaları olmalıdır.

Mast hücreleri ve bazofil lökositlerin yüzeyinde IgE ve IgG'ye ait reseptörler vardır. IgG reseptörleri, IgE'ye oranla düşük afinitelidir. Bu reseptörler aktive olduklarında, mediyatörler salınır. IgE seviyesi düşük-normal kişilerde uygun reseptörlerin sayısı az, IgE seviyesi yüksek-atopik hastalarda ise; reseptör sayısı fazladır. Mast hücreleri ve bazofil lökositlerden histamin ve diğer mediyatörlerin salınması, nonsitotoksik olan, serum ya da kofaktörler gerektirmeyen bir olaydır. Bu reaksiyonlarda, iki değerlikli katyonlar görev alır. Hücre içinde granüllerde bulunan mediyatörler, degranülasyonla salınır (2,15,19,21,23,27,43,70).

Mast hücreleri 1877 yılında Paul Ehrlich tarafından tanımlanmış hücrelerdir. Gevşek bağ dokusunda çapları 3.5 - 24 μ m arasında değişen, yuvarlak ya da oval görünümlü hücrelerdir. Sayıları fazla olup, nadir olarak uzantılar gösterebilir. Sitoplazmalarında çok sayıda bazofilik granüller bulunur. Genellikle lobulasyon göstermeyen nükleusları vardır. Labrosit olarak da tanımlanırlar. Granüllerinde sülfatlı mukopolisakkaritlerin bulunması, bu hücrelerin bazı bazik anilin boyaları ile metakromazi göstermelerinin nedenidir. Granüller histamin, heparin, serotonin, prostoglandinler gibi mediyatörleri içerir. Plazma membranlarında bulunan reseptörleri aracılığı ile antijenik uyarıda bir seri reaksiyon sonucu, degranüle olurlar. Salınan histamin, heparin, diğer sülfatlı proteoglikan ve proteazlar nörotransmitterleri, bazı nöropeptidleri, lektinleri, sitokinleri, kompleman sistemini ve lenfokinleri harekete geçirir. Degranülasyon olayı sadece IgE'ye bağımlı

olarak gelişmez. Mekanik ya da kimyasal travma, sıcaklık, radyasyon, toksinler, safra tuzları, morfin, doku ekstreleri degranülasyonu başlatabilir. Degranülasyon ile hücrede haraplanma olmaz ve yeniden granül oluşturulur. Işık mikroskopik düzeyde de salgılama olayı gözlenebilir (2,18,22,29,32,43,44,50,65,69,70,77).

Mast hücreleri bağ dokusunda, kan ve lenf damarları çevresinde, ya tek tek ya da gruplar halindedir. Sinirlerin yakınında ve organ kapsüllerinde, genel olarak antijenlerin giriş yollarına yakın deri, gastrointestinal sistem, solunum yollarında epitelin altında yer alırlar. Kemik iliği ve lenfatik dokularda minör komponenttirler. Fibröz kapsül, periton, plevra sıvısında da rastlanırlar. Bazı türlerde epitel içinde görülebilirler. İnflamasyonda, bulunduğu bölgelerde salgıladığı mediyatörlerle değil, nötrofiller gibi hücrelerin bu bölgeye göçü ya da tersine nötrofil stimülasyonu ile histamin salınımını artırması ile de etki eder (12,19,21,23,27,32,50,62,69,70,72,77).

Mast hücrelerinde sekresyonun hangi aşamada olduğu, ışık mikroskopik düzeyde belirlenebilir. Metakromazinin soluk olması, sitoplazmada tek tek granül görülmesi, doku içine mediyatör yayılması, yüzeyin kısmen düzgünlüğü degranüle sonrası görünümüdür. Eksositoza hazır durumda ise; koyu metakromazi, düzensiz bombeli dış yüzey ile bol granül görülmektedir (1,21,23,32,50,69,70,77).

Atopik hastalıklarda, mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olan allerjenle karşılaşma ve stres gibi faktörler etkilidir. Örneğin ürtiker, atopik astma, migrende besin intoleransı ve bu gıdaların alınımı ile sıkıntı ve sevinç gibi psişik olaylar önemlidir. Bunların yanısıra histamin, serotonin, prostoglandinler de rol oynamaktadır (16,19,27,-32,45,52,56,58,60,62,70).

2.2.2. Astma

Son zamanlarda, astmanın kronik bir inflamatuvar hastalık olduğu ve hava yollarında toplanan değişik inflamatuvar hücrelerden salgılanan ürünlerin patolojik ve klinik özelliklerden sorumlu oldukları belirlenmiştir. Astmalıların hava yollarında toplanan en yoğun inflamatuvar hücre eozinofiller olduğundan, astma “Kronik Deskuamatif Eozinofilik Bronşit” olarak da tanımlanmaktadır. Değişik uyaranlarla inflamatuvar

hücrelerden salgılanan çok sayıdaki mediyatörler, hedef hücreleri aktive ederler ve böylece bronkokonstrüksiyon, mukoza ödemi, mukus hipersekresyonu ve nöral reflekslerin uyarılmasına neden olurlar. Hava yolu epitel hücrelerinin hasarlanması ile birlikte bulunan kronik hava yolu inflamasyonu bütün astmalılarda mevcuttur. Bulgular, bu inflamatuvar değişikliklerin, astmanın göstergesi olarak kabul edilen, bronş aşırı duyarlılığına temel olduğunu göstermektedir. İnflamatuvar mediyatörlerden başka, astma patogeneğinde nöropeptidler de tartışılmaktadır. Sinirlerden ve endokrin hücrelerden salgılanan nöropeptidler; sirküler hormonlar, lokal regülatörler veya nörotransmitter olarak fonksiyon görürler. Akciğerlerde çok sayıda tespit edilen regülatör peptidlerden bazıları nörotransmitter fonksiyonu göreyek, nöral refleksleri oluşturarak veya inflamatuvar hücrelerle etkşelerek, astma patogeneğinde yer almaktadırlar (2,43,70).

2.2.3. Allerjik Astma

Ekstremsk veya allerjik astma, allerjenlere karşı gelişen, ani tipte hipersensitivite reaksiyonunun neden olduğu astma şeklidir. Herhangi bir yaşta başlayabilmekle birlikte, en fazla 3-45 yaşları arasında ortaya çıkar. Çocukluk çağında astmalı hastaların %90'dan fazlası allerjik astma grubuna girerken, erişkinlerde bu oran %50 kadardır. Hastalığın en sık rastlanan nedeni, inhalasyon ile alınan allerjenlerdir. Bunlar arasında polenler, mantar sporları, ev tozu, akarlar, hayvan deri-tüy ve diğer döküntüleri sayılabilir. Mesleksel tozlar da, allerjen inhalasyonuna bağlı astmanın önemli bir nedeni olup, bunlarla gelişen astma "mesleksel astma" adı altında ayrı grupta sınıflandırılmaktadır (2,5,26,43,70).

Atopik hastalıkların çoğunda allerji, astmayı provoke eden pek çok etkenden sadece biridir. Egzersiz, tahriş edici maddeler, enfeksiyonlar ve emosyonel değişiklikler de atakları başlatabilir. Bununla birlikte allerjenlerle temasın azaltılması veya önlenmesi ve immunoterapi, allerjik astma tedavisinde önemli yararlar sağlayabildiği için, astmalı hastaların hepsinde dikkatli bir allerji araştırması yapılmalıdır (2,43).

Erken tipte hipersensitivite reaksiyonunun oluşmasına neden olan antijenlere "allerjen" adı verilmektedir. Besinler ve gıda katkı maddeleri özellikle küçük çocuklarda, inhalasyonla astmayı başlatabilir (2,43).

Atopik astmatiklerde belirtiler seyrek de olsa, bazı yiyecek ve içeceklerin alınmasını izleyerek belirebilir. Elde kesin istatistiksel veriler olmamakla birlikte, araştırmacıların deneyimlerine göre, hastaların yaklaşık %10'unda görülen bir durumdur. Bu konuda üzerinde en çok durulan besinler süt, yumurta, balık, hububat, kuruyemiş ve çikolata olmakla birlikte; daha pek çok besin astmatik ataklara yol açabilirler. Duyarlılığın antijenik protein moleküllerinin pinositozla intestinal engeli geçerek, IgE antikor cevabın uyarmaları sonucu ortaya çıktığına inanılmaktadır (2,43,70).

Bu hastaların bir kısmında nefes darlığı, gastrointestinal belirtiler birlikte görülür. Besinler, IgE reaksiyonu dışında bazı mekanizmalarla da astmayı provoke edebilirler. Çeşitli gıdalara koruyucu olarak eklenen benzoatlar, sodyum nitrit, sodyum metabisülfid, antioksidanlar, tartrazin gibi renklendiriciler ve koku vericiler; immunolojik olmayan yollarla nefes darlığı oluşturabilirler (2,43,70).

Atopik kişilerin işyerlerinde bulunan allerjenlere duyarlılık kazanma riski vardır. Allerjik astma tanısı, belirtilerin aero allerjenlerle karşılaşma sonrası ortaya çıkması ve allerjinin deri testi gibi yöntemlerle kanıtlanması ile konur. Allerjik astmada tedavi ilkeleri; çevre kontrolü, eğitim, ilaç tedavisi ve immunoterapidir. Allerjenden kaçınmak, tedavide ilk adım olmalıdır (2,43,70).

2.3. BAZI RENKLENDİRİCİLERİN TERS ETKİLERİ ve MEKANİZMALARI

Son yıllarda, bronş astmasının tedavisinde ilerlemeler olmasına rağmen, hastalığın insidansında ve mortalitesinde beklenen azalma gerçekleşmemiş, tersine artmıştır. Bu artışın, koroner arter hastalıklarında olduğu gibi; çevre ve sosyal koşullardan kaynaklanması olasıdır. Asya ve Avrupa ülkelerinden Amerika'ya göç eden insanlarda, astmanın daha sık olarak görülmesi; sadece tanı olanakları ile değil; değişen çevre ve yaşam koşulları ile de ilgili olabilir (2,70).

Gıdaların pişirilmesi veya sindirilmesi ile antijenik özelliklerini tamamen yitirmedikleri bilinmektedir. Protein yapısındaki antijenik gıda maddelerinin, allerjik astma oluşturması her zaman olasıdır. Belirli gıdaların alınması ile başta astma olmak üzere,

başağrısı, ürtiker, anjionörotik ödem gibi reaksiyonların ortaya çıktığını biliyoruz. Özellikle lokantada yenen ve hazır gıdaların içine renk verici, oksidasyon ve bozulmayı önleyici, lezzet verici olarak konan bazı katkı maddeleri, allerjik veya farmakolojik mekanizma ile allerjik hastalıklara neden olurlar (2,70).

Tartrazin; gıda ve meşrubatlara sarı renk vermek için kullanılır. İntrensek astmalı olup, aspirin allerjisinin birlikte görüldüğü olgularda kriz ortaya çıkabilir. Mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olan bir boyadır. Yine besinleri daha cazip hale getirmek için kırmızı renk veren amaranth, mavi renk veren indigotine gibi kimyasal katkı maddeleri de astmatik reaksiyon yapabilmektedir. Bira, şarap, deniz ürünleri, kızarmış hazır patates ve soslu gıdalara konan metabisülfit; sindirim kanalına girdikten sonra, kükürtdioksite dönüşüp, bunun solunması ile de krize yol açabilmektedir. Bu olay, daha çok lokantalarda görüldüğünden, “Lokanta Astması” olarak bilinir. Metabisülfit, bazı insanlarda ürtiker, anjionörotik ödem ve anafilaktik şok gibi allerjik reaksiyonlara da yolaçabilmektedir. Yine Çin lokantalarında lezzet verici olarak kullanılan soya ürünlerindeki katkı maddesi sodyum glutamat da; sülfidler gibi bronkospazm yaptığından, “Çin Restorantı Astması” denilen klinik tabloyu oluşturur. Günümüzde hızlı yaşam koşulları içinde, çabuk ve hazır yemek hazırlanan yerlerde; yumurta, süt gibi allerjik gıdaların yanında, katkı maddelerinin de kullanımı ile astma insidansının artmasını beklemek doğaldır (2,34,48).

2.4. TOKSİK MADDELER ve ETKİ MEKANİZMALARI

Canlı organizmada zararlı etki yapma kapasitesine sahip olan maddeler; toksik maddelerdir. Kullanım koşullarına bağlı olarak birçok toksik madde, nispeten nontoksin bir maddeden, daha az tehlikeli olabilir. Yani; zarar toksisite kadar, kullanım dozu, süresi gibi koşullara bağlıdır (8,30).

Spesifik toksik etkiler, üç grup altında incelenir:

- 1- Genotoksik etki
- 2- Kanserojenik etki
- 3- Teratojenik etki.

2.4.1. Genotoksik Etki

Kimyasal maddeler ve radyasyonun, hücrenin kalıtsal birimleri üzerindeki etkileridir, genetik materyali etkilerler. Sonuçta, DNA'da kalıcı değişiklikler ve/veya kromozomlarda yapısal veya sayısal değişiklikler olur. Bu değişiklikler, üç şekilde sonuçlanırlar:

- a) Gen mutasyonları (nokta mutasyonları-mutajenik etki)
- b) Yapısal kromozomal hasar (klastogenez)
- c) Sayısal kromozal hasar (anöploidi, poliploidi) (75,78,79).

Gen mutasyonları (nokta mutasyonları-mutajenik etki); DNA normal sıralanışında ufak değişikliklerle karakterize olan DNA değişiklikleridir. Sonuçta, DNA zincirindeki normal diziliş yerine, bir farklı baz çiftinin yapıya girmesi veya çıkarılması veya yanlış baz çiftinin yapıya girmesi şeklinde oluşur. Hasar; bir tek genle sınırlıdır (75,78,79).

Yapısal kromozomal hasar (klastogenez)da; DNA'daki değişiklik çok daha büyüktür. Kromozomların yapısı bozulur; kırılmalar, şekil değişimleri gibi sonuçlar verir (75,78,79).

Sayısal kromozomal hasar (anöploidi, poliploidi); normal karyotipin ($2n$) değişmesi ile olur. Sayıda bir azalma (anöploidi) veya $3n$, $4n$ gibi (poliploidi) artmalar olur (75,78,79).

Genetik bozukluklar; kalıtsal hastalıklar yapabilirler. Spontan mutasyon esnasında, organizmada yanlış geçişler olabilir ve yine genetik hastalıklarla sonuçlanabilir. Genetik hastalıklar; bilinenden daha sık görülür. Ölü doğum ve abortusların bile çoğunlukla nedeni; genetik bozukluklardır. Yapılan değerlendirmelere göre, bir milyon döllenmeden %85'i normal doğum yaparken, %15'i spontan abortusla sonuçlanır. Bunların %50'sinde kromozomal hasar vardır (75,78,79).

DNA'da saklı olan bilgi, organizmanın karakterini teşkil eden proteinlerin senteziyle ilgilidir. Hasar; DNA'daki protein yapının bilgisini değiştirerek, DNA'nın mesaj verdiği m-RNA ve t-RNA sisteminde bozukluk olur ve bu da yapısal ve fonksiyonel bozukluklar olarak hücreye yansır. Gamet hücresinin DNA'sı önemli ölçüde bozulmuşsa, diğer gamet hücresiyle birleştiğinde, oluşan zigot ya yaşama olanağı bulamaz ya da yaşarsa yapısal

bozukluklarla doğar (75,78,79).

Gen mutasyonlarında (nokta mutasyonları) gen içindeki DNA dizilimi değişirken; yapısal kromozom hasar (klastogenez) da, kimyasal madde veya radyasyonun etkisiyle, kromozom kırılması, delesyon ve parça değiş tokuşu ile ortaya çıkan, yapısal kromozomal kusurlar görülür. Hücredeki önemli bozukluklarla veya ölümle sonuçlanabilir. Sayısal kromozomal hasar (anöploidi, poliploidi) da ise; normalden farklı sayıda kromozom sayısı oluşmasına neden olan genotoksik etki vardır (75,78,79).

2.4.2. Kanserojenik Etki

Somatik hücrelerin yeterli derecede farklılaşmaya uğramaksızın, kontrolsüz ve hızlı bir şekilde bölünmesiyle ortaya çıkan patolojik duruma “kanser” diyoruz. “Kanserojenik” dediğimiz maddelerin ise etki mekanizmaları, genetik elemanlarda ve onları değiştirme açısından kendine özgüdür. DNA’nın bozuk olduğu hücrelerin, kanserojenlere yatkınlığı fazladır ve kanser, hücresel düzeyde kalıtsaldır. Organizmada hücrelerarası iletişim ağı vardır. Yani dokunun normal homeostatik faktörleri yakalama, yok etme, kontrol etme işlevlerini yerine getirirler. Eğer kanserojen madde ile karşılaşma esnasında bu fonksiyonlar çalışmıyorsa; preneoplastik lezyon oluşumunun görülmesi ile “karsinogenez” başlar (75,78,79).

2.4.3. Teratojenik Etki

2.4.3.1. Konjenital malformasyonlar

Memelilerin gelişmesi, döllenmeyle birlikte germ yapraklarının oluşmasına kadar geçecek süre içinde, henüz farklılaşmamış veya pek az farklılaşmış hücrelerin birdenbire çok çabuk çoğalmalarıyla başlar. “Erken embriyonal evre”nin tamamlanması ve germ yapraklarının oluşmasıyla birlikte çoğalan hücrelerde, belirgin biçimde morfolojik ve moleküler düzeydeki değişikliklerin görülmesi sonucu “geç embriyonal evre” başlar. Bunu izleyen aynı zaman süresi içinde bazıları hızlı, bazıları da yavaş olmak üzere,

organların tek tek gelişmesinin görülmesiyle “fetal evre” başlar (10,41,66).

Tüm canlıların gelişimlerinde olduğu gibi, insanların da intrauterin yaşamlarının başlangıcından sonuna kadar normal gelişenler yanında, çeşitli nedenlerle gelişim bozukluklarına sahip olanlar da görülür (10,41,66).

Konjenital malformasyonlar, organogenezde oluşan düzensizlikler sonucu ortaya çıkar. Bu düzensizlikler moleküler, hücresel, dokusal, organik, hatta bütün organizmayı ilgilendiren yapısal düzeylerde olabilir. Konjenital malformasyonların kimi metabolik ve fonksiyonel bozukluklara yol açarken, kimileri de anatomik olarak kendilerini belli ederler. Konjenital malformasyonlar; embriyopati veya fetopati olarak ortaya çıkar. Embriyopatiler; gebeliğin organogenez dönemiyle ilgilidir. Rubella virusu ve ilaçlar gibi genom dışı bir etken ile kalıtsal ortaya çıkabilir. Fetopatiler, gebeliğin 4. ayından sonra organogenez süresinde, fetus tarafından plasenta yolu ile alınan etkenlerle oluşur. Örneğin; sifiliz veya sitomegalovirus tarafından oluşturulan hastalıklar. Konjenital malformasyonların bir bölümü göze çarpan nitelikte olup, hemen doğumla birlikte dikkati çekerken, bir bölümü de daha sonraki yaşam yıllarında ortaya çıkar (10,41,66,76).

1941’de Greeg’in kızamıkçık hastalığı geçiren bir annenin çocuğunda, doğuştan oluşan bozukluklar yaptığını göstermesine dek, çevresel faktörlerin embriyopati yapabileceği üzerinde hemen hemen hiç durulmamıştı. Bundan dolayı; kötü oluşumların son 35-40 yıl öncesine kadar, hemen hemen sadece kalıtsal nedenlerle oluştuğu görüşü bugün değişmiştir. Bugüne kadar konjenital malformasyonların ancak %35’ini açıklayacak kadar faktör ortaya çıkarılmıştır. Tüm bu nedenlerin %25’ini kalıtsal, %10’unu çevresel faktörler oluşturmaktadırlar. Geri kalan %65’i ise; henüz bilinmeyen hem kalıtsal, hem de çevresel bazı faktörlerin karışımı olabileceği kabul edilmektedir. Ancak birbirine paralel olarak yapılan bazı araştırmalara göre, Amerika gibi gelişmiş ülkelere nazaran, sanayileşme yönünden az gelişmiş ülkelerde, belirli bir nedene bağlı olmayan malformasyonların 1/3’den daha az görülmesinin, bu ülkelerin insanların muhtemelen endüstriyel teratojenik etkilere daha az maruz kalmalarına bağlanmaktadır. Bu yüzden, konjenital malformasyonların yüzde oranlarının ırka ve ülkelere göre değişebileceği gözönünde tutulmalıdır (10,61,66,76).

Bu faktörlerin etkisinde kalıp da, canlı olarak doğabilenlerin bir bölümü, bir veya

daha fazla bozukluklara sahip olarak dünyaya gelirse de; I. yaş sonunda doğumdan hemen sonra görülenlere ek olarak, yeni anomalilerin farkedilmesiyle, sayıları ortalama iki kat daha artar. Ancak hemen şunu belirtmek gerekir ki; herhangi bir malformasyonun kesin olarak konjenital olup olmadığını söyleyebilmek oldukça güçtür (10,41,66,76).

Konjenital malformasyonların sıklığı ile ilgili sayısal veriler oldukça değişkendir. Resmi kayıtların ve doğum belgelerinin incelenmesinde, anomalili çocuk yüzdesinin %0.75-1.98 arasında değiştiği görülmüştür. Bu değerler hastane ve klinik doğum kayıtlarındaki %1.43-3.3 arasında yer alan rakamlarla kıyaslandığında oldukça düşüktür. Yaklaşık 20 milyon doğumu kapsayan dünya çapında bir araştırmada, konjenital malformasyon yüzdesi doğum belgelerine göre 0.83, hastane kayıtlarına göre 1.26, pediatrik çalışmalara göre ise 4.50 olarak bulunmuştur. Son çalışmalara göre, insidans %8.76 ile ABD’de maksimum, %2.20 ile Almanya’da minimum seviyelerdedir (3,80).

Çevre faktörlerini oluşturan; enfeksiyon ajanları (*Rubella virusu, Sitomegalovirus, Herpes simplex virusu, Toxoplazma gondii, Trepanoma pallidum, Herpes zoster, hipertermi*), radyasyon, kimyasal ajanlar (alkaloidler, alkol, antibiyotikler, antikoagülasyonlar, antikoagülanlar, antineoplastikler, LSD, Marijuana, PCP, retinoik asid, salisilatlar, tiroid ilaçları, trankilizanlar), hormonlar (androjenik ajanlar, dietilstilbestrol, kortizon, maternal diabet), beslenme yetersizlikleri, hipoksi ve çevredeki kimyasal maddeler; kromozom ve genetikle ilgili faktörleri oluşturan sayısal kromozom anomalileri (otozomal anomaliler olan Trisomi 21-17-18-13-15, seks kromozomu anomalileri olan Klinefelter-Turner-Triple x sendromları) ve yapısal kromozom anomalileri (Cri du Chat Sendromu); konjenital malformasyon oluşturan faktörlerdir (3,10,41,61,66,76,80).

2.4.3.2. Teratojenler

Az sayıda bazı ilaçlar ve diğer kimyasal maddeler, gebeler tarafından alındıklarında, plasentadan fetal dolaşıma geçerek, fetusta deformasyonlara neden olurlar. Bu duruma “teratogenezis” denir. Teratogenezis oluşturan ilaç ve diğer etkenlere de “teratojen” denir (8,10,40,66).

1940'larda konjenital malformasyonlar kalıtsal faktörler bağlanırdı. Daha sonra Rubella'nın etkisi, 1965'te eksik diyetle beslenmenin de konjenital malformasyon oluşturabileceği anlaşılmış ve teratojenik maddelere ilgi giderek artmaya başlamıştır. Son yıllarda, çevresel teratogenezisde klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda, belirli bir gelişme görülmekte ve doğum öncesi popülasyonunda, olabilecek teratojenik etkenlere karşı engeller koymak için sağlık koruma ajansları geliştirilmektedir. Buna rağmen teratojenik etkilerin esaslı tam anlaşılammakta, patojenik etkilerini oluşturma mekanizmaları henüz bilinmemekte, bu engellerde belirli boşluklar kalmakta ve doğum öncesinde tehlikelerden korunmak için ilk önlemlerin alınması, hala gerçekleştirilememektedir (8,28,40).

Teratojenler, oldukça sınırlı sayıdaki patojenik süreçlerle etkili olabilirler. Teratojenler hücrelerin ölümüne, hiperplazi, hipoplazi gibi etkenlere neden olabilir, hücrel farklılaşma ya da temel morfogenez süreçlerini karıştırabilirler (37,40,66).

2.4.3.3. Embriyonun gelişme dönemlerine göre teratojene duyarlılığın değişmesi ve etkileri

Memelilerde teratojen faktörlerin etkileri konusundaki mevcut veriler, bazı temel prensiplerin ortaya çıkmasını sağlamıştır.

1- Embriyonun gelişiminin evresi; teratojenik faktörlere karşı olan hassasiyeti belirler. Memelilerin gelişmesi, hücrelerin farklılaşma olmadan veya çok az farklılaşarak hızla çoğalmasıyla başlar. "Prefekondasyon" devresinde, teratojenik etkiler, steriliteye sebep olabileceği gibi, doğacak çocuğa da teratojenik etkiler taşıyabilir. "Gametogenez ve blastogenez" evreleri, teratojenik etkilerin en zararlı olduğu devrelerdir. "Prediferansiyasyon" döneminde; ya hep ya hiç yasası geçerlidir. Genellikle embriyonun öldüğü bu devreye "rezistan period" da denir. İki ve sekizinci haftalar arası "blastogenez" ve "organogenez" devrelerindeki teratojenik etkiler, ileri konjenital defektli çocukların oluşmasına neden olurlar. Organ diferansiyasyonu nedeniyle zamana bağlı olarak anormal embriyogenezis sözkonusudur. Rat ve farelerde yapılan deneylerde MSS ve kalp anomalilerinin 7-9. gün arası; iskelet, üriner ve kardiyovasküler sistem anomalilerinin 9-

11. gün arası, sadece iskelet defektlerinin 11-14. gün arası oluştuğu görülmüştür. “Maturasyon” döneminde olan teratojenik etkiler, yenidoğanda genellikle organ gelişme bozuklukları yapar. Fetal periodda, organların boyutları artacağından, genellikle büyük malformasyonlar olmayabilir, fetusun büyüme ve fonksiyonel gelişmesinde bozukluk oluşturabilecek hücre boyut ve sayısında redüksiyon sözkonusudur. “Laktasyon” devresinde postnatal gelişme geriliği ve buna duyarlı yapılarda bozukluklar sözkonusudur. Bu evrede serebellum, serbral korteks ve bazı ürogenital yapılar gibi az sayıda organ, bir yandan büyürken, bir yandan da farklılaşmaya devam eder. Böylelikle bu yapılar; gebeliğin son günlerine dek, teratojenlerin etkisine duyarlı kalırlar (3,28,37,40,66,68,81).

2- Teratojenik faktörün etkisi, genotipe bağlıdır. Deneysel çalışmalar, teratojenik ajanların, defektlerin sıklığını artırdığını ve aslında konjenital malformasyonların temelinde, genetik dengesizliklerin yereldiğini ortaya koymuştur. Embriyonun olduğu kadar, annenin genlerinde teratojene karşı olan duyarlılığın da, sonucu etkileyebileceği gösterilmiştir (3,28,37,40,66,68,81).

3- Teratojenik ajan, özel bir yolla hücrenin belli bir noktasına etki yapar (3,28,37,-40,66,68,81).

Bir etkenin teratojenik potansiyeli, bütün etkilenen kişiler gözönüne alındığı zaman geniş bir spektrumda açıklanabilir. Yani, etkilenen kişilerde çeşitlilik kuraldır. Bu çeşitliliğin nedenleri tam olarak açıklanamamışsa da, bazı faktörlere bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Bu çeşitliliği oluşturan faktörler; etkenin dozu, maruz kalma zamanı, teratojen maddenin etkileyeceği organizmanın duyarlılığı, diğer çevresel faktörlerle etkileşimdir (3,8,40).

Bebeğin deformasyonlu doğması, kimyasalın embriyo ve fetus üzerindeki toksik etkisinin sadece bir kademesini oluşturur. Bazen ilaç, dozuna bağlı olarak zigot ve bundan gelişen embriyo üzerinde kuvvetli toksik etki yapar, onu imha eder. Ölen zigot ya da embriyo, rezorpsiyonla ortadan kalkar. Diğer bir durum da, kimyasal ufak dozda verildiğinde fetusun ömrünün kısalmasına yolaçan bir bozukluğa neden olur. Bunun sonucu, bebek ölü doğar. Teratojenik etkisi zayıf ve bu bakımdan daha güvenilir bir ilaç, deformasyonlu doğan bireyin uzun süre yaşamasına olanak verebilir. Bazen toksik ilaç,

teratojenik etki yapamayacak kadar ufak dozda verilmiş olabilir. Bu durumda anne, teratojen olarak bilinen bir ilacı almış olmasına rağmen, yenidoğan normal olabilir (3,8,37,40).

2.4.3.4. Teratojen etkiyi değiştiren faktörler

1- Hayvan türü: Bir ilaç, bir memeli türünde teratojenik etki gösterdiği halde, diğer türlerde böyle bir etki oluşturmayabilir. Burada, ilacın metabolizmasının türe göre farklı olmasının ve teratojenik metabolitin her türde oluşmamasının büyük rolü vardır. Ayrıca hayvan türlerinde plasentanın şeklinin ve geçirgenliğinin farklı olmasının da, teratojenik etkinin türüne göre değişkenliğinde katkısı bulunabilir.

2- Genetik faktörler: Bir deney hayvanı türünün çeşitli ırklarında, belirli bir teratojene karşı duyarlılığın büyük farklar gösterebildiği bilinmektedir. Bu farklılığın, fetusun genetiği ile ilgili olması muhtemeldir. Ayrıca, bazı ailelerde deformasyonlu bebek doğurma oranı fazla olabilir. Bu spontan malformasyon olgularının, bilinmeyen kimyasal etkenlere ve bu arada çevresel kirlenme faktörlerine bağlı olacağı düşünülebilir. Bu da, genetik faktörlerin kimyasal teratogenezisi arttırabileceğini düşündürür.

3- Diyet: Hayvanlarda yapılan deneyler, bazı vitaminlerin diyetle eksikliğin veya aşırı derecede olmasının ya da diyetle anti vitamin etkili maddeler bulunmasının, ilaçların teratojenik etkisini veya fetusta spontan malformasyon oranını arttırdığını göstermiştir. Farelerde, kalorisi düşük diyetin, kortizonun teratojenik etkisini arttırdığı bilinmektedir.

4- Hormonal durum: Bazı hormonların eksikliği veya fazla salgılanması, kendi başına deney hayvanlarında teratojenik etki oluşturur. Yine, teratojen ilaçların bu etkisini de azaltıp-çoğaltabilir.

5- Gebe ile ilgili diğer durumlar: Diabetik gebelerden doğan bebeklerde malformasyon oranı, normale göre 5-10 kez daha fazla olmaktadır. Yine, gebenin doğum yaptığı yaşın yüksekliği de, bunda etkilidir. Gebenin hipertansif olması da risk faktörlerindedir.

6- İlacın dozu, alınma sıklığı, süresi: İlaç sık olarak ve uzun süre alınırsa, çeşitli organlar için geçerli olan kritik period esnasında, vücuda girme olasılığı yükselir, bu da

teratojenik etkiyi artırır. Bazı ilaçlar, uzun süre alındıklarında, vücutta fazla birikirler. İlaç alımı kesildikten sonra oluşan gebelik sırasında, vücuttan henüz atılmamış ilaç, teratojenik etki yapabilir.

7- Çevresel faktörler: Çevresel kirlenme etkenleri, ilaçların biyotransformasyonunu yapan enzimlerin aktivitesini değiştirerek, teratojen metabolit oluşumunu azaltıp, çoğaltabilir (40,80).

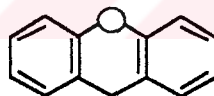
2.4.3.5. Teratojenik mekanizmalar

Mutasyon, teratogenezis mekanizmalarından biridir. DNA'da oluşan mutasyonlar kalıtsaldır. Çünkü, DNA üzerinde yanlış bir kodlanma, aynı hata ile RNA ve proteinlere kopyalanacaktır. Eğer etki germ hücresinde ise; mutasyon kalıtsal olur, somatik bir hücrede ise; bu mutasyon hücrenin her tarafına iletilecek fakat kalıtsal olmayacaktır. Mutasyonlar; iyonizasyon, radyasyonlar, kimyasal maddeler ve viruslarla oluşabilir. Kromozom kırılmaları, kromozom veya kromatidlerde eksiklik veya yeniden düzenlemelere yolaçabilir. Bu anormallikler, insanlarda gelişme bozuklukları yapar fakat kalıtımla geçmez (75,79).

Birçok antibiyotikler ve kanser ilaçları, nükleik asit fonksiyonunu bozarak teratojenik etki gösterirler. Bu etkiler; nükleik asit eşleşmesi, kopyalanması veya RNA ve protein sentezinde olan biyokimyasal değişimlerdir. Pürin-pirimidin analogları, folatlar, DNA ve RNA'da değişiklik yapan teratojenlerdir. Bazı vitamin ve minerallerin yokluğu da, teratojenik olabilir. Örneğin; yüksek dozda kalsiyum varlığında iyotun kullanılamaması, kretinizme sebep olur. Enerji sağlayan besinlerin azlığı veya kullanılamaması da, teratojenik etkiye neden olabilir. Örneğin; hipoglisemik durumlarda ATP eksikliğinden dolayı, anormal fetus gelişimi vardır. Glikolizis metabolizmasını bozan 6-nikotinamid veya riboflavin eksikliği, ATP oluşmasını (terminal elektron transportunu bozarak) azaltan siyanür, dinitrofenol gibi maddeler bozukluklar oluştururlar. Fetal gelişme ve hücre farklılaşmasında, enzimatik fonksiyon çok önemlidir. Bu nedenle, enzimleri inhibe eden faktörler, gelişmeyi etkilerler. Folik asit antagonistleri dihidrofolat redüktazı, 5-fluorourasil timidilat sentetazı, hidroksi üreribonükleozid difosfat redüktazı inhibe ederek fetal gelişimi etkilerler (8,40).

2.5. BİR RENK KATKISI OLARAK ERİTROSİN

C.I. nr	: 45430
E.E.C.	: E127
Sinonimleri	: C.I. Food Red 14 FD&C Red No. 3 Lebensmittel Rot Nr. 4 CAS No. 164230-68-0
Kimyasal İsmi	: Disodium salt of 2,4,5,7 tetraiodofluoresceine
Ampirik Formülü	: C ₂₀ H ₆ O ₅ I ₄ Na ₂
Moleküler Ağırlığı	: 879.9
Çözünürlüğü	: Distile suda 25 g/lt Etanolde (%96) 10 g/lt Gliresinde 35 g/lt
Fiziksel Özelliği	: Kahverengi bir tozdur. Suda, kiraz kırmızısı renkte çözünür.
Kimyasal Yapısı	: Dipenzopiran (Ksanten veya izoksanten) çekirdeği taşıyıcı (31,42).



Eritrosin, ksantin boyalar sınıfına dahil olup, ortho-iodinated phenonxy grupları içeren, gıdalarda (tatlılar, yağsız şekerlemeler, unlu ürünler, pudingler, aromalı bisküvi ve gofret kremaları, dondurulmuş konserve kerevit ve karides, aromalı sütler, çikletler, hazır jöle karışımları, içecek tozları, buz ürünleri ve çerezler), farmasötiklerde (tablet ve diş macunları) ve kozmetiklerde kullanılan, FDA'nın kullanılmasına geçici olarak izin verdiği, fotoparlaklık özelliği gösteren bir boyadır. WHO/FDA bu boya için, günlük kabul edilebilir dozu, 100 ppm olarak tavsiye etmiştir (46,47,51,57,67).

Eritrosin üzerinde birtakım çalışmalar yapılmıştır. Eritrosinin genotoksitesini üzerindeki çalışmalar, insan beslenmesini güvenlik altına almak amacıyla güder. Ancak

eritrosin üzerindeki genotoksik veriler oldukça şüphelidir. Zira gıda boyaları, *Escherichia coli*'de ileri veya geri mutasyonları indükler fakat diğer prokaryotik sistemlerde bu; non-mutajenik olarak bildirilmiştir. Çeşitli ökoryotik sistemlerde (tümör hücreleri, Chinese hamster karaciğer hücreleri, lenfositler, eritrositler, *Vicia faba*, soğan kök ucu, mayalar vs..) eritrosin; şüpheli bir genotoksik cevap vermiştir. Daha önceden yapılan hayvan deneyleri, eritrosinin oldukça düşük bir akut toksisiteye sahip olduğunu ve kronik olarak uygulandığında ise ters bir etkiye sebep olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, Certified Color Manufacturer's Association tarafından sponsörlüğü yapıp, USDFA'ya sunulan; ratlarda bir dizi uzun dönem, diyete bağlı toksisite çalışmalarında, eritrosinin tiroid tümörlerini indüklediği bildirilmiştir (46,47,57).

National Toxicology Program's Board of Scientific Counselors Peer Review Subcommittee'nin sonuçlandığı çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre ise; ♂ ratlarda eritrosinin kanserojenik olduğu bulunmuştur. Eritrosinin klastojenik eğilimleri de bildirilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae*'de, mitotik gen konversiyonu ve ters mutasyonları indüklediği bildirilmiştir. Ökaryotik hücreler için genotoksik bir aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda, bir tümör başlatıcısı değil, bir tümör destekleyicisi olduğu tahmin edilmektedir (46,47,57).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. TEST MATERYALİ

Eritrosin (FD & C Red No. 3), güvenilir bir gıda sanayii kuruluşundan temin edildi. Boya; %87 saflıktaydı. Solüsyon, gebelik süresince uygulandı.

3.2. HAYVANLARIN SEÇİMİ ve BAKIMI

Çalışmada kullanılan 13-21 haftalık, 130-200 gr ağırlığında Wistar albino soyundan dişi ratlar, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinden sağlandı. Ratların beslenmesinde Yem Sanayii tarafından hazırlanmış yem, çeşme suyu ve yonca kullanıldı. Ortalama çevre ısı; 23.83 ± 18 °C olarak saptandı. Ortama adaptasyonu sağlamak için, ratlara yedi gün boyunca herhangi bir işlem yapılmadı. Çalışma süresince; 12 saat aydınlık/karanlık periyotları (yaklaşık 08⁰⁰-20⁰⁰) düzenlenmiştir. Bütün ratlar, vücutlarının farklı bölgeleri boyanarak belirlendi ve paslanmaz çelik kafeslere kondu. Yiyecek ve içecek uygulamasına, çalışma süresince kesintisiz devam edildi. Her bir ölüm veya ölmek üzere olanlar, çalışmadan ayrı tutulmuştur.

3.3. DENEYSEL İŞLEMLER

Hayvanlar, vajinal smear ile teşhisi yapılabilen menstrual siklus takibine alındılar. Uygun döneme giren dişiler, yaklaşık 16³⁰'da erkek ratlarla aynı kafese yerleştirildiler.

Takip eden günün sabahında, yine vajinal smearda spermiumun teşhis edilmesiyle, gebeliğin 0. günü kabul edilip, erkek ratlardan ayrıldılar. Gebe olduğu teşhis edilen dişi ratlar, rasgele seçilip kontrol ve deney grubu olarak isimlendirildiler. Çalışmada kontrol grubunda 10, deney grubunda 7 tane olmak üzere, toplam 17 dişi rat kullanıldı. Deney boyunca, kontrol grubundaki dişi ratlara gebeliklerinin 7,8,9,10 ve 11. günlerinde 5 ml distile su, gavaj ile verildi. Deney grubuna da, yine gebeliklerinin 7,8,9,10 ve 11. günlerinde 2 mg/ml olacak şekilde distile suda çözündürülerek hazırlanan eritrosin solüsyonundan, gavaj ile 5 ml verildi.

Gebeliğin 20. gününde, saat 13⁰⁰ itibariyle dişi ratlar servikal dislokasyonla öldürüldüler. Laparotomi ile uteruslar alındı. Rezorpsiyon olanları, canlı ve ölü fetuslar, implantasyon alanları belirlendi. Canlı fetusların ağırlıkları, konjenital malformasyonları, tepe-oturma noktası uzunlukları, plasenta ağırlıkları belirlendi. Genetik inceleme için; fetusların göz, deri ve fasyalarından örnek alınarak, transport medyumuna kondu.

3.3.1. Histoloji

Fetusların kafaları vücutlarından ayrılıp, kafa ve gövdeleri %10'luk nötral formalinle fikse edilip, rutin histolojik takibe alındı. Parafin bloklara gömme yapıldıktan sonra, 5 µ kalınlığında kesitleri alınıp, deparafinize edildi. İnternal anomali teşhisi için Hematoksilen-Eozin, atopik hastalıkların etiyolojisine etkisini incelemek için de Toluidin Blue ile boyamalar yapıldı (17,49).

3.3.2. Genetik

Kromozom anomalileri ve mitoza etkilerinin tespiti için ise; fetusların göz, deri ve fasyalarından steril şartlarda alınan materyaller, doku kültürü için ayrıldılar.

Alınan materyaller; mekanik parçalanma yöntemi kullanılarak ekime hazırlandı. Alınan parçalar, petri kutusunda %1 penisilin + streptomisin içeren «Hank's Balance Salt Solution»'da (HBSS) yıkandı. Materyal %1 penisilin + streptomisin, %1 gentamisin ve 0.1 µg/ml nistatin içeren HBSS'li petrilere alınarak, bistüri ile parçalandı. 30 dk. hafif

çalkalanarak bekletildi. Süre sonunda 700 gravidada 10 dk. santrifüj edildi. Supernatan atıldı. RPMI-1640 (100 cc), penisilin+streptomisin-Gibco 061-05760 (1 cc), L-glutamin (1 cc), Nistatin (0.1 cc) ve fetal α -calfserum-Gibco 011-06290-H (20 cc) içeren besiyeri ortamı hazırlandı. Petri kutularına pastör pipeti ile ekim yapıldı. 4'er cc besi yeri eklenerek, 37 °C'de %5 CO₂ içeren etüve kaldırıldı. 2 gün sonra ilk kontrol, inverted mikroskopta bakılarak yapıldı. Üreme durumlarına göre, 5-7 gün içinde harveste alındı. 4. saatin sonunda petrillerdeki besiyeri tüplere aktarıldı. 0.5 cc Tripsin - EDTA solusyonu konarak 5 dakika beklendi. 3 cc serumsuz besi yenri eklenerek tüplere aktarıldı.

Harvest yöntemi;

Yeterli üreme saptanan kültürlerin bir gün önce besi yerleri değiştirildi. Ertesi gün 0.1 ml kolsemid eklendi. 4 Saat kültüre devam edildi. Standart teknikler kullanılarak harvest işlemi gerçekleştirildi. Her kültürden altı yayma elde edildi.

- 10 dk 200 gr'da santrifüj edildi
- Supernatan atıldı
- 5 cc 0.075 M KCl eklenerek, 30 dk etüvde bekletildi
- 10 dk 700 gr'da santrifüj edildi
- Supernatan atıldı (0.5 cc KCl kalacak şekilde)
- 5 cc 3: 1 metanol asetik asit kondu (fiksatif)
- 30 dk buzdolabında bekletildi
- 10 dk santrifüj edildi
- Fiksatifle muamele 2 kez daha tekrarlandı
- Son santrifüjden sonra pelet, metanol ve distile sudan geçirilen ıslak lamlara yayıldı
- Giemsa boyama ile solid boya yapılarak kontrol edildi

Genetik incelemenin ikinci bölümünde, yine standart doku kültürü yöntemleri kullanılarak, annelerinde eritrosin kullanılmayan fetusların göz, deri ve fasyalarından doku kültürü gerçekleştirildi. Kültürde yeterli hücre elde edildikten sonra, eritrosin ortama eksojen olarak verildi. 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml dozlarında olacak şekilde hazırlanan eritrosin, Harvest'ten 2 saat önce ortama verildi. Daha sonra standart Harvest yöntemi uygulandı (Lakdawalla, A.A., 1988).

4. BULGULAR

4.1. BİRİNCİ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI

Bu bölümde, makroskobik bulgular değerlendirildi. Bu amaçla, kontrol ve deney grubu olarak ikiye ayrılan deneklerin; rezorpsiyon alanları, canlı ve ölü fetusların ağırlıkları, konjenital malformasyonları, tepe-oturma noktası uzunlukları, plasenta ağırlıkları tespit edildi. Her iki gruba ait tablolar oluşturuldu (Tablo 1 ve 2).

Kontrol ve deney gruplarına ait fetusların boyları ölçüldüğünde; kontrol grubunun ortalama değerinin 3.79 ± 0.15 cm, deney grubunun ortalama değerinin 3.87 ± 0.07 cm olduğu görüldü.

Yapılan t testine göre; kontrol ve deney fetuslarının boyları arasında önemli düzeyde farklılık yoktur ($t = -0.43$ SD = 15 $p > 0.05$) (Tablo 3 ve 4).

Kontrol ve deney gruplarına ait fetusların ağırlıkları ölçüldüğünde; kontrol grubunun ortalama değerinin 3.78 ± 0.37 gr, deney grubunun ortalama değerinin 4.11 ± 0.18 gr olduğu görüldü.

Yapılan t testine göre; kontrol ve deney grubu fetuslarının ağırlıkları arasında önemli düzeyde farklılık yoktur ($t = -0.72$ SD = 15 $p > 0.05$) (Tablo 5 ve 6).

Kontrol ve deney gruplarına ait fetusların plasenta ağırlıkları ölçüldüğünde; kontrol grubunun ortalama değerinin 633.50 ± 27.61 mg, deney grubunun ortalama değerinin 828.57 ± 72.97 mg olduğu görüldü.

Yapılan t testine göre; kontrol ve deney grubu fetuslarının plasenta ağırlıkları arasında önemli düzeyde farklılık vardır ($t = -2.84$ SD = 15 $p < 0.05^*$) (Tablo 7 ve 8).

Tablo 1: Kontrol grubuna ait anne ve fetusların makroskopik bulguları

Grup No	Gebelik Öncesi Ağırlık (gr)	Gebelik Sonu Ağırlık (gr)	Rezorbe Fetus Sayısı	Abortus Sayısı	Anomalili Fetus Sayısı	Canlı Fetus Sayısı
K-I	200	280	-	-	-	10
K-II	140	220	-	-	İkizlik	4
K-III	200	290	-	-	İkizlik	10
K-IV	200	290	-	-	-	11
K-V	200	300	-	-	-	11
K-VI	205	295	-	-	-	10
K-VII	160	250	-	-	-	8
K-VIII	140	250	-	-	-	11
K-IX	130	200	-	-	-	11
K-X	160	270	-	-	-	8

Tablo 2: Deney grubuna ait anne ve fetusların makroskopik bulguları

Grup No	Gebelik Öncesi Ağırlık (gr)	Gebelik Sonu Ağırlık (gr)	Rezorbe Fetus Sayısı	Abortus Sayısı	Anomalili Fetus Sayısı	Canlı Fetus Sayısı
E-I	200	310	-	-	-	10
E-II	200	310	-	-	-	12
E-III	200	330	-	-	-	10
E-IV	200	320	-	-	-	4
E-V	200	330	-	-	-	10
E-VI	200	310	-	-	-	12
E-VII	200	280	-	-	-	7

Tablo 3: Kontrol grubuna ait fetusların boyları (cm)

Anne No \ Fetus No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Ortalama (cm)
K-I	3.5	3.4	3.4	3.6	3.2	3.2	3.2	3.6	3.6	3.5	-	3.4
K-II	4.3	4.0	4.5	4.4	-	-	-	-	-	-	-	4.3
K-III	4.4	3.8	4.0	4.5	4.3	4.2	4.2	4.6	4.7	4.3	-	4.3
K-IV	3.2	3.3	3.3	3.2	3.2	2.9	3.4	3.4	3.2	2.9	2.9	3.2
K-V	4.1	4.1	4.2	5.0	5.0	4.5	4.4	4.9	4.2	4.2	4.5	4.5
K-VI	3.4	3.6	3.7	4.0	4.0	4.0	4.2	3.9	4.0	4.6	-	3.9
K-VII	3.5	3.6	3.3	3.4	3.5	3.9	3.7	3.5	-	-	-	3.5
K-VIII	3.4	3.3	3.2	3.2	3.4	3.1	3.2	3.0	3.1	3.2	3.1	3.2
K-IX	3.5	3.6	3.3	3.4	3.5	3.8	3.7	3.6	3.6	3.7	3.6	3.6
K-X	4.2	3.7	4.1	4.0	3.9	4.4	3.9	4.0	-	-	-	4.0

Tablo 4: Deney grubuna ait fetusların boyları (cm)

Anne No \ Fetus No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Ortalama (cm)
E-I	4.1	4.2	4.3	4.1	4.1	4.4	4.0	4.2	4.3	4.3	-	-	4.2
E-II	4.1	4.1	4.0	3.9	4.0	4.0	3.8	3.9	3.9	4.1	4.1	4.0	3.9
E-III	4.0	4.1	3.5	3.9	3.9	3.9	3.8	4.0	4.0	4.0	-	-	3.9
E-IV	4.0	3.8	3.5	3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	3.7
E-V	4.0	4.0	3.8	4.0	4.0	4.0	3.8	4.0	3.8	3.5	-	-	3.9
E-VI	3.0	4.0	4.0	3.5	3.5	4.0	3.5	3.5	3.8	3.5	3.5	3.5	3.6
E-VII	3.5	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	-	-	-	-	-	3.9

Tablo 5: Kontrol grubuna ait fetusların ağırlıkları (gr)

Anne No \ Fetus No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Ortalama (gr)
K-I	2.6	2.3	2.0	2.3	2.2	2.1	2.1	2.3	2.0	2.1	-	2.2
K-II	4.7	3.8	4.8	4.6	-	-	-	-	-	-	-	4.5
K-III	5.8	3.8	4.2	5.7	4.5	4.8	5.5	5.2	5.5	5.8	-	5.1
K-IV	2.4	2.4	2.5	2.4	2.4	2.3	2.4	2.5	2.4	2.3	2.3	2.4
K-V	4.5	4.9	5.4	5.2	5.2	5.6	4.8	5.8	5.2	5.3	5.2	5.2
K-VI	3.8	3.8	3.9	4.0	4.3	4.2	4.5	4.2	3.7	4.5	-	4.1
K-VII	3.3	3.3	3.6	3.3	3.3	3.6	3.5	3.4	-	-	-	3.4
K-VIII	2.4	2.4	2.5	2.3	2.3	2.3	2.4	2.3	2.3	2.4	2.3	2.4
K-IX	3.2	3.7	3.5	3.5	3.5	3.6	3.8	3.7	3.5	3.8	3.5	3.6
K-X	5.1	5.0	5.1	4.9	4.7	5.0	5.0	4.9	-	-	-	4.8

Tablo 6: Deney grubuna ait fetusların ağırlıkları (gr)

Anne No \ Fetus No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Ortalama (gr)
E-I	4.6	4.7	4.6	4.7	4.5	4.6	4.3	4.2	4.2	4.2	-	-	4.5
E-II	4.4	4.5	4.3	4.7	4.5	4.4	4.7	3.9	4.5	4.8	4.4	3.8	4.4
E-III	3.8	4.0	3.4	4.2	4.3	3.9	4.3	4.4	3.1	4.4	-	-	3.9
E-IV	4.7	4.9	4.5	4.7	-	-	-	-	-	-	-	-	4.7
E-V	4.3	4.4	3.9	4.3	4.3	4.4	4.6	4.1	4.2	3.3	-	-	4.2
E-VI	2.4	4.0	4.0	4.0	4.0	4.1	3.9	3.7	4.0	3.2	4.0	3.8	3.4
E-VII	3.7	3.4	4.3	3.7	3.6	3.6	3.8	-	-	-	-	-	3.7

Tablo 7: Kontrol grubuna ait fetusların plasenta ağırlıkları (mg)

Anne No	Fetus No											Ortalama (mg)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
K-I	650	500	550	500	480	550	500	550	500	500	-	528
K-II	800	800	800	800	-	-	-	-	-	-	-	800
K-III	680	1 2 5 0		800	630	670	650	800	750	600	-	683
K-IV	670	680	670	550	700	670	670	700	690	600	600	655
K-V	520	500	650	550	470	450	470	640	550	550	600	541
K-VI	580	580	580	500	480	520	530	480	480	480	-	521
K-VII	650	750	700	650	650	700	700	650	-	-	-	681
K-VIII	600	600	650	600	670	600	650	600	650	600	650	620
K-IX	550	600	600	600	650	650	600	650	600	650	650	618
K-X	700	650	700	700	650	700	700	700	-	-	-	688

Tablo 8: Deney grubuna ait fetusların plasenta ağırlıkları (mg)

Anne No	Fetus No												Ortalama (mg)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
E-I	700	700	700	550	550	530	580	700	850	580	-	-	644
E-II	850	880	750	750	760	880	845	880	900	875	1300	890	880
E-III	630	840	780	630	800	610	740	850	660	790	-	-	733
E-IV	840	710	730	790	-	-	-	-	-	-	-	-	768
E-V	630	780	660	720	560	620	620	620	740	730	-	-	668
E-VI	700	920	930	930	930	960	920	900	910	900	900	900	900
E-VII	900	900	1400	1300	1250	1300	1400	-	-	-	-	-	1207

4.2. İKİNCİ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI

İkinci bölümde; kontrol ve deney gruplarına ait kesitlere, H x E boyama yapıp, ışık mikroskopik incelemeleri yapıldı.

Bu incelemede, tüm grupların embriyonik gelişim farklılıkları ve buna bağlı malformasyonların olup olmadığına dikkat edildi. İncelemede sırasıyla baş, boyun ve gövde taraması yapıldı. Sinir sistemi, yüzün gelişimi, kafatası gelişimleri, iskelet, endokrin, kardiyovasküler, solunum, sindirim, ürogenital sistemleri ile duyu organları gelişimleri incelendi (Resim 1-21).

Yapılan incelemeler sonunda, kontrol ve deney grubu arasında bir farklılık görülmedi.

4.3. ÜÇÜNCÜ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI

Bu bölümde; fetuslardan elde edilen deri kesitleri Touidine Blue ile boyanıp incelendi. İnceleme esnasında; mast hücresi sayısına, matür-immatür mast hücresi formlarının dağılımına, granülasyon, degranülasyon şiddetine ve granüllerin doku içindeki yaygınlığına göre değerlendirme yapıldı.

Elde edilen bulgulara göre, bu özellikler kontrol ve deney gruplarında, birbirlerinden farklıydı. Toplam 864 kontrol grubu fetus deri kesitlerinde çok az sayıda immatür mast hücresi bulunuyorken (Resim 23-25); toplam 762 deney grubu fetus deri kesitlerinde degranülasyonun ve mast hücre sayısının arttığı gözlemlendi (Resim 26-30). Kontrol ve deney grupları arasındaki bu farklılık, yarı kalitatif bir skalaya göre, 0-5 puan arasında değerlendirildi (1,74,82).

Işık mikroskopik incelemede; metakromazi azalması ve eksositoz; “degranülasyon” olarak değerlendirildi. Değerlendirmede kullanılan puanlama, aşağıdaki şekildedir:

- 0 puan : Hiç mast hücresi yok.
- 1 puan : Az sayıda, hafif metakromatik, çoğu immatür mast hücreleri.
- 2 puan : Normal sayıda, hemen hemen hepsi granüle, matür-immatür mast hücreleri

- 3 puan : Normal sayıda, yarı yarıya eksositozda, matür mast hücreleri
- 4 puan : Çok sayıda, koyu metakromatik, çoğu granüle, tek tük eksositozda, matür mast hücreleri
- 5 puan : Çok sayıda, koyu metakromatik, hemen hemen hepsi eksositozda, doku arası yaygın granüllü, matür mast hücreleri

Non-parametrik değerler için, kontrol ve deney grubu arasında yapılan Mann-Witney U testi sonuçlarına göre; iki grup arasında çok önemli düzeyde farklılık bulundu ($U=12$, $p<0.01^{**}$) (Tablo 9 ve 10).



Tablo 9: Kontrol grubuna ait fetusların mast hücre bulguları değerleri

Fetus Anne No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
K-I	1,1,1,1,1,1	2,1,1	1,1,1	1,1,1,1	1,1,2,1	1,1,1	2,1,1,1,2	1,1	2,1,1	1,2	-
K-II	1	1,1,2	1,1,1,1	2,1,1	-	-	-	-	-	-	-
K-III	2,1	1,1,1,1,2,1	1,1,1,1	1,1,2,1	1,1	1,1,1	1,1,1,2	1,1,2	1,1,2	1,2	-
K-IV	1,1	1,1,1	2,1	1,1,2,2	∅	1,2,1,1	1,1,1,2,1,2	1,2,2,2,3,2	2,1	1,1,1,1	1,1,1
K-V	2,2,2	1,2,2,1	1,1,2,2	2,1,1,1,1,1	1,2	1,1,1,1,1,1	1,1,2	1,1,2,2	1,2	1,1,1	1,2,2
K-VI	1,1,2,2	1,1,1,2,1,1	1,1,2	1,1,2,2,2	1,1,2	1,1	1,1	1,1,2	1,1,1,2	1,1	-
K-VII	1,1,1,2,2,1	1,2,2	1,1,2	1	2,2,2,2	1,1,1,1	1,2	1,1,2,2	-	-	-
K-VIII	1	1,1,1	1,2,2,2	1,1,1	1,1,1	1,1,2,2,3,2	1,1,2	1,1,1,1	1,1	1,1,2,2,2	1,1,1
K-IX	2	1	1,1,2,2	1,1,2	1,1,2	2,2,2,2	1,1	1,1,1,1	1,1,2,2	1,1,2,2,2,2	1,1,2
K-X	1,2	1,1,1,1	1,2	1,1,1,1	1,1,1,1	1,1,1	1,1,1	1,1,1,2,2	-	-	-

Tablo 10: Deneç grubuna ait fetusların mast hücre bulgularını değerleri

Anne No	Fetus No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
E-I		4,4,4	5,5,5,4,4,5,4,4	3	4,5,4,2	3,4,4,4,4	4,4,4,4,4	4	2	4,4,4,4	4	-	-
E-II		2,2	∅	∅	3	2	4,4,4,4,5,5	4	2,3,4	4,4,4,4,3,4	4,4,4,4	4,4,4,4,4	5,4,5,3,3,3,3,3
E-III		3	4,4,4,4,4,4	5,4,5,5,4	2,4,4	2,2,4,4	4,4	5,5,4,4,4	2,2,4,4	4	5,4,4,3,3,4	-	-
E-IV		∅	1	2,2,2,1,1,1	2,2,3,3	-	-	-	-	-	-	-	-
E-V		4,4,3,4,4	3,3,3	4,4,4,4,4	4,4	∅	3,3	∅	2,3,3,2,4	3,3,3,3,3,3	4,3	-	-
E-VI		1	∅	2,2,2,2,1,2	2,4	2,2,2,3	2,2,2,2,2,2	4,2,4,4	2,4,3	2,4,4	4,4,4	4,2,2	2
E-VII		3,3,3,3	4,3,5,3,4,4,4	3,5,3,3,5,2	2,2,2,2,2	2,4,4,2,4	3,3,3,3,3,3	3,3,4,3,3	-	-	-	-	-

4.4. DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ÇALIŞMA SONUÇLARI

İki aşamalı olarak planlanan bu bölümün bulguları aşağıdaki şekildedir:

4.4.1. Kontrol Grubu ve I. Deney Grubu (Endojen Eritrosin)

İlk aşamada, kontrol grubu ile deney grubu fetuslarının göz ve derilerinden elde edilen, Giemsa ile boyanmış preparatlarda, toplam 50 metafaz plağı incelendi. Yapılan incelemelerde; kromozom kırığı ve aberrasyon görülmedi (Resim 22).

4.4.2. II. Deney Grubu (Eksojen Eritrosin)

İkinci aşamada, kültür ortamına eritrosin verilen deney grubunun fibroblastları incelendi.

Eksojen olarak 10 mg/ml eritrosin kullanılan fibroblast kültürlerinde, hücre bulunamadı. 1 mg/ml ve 0.1 mg/ml eritrosin kullanılan kültürlerde, canlılığını sürdüren hücreler görülmekle beraber metafaz plağı elde edilemedi. Hücrelerin oldukça bozuk, sayılarının az ve vaküollü, sağlıksız olduğu görüldü.

5. TARTIŞMA

Günümüzün modern dünyasında; yiyecek , ilaç ve kozmetiklerde kullanılan renklendiricilerin güvenilirliğinin bilinmesi gereklidir. Renklendiricilerin yiyeceklerde oldukça yaygın bir kullanım alanı olması, toksik olmaması zorunluluğunu getirir (6,33,34,35,47).

Doğum defektlerinin %20-25'i genetik kaynaklıdır fakat defektlerin büyük bir kısmını oluşturan nedenler halen tanımlanamamıştır. Maternal enfeksiyon, mekanik faktörler, kimyasallar, ilaçlar ve fiziksel ajanlar gibi çevresel faktörler, insanlarda görülen doğum defektlerinin ancak %10'una neden olmaktadır. Çevresel faktörlerin uygulanmasından oluşan konjenital malformasyonların temelini anlamak için toksikoloji ve embriyoloji ilkelerinden yararlanır. Birinci ilke; bütün teratojenlerin tipik bir toksikolojik doz-cevap ilişkisi ve etkisiz dozlarının olduğunun bilinmesidir. İkinci ilke; gebeliğin kritik dönemlerindeki etkileşimleri açıklamak için, embriyogenez ve fetogenezin bütün dönemlerinde çevresel faktörlerden yararlanır. Üçüncü ilke ise; embriyo ve fetusun her teratojenik ajana belirli bir cevabı olmasına rağmen, bazı teratojenlerin benzer etkiler yarattığıdır. Bu ilkelere uygun olarak planlanmış bir toksikolojik çalışma; embriyo ölümü, gelişme geriliği, konjenital malformasyon ve fonksiyonel bozuklukları açıklayabilmek için uygun koşulları sağlar (3,7).

Bir teratojenik faktör, gelişimin kritik dönemlerinde, morfoloji ve fonksiyonda bozukluklar yaratabilir. Teratojenite; anne ve bebekteki genetik yatkınlık, fetusun gelişme döneminde teratojene maruz kalma ve teratojenin uygulama zamanı ve dozuna bağlıdır (3,40,68).

Teratojenik faktörün etkisi, genotipe bağlıdır. Deneysel çalışmalar; teratojenik faktörlerin, defektlerin sıklığını arttırdığını ve konjenital malformasyonların temelinde, genetik dengesizliklerin yereldiğini ortaya koymuştur. Embriyonun olduğu kadar, annenin genlerinin de teratojene karşı olan duyarlılığını da etkileyebildiği gösterilmiştir (3,28,37,40,66,68,81).

Teratojenite testlerinde üç kriter; “teratojenik etkili” tanımlamasına uyar: Malformasyon frekansı ve sıklığında belirgin bir artış birinci, fetal ölümlerin frekansında artış ikinci, fetus gelişme geriliğine bağlı olarak fetal ağırlık azalması ise üçüncü kriterdir (Larsson, K.S., 1975).

Çalışmamızda, özellikle yiyeceklerde yaygın olarak kullanılan renklendiricilerden eritrosinin, iki aşamalı bir uygulama ile etkileri araştırıldı. Bilindiği gibi, gebe sıçanlarda kritik period, özellikle gebeliğin 7-8 ve 9. günlerine rastlar. Çalışmamızda gebeliğin organogenez dönemi olan bu günlerde, ilk aşamada anneye 2 mg/ml dozunda, 5 ml hazırlanan eritrosin gavaj ile verilip teratojenite ve atopi üzerindeki etkileri araştırılırken, ikinci aşamada fetuslardan elde edilen dokularda toksisite, karsinojenite, mutajenite, kromozom anomalileri üzerine etkileri araştırıldı (6,14,33,34,35,36,40,46,47,48,54,-55,71).

Gebeliğin 0-7. günleri “rezistant period” olup; prediferansiyasyon dönemi olarak isimlendirilir. Gebeliğin 7-57. günleri ise “embriyonik period”dur. Bu dönemde fetusta organ farklılaşması görülmeye başlar ve bu teratojenlerin ters etkilerinin en çok görüldüğü hassas bir dönemdir. Kısmi malformasyon; teratojene maruz kalma zamanına bağlıdır. Teratojenik faktörün vücuda girdiği günde, oluşumu en aktif durumda olan organ ya da yapının deformasyona uğrama şansı, genellikle en fazladır. Başka bir deyişle, her bir deformasyon türü için, kısa süren kritik bir period sözkonusudur. Bundan dolayı, gebeliğin bu döneminde alınan belirli bir ilaç, alındığı güne göre, farklı yerlerde deformasyon yapar. Örneğin; gebeliğin 22-28. günlerinde (son menstrual perioddan 5 hafta sonra), nöral tüp kapanma esnasında bir teratojenik faktöre maruz bırakıldığında, gebelik nöral tüp defekti (örn; spina bifida, anensefali gibi...) ile sonuçlanacaktır. Gebeliğin 57. gününden sonra (8. hafta) organlar şekillenmiş ve boyutları artmaya başlamıştır. Bu dönemde maruz kalınan bir teratojen; hücre yayılması ve sayısında ters bir

etki yaparak; organ büyüklüğünde gerileme, organ sistemlerinde fonksiyonel düzensizlikler yaratıp gelişme geriliğine neden olacaktır (40,68).

Larsson ve ark, (1975); amaranth ve ponceau-4R ile yaptıkları çalışmada; gelişme geriliğinde önemli bir bulgu elde edemediler. Ortalama fetal ağırlık; kontrol grubunda 1.23 g idi. Yüksek doz ponceau-4R ve ortalama doz amaranth uygulamasında (0-7. günler); en düşük fetal ağırlık 1.17-1.18 gr. idi. En yüksek ortalama fetal ağırlık 1.35 gr ile (0-7. günler) en düşük doz ponceau-4R ve (6-18. günler) düşük doz amaranth uygulamasında gözlenmiştir.

Collins ve ark (1989); allura red ile yaptıkları çalışmada, ortalama fetal ağırlıkta, gruplar arasında bir fark gözlememişlerdir.

Ratlarda gebeliğin organogenez döneminde (7-11. günler) eritrosin uyguladığımız; toplam 7 anneden elde edilen 65 fetusta gelişme geriliği saptamadık. Kontrol grubunda ortalama fetal ağırlık 3.78 gr idi. Eritrosin uygulanan grupta ortalama fetal ağırlık 4.11 gr idi. Kontrol grubunda en düşük ortalama fetal ağırlık 2.2 gr, deney grubunda 3.7 gr idi. Kontrol grubunda en yüksek ortalama fetal ağırlık 5.2 gr, deney grubunda ise 4.7 gr idi. Eritrosinin ratlarda organogenez döneminde etkili olarak, gelişme geriliğine neden olmadığı şeklindeki düşüncemiz; bu konuda yapılan araştırmalarla uyumlu bulunmaktadır (13,14,48).

İntrauterin gelişme geriliği; normal gebelik yaşına uygun doğum ağırlığı ve uzunluğundaki bir azalma olup; tüm gebeliklerin yaklaşık %4'ünde görülür. Simetrik veya asimetrik bir gelişme geriliği görülebilir. Simetrik gelişme geriliği; plasentanın uzun bir dönem yetersizliği ve sekonder olarak da kromozomal anomali veya konjenital viral enfeksiyonlarla (örn; rubella, sitomegalovirus) oluşur. Asimetrik gelişme geriliği ise; plasental yetersizlik ile birlikte, hipertansiyon, insüline bağlı diyabetten dolayı oluşan vasküler hastalıklar (sistemik lupus eritematosus) ve beslenme yetersizliği sebebi ile görülebilir (Lizzi, L., 1988).

Çalışmamızda, fetal plasenta ağırlıklarında kontrol ve deney grupları arasında, istatistiksel anlamlı bir sonuç alınmasına rağmen ($t = -2.84$, $SD=15$, $p<0.05^*$); plasenta ağırlıkları ile fetal gelişme geriliği arasında bir korelasyon bulunamadı.

Bebeğin deformasyonlu doğması; ilacın embriyo ve fetus üzerindeki toksik etkisinin

sadece bir kademesini oluşturur. Bazen ilaç; türüne ve dozuna bağlı olarak, zigot ve bundan gelişen embriyo üzerinde güçlü toksik etki yapar ve onu yok eder. Ölen zigot veya embriyo, rezorpsiyonla ortadan kalkar. Diğer bir alternatif durum; gebeliğin daha ileri dönemde, ilacın embriyo veya fetusta yüksek derecede bir bozukluk yapıp, düşüğe yolaçmasıdır. Gebeliğin birinci trimestrinde, teratojene maruz kalan gebelerde, malformasyonlu doğum riski maksimumdur. Özellikle yüz, merkezi sinir sistemi ve kalp defektlerinin birlikte görüldüğü çoklu malformasyonlara bu dönemde rastlanır. Spontan abortusların görülme sıklığı %20-30'dur. Bazen de, teratojenik ilaç, ufak dozda verilmesi halinde olduğu gibi, fetusun ömrünün kısalmasına yolaçan bir bozukluğa neden olur. Bunun sonucu; bebek miyadında veya miyadına yakın, ölü doğar (28,40).

Larsson ve ark (1975); amaranth ve ponceau-4R ile yaptıkları teratolojik çalışmada, kontrol grubunda %8 fetal ölüm gözlediler. Gebeliğin 0-7. günlerinde yüksek doz amaranth uygulaması ile %3.9, gebeliğin 6-18. günlerinde düşük doz ponceau-4R uygulaması ile %12.7 fetal ölüm kaydetteler.

Çalışmamızda kontrol ve deney grupları arasında yaptığımız incelemelerde, rezorbe fetus ve fetal ölüm kaydetmedik. Bulgularımız, eritrosinin bu dönemde fetal ölüme yol açmadığı tarzındaki araştırmaları destekler nitelikteydi (46,55).

Larsson ve ark (1975) Amaranth ve Ponceau 4R ile ilgili araştırmalarında, çok düşük bir frekansta eksensefali'ye rastladılar. Ayrıca açık gözler ve kuyruk deformite bulguları da vardı İskelet anomalileri, amaranth uygulanan grupta %3.6 oranı ile kosta ve vertebral deformasyonlar şeklindeydi. Hidrosefali, derialtı hemoraji ve pelvis renalis dilatasyonu tüm gruplarda oldukça düşük frekanstaydı. Yalnızca bir fetusta, yarık damak olgusuna rastlamışlardır ki; bu da kontrol grubunda idi.

Collins ve ark (1989); Allura Red ile yaptıkları çalışmalarda, yer yer derialtı hemorajileri rastlarken, doza bağlı bir malformasyon oranı gözleyemediler. Yalnızca, iki fetusta çoklu anomaliler gözlediler. Birincisi kontrol grubunda olup; palet ayaklı, kısa kuyruklu ve arka ayaklarda 4 parmaklılık vardı. İkincisi ise eksensefali ve hidrosefaliliydi.

Sternum varyasyonlarında ossifikasyon, çatallanma, kötü gelişim ve birleşimde doza bağlı bir artış görülmedi. İskeletal malformasyonlar açısından incelendiğinde ise kontrol ve deney grubu arasında bir fark yoktu (13,14).

Teratojenik etkenlerin, fetusun gelişmesini engellemesi için, mutlaka fetal hücrelerin genetik materyalini tahrip etmesi gerekmez. Teratojen etkinin oluşması; etkenin embriyo veya fetusun gelişmesini kısıtlı veya kapsamlı bir şekilde değiştirmesine ve hücre farklılaşmasını değiştirmesine bağlıdır. Gelişme ve farklılaşmanın bozukluğu, üç temel mekanizma ile olabilir. Bunlardan ilk ikisinde ilacın hücre DNA'sı ile direk bir etkileşimi söz konusu değildir:

1- Teratojen madde, hücrelerin çekirdeğini etkilemeksizin ya hücrelerin ölümüne ve böylece belirli bir farklılaşma basamağındaki hücre sayısının azalmasına neden olur ya da hücre sayısına dokunmadan hücrelerin farklılaşmasını önler. Bu tür etki; hücre çekirdeği dışında bir yerde oluşan toksik etkiye (örneğin çeviri olayının bozulması, diğer hücre organellerinin veya hücre membranının bozulmasına bağlı olabileceği gibi, belirli bir yerdeki fetal hücrelerin aralarındaki etkileşiminin bozulmasına da bağlı olabilir.

2- Fetusun gelişmesinin ve doku farklılaşmasının bozulması, etkenin anne organizmasında oluşturduğu primer bir etkiye bağlı olabilir. Annede kardiyovasküler sistemin bozulmasına bağlı olarak, plasentaya ve fetusa dolaşım ile oksijen ve besin maddelerinin gelmesinin bozulması, fetusta teratojenik nitelikte bozukluğa neden olabilir. Aynı durum plasenta ve uterusun vaskülarizasyonunun ve damar tonusundaki lokal bir bozukluğun sonucunda da oluşabilir.

3- Mutajenik ve karsinojenik nitelikteki maddeler, fetus hücrelerinde somatik mutasyon yaparak, onların ölümüne veya sayılarının artmasına neden olabilir ya da hücre sayısına dokunmadan, onların farklılaşma yeteneğini bozabilirler. Ancak, karsinojenik maddelerin az bir kısmı teratojenik etki gösterirler (alkilleyici ilaçlar, metotreksat ve diğer antimetabolitler, nitrozamidler ve dietilstilbestrol gibi...). Fakat polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler, aflatoksinler ve arsenik gibi karsinojen maddelerin, belirgin bir teratojenik etkileri yoktur. Ayrıca, insanlarda güçlü teratojenik etkisi olduğu bilinen talidomid ve varfarinin, karsinojenik veya mutajenik etkisi bulunmaz. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve nitrozaminler fetusta, teratojenik etki oluşturmadan transplasental karsinojenik etki oluşturabilirler. Bu farklılığın nedeni, bu maddeleri toksik metabolitlere dönüştüren enzimlerin, fetusta geç olarak ortaya çıkmaları ve organogenez döneminde hüz dokularda bulunmamaları olabilir. Mutajenik nitelikte olan teratojenlerin,

fetusun gonad hücrelerini bozması düşük bir olasılıktır. Bu nedenle kimyasal maddelerin yaptıkları şekil bozukluklarının gelecek kuşaklara geçmesi olağan dışıdır (Kayaalp, O., 1991).

Collins ve arkadaşlarının tartrazine çalışmalarında (1992) 100 mg tartiazin/vücut ağırlığı/gün dozunun içme suyunda verilmesinin maternal etki göstermediğini, ayrıca gebe anneye bu doz verildiğinde teratojenik ve fetotoksik olmadığını gözlemişlerdir. İçme suyu ya da gavaj yönteminin ise sonucu değiştirmedini belirtmektedirler.

Çalışmamızda; rezorbe fetus sayısı, abortus sayısı, anomalili fetus sayısı ve canlı fetus sayısında, kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel bir anlamlılık yoktu. Fetuslarda; nöral tüp defektlerine, iskeletal malformasyonlara, sternebral varyasyonlara rastlanmadı.

Elde ettiğimiz tüm bulgularımız; gebeliğin organogenez döneminde, gebeye uygulanan eritrosinin, kullandığımız dozda "teratojenik etkili" olmadığı yönündedir. Bulgularımız diğer çalışmalarla uyumludur (13,14,46,48,55).

Atopik yapı, genetik bir yakınlıkla IgE üreten ve bu antikolar aracılığı ile allerjik hastalıkların görüldüğü bünye olarak tanımlanabilir. Kalıtsal olarak atopik bünyesi olan kişiler astma, migren, ekzama, rinit gibi... bazı hastalıklar yönünden predispozisyon taşır. Atopik kişiler, hasta olmadıkları halde, en azından zaman içinde çevrelerindeki allerjenlerle duyarlılık kazanma riskine sahiptirler (Barış, Y.İ., 1991).

Yakın dönemlere dek, atopik geçişin poligenik olduğu sanılırken, son yıllarda otozomal dominant özellikler taşıdığı hakkında önemli kanıtlar vardır. Kısa bir süre sonra, atopi için spesifik bir gen loküsünün bulunabileceği ümit edilmektedir. Atopik hastalıklar multifaktöriyeldir. IgE yapımında genetik yapı ile birlikte, çevresel etmenler de önemlidir (2,15,38,63,64).

Atopik dermatitlerin akut lezyonlarında, mast hücreleri normal olmakla birlikte, bu hücrelerin aktive olması ile degranülasyonun değişik dönemleri indüklenir. Kronik atopik dermatit lezyonlarında, mast hücre sayısının artması; ani hipersensitivite reaksiyonlarında rol oynadıklarını gösterir. Mast hücrelerinin, ani tip allerjik reaksiyonlarda rol oynadığı bilinmektedir. Bir allerjik cevabın erken dönem semptomları ve kronik immun cevap ve allerjik inflamasyonda olduğu gibi; histamin, proteazlar, eikosanoidlerin kaynağı olan

mast hücreleridir (Horsmanheimo, L., 1994).

Hangi nedenle sentezlendiği önemli olmaksızın, salınan mediyatörlerden histaminin, oluşacak reaksiyonlarda rolü fazladır. Histamin, L-histidin dekarboksilaz enzimi etkisi ile histidinden oluşur. Mast hücresi granülleri içinde depolanabilir. Histamin salındıktan sonra, hızlıca dokulara yayılır ve birkaç dakika içinde dolaşıma geçer (2,39).

Ürtiker, astma, ekzema, migren gibi.. hastalıkların çoğu; besin intoleransı gösteren hastalıklardır. Gıdaların pişirilmesi veya sindirilmesi ile antijenik özelliklerini tamamen yitirmedikleri bilinmektedir. Protein yapısındaki antijenik gıda maddelerinin alınması ile başta astma olmak üzere; baş ağrısı, ürtiker, anjionörotik ödem gibi reaksiyonların ortaya çıktığı bilinmektedir. Gıdalardaki renk verici, oksidasyonu önleyici, lezzet verici olarak konan katkı maddeleri; allerjik reaksiyonlara neden olur. Lokanta Astması ve Çin Restoranı Astması olarak bilinen rahatsızlıklarda, gıda intoleransı rol oynar. Günümüzde çabuk ve hazır gıda kullanımının artması, özellikle astma insidansının artmasına neden olacaktır (2,52,55,56,60).

Son yıllarda, allerji şikayeti olan kişilerin sayısında bir artış gözlenmiştir. Allerjik reaksiyonları başlatan faktörler, çok değişik olabilir. Tüm allerjik hastalıklarda ortak yön olarak; histamin ve diğer mediyatörler akut tepkimeleri başlatmaktadırlar. Deneysel histamin enjeksiyonunun, akut allerjik tepkimenin birkaç görünümünü taklit etmesi; endojen histamin serbestleşmesinin allerjik reaksiyonlarda önemli düzeyde etkili mediyatör olduğunu göstermektedir. Atopik kişilerde mast hücre sayısı, normal kişilere oranla fazla bulunmuştur. Sistemik olarak yapılan araştırmalarda, doku histamin konsantrasyonu ile mast hücre dağılımı arasında paralellik olduğu gösterilmiştir. Tepkimelerdeki histamin ve diğer mediyatörler mast hücresi dışında da sentezlenmektedir ancak akut yanıtların başlamasında tetik mekanizmanın mast hücresi tarafından başlatıldığı bilinmektedir. Diğer hücrelerin etkinliği, daha geç dönemlere rastlar ve mast hücrelerinin başlattığı duyarlılığa gereksinim vardır (2,12,59,72,74).

Mast hücresi membranı üzerindeki reseptörlere bağlı IgE ile antijenin birleşmesi sonucu; hücre aktive olmakta ve mediyatörler salınmaktadır. Bu majör reaksiyonlar, yabancı madde ile karşılaştığı ilk yirmi dakika hatta bir saate yakın zamanda olur. Minör reaksiyonlar, deri ile sınırlıdır ve tehdit edici değildir. Majör reaksiyonlar tehdit edici

boyuttur fakat homeostazis altmış dakika içinde gerçekleşir (Dasta, F., 1984).

Pekçok tür ve hayvan modellerinde, fizyolojik yanıtta önce mediyatörler salınır. Birçok mediyatör reaksiyon kompleksinin çalışmasına engel olmaktadır ve bu mediyatörler farklı hayvan modellerinde çeşitli etkilere sebep olabilirler. Histamin; akut reaksiyonlarda majör mediyatördür (Dasta, F., 1984).

Gıda ve meşrubatlara sarı renk vermek için kullanılan tartrazinin ürtiker, anjionörotik ödem, migren ve gastrointestinal şikayetlere yolaçtığı rapor edilmektedir. Hutchinson ve ark; yaptıkları çalışmada tartrazinin i.v. uygulaması sonrasında, doza bağlı bir bronkokonstrüksiyon oluşturduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca; tartrazinin mast hücrelerini degranülasyona teşvik ettiğini rapor etmektedirler. Gıda katkılarının, sinir sisteminin komponentleri ile karşılıklı etkileşimi, tartrazin ile sınırlandırılmaz. Ksantin boyalar ve eritrosininde nöromüsküler bağlantılarda kolinerjik ve dopaminerjik nöromodülatör salınımını etkilediği görülmüştür (Hutchinson, A.P., 1992).

Çalışmamızda, fetuslara ait deri örneklerinde, dermiste yaygın bir dağılım gösteren mast hücre bulguları dikkat çekicidir. Renklendiricilerle ilgili bilgilerin ışığında tercih ettiğimiz eritrosinin, mast hücrelerinin sayısını arttırdığını ve degranülasyona teşvik ettiğini gördük. İstatistiksel olarak; kontrol grubu ile eritrosin uygulanan grup arasında ($U=12$ $p<0.01^{**}$) önemli düzeyde fark vardı. Bulgularımız; eritrosinin mast hücrelerinin hem sayısını hem de degranülasyonu arttırdığını ortaya koyar nitelikte idi. Araştırmalarda eritrosinle ilgili değerlendirmeler bu yönde olmadığından bizim bulgularımızla karşılaştırmak mümkün omamıştır.

Gıda katkıları ve renklendiricilerinin kromozom aberasyonları, SCEs, immunotoksisite, mutajenite, toksisite, karsinojenite ve genotoksisite üzerine etkilerini araştıran pek çok araştırma vardır.

Vanillin; gıda, içecek ve sigarada kullanılan, oldukça yaygın bir tatlandırıcı bileşiktir. Johnson ve ark (1987), vanillinle yaptıkları çalışmada, bakterilerde mutajenite testleri ve Chinese hamster hücrelerinde kromozom aberasyonları indüksiyonu üzerindeki araştırmaları negatif sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, vanillin uygulamaları sonrasında, ratta intestinal mikroflora ve katekol aracılığı ile idrarda değişebilir. Genetik hasar gösterebilen bu katekol, kokarsinojenik olarak bilinmektedir. Vanillinin, potent bir

SCEs indükleyicisi olduğu yönünde bulgular elde etmişlerdir. Konsantrasyon artışı, aberasyonu arttırmıştır. Sasaki ve ark (1987); vanillinin tek başına ne SCEs ne de aberasyonları indükleyemediğini bulmuştur. Ancak MMC indüklü hücrelerde, SCEs frekansında artış gözlenmiştir. Vanillinin etkisi, aynı zamanda S-fazında olup-olmamaya da bağlıdır. Buna zıt olarak; G₂ fazında vanillin uygulaması; aberasyonları azaltmıştır.

Caramel Color-III; aminonia caramel color (AC) olarak da bilinir. Besinlerde yıllardan beri kullanılan bir renk katkısıdır. Houben ve ark (1993); caramel color-III uygulamasının rat ve farelerde lenfopeni yaratabileceği üzerinde durmuşlardır. Bu azalmayı T ve B hücrelerindeki bir azalmaya bağlamışlardır. Aynı zamanda, dalak ve popliteal lenf nodlarındaki hücre sayısında, kan-dalak ve popliteal lenf nodlarında CD4⁺, CD8⁺ lenfosit oranında, ovaryum korteks-medulla oranında, thymik korteks ve dalak kırmızısı pulpasında ED2⁺ makrofaj sayısında da azalma saptamışlardır.

Azo boyalar (Amaranth, Ponceau 4R, Sunset Yellow, Tartrazine); yiyecek, giysi, kağıt ve diğer tüketim maddelerine renk vermek amacı ile çok yaygın olarak kullanılır. Bu gruptaki boyaların çoğu, laboratuvar hayvanları ile yapılan çalışmalarda karsinojenik, kısa süreli genotoksisite çalışmalarında ise genotoksik bulunmuştur. Bununla birlikte, karsinojenik bazı azo boyları, in vitro koşullarda azo bağı kimyasal olarak indirgenip, mutajenik aminleri açığa çıkarmadıkça, Salmonella/mikrozom tst sisteminde mutajenik değildir (İzbırak, A., 1990).

Çeşitli boyaların genotoksisiteleri üzerine yapılmış taramaların veri analizleri, bu bileşiklerin yaklaşık %70'inin çelişkisiz sonuçlar verdiğini göstermektedir. Bir grup boyanın, Ames testinde değişik cevaplar vermesi, metabolik aktivasyonlardaki farklılıklarla açıklanmıştır. Çok sayıda boya; mutasyon, DNA hasarı ve klastojenik etki açısından denenmiş ve bunlardan bir kısmı diğer etkileri göstermezken, klastojenik etki göstermiştir. Bunlardan Amaranth, Ponceau 4R, Sunset Yellow ve Tartrazine; insan lökositleri ve mikronükleus testinde kromozom hasarı yaratmıştır. Bazı boyaların, özgüllükle kromozomları etkilediklerine ilişkin kanıtlar vardır. Kısa zamanlı testlerle yapılacak taramalar, bu noktada önem kazanmaktadır. ABD dışındaki ülkelerde, besinlere geniş ölçüde katılan Ponceau 4R; bakteriyel ve ökaryotik sistemlerde genotoksik bulunmamıştır. Sunset Yellow ve Tartrazine çeşitli submemeli testlerinde, inaktif sonuç

vermiştir. Sunset Yellow, insan periferik lenf sisteminde inaktif, tartrazin ise klastojenik bulunmuştur (İzbrak, A., 1990). Eritrosin üzerinde yapılan genotoksik çalışmalardan elde edilen veriler oldukça şüphelidir (46,47).

Lakdawalla, A.A. ve ark (1988); eritrosinin ♂ ratlarda tiroid tümörlerine neden olduğunu rapor etmişlerdir. Prokaryotik sistemlerde, genelde non-mutajenik olduğunu, çeşitli ökaryotik sistemlerde ise (tümör hücreleri, Chinese hamster karaciğer hücreleri, lenfositler, eritrositler, *Vicia faba*, soğan, maya, vb..) belirsiz bir genotoksik yanıt almıştır. Matula ve ark (1984) ise; eritrosinin genotoksik olmadığı ve bundan dolayı bir tümör başlatıcısı değil, bir tümör destekleyicisi olduğu hakkında negatif mutajenik veriler elde etmişlerdir. Eritrosin, gen değişiklikleri ve ters mutasyonlarla indüklenmiş ökaryotik mayalarda genotoksiktir. Eritrosin, D₅₀ minimum medyum düzeyinde ve 1.0 mg/ml ve 2.3 mg/ml'de; *Salmonella* test türleri TA97a, TA98, TA100, TA102, TA104'te; toksik bulunmuştur. Boyanın toksisitesi, ışıkta inkübasyonla artmıştır. Eritrosin benzeri oksanolik boyaların, ışığa duyarlı etkileri bilinir. Eritrosin, O₂ ile aktive olur. Bu da; eritrosinin mutajenik oksidatif DNA hasarı oluşturduğu ihtimalini düşündürür. Ames/*Salmonella* deneylerinde, eritrosin non-mutajeniktir. Yalnız TA100'deki mutajenitesi gözleendiğinden, bu durum kesinlik kazanmamıştır. *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* deneylerinde, negatif bir yanıt almışlardır. Işık koşullarında, uvrB-prf/dfc türlerinde eritrosinin farklı toksik etkilerindeki sonuçları, renklendiricilerin uvr sistemi ile DNA lezyonlarına neden olduğunu kanıtlamışlardır (46,47,55).

Eritrosin hücrel biyokimyasal reaksiyonları; peroksitler, formaldehitler, purin analogları gibi... endojen mutajenlerin fonksiyonlarını azaltmak yolu ile inhibe eder (Lakdawalla, A.A., 1988).

Eritrosin; in vitro ve in vivo olarak çalışılan, yapısal olarak rhodamine boylarla ilgili olan bir boyadır. Matula ve ark (1984); Rhodamine,B ve 6G'nin ticari preparasyonlarının, *Salmonella*'da mutajenik olduğunu bildirmişlerdir. Saf boylar, bakterilerde mutajenik değildir fakat saflaştırılmış Rhodamine-B; mayalarda gen değişikliklerini ve Chinese hamster over hücrelerinde DNA hasarı, kromozom kırıkları ve SCEs'i indükler. Rhodamine-WT; *Salmonella*'da mutasyonu indüklemiştir. Eritrosin; *Saccharomyces cerevisiae* D7 soyunda, trp lokusunda gen konversiyonu frekansında,

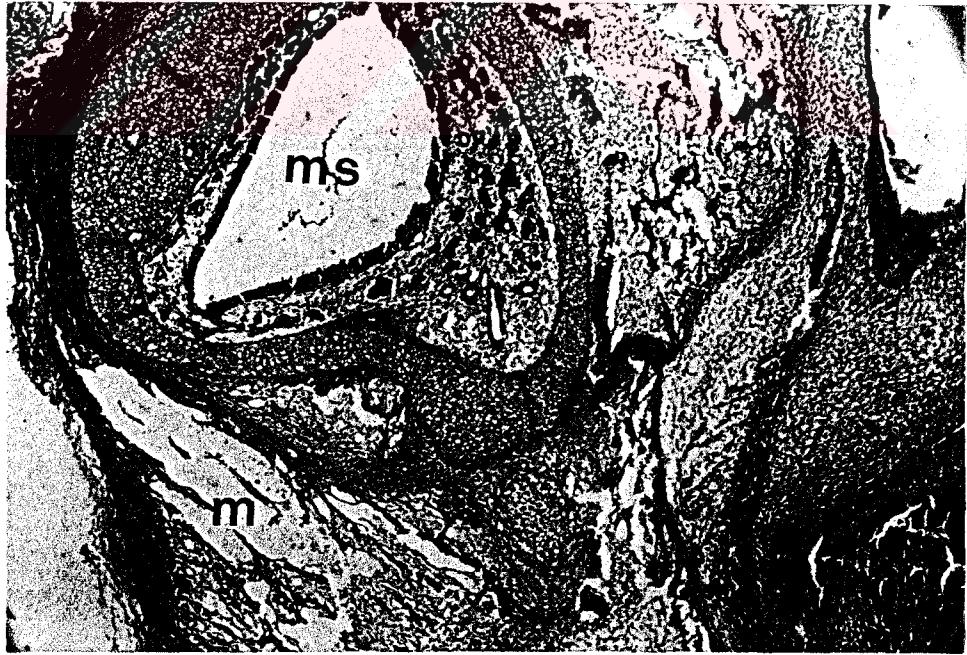
doza bağımlı bir artış göstermiştir. Mitotik rekombinasyon olmayan ters mutasyon ve gen değişiklikleri, eritrosin tarafından indüklenmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız genetik yöntemlerde, her iki aşamada da, eritrosinin kromozomal hasara yolaçmadığı gözlemlendi. Eritrosinin bu yönden, kullandığımız dozlarda etkisiz olduğu düşünüldü. Ancak hücre kültüründe eksojen eritrosin kullanımında, doza bağımlı bir artış yönünde, hücre canlılığı ve sayısında giderek azalma, hücrelerde aşırı vakuolizasyon gördüğümüz bulgularımızı, aynı yöntemle yapılan çalışmalar elde edemediğimiz için karşılaştırma olanağımız olmadı.

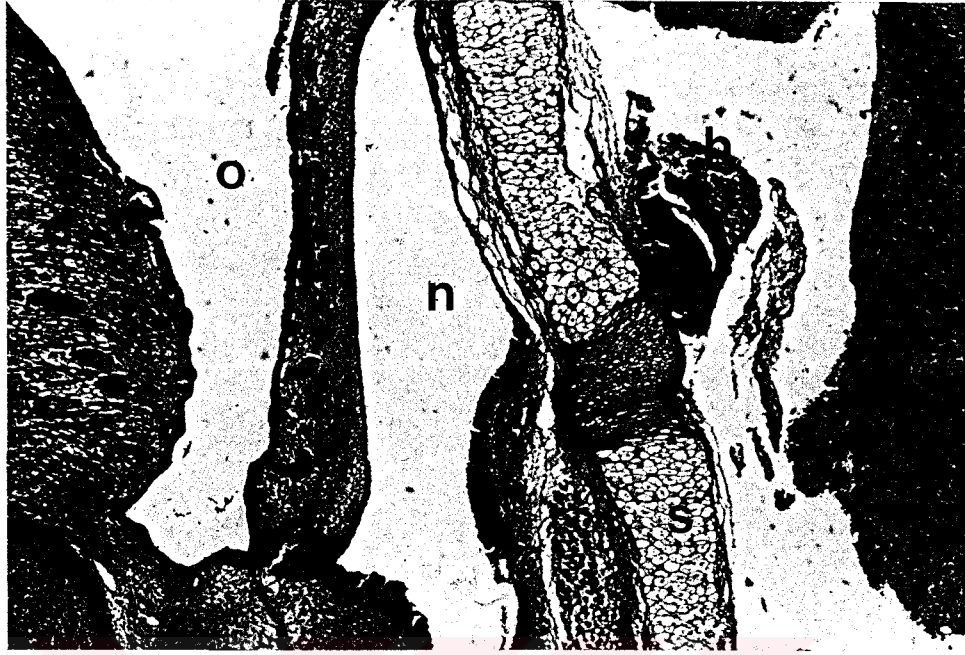
Sonuçta bulgularımıza göre, gıda katkı maddeleri kullanma tüzüğü olmasına karşın, tüketici sağlığına hemen hiç dikkat edilmeyen ülkemizde, çevremizi bilinçlendirmek gerektiği inancındayız. Özellikle genetik incelemenin ikinci aşaması olarak belirttiğimiz eksojen eritrosin kullanımında kontaminasyon üzücü idi. Miliporlardan defalarca süzülerek hazırlanan eritrosinin, ne yazık ki bu şekilde sterilize edilerek besinlere eklendiği düşüncesini taşımamaktayız. Bu durumun insan sağlığını olumsuz etkilediği görüşündeyiz. Ayrıca her gıda katkı maddesinin farklı türlerde aynı etkileri oluşturması söz konusu olmadığından, çalışmamızın başka hayvan türlerinde tekrarlanmasının ve de hematolojik ve biyokimyasal yönden de incelenerek, yeni bulgularla desteklenmesi gerektiği düşüncesindeyiz.



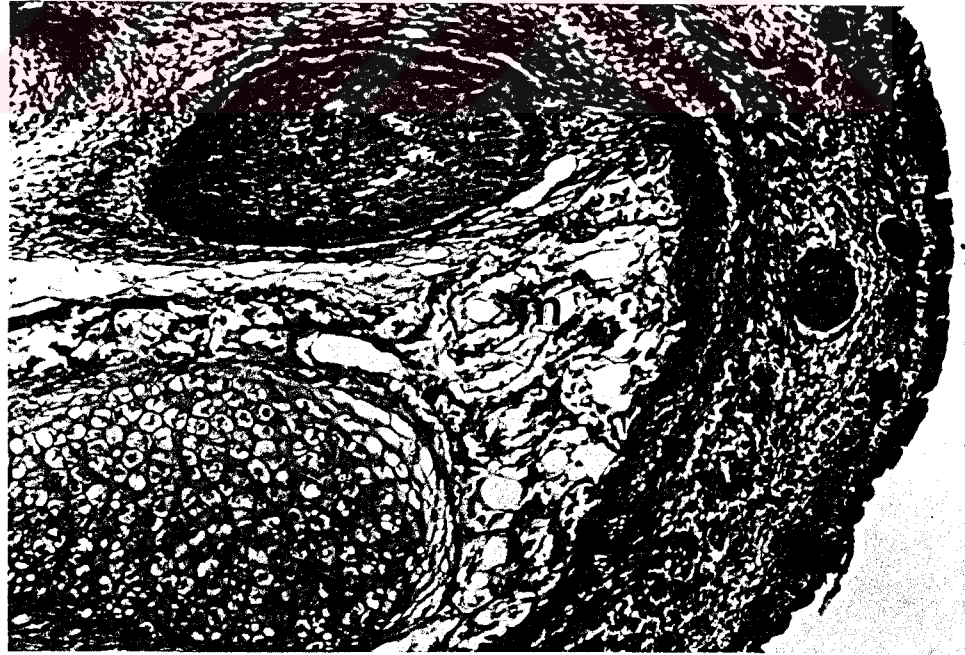
Resim 1: Kontrol grubunda; d: dil kökü, t: trakea, o: özofagus. H.&E., Orjinal büyütme x13.2



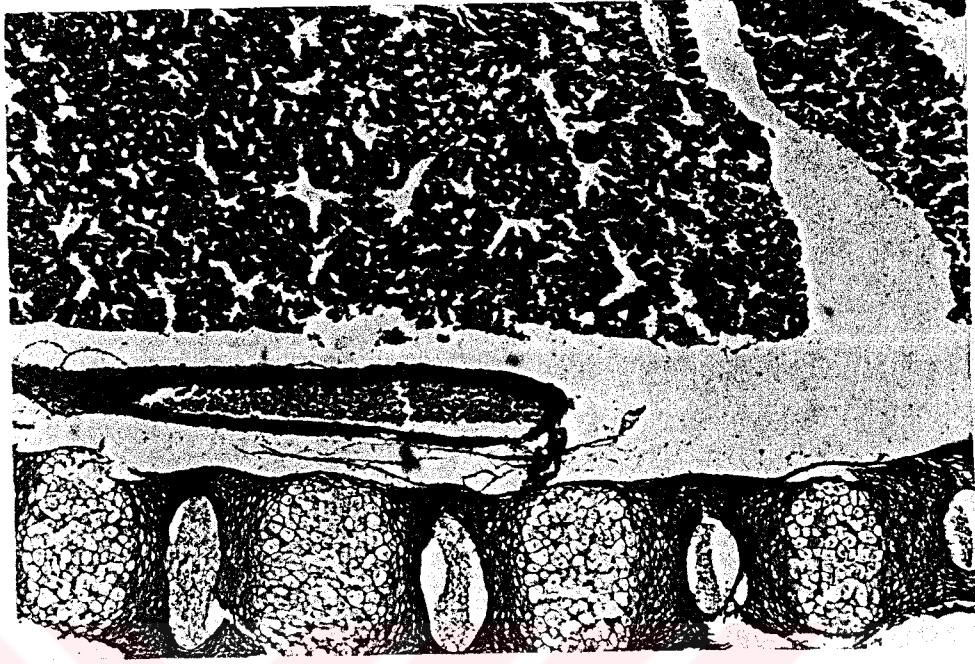
Resim 2: Kontrol grubunda; ms: maksiller sinus, m: maksiller ossifikasyon. H.&E., Orjinal büyütme x13.2



Resim 3: Kontrol grubunda; d: dil kökü, o: cavum oris, n: cavum nasi, p: palatum, s: sfenoid kemik, c: serebrum. h: hipofiz. H.&E., Orjinal büyütme x13.2



Resim 4: Kontrol grubunda; d: diş, m: mandibula. H.&E., Orjinal büyütme x33



Resim 5: Kontrol grubunda akciğer ve torakal vertebralar. H.&E., Orjinal büyütme. x13.2



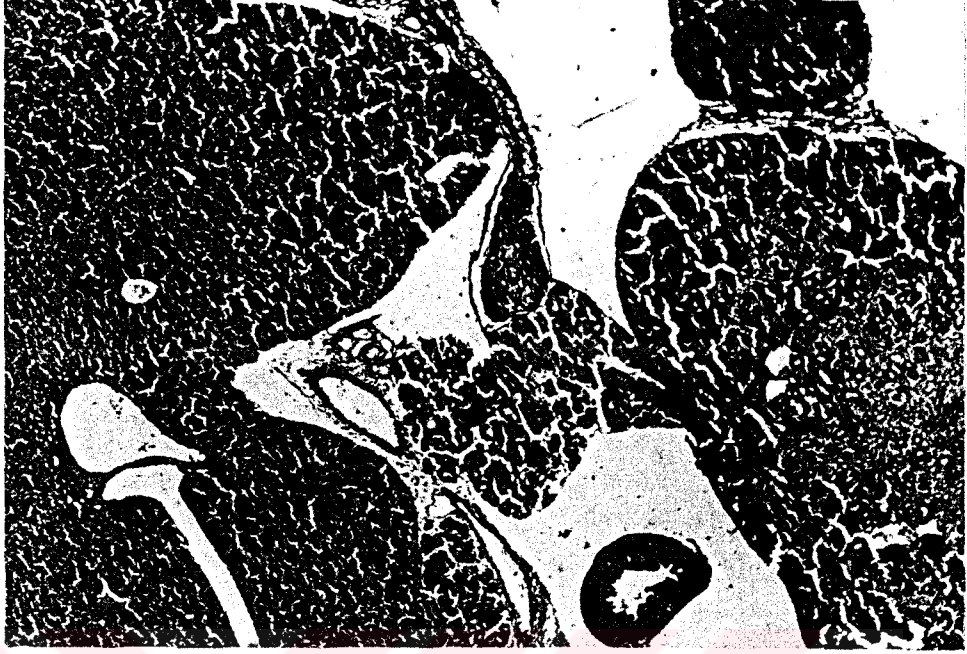
Resim 6: Kontrol grubunda akciğer görünümü. H.&E., Orjinal büyütme. x66



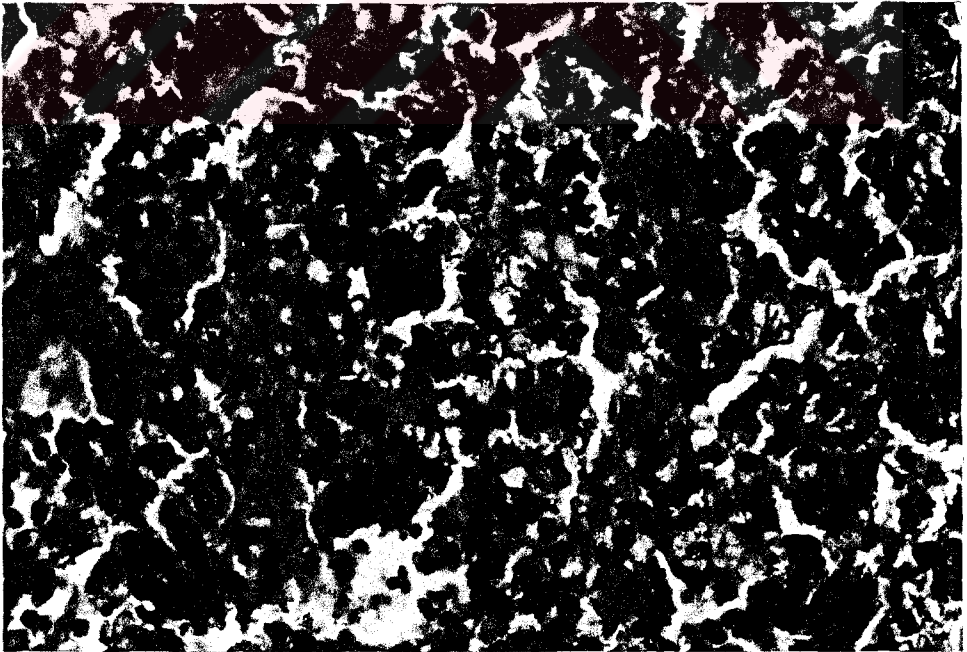
Resim 7: Kontrol grubunda; k: kalp (atrium ve ventriküller, kapakçıklar), a: aort, t: trakea, v: vertebra. H.&E., Orjinal büyütme x13.2



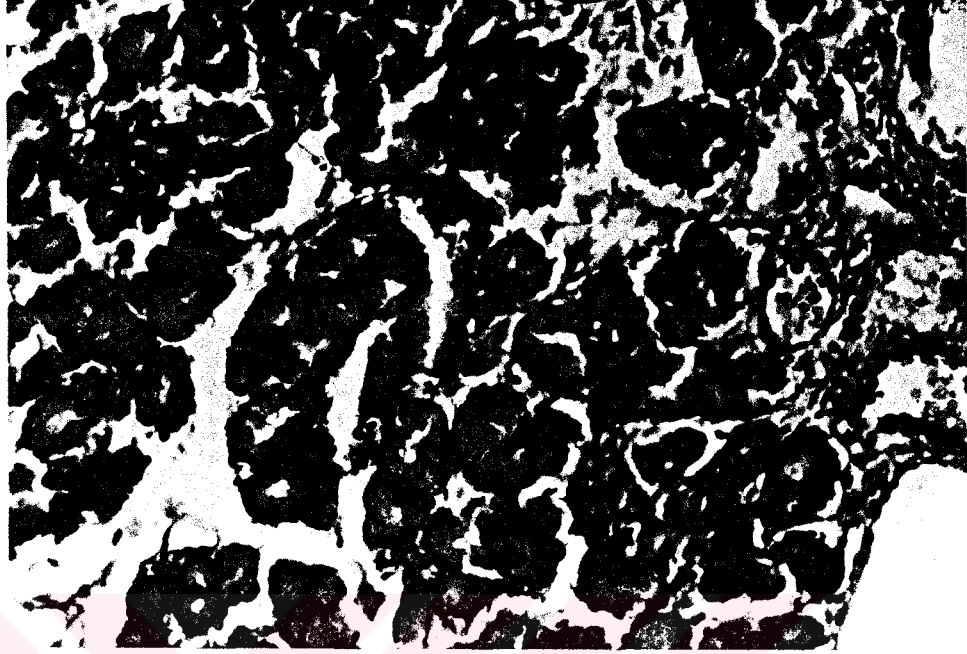
Resim 8: Kontrol grubunda intramembranöz ossifikasyon ve deri farklılaşması. H.&E., Orjinal büyütme x33



Resim 9: Kontrol grubunda karaciğer, böbrek, surrenal, pankreas, ince barsağı ait görüntüler. H.&E., Orjinal büyütme x13.2



Resim 10: Kontrol grubunda karaciğerde ekstramedullar hemopoez. H.&E., Orjinal büyütme x132



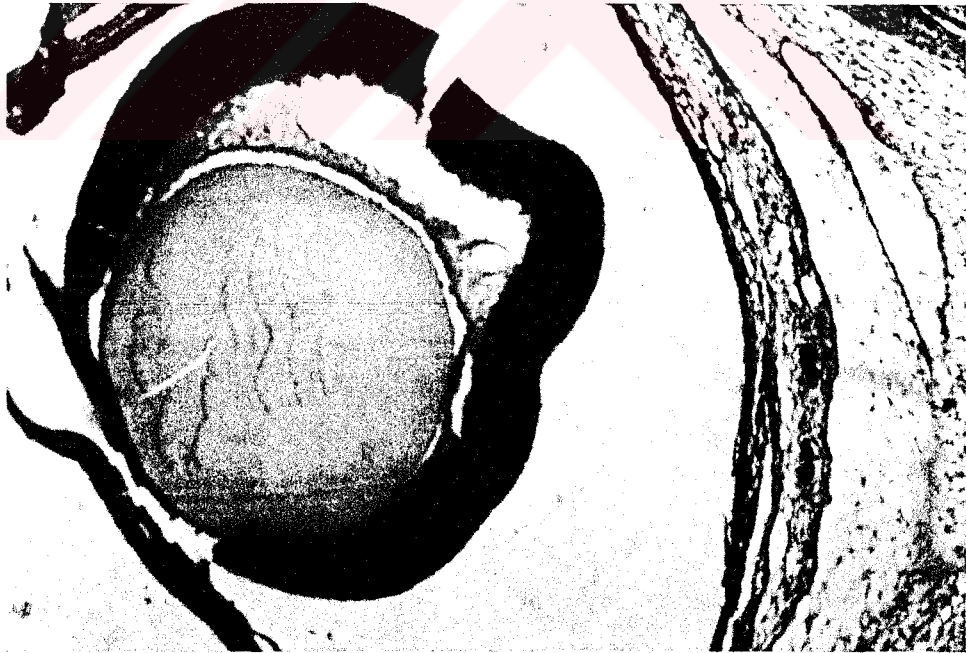
Resim 11: Kontrol grubunda pankreas görünümü. H.&E., Orjinal büyütme x66



Resim 12: Kontrol grubunda ince barsak. H.&E., Orjinal büyütme x66



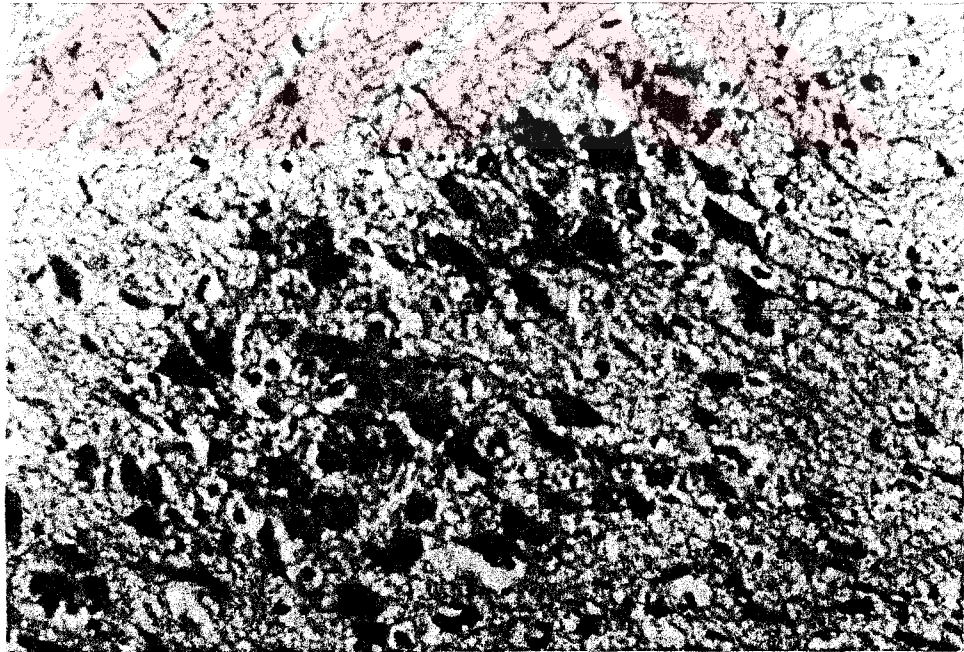
Resim 13: Eritrosin verilen grupta deri gelişimi. H.&E., Orjinal büyütme x200



Resim 14: Eritrosin verilen grupta gözün gelişimi. H.&E., Orjinal büyütme x20



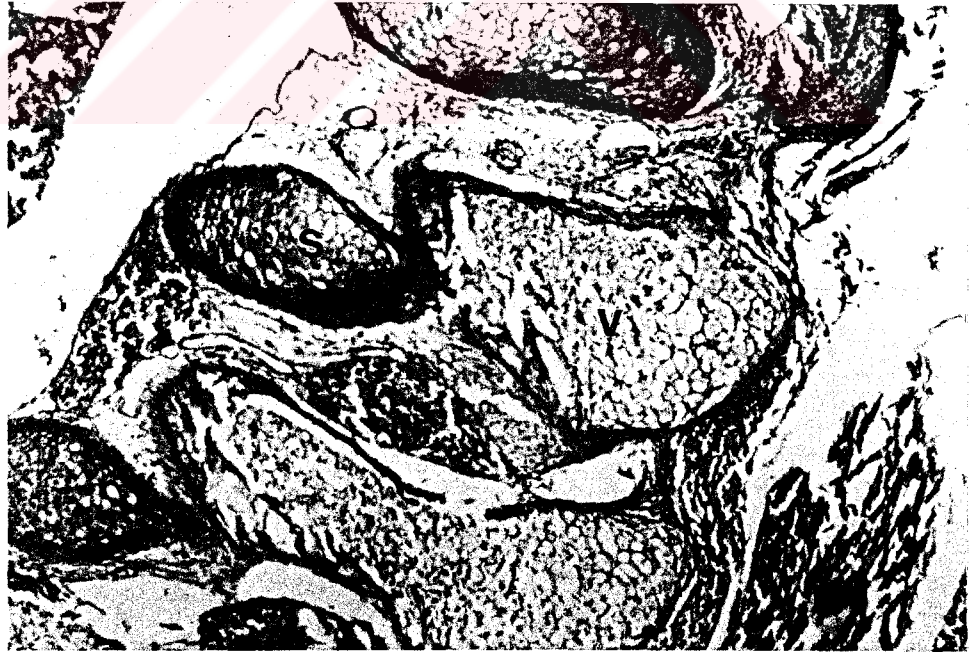
Resim 15: Eritrosin verilen grupta kulağın gelişimi. H.&E., Orjinal büyütme x20



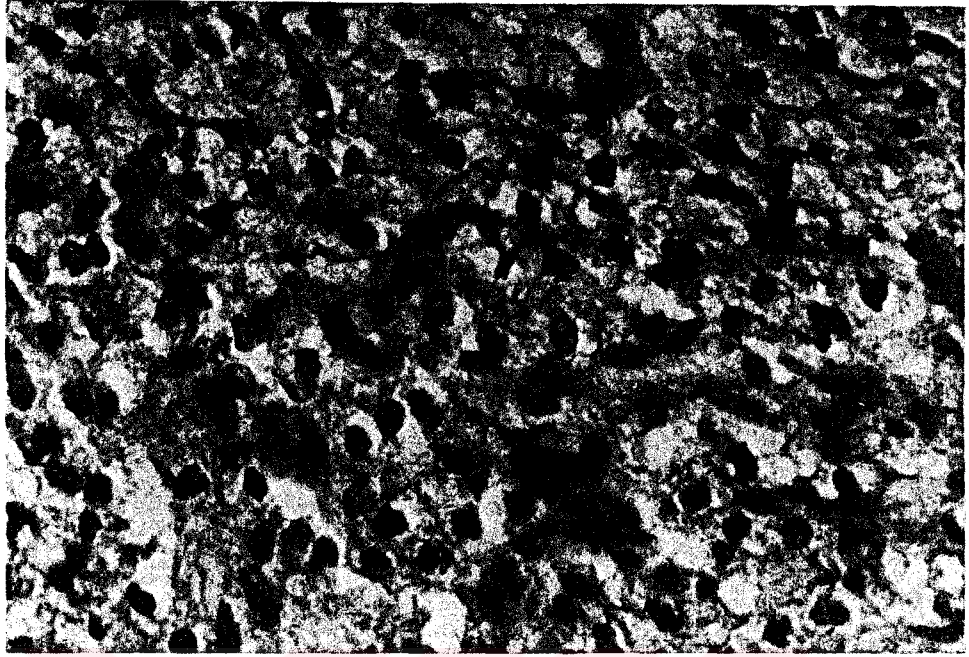
Resim 16: Eritrosin verilen grupta medulla spinalisin ön boynuzundaki motor nöronlar. H.&E., Orjinal büyütme x100



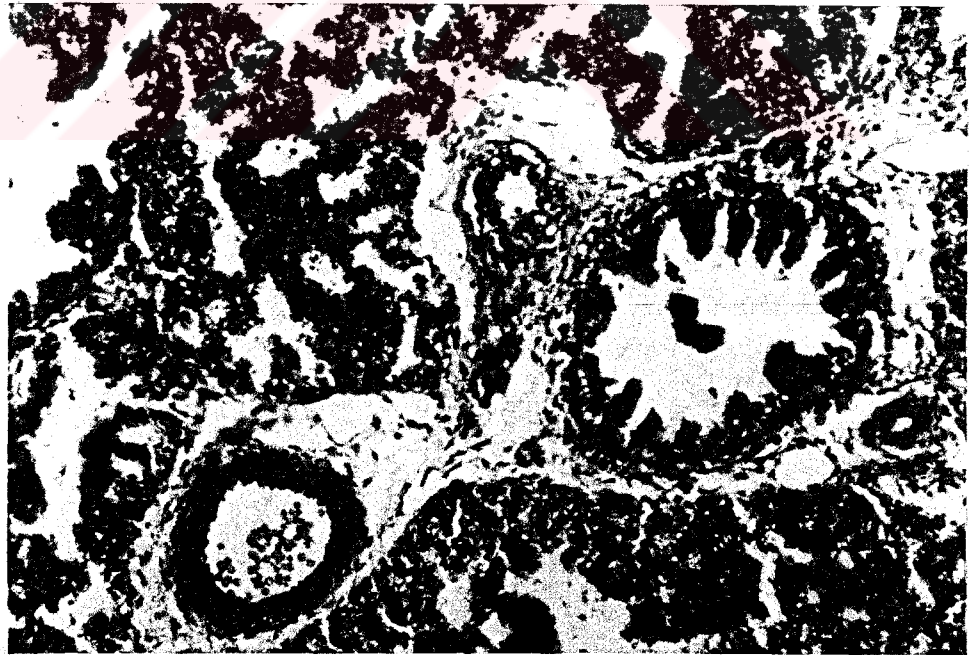
Resim 17: Eritrosin verilen grupta ms: medulla spinalis, np: nükleus pulposus, v: vertebra, o: özofagus, t: trakea. H.&E., Orjinal büyütme x20



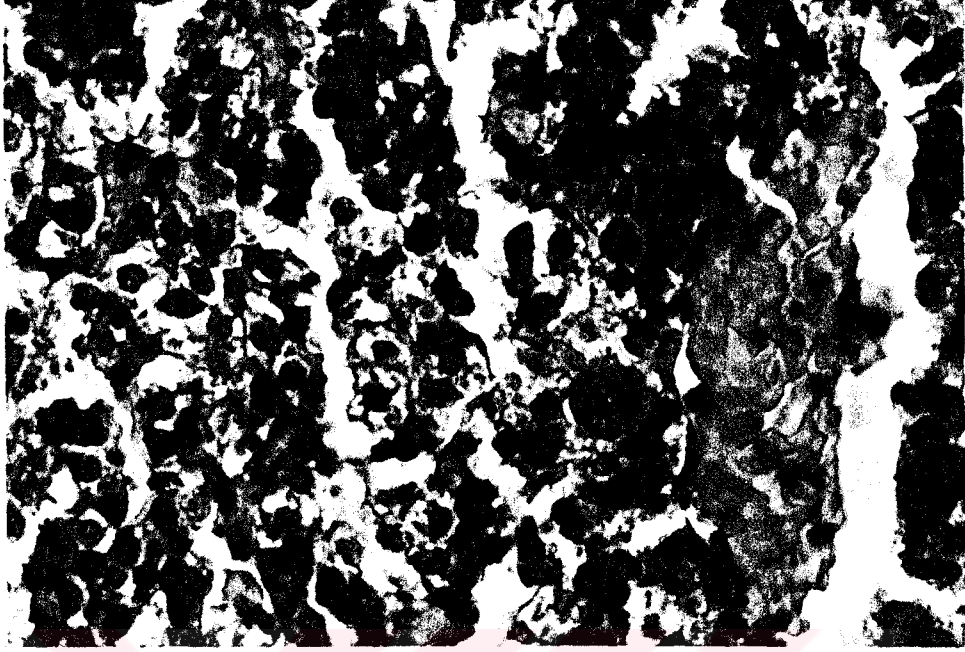
Resim 18: Eritrosin verilen grupta v: vertebra, s: spinal ganglion gelişimi. H.&E., Orjinal büyütme x20



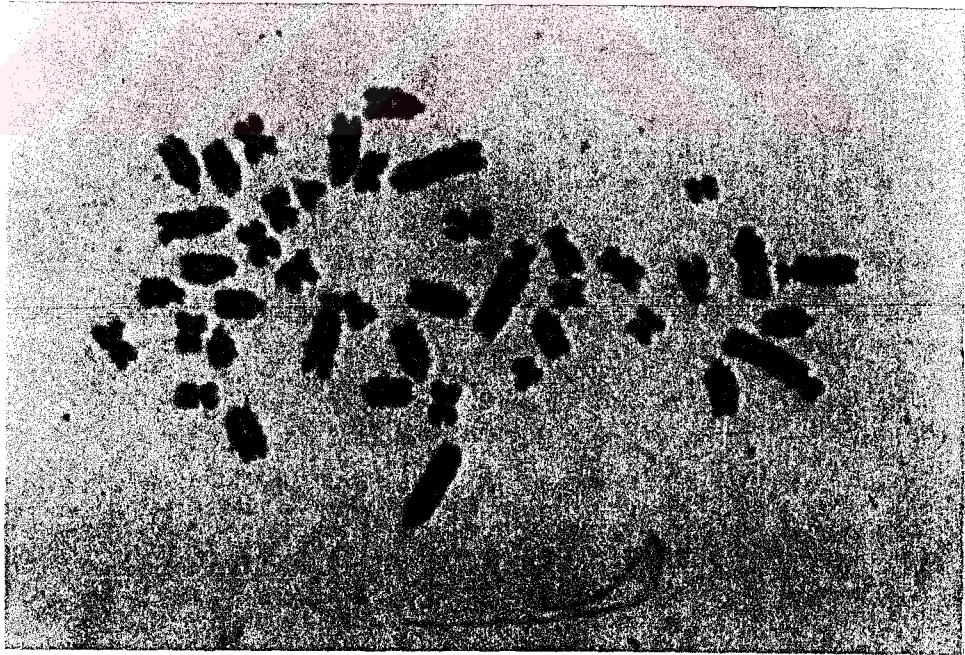
Resim 19: Eritrosin verilen grupta kalp kası hücrelerinin genel görünümü. H.&E., Orjinal büyütme x200



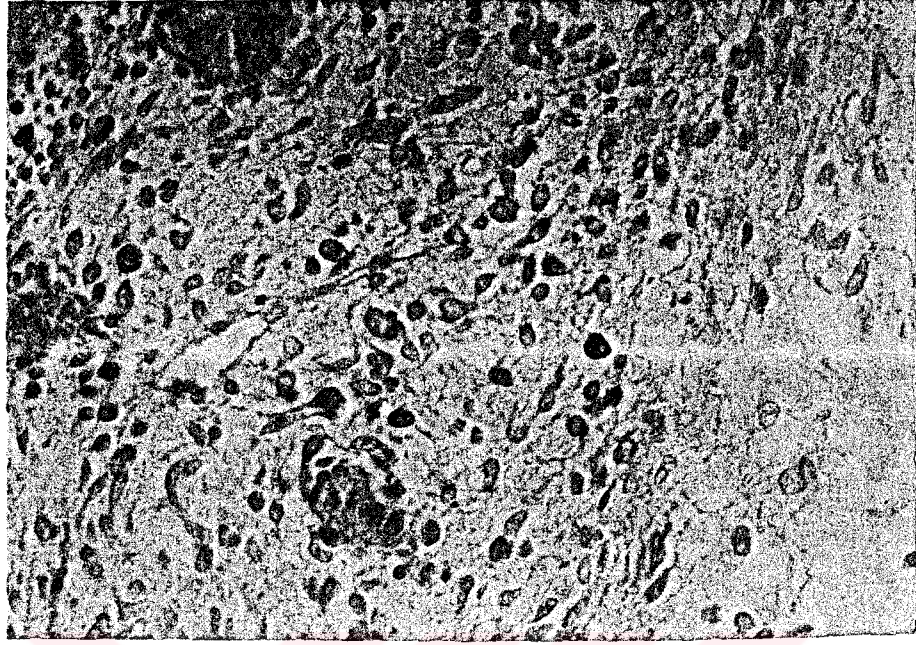
Resim 20: Eritrosin verilen grupta akciğerlerin görünümü. H.&E., Orjinal büyütme x50



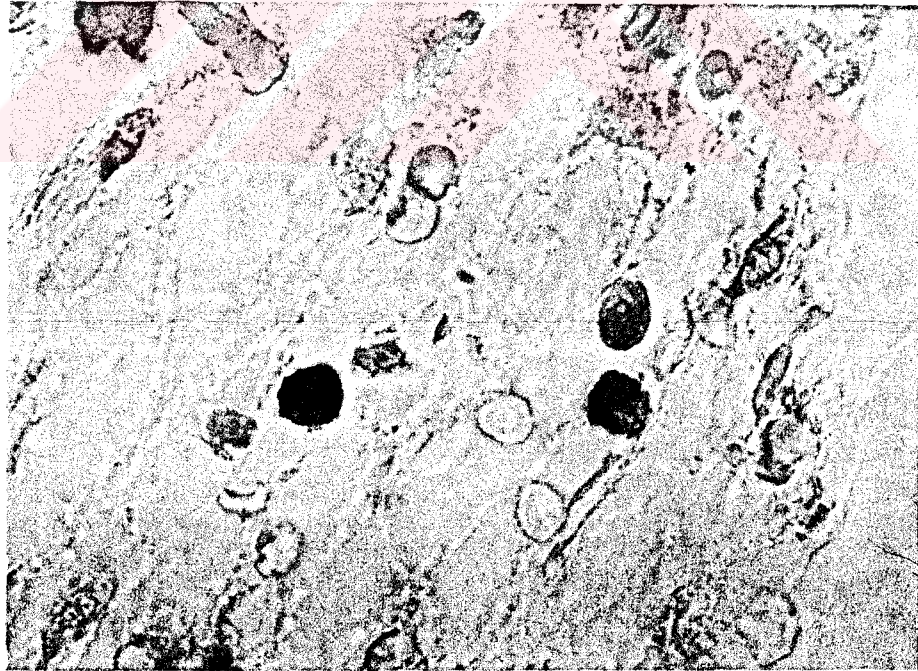
Resim 21: Eritrosin verilen grupta karaciğer gelişimi. H.&E., Orjinal büyütme x200



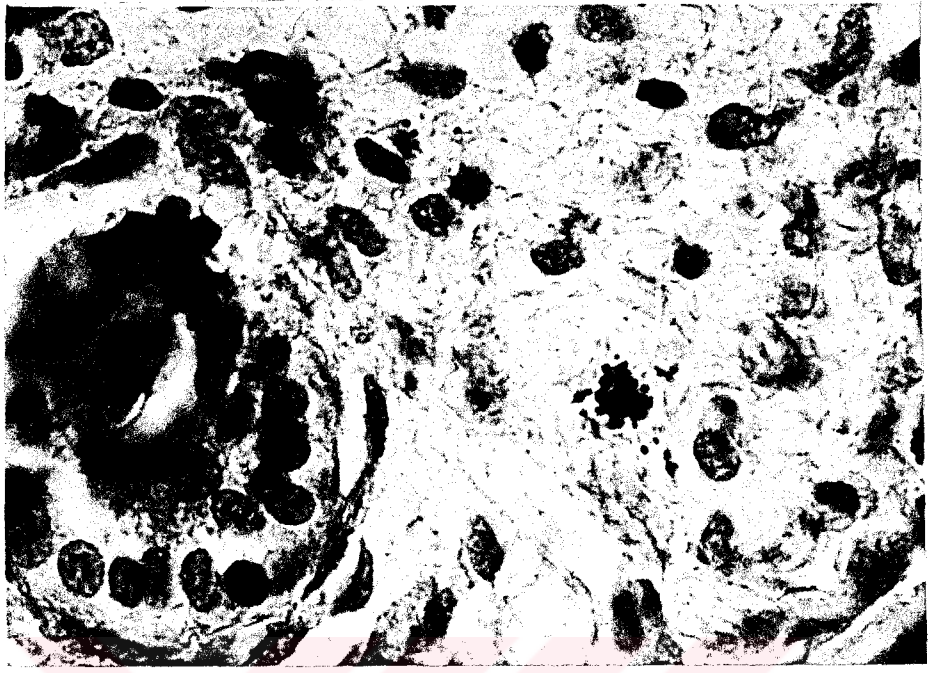
Resim 22: Eritrosin verilen grupta normal sayı ve görünümdeki kromozomlar. Giemsa. Orjinal büyütme x500



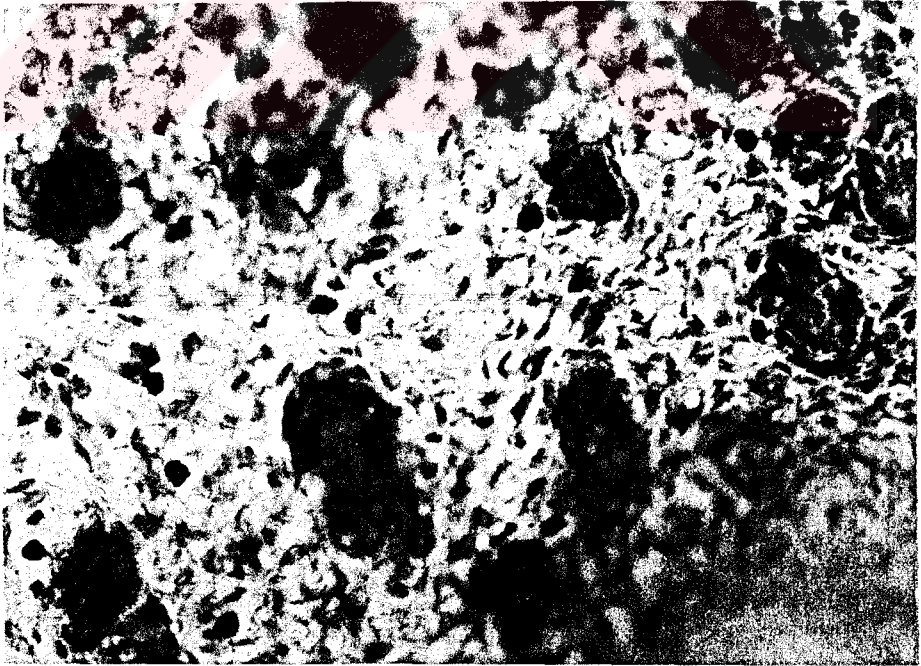
Resim 23: Kontrol grubunda dermiste immatür mast hücresi. Toluidine Blue.
Orjinal büyütme x132



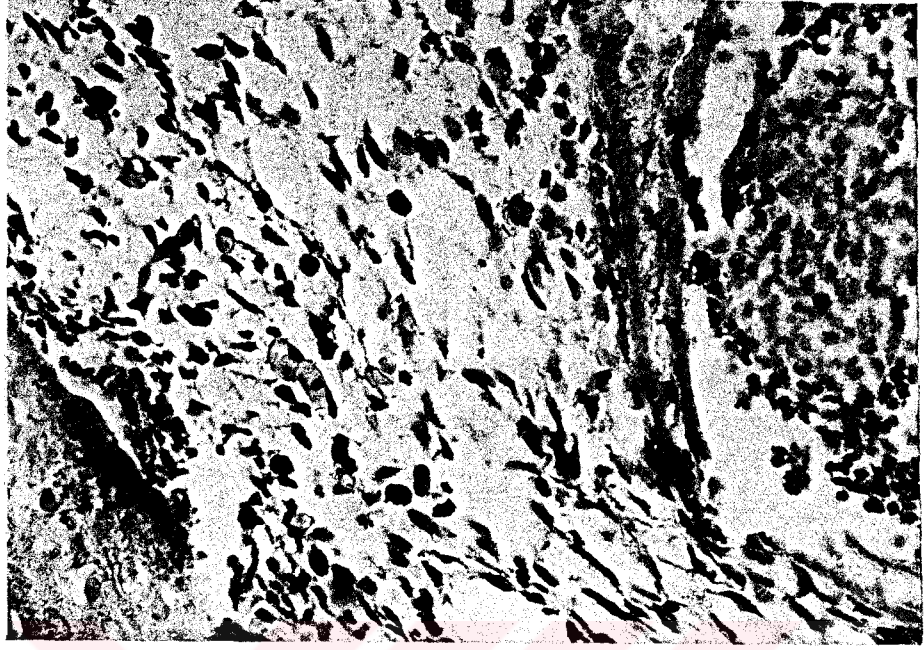
Resim 24: Kontrol grubunda dermiste az sayıda granül içeren mast hücreleri.
Toluidine Blue. Orjinal büyütme x330



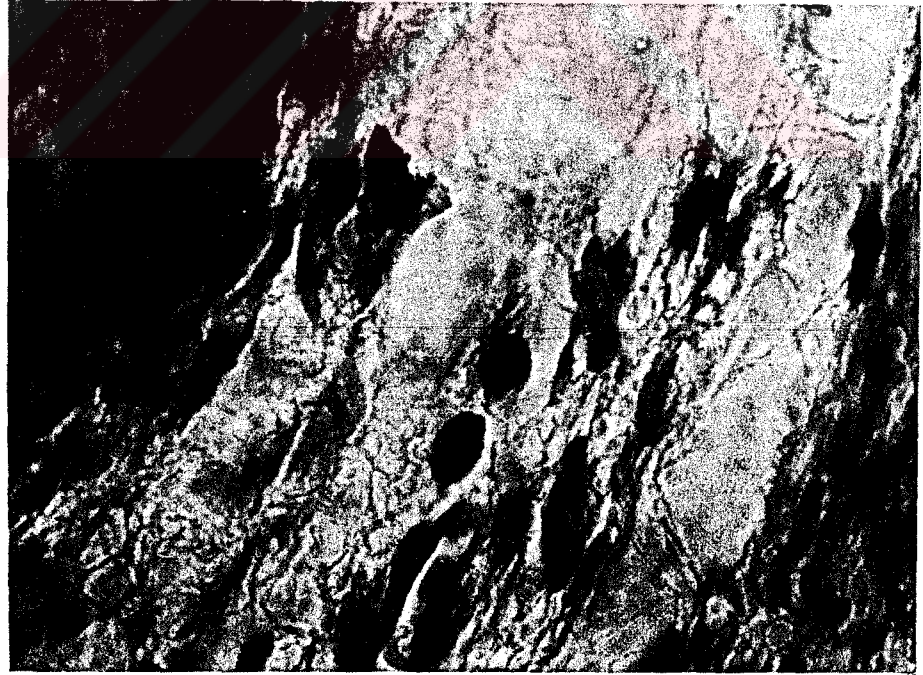
Resim 25: Kontrol grubunda dermiste eksositozda mast hücresi. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x330



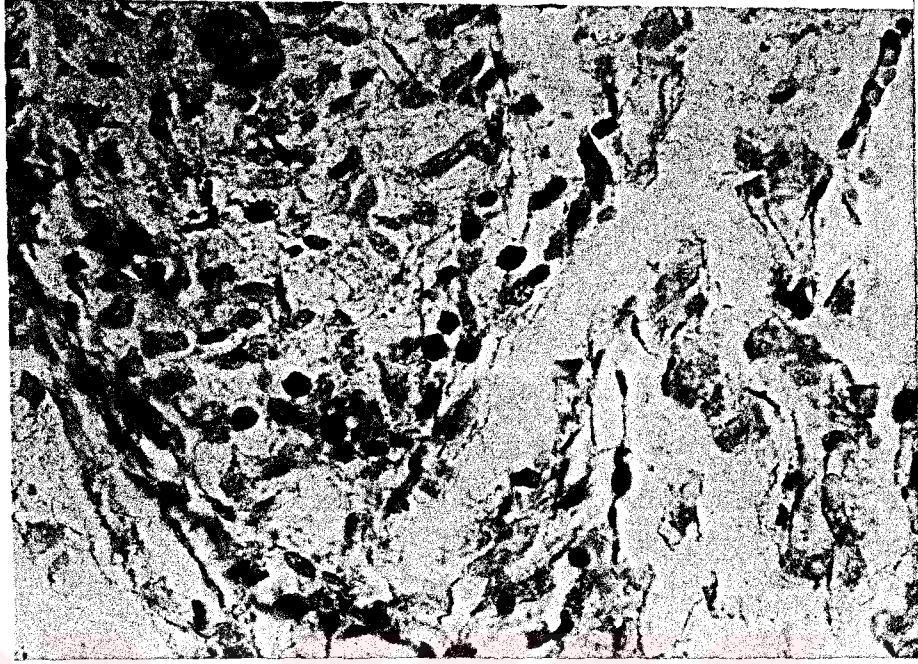
Resim 26: Eritrosin verilen grupta, dermiste çok sayıda matür mast hücresi. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x132



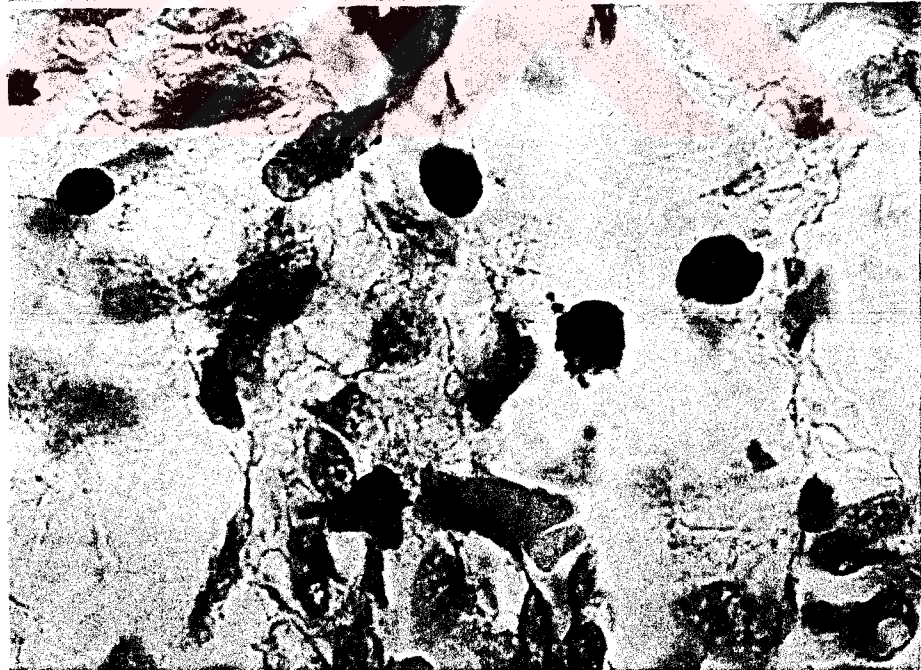
Resim 27: Eritrosin verilen grupta, dermiste yaygın matür mast hücreleri. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x132



Resim 28: Eritrosin verilen grupta, dermiste koyu metakromatik ve degranüle mast hücreleri. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x330



Resim 29: Eritrosin verilen grupta, dermiste eksositoz gösteren, çok sayıda matür mast hücreleri. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x132



Resim 30: Eritrosin verilen grupta, dermiste çok sayıda granül içeren, eksositozda mast hücreleri. Toluidine Blue. Orjinal büyütme x330

KAYNAKLAR

1. Allansmith, M.R., Baird, R.S., Henriquez, A.S., Bloch, K.J.: Sequence of mast cell changes in ocular anaphylaxis. *Immunol.* 49(2): 281-87, 1983.
2. Barış, Y.İ.: Astma epidemiyolojisi, Astmada mediyatörler ve nöropeptidler, Allerjik astma. Bronş Astması. 1-7, 25-36, 50-62, Ankara 1991.
3. Başaklar, C.: Konjenital malformasyonlar. Langman's Medikal Embriyoloji, 109-31, 1993.
4. Benyon, R.C., Lowman, M.A., Church, M.K.: Human skin mast cells: Their dispersion, purification and secretory characterization. *J. Immunol.* 138(3): 861-67, 1987.
5. Bilgehan, H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 4. Baskı, Barış Yayınları. 460-71, Ankara 1989.
6. Borzelleca, J.F., Olson, J.W., Reno, F.E.: Lifetime toxicity/carcinogenicity study of FD&C Red No. 40(Allura Red) in sprague-dawley rats. *Food Chem. Toxicol.* 27: 701-5, 1989.
7. Brent, R.L., Beckman, D.A., Landel, C.P.: Clinical teratology. *Curr. Opin. Pediatr.* 5(2): 201-11, Apr. 1993.

8. Burgaz, S.: Kimyasal teratojenesis. Toksikoloji. 81-7, Ankara, 1990.
9. Burnett, C.M., Agersborg, H.P.K., Borzelleca, Jr. J.F., Eagle, E., Ebert, A.G., Pierce, E.C., Kirschman, J.C., Scala, R.A.: Teratogenic studies with certified colors in rats and rabbits. Abstracts: Thirteenth Annual Meeting, 121.
10. Carlson, B.M.: Human Embryology and Developmental Biology. Mosby, Von Hoffmann Press. Inc., 1994.
11. Chappel, C.I., Howell, J.C.: Caramel colours. A historical introduction. Food Chem. Toxicol. 30: 351-57, 1992.
12. Cochrane, D.E., Boucher, W., Carraway, R.E.: Mast cell histamine releasing activity from stimulated rat neutrophils. Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol. 87: 269-74, 1988.
13. Collins, T.F.X., Black, T.N., Welsh, J.J., Brown, L.H.: Study of the teratogenic potential of FD&C Red No. 40 when given by gavage to rats. Food Chem. Toxicol. 27: 707-13, 1989.
14. Collins, T.F.X., Black, T.N., O'Donnell, M.W., Bulhack, J.R., P.: Study of the teratogenic potential of FD&C Yellow No. 5 when given in drinking water. Food Chem. Toxicol. 30: 263-68, 1992.
15. Dasta, J.F., Fath, J.J., Cerra, F.B.: The therapy of anaphylactic shock. Drug Int. Clin. Pharmacy. 18: 14-21, 1984.
16. Denaro, A., Martucci, N., Ruggieri, S., Manna, V., Agnoli, A.: Headache and noradrenergic involvement: the effects of alpha 2-stimulants and alpha 2-antagonist. Acta. Psychiatr. Sci. 320: 20-25, 1985.

17. Dep of Histopathology Royal Postgraduate Med. School: Handbook of Histological Techniques. London, 1990.
18. Dvorak, A.M., Schleimer, R.P., Lichtenstein, L.M.: Human mast cells synthesize new granules during recovery from degranulation in vitro studies with mast cells purified from human lungs. *Blood*. 71(1): 76-85, 1988.
19. Dvorak, A.M., Wiberg, L., Monahan, Earley, R.A., Galli, S.J.: A simple technique to facilitate the ultrastructural analysis of cells in soft agar culture systems: Demonstration of the development in vitro of morphologically mature mast cells and phagocytic macrophages from the bone marrow cells of genetically mast cell deficient w/wv or congenic normal mice. *Lab. Invest.* 62(6): 774-81, 1990.
20. El-Saadany, S.S.: Biochemical effect of chocolate colouring and flavouring like substances on thyroid function and protein biosynthesis. *Die Nahrung*. 35: 335-43, 1991.
21. Erbençi, T.: *Histoloji*: 2, İstanbul, 1985.
22. Erol, A., Gürer, F., Bayçu, C.: Identification of mast cells in human dental pulp. *J. Health. Sci.* 2: 127-36, 1990.
23. Fawcett, D.W.: *A Textbook of Histology*. Eleventh Ed. W.B. Saunders Comp. 1986.
24. Food and Agriculture Organization of the United Nation: *Manuals of Food Quality Control*. 7. food analysis: General techniques, additives, contaminants and composition. *FAO Food and Nutrition Paper*. 75-97, Rome 1986.

25. Guyton, A.C.: Tibbi Fizyoloji. Cilt I - 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi. 76-86, İstanbul, 1989.
26. Guyton, A.C.: Tibbi Fizyoloji. Cilt I - 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi. 87-101, İstanbul, 1989.
27. Hammel, I., Lagunoff, D., Krüger, P.G.: Studies on the growth of mast cells in rats. Changes in granule site between 1 and 6 months. Lab. Invest. 59(4): 549-54, 1988.
28. Heckel, S., Favre, R., Weber, P., Dellenbach, P.: Teratogenicity of retinoids. A case and review of the literature. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris). 22(1): 43-7, 1993.
29. Hermens, J.M., Ebertz, J.M., Hanifin, J.M., Hirshman, C.A.: Comparison of histamine release in human skin mast cells induced by morphine, fentanyl and oxymorphone. Anesthesiology. 62: 124-29, 1985.
30. Hıncal, F.: Toksikoloji. H. Ü. Ders Notları, 1993.
31. Hoffmann-La Roche & Co.: Erythrosine. Certificate of analysis. 7, 31.5.1989.
32. Horsmanheimo, L., Harvima, I.T., Jarvikallio, A., Harvima, R.J., Naukkarinen, A., Horsmanheimo, M.: Mast cells are one major source of interleukin-4 in atopic dermatitis. British Journal of Dermatology. 131: 348-53, 1994.
33. Houben, G.F., Penninks, A.H., Seinen, W., Vos, J.G., Loveren, H.V.: Immunotoxic effects of the color additive caramel color-III: Immune function studies in rats. Fundamental and App. Toxicol. 20: 30-37, 1993.

34. Hutchinson, A.P., Carrick, B., Miller, K., Nicklin, S.: Adverse reactions to synthetic food colours: Interactions between tartrazine and muscarinic acetylcholine receptors in isolated guinea-pig ileum. *Toxicology Letters*. 60: 165-73, 1992.
35. İzbrak, A., Sümer, S., Diril, N.: Gıdalara katılan bazı azo-boyalarının mutajenik etkilerinin test edilmesi. *Mikrobiyol. Bült.* 24: 48-56, 1990.
36. Jansson, T., Zech, L.: Effects of vanillin on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human lymphocytes. *Mut. Res.* 190: 221-24, 1987.
37. Johnson, K.E.: Human developmental anatomy. Harwal Publ. Comp. 385-99, Pennsylvania 1988.
38. Kayaalp, O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt: II- 4. Baskı. Feryal Matbaası. 2716-52, Ankara, 1988.
39. Kayaalp, O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt: II- 4. Baskı, Feryal Matbaası. 1158-71, 1258-85, 1490-521, 1572-73, Ankara, 1988.
40. Kayaalp, O.: İlaçların Teratojenik Etkisi. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 331-44, Ankara, 1991.
41. Kayalı, H.: Doğuştan Anomaliler. İnsan Embriyolojisi. 289-97, 1992.
42. Keskin, H.: Boyalar. Yiyecek ve İçecekler, Analizleri. 715-52, 1987.
43. Kılıçturgay, K.: Hipertensivite (Aşırı Duyarlılık). İmmunolojiye Giriş. 100-8, 1991.
44. Kiernan, J.A.: Production and life span of cutaneous mast cells in young rats. *J. Anat.* 128(2): 225-38, 1979.

45. Krabbe, A.A.: Cluster headache: a review. *Acta. Neurol. Scand.* 7(1): 1-9, 1986.
46. Lakdawalla, A.A., Netrawali, M.S.: Mutagenicity, comutagenicity and antimutagenicity of erythrosine (FD&C Red No. 3), a food dye, in the Ames/Salmonella assay. *Mut. Res.* 204: 131-39, 1988.
47. Lakdawalla, A.A., Netrawali, M.S.: Erythrosine, a permitted food dye, is mutagenic in the *Bacillus subtilis* multigene sporulation assay. *Mut. Res.* 206: 171-76, 1988.
48. Larsson, K.S.: A teratologic study with the dyes amaranth and ponceau-4R in mice. *Toxicology*, 4: 75-82, 1975.
49. Leek, R.D.: M. Sc. Experimental Pathology (Toxicology). 1990-91 Lab. handbook.
50. Leeson, T.S., Leeson, C.R., Paparo, A.A.: *A Text/Atlas of Histology*. W. B. Saunders Comp. 1988.
51. Legrum, W.: Influence of the degree, position and nature of the halide substitution on the rate of photobleaching of xanthene dyes. *Arch. Toxicol. Suppl.* 14: 298-302, 1991.
52. Lessof, M.H.: Food intolerance. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 109: 117-21, 1985.
53. Lin, C.S., Shoaf, S.E., Griffiths, J.C.: Pharmacokinetic data in the evaluation of the safety of food and color additives. *Regulatory Toxicol. and Pharmacology* 15: 62-72, 1992.

54. Lizzi, L.: The high-risk neonate. *Obstetrics and Gynecology*. Chapter 16: 161-75, 1988.
55. Mansfield, L.E., Vaughn, T.R., Waller, S.F., Haverly, R.W., Ting, S.: Food allergy and adult migraine: double blind and mediator confirmation of an allergic etiology. *Ann. Allergy*. 55(2): 126-29, 1985.
56. Matteo, A., Sarles, H.: Is food allergy a cause of acute pancreatitis? *Pancreas*. 5(2): 234-37, 1990.
57. Matula, T.I., Downie, R.H.: Genetic toxicity of erythrosine in yeast. *Mut. Res.* 138: 153-56, 1984.
58. Mira, E., Piacentino, G., Lanzi, G., Balottin, V.: Benign paroxymal vertigo in childhood. Diagnostic significance of vestibular examination and headache provocation tests. *Acta Otolaryngol.* 406: 271-74, 1984.
59. Mira, E., Fazzi, E.: Benign paroximal vertigo in childhood: a migraine equivalent. *J. Otorhinolaryngol.* 46(2): 97-104, 1984.
60. Monro, J., Carini, C., Brostoff, J.: Migraine is a food allergic disease. *Lancet*. 2(8405): 719-21, 1984.
61. Moore, K.L.: Malformation caused by environmental factors. *The Developing Human, Clinically Oriented Embryology*. 142-58, 1988.
62. Nagaraja, T.N., Desiraju, T.: Effects of chronic consumption of metanil yellow by developing and adult rats on brain regional levels of noradrenaline, dopamine and serotonin on acetylcholine esterase activity and on operant conditioning. *Food Chem. Toxicol.* 31: 41-4, 1993.

63. Nelson, H.S.: What is atopy? Side stepping semantics. Post. Med. 76(1): 123-29, 1984.
64. Nelson, H.S.: The bela schick lecture for 1985. The atopic diseases. Ann. Allergy. 55(3): 441-47, 1985.
65. Paker, Ş.: Histoloji. II. Baskı. Uludağ Üniversitesi Basımevi. s. 91-116, Bursa, 1990.
66. Petorak, İ.: Doğuştan bozukluklar ve teratojenik etkenler. Medikal Embriyoloji. 81-102, 1986.
67. Resmi Gazete. 7 Haziran 1990. Perşembe. s: 2-41.
68. Roberts, N.S.: Teratology. Obstetrics and Gynecology. Chapter 15: 149-60, 1988.
69. Ross, M.H., Romrell, L.J.: Histology, A Text and Atlas, Second Ed., 1989.
70. Saraçlar, Y., Adalıoğlu, G., Tuncer, A.: Temel Allerji. IV. Ulusal Allerji Kongresi, Temel Allerji Kursu Kitapçığı. 14-19, 91-103, 1991.
71. Sasaki, Y.F., Imanishi, H., Ohta, T., Shirasu, Y.: Effects of vanillin on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations induced by mitomycin-C in cultured Chinese hamster ovary cells. Mut. Res. 191: 193-200, 1987.
72. Saxena, S.P., McNical, A., Brandes, L.J., Becker, A.B., Gerrard, J.M.: A role for intracellular histamin in collagen induced platelet aggregation. Blood. 72(2): 407-14, 1990.

73. Schlüter, G.: Effects of Lithium Carmine and Lithium Carbonate on the prenatal development of mice. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 270: 56-64, 1971.
74. Spicer, S.S.: Histochemical properties of mucopolysaccharide and basic protein in mast cells. Ann. N.Y. Acad. Sci. 322-32, 1979.
75. Şaylı, B.S.: Temel Medikal Genetik. 4. Baskı. Ankara Tıp Fak Yayınları. Cilt: 2, s: 322-78, 1982.
76. Şeftalioğlu, A.: İnsanda doğuştan malformasyonların nedeni. Genel İnsan Embriyolojisi. 147-65, 1991.
77. Tekelioğlu, M.: Genel Tıp Histolojisi. Ankara, 1989.
78. Thompson, J.S., Thompson, M.W.: Genetics in medicine. Fourth Edition. W. B. Saunders Company. 231-36, 1986.
79. Thompson, J.S., Thompson, M.W.: Genetics in medicine. Fourth Edition. W. B. Saunders Company. 260-65, 1986.
80. Warkany, J.: Congenital Malformations. 1971.
81. Williams & Warwick: Gray's Anatomy. Churchill Livingstone. Thirty Sixth Edition, 1980.
82. Wingren, U., Enerback, L.: Mucosal mast cells of the rat intestine: a re-evaluation of fixation and staining properties, with special reference to protein blocking and solubility of the granular glycosaminoglycan. Histochem. J. 15: 571-82, 1983.