

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

**SIÇAN AKCİĞER VE KARACİĞERİNDE
FORMALDEHİT MARUZİYETİYLE OLUŞAN
OKSİDATİF HASAR VE İRİSİN HORMON
DEĞİŞİMLERİNE KARŞI KARNOZİNİN
ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,
HİSTOPATOLOJİK VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

SUNA AYDIN

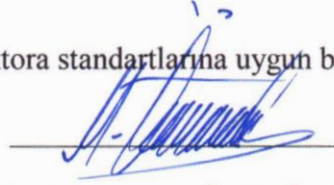
2015

ONAY SAYFASI



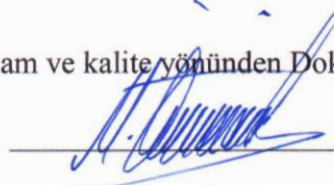
Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK
Anatomi Anabilim Dalı Başkanı

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



Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK
Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

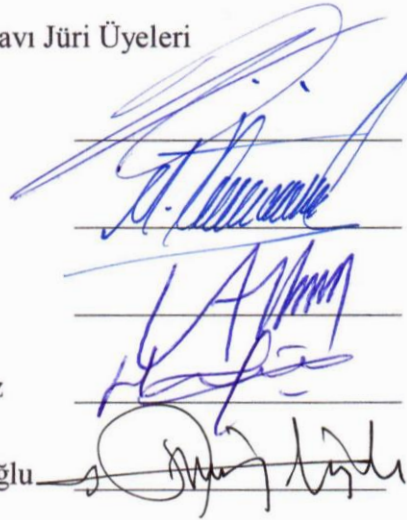
Prof. Dr. Davut Özbağ

Prof. Dr. Murat Ögetürk

Prof. Dr. Ahmet Kavaklı

Yrd. Doç. Dr. Hıdır Pekmez

Yrd. Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu



İTHAF SAYFASI

Bu doktora tezini;

Hayatımın her döneminde kendi ışığıyla yolumu hep aydınlatan, insanları dinlerine, ırklarına ve etnik kökenlerine göre asla ayırmayan, insanlığa faydalı olmam için sürekli öğrenmemi ve yaşam boyu eğitimime devam etmemi isteyen, hayatımın kılavuzu ve hiçbir şekilde emeklerini ödeyemeyeceğim, 26 Mayıs 2014'te bir kandil sabahı dualarla ebediyete uğurladığım sevgili babam Mustafa Gürsel'e atfediyorum.

Bu doktora çalışmasının formaldehitin insan sağlığına verdiği zararı önlemesi ve gelecekteki çalışmalara da ışık tutması dileği ile...

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda; doktora eğitimimde; mesleki bilgi, beceri, pratik ve teorik anlamda yetişmemi sağlayan, araştırmanın planması, yürütülmesi esnasında desteğini esirgemeyen, titizliği ile her zaman örnek, iyi bir eğitmen ve yönetici olan Anabilim Dalı Başkanımız ve Danışman hocam Prof. Dr. Murat Ögetürk'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince her zaman desteklerini gördüğüm, bilgi beceri ve tavsiyelerinden yararlandığım hocalarım, Prof. Dr. A. Oya Sağıroğlu'na, Prof. Dr. Ahmet Kavaklı'ya, Prof. Dr. Mustafa Kaplan'a, Prof. Dr. Süleyman Servi'ye, Yrd. Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Hıdır Pekmez'e, Yrd. Doç. Dr. Ünal Bakal'a, Dr. Musa Yılmaz'a, Dr. Mehmet Kalaycı'ya ve Tıp Fakültesi stajyer doktorlarımız Hacer Karabektaş'a ve Yusuf Yel'e;

Tezin biyokimyasal analizlerinde desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Sait Bico'ya;

Ayrıca tüm bölüm asistan arkadaşlarıma ve diğer mesai arkadaşlarıma maddi ve manevi hiçbir yardımı esirgemediğim yaşam boyu hep yanımda olan sevgili anneme, rahmetli babama ve geleceğin dâhisi ve yaşamımdaki enerji kaynağım olan biricik oğlum Mustafa Ata'ma;

Hayatımın her döneminde yanımda olan, çalışmanın her aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, tezin yazım aşamasında tavsiyelerinden yararlandığım, sevgili eşim Süleyman Aydın'a;

Tüm kalbimle teşekkür etmekten büyük mutluluk ve onur duyuyorum.

Op. Dr. Suna Aydın

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
İTHAF SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLOLAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Formaldehit ve Kaynakları.....	6
3.2. Formaldehitin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	8
3.3. Formaldehitin Kullanım Alanları ve Tarihiçesi	9
3.4. Formaldehitin Kabul Edilebilir Sınırları ve Bu Sınırlar Üzerinde Zararlı Etkileri	10
3.4.1. Formaldehit Maruziyetinin Akciğerler Üzerine Etkileri	12
3.4.2. Formaldehit Maruziyetinin Karaciğer Üzerine Etkileri	12
3.4.3. Formaldehit Maruziyetinin Biyolojik Sistemlerde Meydana Getirdiği Histopatolojik Değişiklikler	13
3.5. Akciğerler.....	14
3.5.1. Akciğerlerin Embriyolojisi	14
3.5.2. Akciğerlerin Histolojisi	15
3.5.3. Akciğerlerin Anatomisi	16
3.5.3.1. Plevra	21
3.5.3.2. Akciğerlerin Lenfatik Drenajı	22

3.5.3.2.1. Lenf Düğümleri.....	22
3.5.3.2.2. Lenf Damarları.....	22
3.5.4. Alveoller	23
3.6. Karaciğer.....	24
3.6.1. Karaciğer Embriyolojisi	24
3.6.2. Karaciğer Histolojisi	24
3.6.3. Karaciğer Anatomisi	26
3.6.3.1. Karaciğerin Kan Dolaşımı.....	30
3.6.3.1.1. Vena Portae Hepatis	30
3.6.3.1.2. Arteria Hepatica Communis	30
3.6.4. Karaciğerin Başlıca Fonksiyonları.....	31
3.7. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	33
3.7.1. Serbest Radikaller	34
3.7.2. Antioksidanlar.....	36
3.8. Karnozin.....	37
3.8.1. Karnozinin Doku Dağılımları	38
3.8.2. Karnozinin Biyolojik Etkileri	38
3.8.3. Karnozinin Antioksidan Özellikleri	40
3.9. İrisin.....	41
3.9.1. İrisin Hormonunun Başlıca Doku Dağılımları	42
3.9.2. İrisin Hormonunun Biyolojik Sıvılara Salınımı.....	43
3.9.3. İrisin Hormonunun Başlıca Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri	43
3.9.4. İrisinle İlgili Hayvan ve İnsan Çalışmaları.....	45
4. GEREÇ VE YÖNTEM	49
4.1. Deney Hayvanları ve Deney Prosedürleri.....	49
4.2. Deney Grupları.....	49

4.3. Kullanılan Cihazlar, Aletler ve Kimyasallar	54
4.4. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Saklanması.....	56
4.5. Analitik Ölçümler	57
4.5.1. Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri	57
4.5.1.1. TAS Ölçümü.....	57
4.5.1.2. TOS Ölçümü.....	57
4.6. Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü.....	58
4.6.1. Numunelerde İrisin Düzeylerinin Ölçümü	58
4.7. İmmünohistokimya	60
4.8. TUNEL Yöntemi	62
4.9. İstatistiksel Analiz	64
5. BULGULAR.....	65
5.1. Formaldehit Ölçümleri.....	65
5.2. Klinik Bulgular	65
5.3. Biyokimyasal Bulgular	67
5.4. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda TAS ve TOS Seviyeleri	69
5.5. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda Oksidatif Stres İndeksleri.....	71
5.6. Akciğer ve Karaciğer Dokularında TUNEL Boyama ve Apoptotik İndeks Yüzdeleri.....	72
5.7. Akciğer ve Karaciğer Dokularının İrisin İmmünreaktivitesi	76
5.8. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda İrisin Seviyeleri	80
6. TARTIŞMA.....	82
7. KAYNAKLAR	92
8. ÖZGEÇMİŞ	105

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi	53
Tablo 2. DDFA, ODFA ve YDFA'ya Maruz Kalan Sıçanların Biyokimyasal Parametrelerinin Değişimi	68
Tablo 3. Deney Gruplarına Ait Dokuların Apoptotik İndeks Yüzdeleri.....	74
Tablo 4. Karaciğer ve Akciğer Dokularının FA Maruziyetlerinde ve Karnozin Verilmesinde İrisin İmmünreaktivitesinin İstatistiksel Analizi	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Gümüş Varlığında Metil Alkolden 720°C’de Formaldehit Eldesi.....	6
Şekil 2. Kuaterniyum-15, DMD Hidantiyon, Diazolidinil Üre, İmidazolidinil Üre, 2-Bromo-2 Nitropropan-1-3-diol, Sodyum Hidroksimetil Glisinat ve Metenamin’den Formaldehit Oluşumu	7
Şekil 3. Formaldehitin Akut ve Kronik Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri	11
Şekil 4. Akciğerlerin Bronşiol-Alveoler Histolojik Görünümü	16
Şekil 5. Akciğerlerin Gross Anatomik Görünümü	18
Şekil 6. Akciğerlerin Başlıca Fonksiyonları	23
Şekil 7. Karaciğer Lobülünün Histolojik Görünümü	25
Şekil 8. Karaciğerin Gross Anatomik Görünümü	29
Şekil 9. Karaciğerin Başlıca Fonksiyonları.....	33
Şekil 10. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları, Oluşan Bu Radikallerin Yol Açtığı Hücre Zedelenmeleri ve Bu Zedelenmelerin Ortadan Kaldırılması İçin Devreye Giren Organeller ve Moleküllerin Karşılıklı Etkileşimleri.....	35
Şekil 11. L-histidin ve β-alaninden Karnozin Elde Edilmesi.....	37
Şekil 12. Karnozinin Metabolik Yolakları (Kaderi), Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri	39
Şekil 13. İrisin Hormonun Amino Asit Dizilimi (Fare, Sıçan ve İnsanlarda Aynı Dizilim).....	42
Şekil 14. İrisin’in Sentezlendiği Başlıca Dokular ve Muhtemel Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkileri	45
Şekil 15. Cam Kafes, Pamuk FA Küreleri, Hava Pompası ve FA Rezervularları	50
Şekil 16. Dışı Beyaz Pamuk İple Örülmüş 5 gram Ağırlığındaki Pamuk Kürelere FA Takviyesi Yapılırken	51
Şekil 17. Araştırmacılar Tarafından Sıçanların Dokularının Çıkarılması ve Muhafazaya Alınması.....	53
Şekil 18. Doku Süpernatantlarının Hazırlanmasında Kullanılan Homojenizatörün Genel Görünümü	56

Şekil 19. Adım Adım ELISA Basamakları.....	59
Şekil 20. ELISA Cihazının Bileşenleri [Yıkayıcı (A), Okuyucu (B) ve Yazıcı (C)]	60
Şekil 21. Adım Adım TUNEL Prosedürünün Basamakları.....	64
Şekil 22. Formaldehit Ölçümlerinden Temsili Görsel Sonuçlar.....	65
Şekil 23. Deney Sonunda DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Kalan ve Karnozin (K) Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Tüy Değişimleri	67
Şekil 24. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Serum, Karaciğer ve Akciğer Dokularında TAS ve TOS Değişimleri.....	70
Şekil 25. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer (A) ve Karaciğer (B) Dokularında ve Serumlarında (C) Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Değişimleri.....	71
Şekil 26. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer Dokularında TUNEL Değişimleri.....	73
Şekil 27. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Karaciğer Dokularında TUNEL Değişimleri.....	75
Şekil 28. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer Dokusunda İrisin Değişimleri.....	77
Şekil 29. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Karaciğer Dokusunda İrisin Değişimleri.....	79
Şekil 30. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Serum, Karaciğer ve Akciğer Dokularında İrisin Değişimleri	81
Şekil 31. Formaldehitin Keton ve Amonyak Varlığında Sarı Renk Veren 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoluidin Dönüşümü	85

KISALTMALAR LİSTESİ

ABTS	: 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AC	: Akciğer
ACGIH	: American Conference of Governmental Industrial Hygienists
A.	: Arteria
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AU	: Arbitrary Unit
CAT	: Katalaz
CAS	: Chemical Abstracts Service
DDFA	: Düşük Doz Formaldehit
dUTP	: Deoxy-Uridine-Triphosphate
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EIA	: Enzyme Immunoassay
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FH	: Familial Hypercholesterolemic
FA	: Formaldehit
FDH	: Formaldehit Dehidrogenaz Enzimi
FNDC5	: Fibronektin III Domain Containining 5
FRCP2	: Fibronectin tip III repeat (tekrar) containing (taşıyıcı) gene
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
HDL-K	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol
İ.P	: İntraperitoneal
K	: Karnozin
KC	: Karaciğer
KIU	: Kallikrein İnhibitor Unit
LDL-K	: Düşük Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol
Lig.	: Ligamentum
ODFA	: Orta Doz Formaldehit
OSHA	: Occupational Safety and Health Administration
OSİ	: Oksidatif Stres indeksi
PELs	: Permissible Exposure Limits
PeP	: Peroksizomal Protein
Proc.	: Processus
RSL	: Restricted Substances List
RPM	: Revolution Per Minute
STEL	: Short-Term Exposure Limiti
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Toplam Antioksidan Seviye
TOS	: Toplam Oksidan Seviye
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxy-uridine-triphosphate (dUTP) nick end labeling
UCP1	: Uncoupling Protein-1
V.	: Vena
VHDL	: Çok Yüksek Dansiteli Lipoprotein
YDFA	: Yüksek Doz Formaldehit

1. ÖZET

Amaç: Fizyolojik dozların üzerindeki formaldehit (FA); dokularda hasara neden olmakta, antioksidan kapasiteyi düşürmekte ve enerji metabolizmasının regülasyonunu bozmaktadır. Antioksidan bir molekül olan karnozin, formaldehit maruziyetinin zararlı etkilerini azaltabilir. Ayrıca enerji metabolizmasının fizyolojisini bozan FA ile irisin miktarları arasında bir bağlantı da söz konusu olabilir. Dolayısı ile bu çalışmadaki temel amacımız düşük, orta ve yüksek doz FA'ya maruz kalan (8 saat/gün; 5 gün/hafta) sıçanların karaciğer ve akciğer dokularında; karnozinin (oral 100 mg/kg/gün) olumlu etkisinin olup olmadığını; bu doku ve serumlarda irisin miktarlarının ve antioksidan kapasitenin karnozine bağlı olarak nasıl değiştiğini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Ağırlıkları 260-280 gr, yaşları 8-10 hafta arasında değişen, 48 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Serum, karaciğer, akciğer doku süpernatantlarındaki irisin seviyesi ELISA yöntemi ile analiz edilirken total oksidan ve antioksidan kapasite REL yöntemi ile tayin edildi. Dokuların irisin üretimleri immünohistokimyasal yöntemle ortaya kondu.

Bulgular: FA'nın dozu artıkça, serum ve doku irisin seviyeleri ve total antioksidan seviyesi kontrol değerlerine kıyasla azalırken; total oksidan seviyesi, TUNEL ekspresyonları, oksidan indeks ve apoptotik indeks ise artmaktaydı. İrisin ekspresyonları karaciğerin Kupffer hücrelerinde görülürken, akciğerlerde parankimal hücrelerinde yer almaktaydı.

Sonuç: FA maruziyeti sıçanların serum, karaciğer ve akciğer dokularında doz bağımlı olarak irisin ve total antioksidan miktarlarını azaltırken serum ve

dokularda total oksidan kapasiteyi artırmakta ve karnozinin suplementasyonu ile oksidatif stres azalarak histopatolojik ve biyokimyasal hasarlar düzelmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, Formaldehit, Karnosin, İrisin, TAS/TOS, TUNEL.

2. ABSTRACT

Biochemical, Histopathological and Immunohistochemical Investigation of Carnosine Effects on Formaldehyde-Induced Oxidative Damage and Irisin Hormone Alterations in Lung and Liver of Rats

Objective: The amount of formaldehyde (FA) exceeding the physiological doses damages the tissues, reduces the antioxidant capacity and impairs the regulation of the energy metabolism. Carnosine, an antioxidant molecule, may serve to offset the harmful effects of formaldehyde exposure. Additionally, since formaldehyde impairs the normal physiology of the energy metabolism, there may be a correlation between irisin amount and formaldehyde exposure. Therefore, the present study aims to examine whether carnosine (100 mg/kg/day) has favorable effects on liver and lung tissues of male rats exposed to mild, moderate, and high doses of formaldehyde (8 h/day; 5 days/week) and how irisin quantities in these tissues and the serum change after carnosine supplementation and to show how carnosine supplementation affects apoptosis and total oxidant and antioxidant capacity.

Materials and Methods: The study included 48 Sprague-Dawley type male rats, weighing 260-280 gr and 8-10 weeks of age. Irisin levels of the serum, liver and lung tissue supernatants were analyzed by ELISA, while the REL method was used to determine total oxidant/antioxidant capacity. Irisin production by the tissues was detected immunohistochemically.

Results: Increasing doses of FA decreased serum and tissue irisin and total antioxidant levels relative to the controls, as also to increases in TUNEL

expressions, total oxidant level, oxidant and apoptotic indices. Irisin expression was seen in Kupffer cells of the liver and parenchymal cells of the lungs.

Conclusion: While FA exposure reduces irisin levels and total oxidant capacity in the serum, liver and lung tissues of rats in a dose-dependent manner and increases the total antioxidant capacity; carnosine supplementation reduces the oxidative stress and restores the histopathological and biochemical signs.

Keywords: Rat, Formaldehyde, Carnosine, Irisin, TAS/TOS, TUNEL.

3. GİRİŞ

Formaldehit (FA); formik aldehit, metil aldehit, metanal, metil oksit olarak ta bilinmektedir (1, 2). FA, fenol ve melamin reçinelerin yapımında, sunta ve kontraplak imalatında, ev temizlik ürünlerinde, duvar kaplamalarında, mumyacılıkta, tekstil ürünlerinin işlenmesinde, boya ve plastik maddelerin yapımında, kozmetik sanayide, diş macunlarında, tıbbi laboratuvarlarda koruyucu sıvı ve mikroorganizmaları öldürmesi sebebiyle bazı ambalaj maddelerinin bileşiminde ve gıda kaplarının sterilizasyonunda yaygın bir biçimde kullanıldığı için yaşamımızın önemli parçası haline gelen bir kimyasal maddedir (1, 3). Ayrıca formaldehitin amonyak ile reaksiyonundan “urotropin” adında bir böbrek ilacı da imal edilmektedir (4).

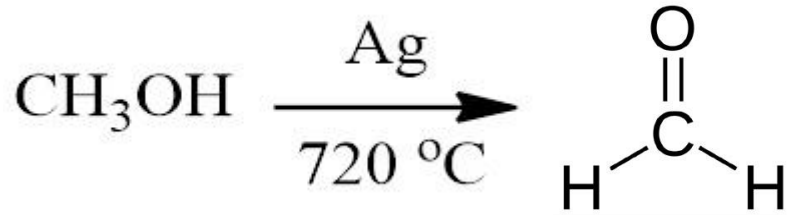
Toplumun hemen her kesimi formaldehite maruz kalsa da asıl olarak formaldehitin üretildiği ve kullanıldığı endüstriyel alanlardaki meslek grupları, özellikle de anatomistler, tahnitçiler, histologlar ve patoloğlar formaldehite daha fazla maruz kalmaktadırlar. Hayatımızın bir parçası haline gelen (örneğin her gün giydiğimiz ayakkabıdan yavaş salınımlı olarak formaldehit oluşması) formaldehitin, lösemi, beyin, akciğer ve kolon kanserleri ile bağlantısı olduğu bildirilmiştir. Yapılan hayvan deneylerinde formaldehitin; cilt, göz, menstrüel siklus, sinir, üreme, sindirim ve solunum sistemleri üzerine olumsuz etkileri rapor edilmiştir (1, 5-8).

Bu çalışmada, anatomi laboratuvarlarının ayrılmaz bir parçası olan formaldehitin tarihçesi, kimyasal yapısı, özellikleri, fizyolojik ve biyokimyasal etkileri, akciğer, karaciğer üzerine etkileri, irisin hormonu üzerine etkileri ve

ayrıca ortaya çıkan olumsuz etkilerin bertaraf edilmesinde karnozinin rolü detaylı bir şekilde ele alındı.

3.1. Formaldehit ve Kaynakları

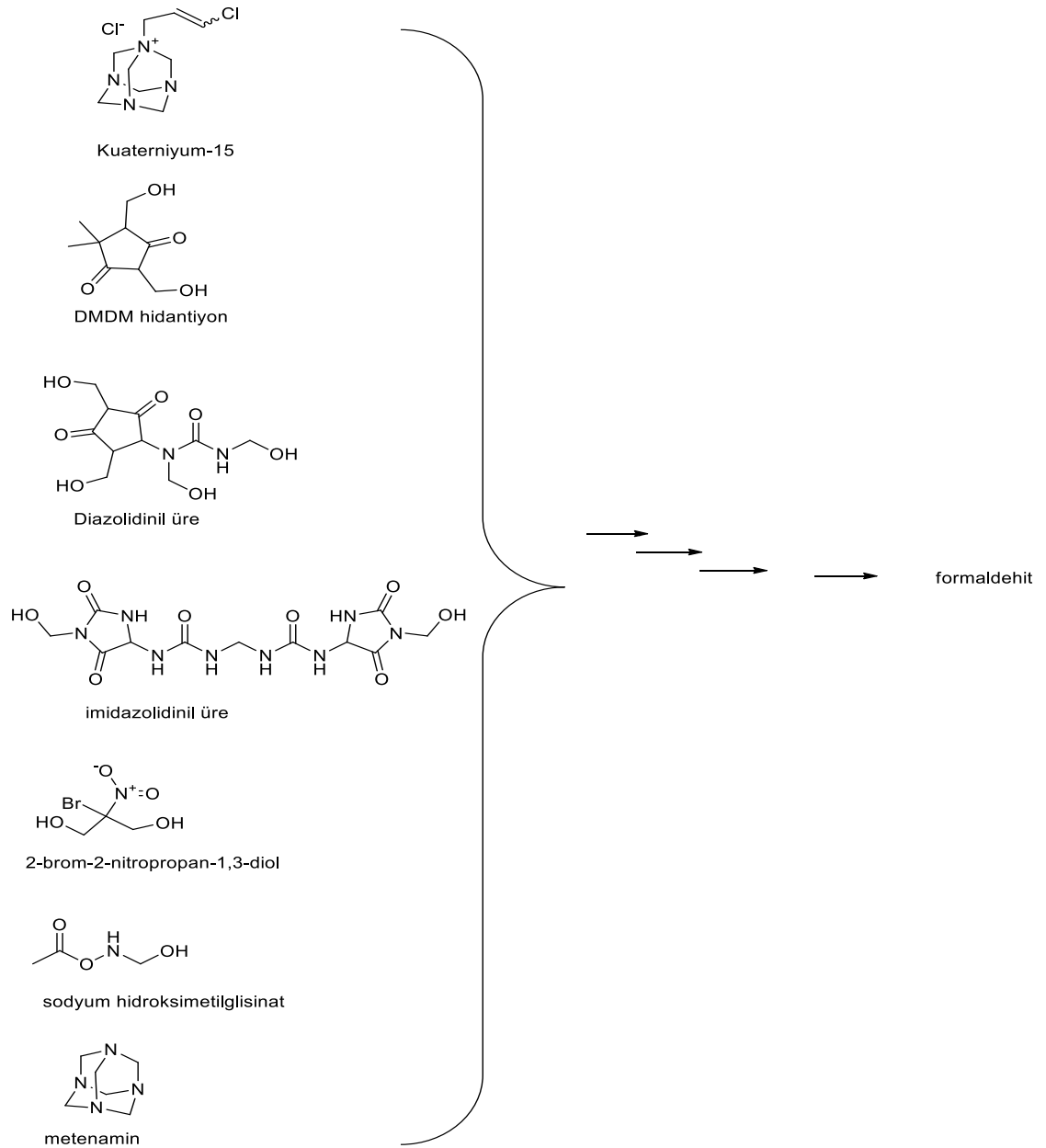
Formaldehit (CH₂O) tüm memelilerde görülen normal bir metabolit olup aldehit ailesinin bir üyesidir. Bitkiler ve hayvanlarda doğal yolla oluşmaktadır (9). Canlılarda glisin, serin, kolin ve metiyonin metabolizması sonucu endojen olarak oluşmaktadır (10, 11). Bu kaynaklardan başka N-metilli aminoasitler (sarkozin vs.) spesifik enzimler yolu ile oksidatif demetilasyona uğrayarak formaldehite dönüşürler (5, 12). Metabolik yollar aracılığı ile oluşan formaldehit canlılarda pürinler, timidin ve bazı aminoasitlerin biyosentezinde kullanılmaktadır (13). FA, karbonil grubunun boş olan iki bağına birer hidrojen bağlanmasıyla laboratuvar şartlarında elde edilmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Gümüş Varlığında Metil Alkolden 720 °C’de Formaldehit Eldesi

Formaldehit gündelik yaşamımızda kullandığımız malzemelerdeki moleküllerden, sözgelimi şampuanlarda bulunan kuaterniyum-15’den, kozmetik ürünlerdeki 1,3-Bis(hidroksimetil)-5,5-dimetilmidazolidin-2,4-dion (DMD hidantiyon, diazolidinil üre, imidazolidinil üre, 2-bromo-2 nitropropan-1-3-diol,

sodyum hidroksimetil glisinat gibi) koruyuculardan ve idrar yolu enfeksiyonlarına karşı kullanılan metenamin'den de yavaş salımlı olarak oluşmaktadır (5, 6). Şekil 2, bu öncül moleküllerin formaldehite dönüşümünü göstermektedir.



Şekil 2. Kuarterniyum-15, DMD Hidantiyon, Diazolidinil Üre, İmidazolidinil Üre, 2-Bromo-2 Nitropropan-1-3-diol, Sodyum Hidroksimetil Glisinat ve Metenamin'den Formaldehit Oluşumu

Sigara dumanı da önemli bir FA kaynağı olup tek bir sigara 20 ppm formaldehit salınımına yol açmaktadır. Bir paket sigara tüketiminde 400 ppm yaklaşık (0.38 mg) formaldehitin dumanla vücuda alındığı bildirilmiştir. Pasif içici ise tek bir sigaradan 0,4 ppm FA almaktadır (14).

FA'nın gaz hali (havadaki derişimleri) ppm (part per million= milyonda bir; 1 ppm= 1.25 mg/m³) birimiyle, sıvı miktarları mililitre (ml) birimiyle, doku düzeyleri ise nanogram (ng) birimiyle ifade edilmektedir (15, 16). FA'nın ppm ve mg/m³ birimleri; ppm= mg/m³x24.45/moleküler ağırlık formülüyle birbirlerine çevrilir (15, 16).

3.2. Formaldehitin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Normalde renksiz bir gazdır (1). Kuvvetli elektrofilik olup bu özelliğinden dolayı oda sıcaklığında dahi gaz haline dönüşebilmektedir. Piyasada yaygın olarak bulunan %37-40'lık sulu çözeltileri formol veya formalin olarak adlandırılmaktadır. FA'nın polimerize olmuş hali paraformaldehit olup ısı ile depolimerize olabilmektedir (1, 14). Formalin çözeltilerinde bir miktar metil alkol bulunmaktadır. Gerek gaz hali gerekse sıvı çözeltileri kendisine özgü, hoş gitmeyen bir kokuya sahiptir (1). Örneğin, hidroklorik asit (HCl) ile bis (klorometil) eter buharı hızla reaksiyona girer ve oluşan bu madde kanser yapıcıdır (7, 14). FA yüksek derişimlerinde yanıcı bir sıvıdır. Kaynama noktası 21°C, moleküler ağırlığı 30.03 g mol⁻¹, erime noktası -92 °C'dir ve Chemical Abstracts Service (CAS) kayıt numarası 50-00-0'dır. Su, eter, etanol ve asetonda çözülen Formaldehit REACH'in RSL listesinde (Restricted Substances List-Yasaklı Maddeler Listesi) yer almaktadır (1).

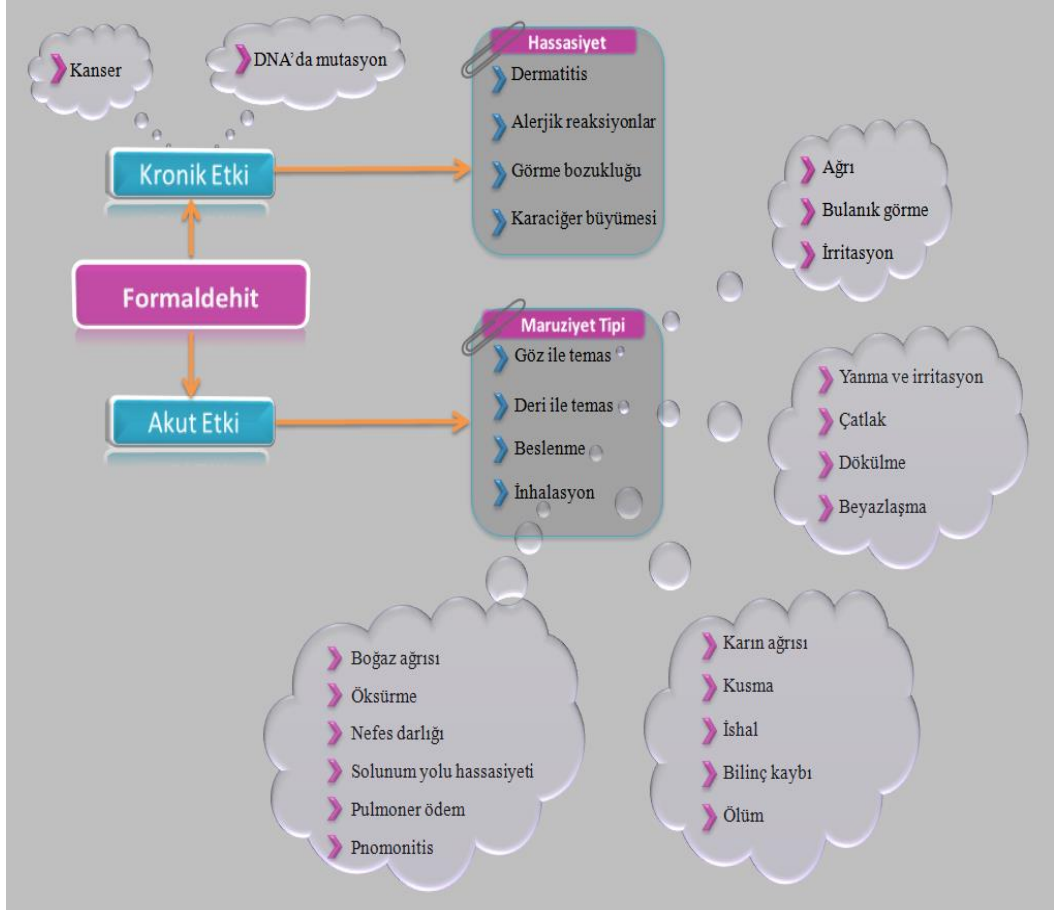
REACH: Kimyasalların kaydı, değerlendirilmesi, izni ve kısıtlanmasını öngören bir Avrupa Birliği mevzuatıdır (17).

3.3. Formaldehitin Kullanım Alanları ve Tarihçesi

Alman kimyacı August Wilhelm von Hofmann 1867 yılında metanolü okside ederek formaldehiti sıvı halde elde etmesiyle birlikte birçok endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaya başlandı (Şekil 1). Dünya genelinde her yıl yaklaşık 20 milyon ton %37'lik formol üretilmektedir (1). FA ilk olarak 1886 yılında Loew (2) tarafından bir antimikrobiyal ajan olarak, endüstriyel alanda ise 1910 yılında Almanya'da bakalit yapımında kullanılmıştır (1). Günümüzde ise kimyasal özellikleri nedeni ile günlük yaşantımızda sık olarak karşılaşılan bir maddedir. Bina ürünleri, zemin panelleri, sunta, yalıtım malzemeleri, mobilyalar, kumaşlar, ayakkabılar, kâğıtlar, ilaçlar, ekstazi gibi uyuşturucuların üretiminde, boya ve plastik maddelerin yapımında, ev temizlik ürünlerinde ve duvar kaplamalarında kullanılmakla birlikte, mumyacılıkta, fotoğrafçılıkta ve mikroorganizmaları öldürmesi sebebiyle bazı ambalaj maddelerinin bileşiminde yer almakta ve gıda kaplarının sterilizasyonunda dezenfektan olarak kullanılmaktadır (5, 7, 16). Patoloji, histoloji ve anatomi laboratuvarlarında en sık kullanılan tespit solüsyonu olup, diş hekimliğinde kaplamaların yapımında, tıpta inatçı sistit tedavilerinde ve bazı ilaçlarda da koruyucu madde olarak kullanım alanı bulunmaktadır (7, 16).

3.4. Formaldehitin Kabul Edilebilir Sınırları ve Bu Sınırlar Üzerinde Zararlı Etkileri

FA, başta solunum olmak üzere, sinir sistemi, gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi ve üreme sistemi üzerinde olumsuz etkileri bulunmaktadır (5, 6, 8, 9, 14). FA sürekli gaz haline dönüşmekle birlikte suda da çözünebilmektedir (1). Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi [The United States Occupational Safety and Health Administration (OSHA)] çalışanlarını korumak için FA'nın havadaki izin verilebilir sınırlarını [permissible exposure limits (PELs)] ortalama sekiz saatlik bir çalışma süresinde, 0.75 ppm'i; günde maksimum 15 dakikalık kısa aralıklarla maruziyette [Short-Term Exposure Limit (STEL)] ise 2 ppm'i geçmeyecek şekilde sınırlamıştır (1, 6, 14). Amerikan hükümeti endüstriyel hijyenistlerine göre ise [ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists)] günde maksimum 15 dakikalık maruziyette asla 0.3 ppm geçmemesi gerektiği bildirilmiştir. OSHA tarafından bildirilen rapora göre havada 0.1 ppm FA bulunduğunda; gözlerde sulanma, hırıltılı solunum, deri döküntüleri, alerjik tepkiler, göz, burun ve boğazda yanma ve üst solunum yollarının muköz membranlarında hasar meydana gelir. 2 ppm konsantrasyonda gözlerde tahriş yaparken, 20 ppm'e bir kez bile maruz kalırsa korneada kalıcı matlaşmaya neden olmaktadır. 25 ppm üzerinde ise akciğerde ödem ve karaciğer dokusunda hasar oluşturmaktadır (5-9, 14). İş sağlığı ve güvenliği uzmanları tarafından 8 saatlik bir işgününde maksimum 3 ppm veya bir günde 30 dakikalık süre içerisinde 10 ppm'lik FA yoğunluğuna müsaade edilmektedir (1, 6, 8, 9, 14). Formaldehitin akut ve kronik etkileri Şekil 3'te özetlenmiştir (3, 16, 18).



Şekil 3. Formaldehitin Akut ve Kronik Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri

Anatomistler, tahnitçiler, histologlar, patologlar ve ayrıca formaldehit üretiminin yapıldığı meslek grupları üzerinde yapılan çalışmalarda; lösemi, beyin, akciğer ve kolon kanserlerinden ölenlerin sayısının normale göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Yapılan hayvan deneylerinde formaldehitin; cilt, göz, menstrüel siklus, sinir, üreme, sindirim ve solunum sistemleri üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (5, 6, 8, 9, 14, 16).

FA organizmada fizyolojik bir metabolit olmasına rağmen vücutta depo edilmez. Formik asite dönüşerek idrar, dışkı yoluyla veya karbondioksite okside olarak solunum yolu ile vücuttan uzaklaştırılmaktadır (1). FA maruziyeti tüm biyolojik dokulara hasar vermektedir. Ancak bu çalışmada FA maruziyetinin

akciğerler ve karaciğer üzerinde verdiği hasarlar araştırıldığından bu konu ile ilgili bilimsel verilere değinildi.

3.4.1. Formaldehit Maruziyetinin Akciğerler Üzerine Etkileri

Formaldehit canlı dokularda fizyolojik dozun üzerinde (fizyolojik doku düzeyi: 3-12 ng/g) son derece toksiktir. 4.9 ppm FA'nın farelerde, 31.7 ppm'in ise sıçanlarda solunum sıklığında %50 azalmaya, akciğer bronş mukozalarında hemorajik ödeme neden olduğu bildirilmiştir (19). Geniş kohort çalışmalarında akciğer kanseri ile formaldehit maruziyeti arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir. 2 ppm FA'ya maruz kalan astımlı hastalarda hafif derecede hiperaktivite gözlenmiş, ancak ılımlı derecede egzersiz yapanlarda ise hiperaktivite gözlenmemiştir. Akciğerlerde 2-3 ppm'lik FA maruziyeti orta derecede irritasyona neden olmaktadır (20, 21). Zararsız ve arkadaşları (22) 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada FA maruziyetinin sıçan akciğerlerinde oksidatif hasara yol açtığını ve bu hasarın melatonin suplementasyonu ile azaldığını rapor ettiler.

3.4.2. Formaldehit Maruziyetinin Karaciğer Üzerine Etkileri

Canlılarda doğal olarak üretilen FA bir yana bırakılacak olursa, eksoz gazından, sigara dumanından, formalinden, giyeceklerden veya mobilyalardan yavaş salınımlı oluşan FA solunum yoluyla; meyveler, sebzeler, içecekler ve bazı gıdalardaki katkı maddelerinde bulunan FA ise sindirim yolu ile insanlara geçmektedir (1). Vücuda alınan FA, karaciğer ve eritrositlerdeki FA dehidrogenaz enzimi (FDH) aracılığıyla formik asite (metanoik asit) metabolize edilmektedir.

26 hafta FA'ya maruz kalan maymun, rat ve hamsterlerin karaciğerlerinde küçülme gözlemlenmiştir (7, 8, 14, 18, 19, 23). FA'ya maruz kalan fare embriyolarının karaciğerinde kromozom kırılmaları ve poliploidler olduğu da rapor edilmiştir (24). İngiltere'de kimya fabrikalarında FA'ya maruz kalan bireylerde karaciğer kanserlerinde de artış olduğu bildirilmiştir (25). İnsan karaciğeri bir dakikada 22 mg FA'yı karbondioksite dönüştürme kapasitesine sahiptir. Karaciğer FA'yı ya karbondioksite dönüştürerek ya da formik asit oluşturarak elimine eder (26). Ancak kapasite aşımında toksik etki oluşmaktadır.

3.4.3. Formaldehit Maruziyetinin Biyolojik Sistemlerde Meydana Getirdiği Histopatolojik Değişiklikler

Formaldehite maruz kalan sıçanların nazal kaviteleri, akciğerleri ve trakeaları ışık mikroskopu altında incelendiğinde; yassı epitel metaplazisi, deskuamasyon ve dejenerasyon gibi değişiklikler olduğu rapor edilmiştir (1). Zwart ve arkadaşları (27) sıçanlarla yaptıkları bir çalışmada 0.5-2 ppm, 6 saat/gün FA maruziyetinin dokularda ve hücrelerde önemli bir değişikliğe yol açmadığını, ancak 15 ppm 6 saat/gün, 1-2 gün maruz kalındığında, nötrofil infiltrasyonu, otofajik vakuoller, mitokondrial yozlaşma, mikrovillus kaybı, goblet ve silialı hücrelerde hipertrofi, çekirdek ayrılmaları ve piknotik hasar değişikliklerini içeren histopatolojik değişikliklerin oluştuğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca yüksek derişimlerdeki FA, solunum yollarında mukus ve silia oluşumuna ve akışkanlığına mani olmaktadır (19).

Fare ve sıçanlar 40 ppm gibi yüksek derişimlerdeki FA'ya maruz bırakıldıklarında, ağırlık kaybı, ölüm, uterus ve ovaryum hiperplazisi ile

karşılaştıkları rapor edilmiştir. 10 ppm FA maruziyetinde de, nazal epitelde metaplazi ve rinit geliştiği bildirilmiştir (28). Ayrıca Monticello ve ark (29). Rhesus maymunlarını 6 ppm FA'ya maruz bıraktıklarında (6 saat/gün, 5 gün/hafta ve 6 hafta boyunca), trakeanın yalancı çok katlı silialı epitelinde, nazal kavitenin transisyonel epitelinde ve bronşları döşeyen solunum yolu epitelinde orta dereceli dejenerasyon ve metaplazi oluştuğunu ve sürenin uzaması ile histopatolojik lezyonların arttığını bildirmişlerdir.

FA tüm sistem dokularına hasar vermektedir. Ancak bu çalışmada akciğerler ve karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler değerlendirildiğinden bu organlara odaklanıldı. Yapılan her hayvan çalışmasının sonuçları insanoğluna hizmet odaklı olduğundan burada da insan akciğer ve karaciğer embriyolojisi histolojisi ve anatomisi genel hatlarıyla ele alındı.

3.5. Akciğerler

3.5.1. Akciğerlerin Embriyolojisi

İntra uterin hayatta; akciğer epiteli, larinks trakea ve bronşların epitelyum ve bezleri, laringotrakeal oluğun endoderminden meydana gelmektedir. Splanjik mezodermden de; bağ dokusu, düz kaslar ve kıkırdak yapı oluşur. 4. Haftanın sonunda laringotrakeal oluktan oluşan laringotrakeal divertikulum da ucu genişleyerek akciğer tomurcuğunu oluşturur (30). Perikardioperitoneal kanallar plevra boşluklarının temelini teşkil eder. Oluşan tomurcuklar buraya doğru gelişerek bilateral ana bronşları oluştururlar (31). Plevranın visseral tabakası splanjik mezenşimden köken alır ve akciğerleri dıştan sarar. Parietal plevra ise somatik mezodermden köken alarak akciğerlerin en dışını sarar. Akciğerlerin

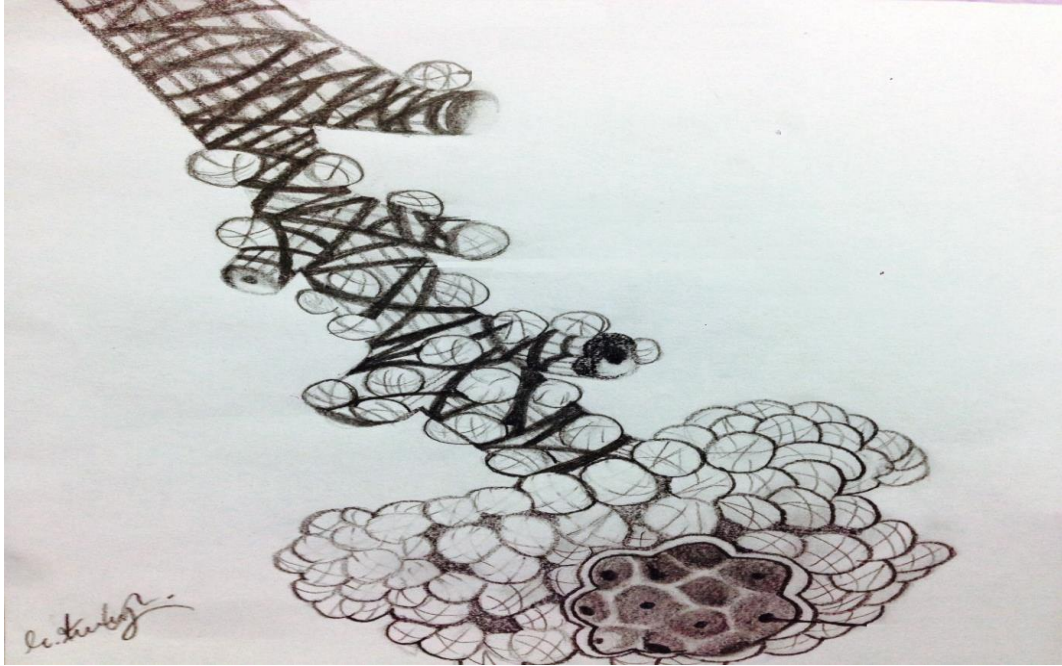
olgunlaşması psödoglandular dönem, kanaliküler dönem, terminal kese dönemi ve alveolar dönem olmak üzere 4 ana evrede incelenir (30, 31).

6. haftadan 16. haftaya kadar psödoglandular evre, 16. haftadan 26. haftaya kadar kanaliküler evre 26. haftadan doğuma kadar terminal kese evresi 32. haftadan 8 yaşa kadar ise alveolar evreyi oluşturmaktadır (31).

3.5.2. Akciğerlerin Histolojisi

Trakea ana olarak iki primer bronş, akciğere girmeden hemen önce ise dallanarak iki sekonder bronşu oluşturur (30). Akciğerlerin histolojik yapısı genel hatlarıyla Şekil 4'te görülmektedir. Sekonder bronşlar bronkopulmoner segmentlere ayrılarak tersiyer bronşları oluştururlar. Daha sonra tersiyer bronşlar oluşur(8,3). Tersiyer bronşlardan sonra sırasıyla dallanarak terminal bronşiyolları, respiratuar bronşiyolları ve duktus alveolarislerle devam eden hava yolları terminal bölümü genişleyerek alveollerin açıldığı boşluklar olan saccus alveolarisleri (alveol keseleri) yapar (31). Bronşları kaplayan epitelyum yalancı çok katlı prizmatik epitel olup bronşiyoller de tek katlı prizmatik ve daha sonra tek katlı kübik epitel yerini alır. Terminal bronşiyollere doğru ilerledikçe tek katlı kübik epitelyum görülmeye başlar elastik liflerde artış görülür. Terminal bronşiyollerden sonra gaz değişiminin olduğu alveollerin açıldığı respiratuar bronşiyoller gelir (10). Başlangıçtaki bronşlarda bulunan goblet hücrelerinin yerini terminal ve respiratuar bronşiyollerde Clara hücreleri almıştır (30, 31). Gaz değişiminin olduğu alveollere açılan alveolar duktuslar tek katlı yassı epitel ile döşenmiştir (31). Alveol kanalları saccus alveolarisleri oluşturmak üzere genişlemekte ve yoğun kollajen lif ve elastik düz kas lifleri içermektedirler.

Alveoller her bir akciğerde 150-250 milyon kadar bulunan gaz değişiminin olduğu yerlerdir. Alveoller 200-250 µm çapındadır. Tek katlı yassı epitel ile döşelidir. %40 oranda Tip I alveoler hücreler %60 oranda Tip II alveoler hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunur (30). Tip I alveoler hücreler çok ince, yassı hücrelerden, Tip II alveoler hücreler ise vakuoler sitoplazmalı yuvarlak veya küboid hücrelerden oluşmaktadır. Tip II alveolar hücreler pulmoner sürfaktanı oluşturur. Sürfaktan tabakası, hava epitel aralığındaki yüzey gerilimini düşürerek, alveollerin gaz değişimini gerçekleştirmek üzere yeterince genişlemesini sağlar (30, 31).



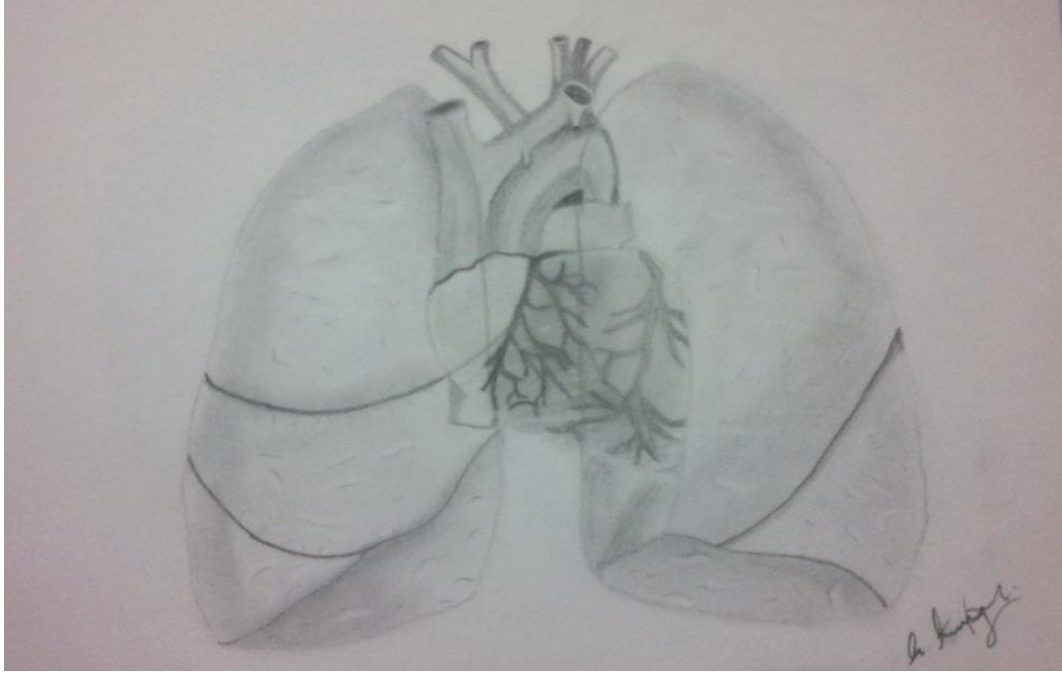
Şekil 4. Akciğerlerin Bronşiol-Alveoler Histolojik Görünümü

3.5.3. Akciğerlerin Anatomisi

Solunum sisteminin en önemli organı olan pulmones (akciğerler); pulmo dexter (sağ akciğer) ve pulmo sinister (sol akciğer) olmak üzere iki tanedir. Göğüs

boşluğu (cavitas thoracis) içinde mediastinumda akciğerlere girip çıkan arteriyel ve venöz yapılar ve iki akciğeri birbirinden ayıran kalp bulunmaktadır. Akciğerler göğüs boşluğunun şeklini almıştır. Her iki akciğer simetrik olmayıp her iki taraf tepeden tabana kadar 25 cm ve yine her iki taraf önden arkaya çapı 15-16 cm'dir. Yaklaşık 625 gram olan sağ akciğer dıştan içe 10 cm, yaklaşık 567 gram olan sol akciğer ise 7 cm'dir. Dış yüzü düzgün ve parlak olan akciğerler kadında vücut ağırlığının 1/43'ü erkeklerde ise 1/37'sini teşkil etmekte ve pleura denilen iki katlı bir yaprak ile sarılmaktadır (32-38).

Sağ akciğer altta lobus hepatis dexter ile yakın komşu olup yukarı doğru itilmiştir. Sol akciğer ise orta mediastende yer alan kalp tarafından itildiğinden (impressio cardiaca) dar ve uzunca durmaktadır. Mediastinal yüzeyi hafif iç konkav olan akciğerin bu yüzünde pulmoner damarlar, sinirler ve bronşların geçtiği hilum pulmonis sağda yuvarlak solda ise üçgen şeklindedir. Akciğerlerin apex pulmonis denilen bir tepesi, basis pulmonis denilen bir tabanı bulunmaktadır. Facies mediastinalis, facies costalis, facies diaphragmatica ve facies interlobaris olmak üzere dört yüzden oluşan yarım koni şeklindedir (33-35, 37, 38). Akciğerlerin anatomik yapısı genel hatlarıyla Şekil 5'te görülmektedir.



Şekil 5. Akciğerlerin Gross Anatomik Görünümü

Facies medialis veya facies mediastinalis denilen yüzde arka kısım konkavdır. Columna vertebralis'in yan tarafları ile komşu olup bu kısma pars columna vertebralis de denir. Pars mediastinalis ise bu kısmın önünde kalan kısımdır. Impressio cardiaca denilen kalbin oturduğu büyük çukurluk bu bölgededir. Facies mediastinalis bazı organlara komşuluk eder ve bundan dolayı birtakım çukurluklar teşkil eder. V. azygos sağ akciğerde hilum pulmonis'in arka ve yukarı kısmındaki kavisli oluğa oturur. V. cava superior ise hilum pulmonis'in yukarı ön kısmında vertikal yöndeki geniş oluğuna yerleşir. Özofagus, sağ akciğerde hilum pulmonis ve lig. pulmonale'nin arka kısmındaki oluğa yerleşir (35, 37, 39).

Sağ akciğerde de sol akciğerde olduğu gibi impressio cardiaca bulunur. Kalbin büyük kısmı sol taraftadır. Arcus aorta, hilum pulmonis'in hemen üst ve arka tarafındaki geniş oluğudur. Buradan apex pulmonis'e doğru a. subclavia

sinistra yerleşir. Hemen ön tarafta belli belirsiz bir şekilde v. brachiocephalica sinistra bulunur. Radix pulmonis; hilum pulmonis'te bulunmakta olan bronchus principalis, arteria ve vena pulmonalis ve aa. bronchiales'ten oluşan anatomik yapıdır. Sağ ve sol tarafta farklılık gösterir. Sağ hilum pulmonis'te bulunan oluşumlar; bronchus principalis dexter'in önünde a. pulmonalis dextra'dır. Onunda arkasında aa. bronchiales dextra görülür. Bronchus principalis dexter'in ön ve alt tarafında v. pulmonalis dextra ve bronchus'un çevresinde nodi lymphoidei tracheo-bronchiales görülmektedir. Sol hilus pulmonis'teki yapıları bakıldığında, a. pulmonalis sinistra'nın bronchus principalis sinister'in ön ve üstünde olduğu görülür. Bronchus principalis sinister'in arkasında ise aa. bronchiales sinistra yer alır. V. pulmonalis sinistra ise, bronchus principalis sinister'in ön ve alt tarafındadır ve nodi lymphoidei tracheobronchiales, bronchus'un çevresindedir (32- 38).

Sağ akciğerin facies mediastinalis'inde sırasıyla arkadan öne doğru sağ hilum pulmonis ve impressio cardiaca görülür. Bu yüzün üst tarafında sulcus v. cava superior, arkaya doğru sulcus a. subclavia, üst taraf arkaya doğru ise sulcus v. azygos bulunur. En arkada ise özofagusun geçtiği bölgede sulcus oesophageus bulunur (34-38).

Impressio cardiaca, sağ taraftan daha derin olmak üzere hilum pulmonis sinister'in önünde bulunur. Sulcus arcus aorta, impressio cardiaca'nın üzerindedir ve bunun da üzerinde sulcus a. subclavia yer almaktadır. Orta hattın soluna doğru yer almakta olan sulcus aorta descendens ve esophagus'un alt kısmı ise sol akciğerin facies medialis'inin arka alt kısmında silik bir oluk içinde bulunur. Sol akciğerde facies costalis ile facies mediastinalis arasında margo anterior

bulunmakta olup keskindir. Incisura cardiaca, kalbe ait bir konkavlık olup ie ve aŐađıya doğru bakar. Burada sol akciğerin n kenarı yukarıda ½ ie konveks aŐađıda ise ½ aŐađıya ve ie konkavdır. Lingula pulmonis sinistri; sol akciğer lobus superior'unun aşağı öne doğru uzantısıdır. Columna vertebralis ve costae arasında bulunan kenara margo posterior denilmektedir. Margo inferior iki kısımdan oluŐmakta olup, bunlar facies costalis ile basis pulmonis arasında dıŐtaki kısım facies medialis ile basis pulmonis arasındaki kısım ise iteki kısmı oluşturmaktadır (32-37)

Akciğerin apex pulmonis denilen tepesi, clavícula seviyesinin üzerinde uzanır. Künt bir yüzeydir. Arkada birinci kaburga hizasında, nde birinci kaburganın sternum ile birleŐim yerinin 2,5 ile 5 cm üzerindedir. Birinci torakal spinal sinirle komşu olup nde ise a. subclavia'nın izi bulunur. Basis pulmonis diafragma ile yakın komşu olup, facies diaphragmatica da denmektedir. Konkav olan bu yüz sağda karaciğerin sağ lobu ile solda ise midenin fundusu, karaciğerin sol lobu ve dalak ile komşudur. Facies costalis, akciğerlerin en geniş yüzüdür ve kaburgaların i yüzü ile temastadır. Bu yüzde kaburgaların bıraktığı izler görülür (35, 36, 38).

Sağ akciğerde , sol akciğerde iki lob bulunur. Sağ akciğer; lobus superior, lobus medius pulmonis dextri ve lobus inferior diye  loba ayrılırken, bu lobları fissura obliqua ve fissura horizontalis denilen yarıklar ayırmaktadır. Sol akciğer'in lobus superior ve lobus inferior isimli iki lobunu fissura obliqua ayırır. Akciğerin her bir lobu pulmoner alveolleri içeren çok sayıda küçük lobüllerden oluşmuştur. Visceral pleura'nın uzantısı olan bağ dokusu ile sarılı olan bir bronkopulmoner segment; tepesi hilum pulmonis'e doğru yönelmiŐ tabanı ise

akciğer dış yüzüne doğru olan bir piramit şeklindedir (32, 36, 38). Her segmental bronşun yanında akciğer segmentine gelen bir arter dalı ve sinirler vardır (32-37).

3.5.3.1. Plevra

Plevra, sağ ve sol akciğeri bir kese şeklinde ayrı ayrı saran çift katlı bir seröz zarıdır. Sağ plevra kesesinin bir kısmı göğüs boşluğunun sağ taraf iç yüzeyini, bir kısmı da sağ akciğerin yarıkları da dahil olmak üzere akciğerin dış yüzeyini kaplar. Diğer kese ise aynı şekilde göğüs boşluğunun sol yarısında; sol akciğeri, loblarını, göğüs kafesini iç yüzeyden sarar.

Plevranın parietal yaprağı; göğüs kafesinin iç yüzünü, diaphragma'nın çok büyük bir bölümünü örttüğü gibi mediastinum'u da yanlardan sınırlar. Plevranın visseral yaprağı, akciğer yüzeyini ve loblar arasındaki yüzleri örter. Aralarındaki kapiller aralığa cavitas pleuralis denir ve solunum sırasında kolaylık sağlayan bir sıvı içerir. Plevranın iki yaprağının birbirlerine yaklaşarak oluşturdukları bölüme lig. pulmonale adı verilir. Bu ligament akciğerleri destekler (35-37).

Bifurcatio trachea'dan sonra iki ana bronşa ayrılır. Her bir ana bronşun akciğer içine uzandığı bu anatomik yapıda yabancı partiküllerin, sağ ana bronşa kaçma olasılığı daha yüksektir. Çünkü sağ ana bronş daha kalın ve daha dikey konumludur. Lober bronşları ve segmental bronşları oluşturmak üzere ana bronşlar segmentlere ayrılırlar. Bronşiyoller denilen daha küçük tübüller bronşiyal ağacın ilerleyen aşamadaki segmenter devamını teşkil ederler (32, 35, 36).

3.5.3.2. Akciğerlerin Lenfatik Drenajı

3.5.3.2.1. Lenf Düğümleri

Akciğerler, plevra ve mediastinum'u toraksın visseral lenf düğümleri drene eder. Radix pulmonis ve hilum pulmonis'te bu lenf düğümleri çeşitli gruplar halinde bulunmaktadır: Geniş bronşlar boyunca nodi lymphoidei pulmonales, esas olarak hilum pulmonis'te nodi lymphoidei bronchopulmonales (34-36, 38), interlober, lobar, segmental, subsegmental ve intraparenkimal intrapulmoner düğümleri oluşturmaktadır (32, 35-38).

Bifurcatio trachea'nın yakınında trakeobronşiyal lenf düğümleri bulunmaktadır. Trakeobronşiyal ve trakeal lenf düğümleri akciğer ve bronşların birçok bölümünün lenfatik drenajını alır (32, 33, 36, 38). Bu gruplardan oluşan düğümleri, üst ve alt paratrakeal, subaortik, retrotrakeal ve subkarinal düğümleri içerir (32, 36-38).

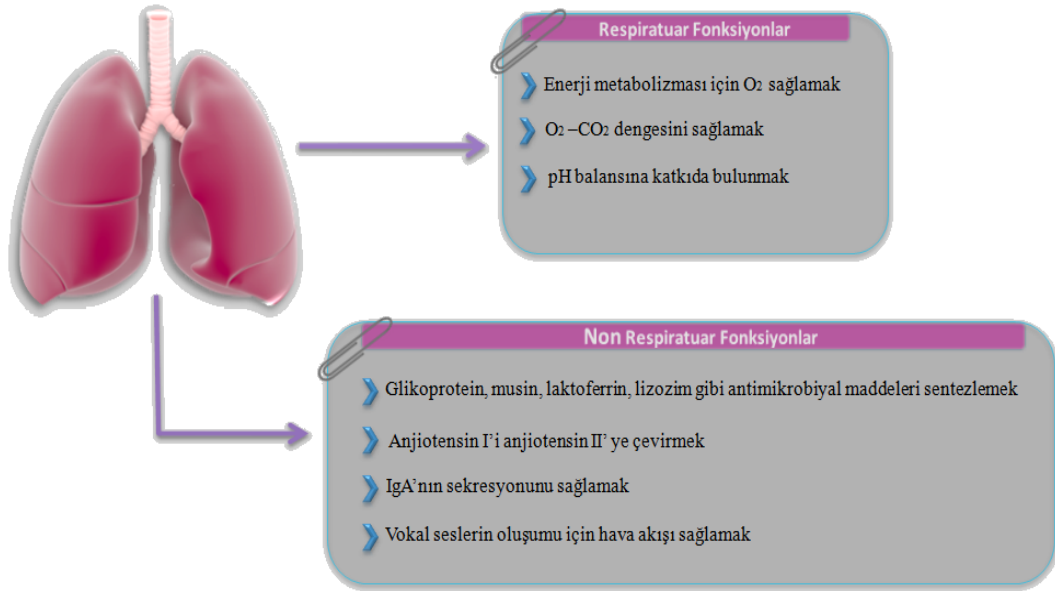
3.5.3.2.2. Lenf Damarları

Akciğerlerin lenf damarları, ilk olarak nodi lymphoidei pulmonales'lerden drene olur. Bu lenf düğümlerinin efferentleri nodi lymphoidei bronchopulmonales'lere, bunların efferentleri de nodi lymphoidei tracheobronchiales'lere açılır. Akciğerlerde yüzeysel lenf damarları ve derin lenf damarları olmak üzere iki tip lenf damarı bulunmaktadır. Yüzeysel lenf damarları, fissür kenarları boyunca uzanır ve nodi lymphoidei bronchopulmonales'e drene olur. Derin lenf damarları ise nodi lymphoidei bronchopulmonales'e ulaşmak için hilum pulmonis'i geçer. Bronşlar ve pulmoner damarlar ile birlikte radix pulmonis'e doğru seyrederek ve akciğer dokusu içinde bulunan nodi lymphoidei pulmonales'e dökülür. Buradan

ayrılan lenf damarları radix pulmonis'teki nodi lymphoidei broncho-pulmonalis'lere drene olur. Bu lenf nodüllerinde toplanan akciğer lenfası önce nodi lymphoidei trocheobronchialis'e, daha sonra da nodi lymphoidei broncho-mediastinalis'e dökülür (35, 36, 38).

3.5.4. Alveoller

Akciğerlerin gaz değişiminin meydana geldiği fonksiyonel birimlere pulmoner alveoller denir. Alveollerin duvarları tip I alveolar hücreler ile tip II alveolar hücreler ile döşenmiştir. Alveolus'ların yüzey gerilimini azaltan bir fosfolipid olan akciğer surfaktanı Tip II alveolar hücreler tarafından salgılanır (32, 33-38). Akciğerlerin başlıca fonksiyonları Şekil 6 de özetlenmiştir.



Şekil 6. Akciğerlerin Başlıca Fonksiyonları

3.6. Karaciğer

3.6.1. Karaciğer Embriyolojisi

Embriyonun 4. Haftasında kalbin salgıladığı fibroblast growth faktör (FGF) ile bipotent hücreler etkilenecek hepatic divertikül oluşumunu uyarır. Karaciğer ventral bir çıkıntı şeklinde ön barsağın kaudal kısmından gelişir. Septum transversum'a doğru uzanan bu divertiküle karaciğer tomurcuğu denilmektedir. Karaciğer taslağı tomurcuğun kranialdeki daha büyük parçasından gelişmektedir. Endoderm hücreleri çoğalarak karaciğer içi hücre kordonlarını ve safra kanallarının karaciğer dokusu içindeki kısmını oluşturur (31). Hematopoez 6. haftada başlarken safra üretimi 12. Haftada başlamaktadır. Kapalı olan ekstra hepatic safra kanallarında zamanla vakuoler yapılar oluşarak kanala dönüşür. Karaciğerin visseral peritonu mezogastriumdan oluşmaktadır. Umbilikal korddan çıkan umbilikal ven karaciğere doğru ilerler ve lig. falciforme boyunca devam eder (30, 31).

3.6.2. Karaciğer Histolojisi

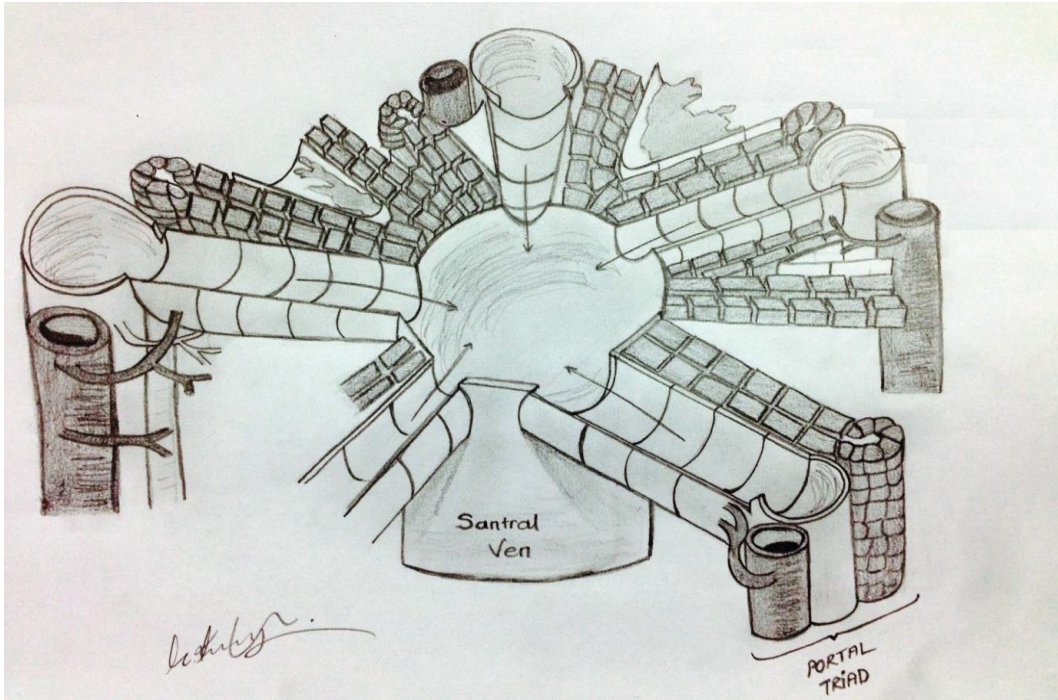
Hepatositler, 20-30 µm çapındadır. Polihedral yapı gösterirler. Tüm karaciğerin %80'ini teşkil ederler (30). Karaciğer parankimi hepatositlerin organize diziliminden oluşmuştur. Karaciğer lobülünün histolojik yapısı genel hatlarıyla Şekil 7'de görülmektedir. Dizilim gösteren bu hücre kordonları; aralarında bulunan kapiller ve sinüzoidal aralıklarla bütünlük teşkil eder. Disse aralıkları da denilen perisinüzoidal aralıklar Sinüzoid endoteli ile hepatositler arasındadır. Hepatosit tarafından sentezlenen protein ve lipoproteinler, perisinüzoidal aralıkta kana transfer edilir (30, 31).

Karaciğer parankiminin organizasyonu ile ilgili üç önemli karaciğer lobül modeli vardır (31). Bunlar; klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsüdür.

1. Klasik lobül; sinuzoidlerin drene olduğu santral venin ortada bulunarak ışınsal tarzda hepatositlerin dizilim gösterdiği altıgen şeklindeki lobül şeklindedir (30, 31).

2. Portal lobül; Portal alanın ortada bulunduğu Üç santral venin arasındaki üçgen şekilli alandır (30).

3. Karaciğer asinusu; karaciğer parankiminin en küçük fonksiyonel birimini ifade eder (30) ve baklava dilimi şeklindedir. İki portal alan arasında kısa eksen, iki santral ven arasında ise uzun eksen bulunmaktadır (30, 31).



Şekil 7. Karaciğer Lobülünün Histolojik Görünümü

3.6.3. Karaciğer Anatomisi

Yetişkinlerde yaklaşık olarak 1500 gr olan karaciğer (KC); makroskobik olarak da ayırt edilebilen dört lobdan oluşmaktadır. Ağırlığı erişkinde vücudun 1/50'sini teşkil ederken, infantta ise 1/20'sine tekabül eder (38-40). Karaciğer anatomik olarak sağ ve sol iki büyük lobu oluşturmak üzere iki derin yarıkla bölünmüştür (38). Bundan başka lobus quadratus ve lobus caudatus olmak üzere iki küçük lob içerir. Diafragmanın altında mide ve barsakların üzerinde seyrederek karın boşluğunun en fazla yukarı sağ kısmını teşkil edecek şekilde sola doğru uzanım gösterir. Önde KC'in üst sınırı sağdan sola doğru sağ linea medioclavicularis'in 4. interkostal aralığının en yüksek noktasını çaprazladığı yerden sola ve biraz aşağı doğru ilerleyerek 5. sağ kıkırdak kosta hizasından geçtikten sonra linea mediana anterior üzerinde proc. xiphoideus tabanı hizasına gelir (38-40). Daha sonra sola doğru ilerleyerek sol 6. kıkırdak kostanın sternum ile birleştiği noktayı çaprazlayarak linea mediana anterior'un 8 cm soluna kadar ilerler. KC'in üst sınırı linea mediana posterior üzerinde 9. torakal omur cisminin alt kenarı hizasından başlayarak sağ linea paravertebralis'in 10. interkostal aralığı çaprazladığı yere gelir. Buradan sonra sağ linea axillaris'in yedinci interkostal aralığı çaprazladığı yere gelir. Arkada KC'in alt sınırı linea mediana posterior üzerinde 11. torakal omur cisminin ortası hizasından başlayarak sağ 12. kostanın alt kenarını sağa doğru takip ederek, daha sonra sağ arcus costalis'i takip ederek sağ 10 kıkırdak kosta ile sağ 9. kıkırdak kostanın birleştiği yerden sola doğru ilerleyerek, sol 7. ve 8. kıkırdak kostaların birleştiği yerde sol arcus costalis'e ulaşır (38-41). Kısmen peritonla örtülü olan karaciğerin üst, arka ve alt olmak üzere üç yüzü bulunmakta olup üst arka, alt arka ve alt olmak üzere üç kenarı

bulunmaktadır. *Facies diaphragmatica* peritonla örtülüdür. *Lig. falciforme hepatis* ile *lobus hepatis dexter* ve *sinister* denilen iki loba ayrılmaktadır. *Lobus hepatis dexter*, sağ AC ve sağ *pleura diaphragmatica* ile komşudur. Üst yüzün sağ kısmı, kostaların oluşturduğu *impressiones costales* denilen izler içermektedir. Sağ *arcus costalis* dışında kalan kısım karın ön duvarına komşu olup, üst yüz orta kısım *pericardium* ve kalp ile komşuluk yapar. Bu yüzde aynı zamanda *impressio cardiaca* kalp ile komşuluk yapan kısmı içermektedir. Üst yüz sol kısım sol *pleura diaphragmatica* aracılığı ile sol akciğerin *facies diaphragmatica'sı* ile komşuluk yapar. Arka yüzde *peritoneum* yoktur. Bu bölgede KC fibröz bağ dokusu ile *diaphragma*'ya tutunmuştur. Bu bölgeye *pars affixae faciei diaphragmaticae* da denilmektedir. Aynı zamanda peritonla kaplı olmadığı için *area nuda* da denilmektedir. *Area nuda*'nın sağ tarafındaki olukta *sulcus v. cava inferior* bulunmakta olup buradan *v. cava inferior* geçmektedir (38-41).

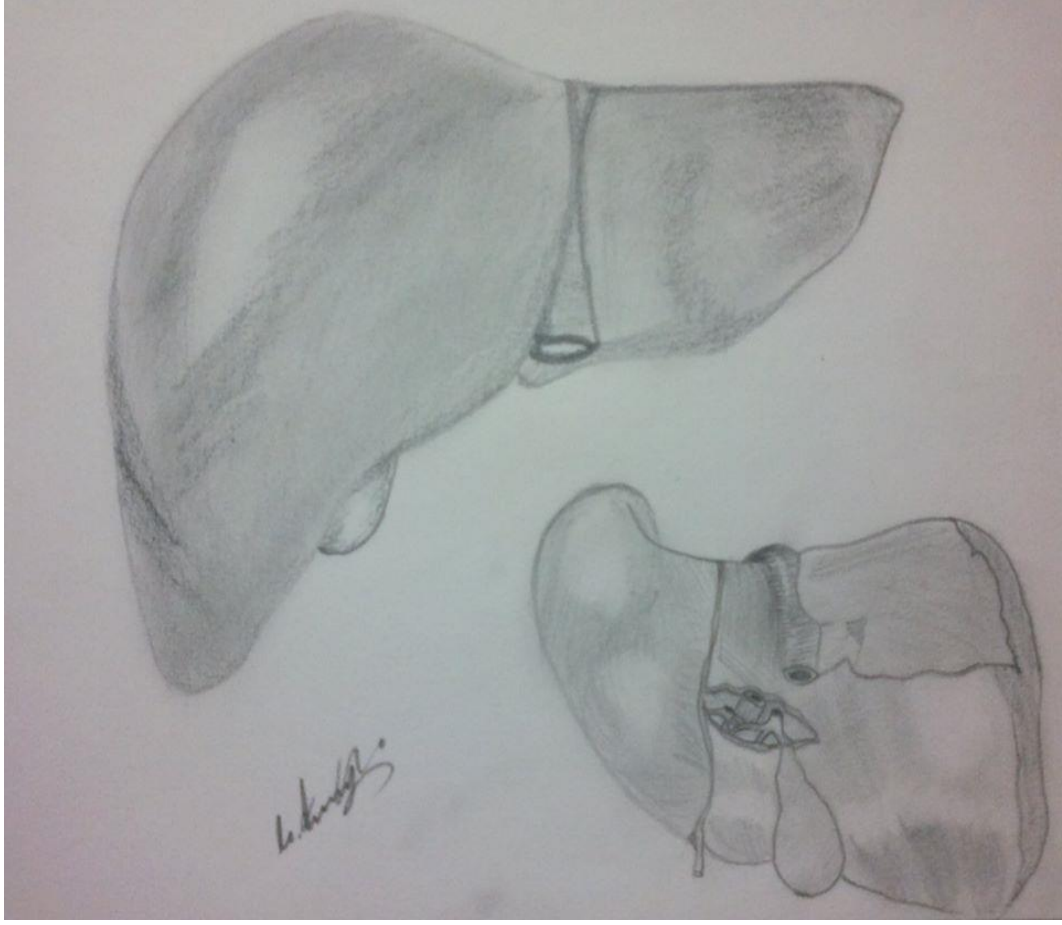
KC arka yüz orta kısımda *columna vertebralis*'e ait girinti bulunur. Arka yüz sol tarafta *fissura ligamenti venosi*'nin devamı izlenir. Arka yüz daha sola doğru *impressio oesophageale* bulunur ki buradan özofagus geçer. KC'de *facies visceralis*'de H harfi şeklinde oluklar bulunmaktadır. Bu olukları oluşturan yapılar; sağ önde *vesicae felleae*'nin bulunduğu *fossa vesicae felleae*, sağ arkada *v. cavae inferior*'un bulunduğu *sulcus v. cavae inferioris*, sol arkada *lig. venosum*'un bulunduğu *fissura ligamenti venosi*, sol önde *lig. teres hepatis*'in bulunduğu *fissura ligamenti teretis*'ten oluşmaktadır. Sol arkada bulunan *lig. venosum* burada *v. porta* ile *v. cava* arası *ductus venosus*'a ait regrese olmuş yapının ligamentidir. *Porta hepatis* ortada bulunmakta olup; *v. portae*, *a. hepatica propria*, safra yolları, lenf damarları ve sinirlerin girip çıktığı kapı vazifesi gören

önemli bir anatomik oluşumdur. Portae hepatis önünde lobus quadratus arkasında lobus caudatus bulunur. Portae hepatis peritonsuzdur. Ductus hepaticus communis de portae hepatis'teki önemli bir anatomik yapıdır. Safra, KC içinde oluşturulduktan sonra küçük safra kanaliküllerine oradan da safra kanallarına ulaşır. Daha büyük safra yollarının başlangıcı olarak ductus hepaticus dexter ve sinister birleşir ve ductus hepaticus communis'i oluşturur. Porta hepatis'teki yapılanmaya göre a. hepatica propria, ductus hepaticus communis'in sol ve önünde; v. portae, ductus hepaticus communis'in arkasında bulunur. Plexus hepaticus, sempatik ve parasempatik lifler içerir ve bu anatomik oluşum da yine porta hepatis'te bulunur (38-41). Karaciğerin anatomik yapısı genel hatlarıyla Şekil. 8'de gösterilmiştir (39).

Lobus hepatis dexter: En önde flexura coli dexter'e ait impressio colica bulunur. Buranın biraz arkasında sağ böbreğe ait impressio renalis görülür. Daha arka ve biraz solda sağ glandula supra renalis'e ait impressio suprarenalis, impressio renalis'in biraz sol tarafında ise pars descendens duodeni'ye ait impressio duodenalis yer alır.

Lobus hepatis sinister: Sol lobun ortasında fundus ventriculi'ye ait impressio gastrica, en arka kısımda esophagusa ait impressio oesophageale bulunur.

Lobus quadratus: Arkada portae hepatis, sağda fossa vesica fellae, solda fissura ligamenti teretis bulunmaktadır. Bu lobda ayrıca pars pylorica ve pars superior duodeni'ye ait impressio duodenalis bulunur (38, 39).



Şekil 8. Karaciğerin Gross Anatomik Görünümü

Lobus caudatus: Bu kısmın önünde portae hepatis, sağda sulcus venae cavae inferioris, solunda fissura ligamenti venosi bulunmaktadır. Sol ön uzantısı proc. papillaris olarak adlandırılmakta olup, bu kısım portae hepatisin arka sol kenarını yapar. Sağ ön uzantısı proc. caudatus, fossa vesicae felleae'yi sulcus v. cavae inferior'dan ayırır. Lig. venae cavae, v. cavae inferior arkasından geçerek lobus hepatis dexter ile birleşir.

KC'in peritonsuz kısımlarına bakacak olursak; a) Portae hepatis, b) Fossa vesicae felleae, c) Sulcus v. cavae inferioris, d) Fissura ligamenti venosi, e) Fissura ligamenti teretis ve f) Lig. coronarium'un üst ve alt yaprakları arasındaki area nuda'dır.

KC'in ligamentleri arasında; lig. falciforme hepatis, lig. coronarium, lig. hepatorenale, lig. triangulare dextrum, lig. triangulare sinistrum periton kaynaklı olup; lig. teres hepatis ise v. umbilicalis'in kapanması ile oluşmuştur. Bunlardan başka yine periton katlantısı olan omentum minus'tan oluşan lig. hepatogastricum ve lig. hepatoduodenale bulunmaktadır (38, 39, 41).

3.6.3.1. Karaciğerin Kan Dolaşımı

Karaciğerin görevleri itibarı ile kanlanması özellik göstermektedir. Buna göre karaciğer iki ayrı sistem ile kanlanır. Bunlardan biri v. porta (portal ven) diğeri ise a. hepatica'dır (38, 39, 41).

3.6.3.1.1. Vena Portae Hepatis

Karaciğere gelen kanın %70-80'ini teşkil eden v. porta, karaciğerin fonksiyonel damarıdır. V. porta'yı oluşturan sindirim organlarının venöz kanı olup; v. mesenterica inferior, v. mesenterica superior ve v. lienalis'in birleşmesinden ibarettir. Sindirim sistemindeki tüm besleyici maddeleri toplayan bu kan oksijen miktarı bakımından fakirdir. V. porta aynı zamanda pankreas'dan ve gastrointestinal sistemin enteroendokrin hücrelerinden salgılanan bazı hormonları, dalak'tan ise alyuvar yıkım ürünlerini ve diğeri atıkları toplayarak karaciğere taşır (38, 39, 41).

3.6.3.1.2. Arteria Hepatica Communis

A. hepatica communis karaciğerin besleyici damarı olup, ana olarak aorta'dan ayrılan truncus coeliacus'un dalıdır. Karaciğere gelen kanın %20-30'unu

teşkil eden bu kan oksijence zengindir. Hem v. porta hem de a. hepatica karaciğere porta hepatis'den (karaciğer kapısı, hilum) girer. Karaciğer lobcuklarının aralarındaki portal alanları oluşturan Glisson üçgenleri, Kiernan aralıkları gibi portal alanlarda lobuller arası arteriol ve venülleri oluştururlar. Sinuzoidlerle ağzlaşan bu damarların devamı ise vena centralis'lere bağlanırlar.

A. hepatica ile aorta'dan gelen oksijenli kan ile v. porta ile sindirim sistemi organlarından gelen besinleri taşıyan kan, lobul sinuzoidleri içinde birbirine karışmaktadır. A. hepatica ve v. portanın dönüşü tektir ve lobcuk boyunca ilerledikçe daha çok sinusoid alır ve çapı gittikçe artarak vv. hepaticae adını alır. Daha sonraki seyrinde ise karaciğerin diafragmaya bakan yüzünden iki veya daha fazla kol halinde organı terk eder ve v. cava inferior'a açılırlar.

Karaciğerde lenfin oluştuğu yer Disse aralıkları'dır. KC içinden gelen lenf yolları trabekulaları takip ederek capsula hepatis'i geçer ve KC'in dış yüzüne gelirler. Peritoneum altında lymph ağı yaptıktan sonra KC'in üst yüzündekiler lig. falciforme hepatis ve diaphragma'yı geçerek nodi lymphoidei mediastinales anteriores'e KC'in arka yüzündekiler, v. lienalis ve v. cava inferior çevresindeki lenf nodlarına, KC'in alt yüzündekiler ise porta hepatis yakınındaki lenf nodlarına dökülür (38, 39, 41).

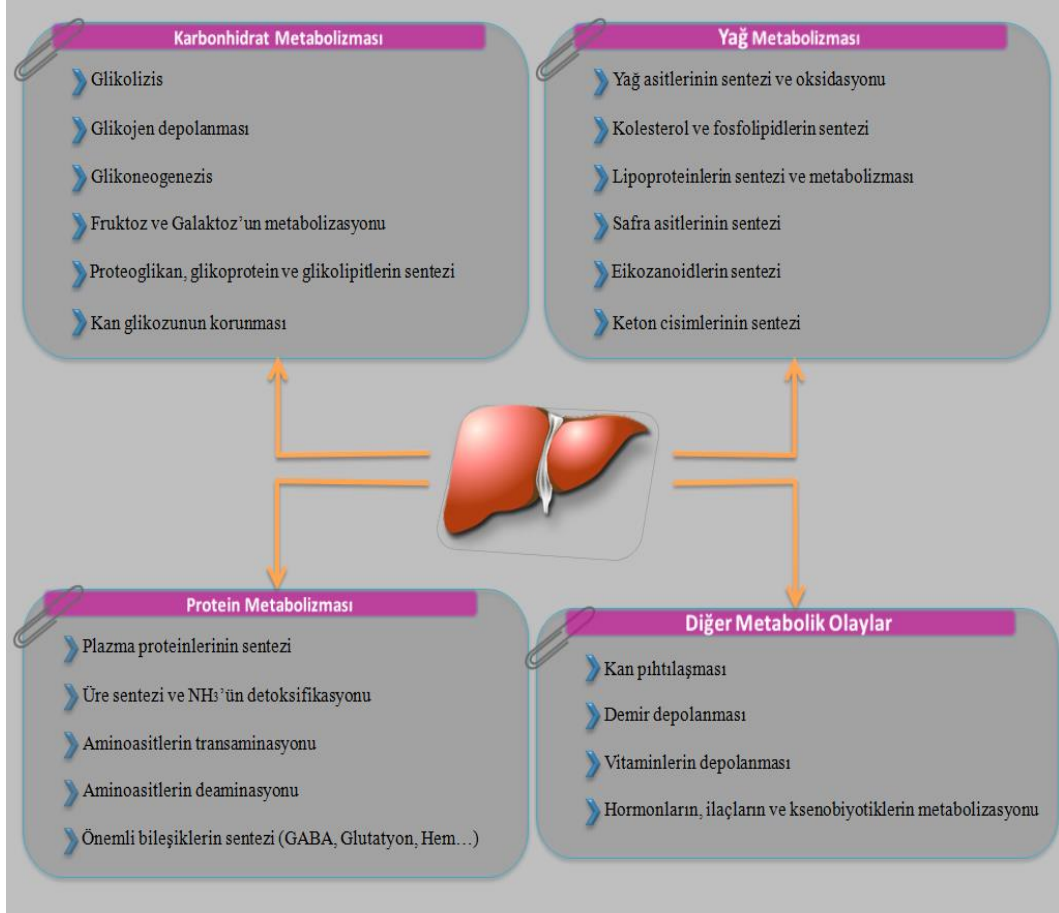
3.6.4. Karaciğerin Başlıca Fonksiyonları

Karaciğer (KC) yaşam için temel organlardan biridir. Bu organ dış ve iç salgı yapabilen en büyük iç organdır. Sindirim kanalından emilen besinler karaciğerde işlenmektedir. İşlenen bu besinlerin bir kısmı sonradan kullanılmak üzere depolanırken, diğer bir kısmı ise vücudun diğer organları tarafından

kullanılmak üzere dolaşıma salınmaktadır. Karaciğer hem ekzokrin hem de endokrin görevleri olan bir organdır. Bu organda 500'ün üzerinde kimyasal reaksiyon gerçekleştirilmektedir. Karaciğerin başlıca görevleri genel hatlarıyla Şekil 9'da verilmiştir (38, 39, 41).

Bu organın önemli olan görevlerini ifade edecek olursak;

- 1) A, D, K gibi vitaminlerin dolaşımdan alınarak depolanması ve biyokimyasal modifikasyonu.
- 2) Barsak yolu ile vücuda giren bakterilerin veya yabancı partiküllerin fagosite edilmesi.
- 3) Demir metabolizmasında görevli albumin, lipoprotein ve glikoprotein gibi diğer taşıyıcı maddelerin sentezinde görev alması.
- 4) Embriyonal dönem ve yetişkinlerin bazı hastalık durumlarında hematopoezde görevli olması.
- 5) Enerji kaynaklarının (lipitler, karbonhidratlar ve proteinler) metabolizmasında endokrinolojik faaliyetlerde bulunmak.
- 6) Koagülasyon kaskatında görevli protrombin ve fibrinojen gibi proteinlerin sentezinde görev alması.
- 7) Toksik maddelerin ve ilaçların metabolize edilmesinde görev alması.
- 8) Vücutta oluşan metabolik artıkların üreye dönüştürülerek böbreklerden atılmasında faaliyet göstermesi.
- 9) Yağların sindiriminde primer görevli olan safrayı üreterek duodenum ikinci kısmına boşaltmak gibi birçok hayati fonksiyonları bulunmaktadır (36, 37).



Şekil 9. Karaciğerin Başlıca Fonksiyonları

3.7. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

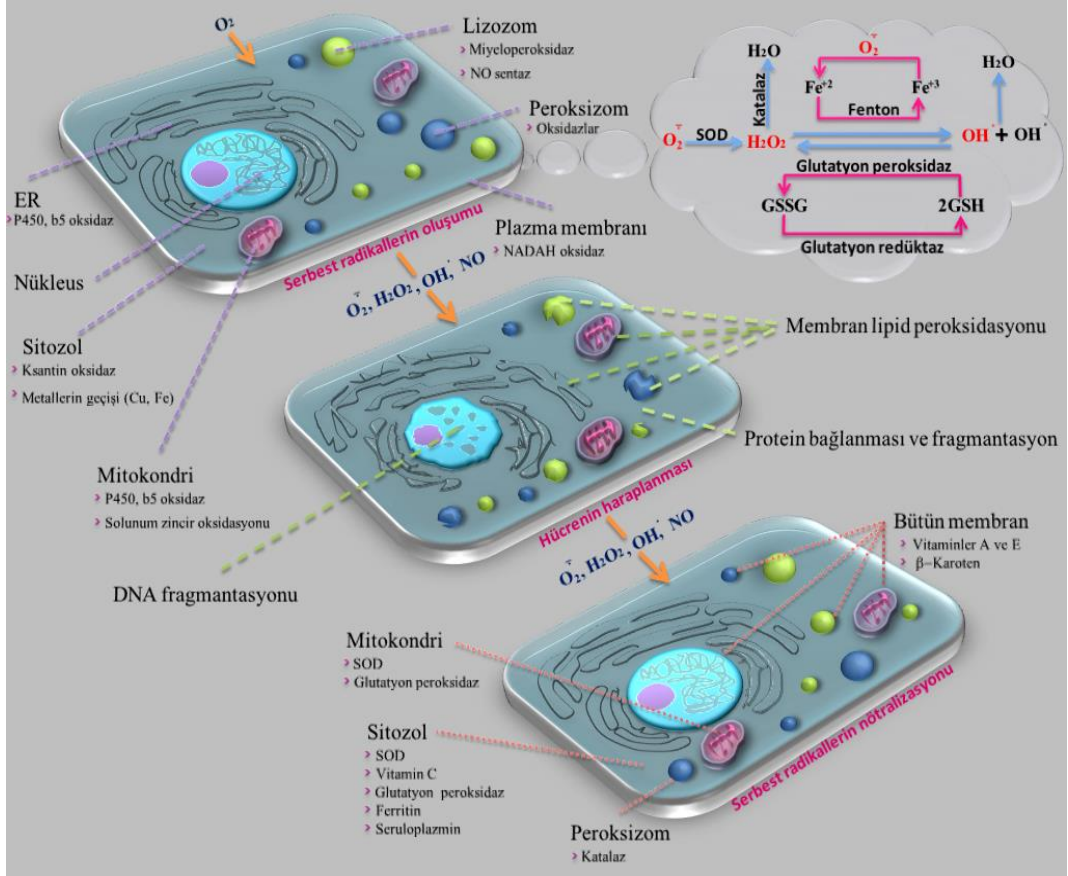
Formaldehit; biyolojik dokulardaki hasarı, oksidan ve antioksidan dengeyi bozarak yapmaktadır (42). Bu bağlamda Kuş ve arkadaşları (43), 2004 yılında erkek sıçanlara 14 gün boyunca günaşırı olarak %10'luk formaldehiti intraperitonel (i.p) yolla vermişler ve aynı zamanda 25 mg/kg dozunda melatonin uygulamışlardır. Formaldehite bağlı olarak prefrontal kortekste oksidatif hasar oluştuğunu ve bu hasarın verdikleri melatonin ile önlendiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmayı takiben Zararsız ve arkadaşları (22), 2005 yılında formaldehite maruz kalan sıçanların karaciğer dokusunda oksidatif hasar oluştuğunu ve bu hasarın da omega 3 yağ asitleri verilmesi ile azaldığını bildirmişlerdir. Yine 2007 yılında

yapılan bir başka çalışmada, formaldehitin neden olduğu hipokampustaki oksidatif hasarın omega 3 yağ asidi verilmesi ile önlendiğini rapor etmişlerdir (44).

3.7.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller en dış yörüngesinde bir yada daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren, insan ve hayvanlarda besinlerin oksijen kullanılarak mitokondride enerji dönüşümü esnasında, elektron transport zincirinde meydana gelen elektron kaçakları sonucu oluşan, son derece reaktif ve stabil olmayan atom veya moleküllerdir (45).

Moleküler oksijen (O_2), singlet oksijen, hidroksil radikal, süperoksit anyon, hidrojen peroksit, nitrik oksit radikal, hipoklorit radikal, çeşitli lipid peroksitle hücre içinde oluşan oksidan (serbest radikaller) maddelerdir. Serbest radikallerin oluşumu ve hücrelerdeki hasar mekanizmaları ve bertaraf edilme yolları kısaca Şekil 10'da özetlenmiştir (45). Normal fizyolojik süreçte ortaya çıkan serbest radikaller sinyal iletiminde ve bakterilere karşı organizmayı korumada görev almaktadır (46). Ancak iskemi, hemoraji, intoksikasyonlar, travma, kirli hava, sigara dumanı, ultraviyole ışınları, alkol, ozon, nitrojen dioksit, kükürt dioksit, benzen ve formaldehit gibi birçok kimyasal molekül, serbest radikallerin fizyolojik sınırların üstüne çıkmasına aracılık ederek, yaşlanma, artrit, ateroskleroz, diyabet ve kanser gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Serbest radikaller aracılığıyla gelişen hücre hasarlanmalarında 3 ana reaksiyon bulunmaktadır (45, 47).



Şekil 10. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları, Oluşan Bu Radikallerin Yol Açtığı Hücre Zedelenmeleri ve Bu Zedelenmelerin Ortadan Kaldırılması İçin Devreye Giren Organeller ve Moleküllerin Karşılıklı Etkileşimleri

1- Membranların lipid peroksidasyonu

Serbest radikaller ortamdaki oksijen (O_2) ile reaksiyona girerek hücre ve organel membranlarındaki fosfolipitlerin oksidasyonuna yol açmaktadır. Serbest radikaller ile tepkimeye giren moleküller sıra ile serbest radikallere dönüşerek membranda hasar zincirini ilerletirler.

2- DNA parçalanması

Serbest radikaller, DNA'da tek iplik kırılmalarına neden olmaktadır. Serbest radikaller aracılığıyla DNA'da oluşan bu kırılmalar hücrelerde tümör oluşumuna veya hücre ölümlerine yol açmaktadır.

3- Proteinlerin çapraz bağlanması

Serbest radikaller sülfidril gruplarıyla etkileşip, proteinlerde çapraz bağlanmalara yol açarak proteinlerin parçalanmasının hızlanmasına ve bu proteinlerde enzimatik aktivitenin kaybına neden olmaktadır.

Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki bu dengenin serbest radikaller yönüne kayması durumunda oksidatif stres meydana gelmektedir (48-51). Hücre içinde bu zararı önleyen çeşitli moleküller bulunmakta ve bunlara antioksidan denmektedir. Günümüzde serum örneklerinde total antioksidan ve oksidan miktarları ölçülerek hücrelerin oksidatif strese yanıtları hakkında bilgi edinilmektedir (50, 51).

3.7.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar 3 ana başlık altında toplanmaktadır (45, 52);

- 1- Enzimatik antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD); katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz, paraoksanaz.
- 2- Endojenik antioksidanlar: Seruloplazmin ve transferrin gibi serum proteinleri veya sistein, glutatyon ve D-penisilamin gibi sülfidril içeren bileşikler.
- 3- Ekzojenik antioksidanlar: Selenyum, B6 ve B12 vitaminleri, C vitamini, folik asit, E vitamini, kahve, çinko ve karnozin gibi maddelerdir.

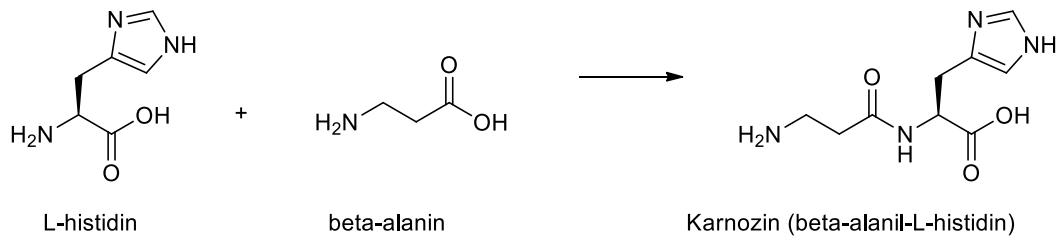
Ayrıca son yıllarda ozon; canlı organizmalarda, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim sistemlerini uyararak etki gösterdiğinden ekzojenik antioksidanlar arasında düşünülse de antioksidan ziyade oksidan moleküller arasında yer almaktadır (53). Ozonun bakterisidal, virüsidal, fungusidal etkileri, kanın oksijen taşıma

fonksiyonunun düzenlenmesi, sistemik homeostazı destekleyici-onarıcı etkileri, detoksifikasyon etkileri, analjezik etkileri ve kanın pıhtılaşma mekanizmasının düzenlenmeside görev almaktadır.

Burada ifade edildiği gibi çok sayıda antioksidan molekül bulunmaktadır. Ancak bu çalışmada sadece antioksidan moleküllerden karnozinin FA'nın zararlı etkilerini bertaraf etmede rolünün olup olmadığının araştırılması planlandığından sadece karnozin hakkında detaylı bilgi verilecektir.

3.8. Karnozin

Karnozin (β -alanil-L-histidin) ilk kez 1900 yılında kas dokusunda Rus bilim adamı Gulevitsch tarafından keşfedilmiş ve yapısı ortaya çıkarılmıştır (Şekil 11). Karnozin biyolojik olarak aktif olan peptidlerin en basiti ve yapısı ilk aydınlatılanlardandır (54). Karnozinin kas dokularında proton düzenleyeci görevinde bulunmaktadır (55). Karnozin insan dahil bazı omurgalılarda doğal olarak sentezlenen endojenik dipeptittir. Organizmada doğal olarak sentezi başlıca alanin amino asitin konsantrasyonuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür (54, 55).



Şekil 11. L-histidin ve β -alaninden Karnozin Elde Edilmesi

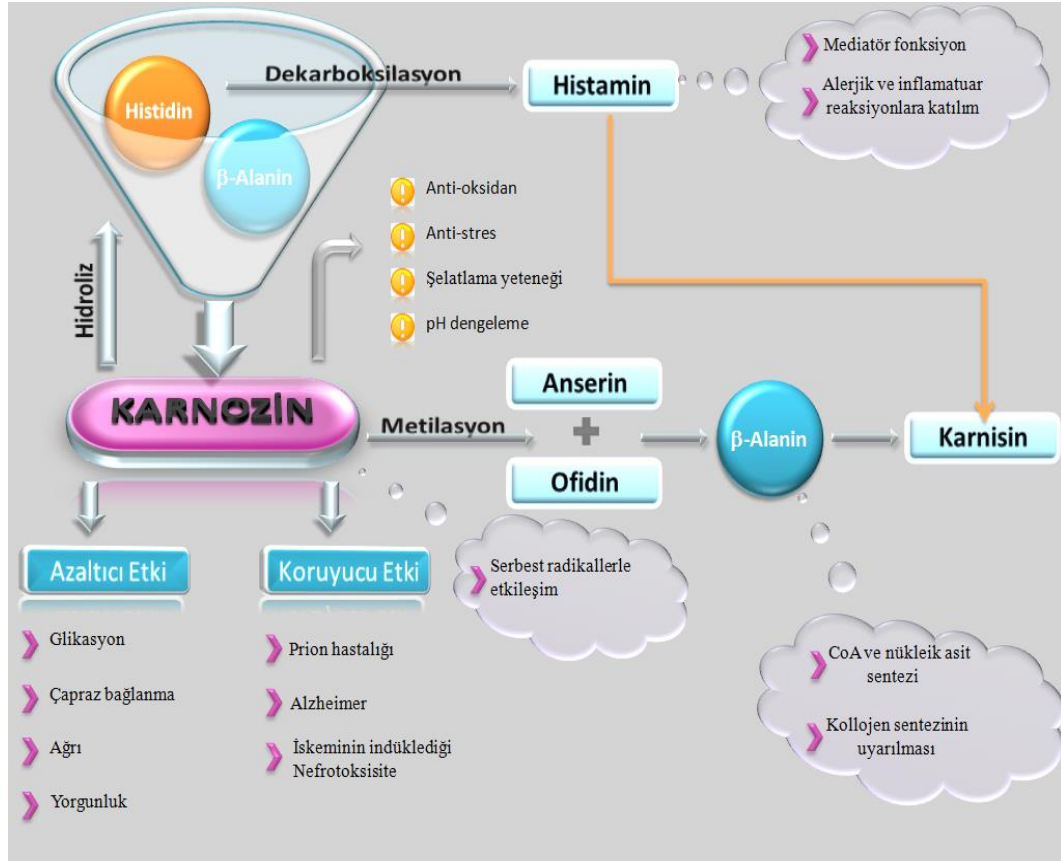
3.8.1. Karnozinin Doku Dağılımları

Dokulardaki karnozin konsantrasyonları diyet bağımlı olup, vejeteryan diyetle beslenenlerde doku düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hayvanlarla yapılan çalışmalarda travma, şok, açlık ve enjeksiyon gibi hadiselerin karnozinin doku düzeylerini etkilediği bildirilmiştir (55). Karnozin canlılarda en fazla iskelet kasında olmasına rağmen diğer dokularda da örneğin, mide, böbrek, kalp kası, beyin ve göz küresinde de bulunduğu rapor edilmiştir (55). Plazma, karaciğer ve akciğerde ise ölçülebilir düzeyde olmadığı bildirilmiştir. Gastrokne-mius kasında karnozin miktarının cinsiyete (erkeklerde daha yüksek) ve yaşa göre değiştiği (yaşla azaldığı) ve bazı kaslarda % 0.2 - 0.5 oranında net kitlesel artışa neden olduğu bildirilmiştir (54, 55).

3.8.2. Karnozinin Biyolojik Etkileri

Şu ana kadar yapılan çalışmalar karnozinin birçok biyokimyasal olaylarda anahtar rol oynadığını göstermektedir (Şekil 12). Oral olarak verilen karnozin hiperglisemik ratların retinal kan damarlarında hasarı engellemektedir (56). Ayrıca N-asetil karnozin ihtiva eden göz damlası uygulanmış bireylerde katarakt gelişimi, bulanık görme, hatta kör olmanın engellendiği de bildirilmiştir (57-59). Bugün Rusya'da % 5 karnozin ihtiva eden göz damlaları tıbbi alanda kullanılmaktadır (60, 61). Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda da koruyucu rolü bulunmaktadır (62-64). Karnozin, doksorubisin (65, 66) ve siklofosfatamid (67, 68) gibi ilaçların yan etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Karnozin alkol kullananlarda karaciğer enzimlerinin artışını engelleyerek ve lipid peroksidasyonunu önleyerek siroz ve yağlı karaciğer oluşumunu da yavaşlatmaktadır (69). 24 hafta

boyunca içme sularına 30 mg/kg karnozin katılan obez farelerin serumlarında, kolesterol ve trigliserid düzeylerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca bu farelerin sistolik ve diyastolik basınçlarını düşürerek böbreklerde hasar oluşumunu azaltmıştır. Karnozin diyabetik nefropati gelişimini de engellemektedir (70).



Şekil 12. Karnozinin Metabolik Yolakları (Kaderi), Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri

Kohen ve arkadaşları yaptıkları iki karnozin çalışmasında yara iyileşmesini hızlandırdığını ve immunostimülan olduğunu, ayrıca metal iyonlarını bağlayarak antioksidan özellik gösterdiğini ve serbest radikalleri temizlediğini bildirmişlerdir (71, 72). Karnozin önemli bir anti-aging ajan olup etkilerini de muhtemelen yukarıdaki saydığımız yollarla yapmaktadır (73, 74). Ayrıca karnozinin hücre bölünmesini de artırdığı bildirilmiştir (75-77). Karnozinin biyolojik sistemlerdeki

etkileri genel hatlarıyla Şekil 12’da görülmektedir (53-56). İnsanlarda yaşa bağlı olarak ortaya çıkan el ve yüzlerde meydana gelen kırışıklıklar karnozin suplementasyonu ile azalmaktadır (73, 74, 79). Deneysel olarak yaşlanma oluşturulan farelerde karnozin verilmesi hayvanların fiziksel görünümünde iyileşmeye ve yaşam sürelerinin uzamasına neden olmuştur (54, 80). Karnozin insan hücresinin yaşam süresini uzatmaktadır (54). Aynı zamanda karnozin glioblastoma gelişimini de inhibe etmektedir (81).

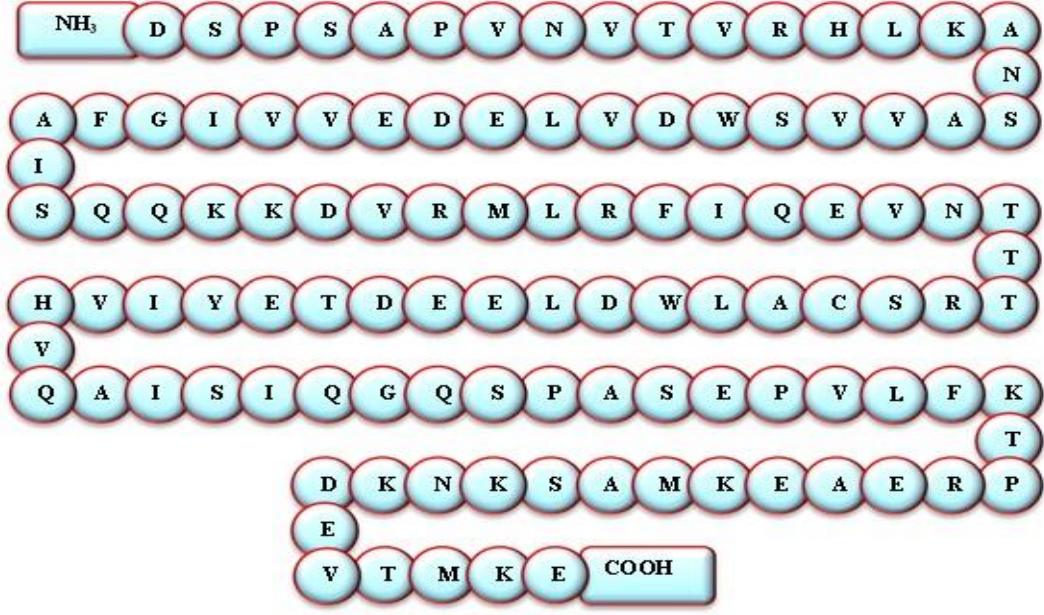
3.8.3. Karnozinin Antioksidan Özellikleri

Karnozinin yukarıda saydığımız olumlu katkıları muhtemelen antioksidan özelliğinden kaynaklanmaktadır. Karnozinin antioksidan etkisi ilk kez 1985’de gösterilmiştir (82). Daha sonra ise birçok araştırmacı tarafından antioksidan etkisi teyit edilmiştir. Süperoksit, hidroksil ve nitrojen radikallerinin ve çok kuvvetli olarak da singlet oksijen molekülünün temizleyicisi olduğu rapor edilmiştir (54). Karnozinin antioksidan özelliğinin böbrek, beyin, miyokard, iskelet kası ve spinal kord gibi farklı doku ve organlarda iskemiye karşı koruyucu etki gösterdiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (55, 82, 83). Bundan başka karnozin supplementasyonu, oksidatif stres şartlarında, proteinlerin ve membran lipidlerinin oksidatif hasarını engellemektedir (54). Karnozin hücredeki protein agregasyonunu azaltmakta, kültüre edilmiş insan fibroblastlarını ve lenfositlerini, asetaldehitin toksik etkilerine karşı korumakta ve kültüre edilmiş rat beyin endotel hücrelerinin lipid peroksidasyonunu engellemektedir (54-57). Karnozinin abdominal aort cerrahisinde aortik iskemiye bağlı akciğer hasarını da azalttığı bildirilmiştir (55, 84).

Daha önce bahsettiğimiz gibi formaldehit antioksidan kapasiteyi düşürmekte ve enerji metabolizmasının regülasyonunu bozmaktadır. Enerji metabolizmasında görevli en son keşfedilen hormon irisindir (85). Çalışmanın bu bölümünde beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirerek enerjinin ısı olarak ortaya çıkmasını sağlayan ve bu özelliğinden dolayı da enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rönesans etkisi yaratan irisin hormonu hakkında genel bilgiler verilecektir.

3.9. İrisin

İrisin, 2012 yılında Boström ve arkadaşları (85) tarafından keşfedilmiş olup, 112 aminoasitlik peptid yapısına sahip ve 10.1 kD ağırlığındadır (Şekil 13). Bu araştırmacılar irisin adını, Yunan mitolojisinde tanrılardan fani insanlara müjdeli haberler getiren Thaumas ile Elektra'nın kızı olan Ebemkuşağı (gökkuşağı)'nın sembolü "İris"den türetmişlerdir (85, 86). Ayrıca Boström ve arkadaşları (85) İrisin molekülünün saf 112 amino asitten oluşmadığını ve glikoprotein yapıda olabileceğini de ileri sürmüşlerdir. Çünkü yaptıkları western blot analizlerinde multiple bantlar rapor etmişlerdir. Görülen bu multiple bantlar sekrete olabilen ve glikozlanan proteinlerin genel özelliği olduğu bilinmektedir. Daha sonra bağımsız araştırmacılar tarafından glikoprotein yapıda olduğu teyit edilmiştir (87-89). İrisindeki bu glikosilasyonun nasıl olduğu henüz aydınlatılamamıştır.



Şekil 13. İrisin Hormonun Amino Asit Dizilimi (Fare, Sıçan ve İnsanlarda Aynı Dizilim)

3.9.1. İrisin Hormonunun Başlıca Doku Dağılımları

Egzersiz sonrasında iskelet kası dokularında irisin'in prekürsörü olan fibronektin tip III domain 5 (FNDC5) m-RNA ekspresyonlarının ve protein (irisin) miktarlarının arttığı western blot yöntemiyle gösterilmiştir (90-93). Daha sonra yapılan immüno Floresan ve immünohistokimyasal yöntemler irisinin iskelet kas dokusunun sadece epimisyum, perimisyum kısımlarında ve kıt miktarlarda da "A" bandında olduğunu göstermektedir (86, 94-97). İskelet kasından başka, kalp kası, sinir kılıfı, leydig hücreleri, karaciğer, pankreas, tükürük bezi, konnektif bağ doku, ter bezi ve subkutan adipoz doku gibi birçok dokuda da sentezlenmektedir (86, 96). Ayrıca fetal dokularda da irisin sentezlendiği rapor edilmiştir (86).

İrisinin prekürsörü olan FNDC5 mRNA'sı en yüksek kas dokusu olmak üzere, sırayla, rektum, perikardiyum, intrakraniyal arterler, kalp, dil, optik sinir, beyin, ovaryum, ovidukt, hipofiz, seminal veziküller, adrenal bez, özofagus, vena

kava, böbrekler, penis, retina, testis, üretra, mesane, spinal kord, karaciğer, ince bağırsak, tonsil, tiroid ve vajina dokularında gösterilmiştir (91).

3.9.2. İrisin Hormonunun Biyolojik Sıvılara Salınımı

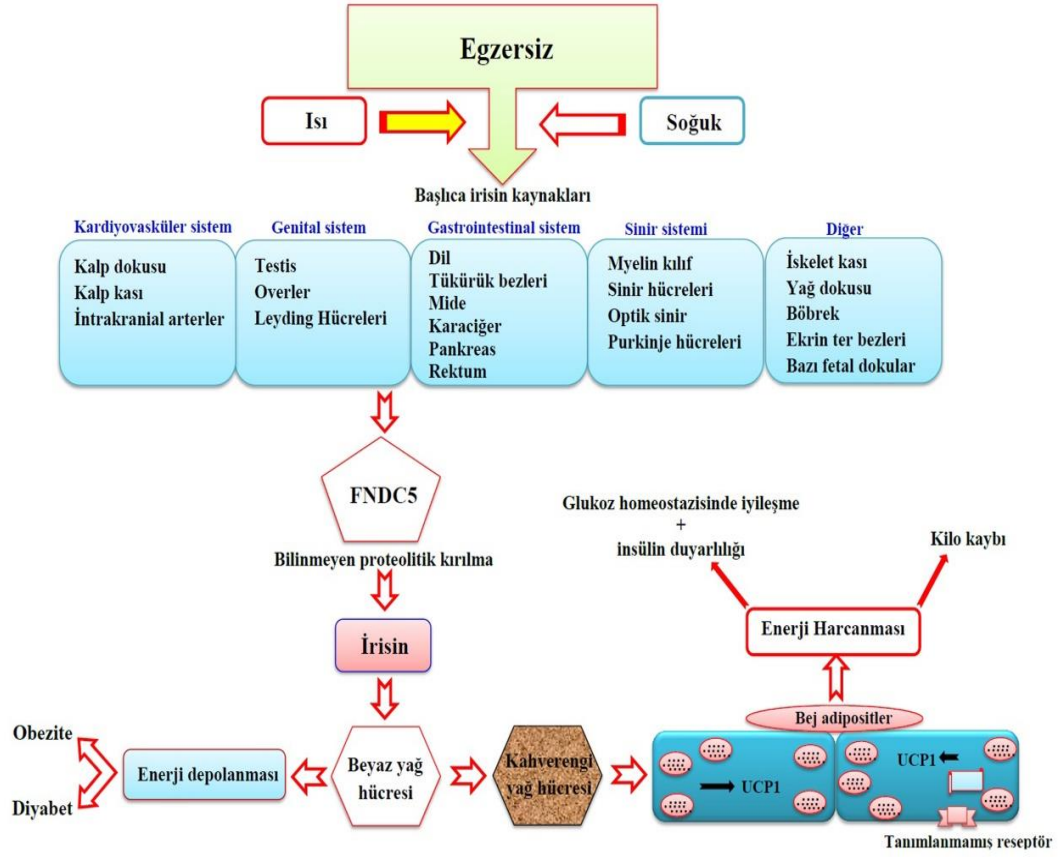
İrisin, fare ve insan dokularında FNDC5'den bir kırılma ürünü olarak oluşmaktadır (Şekil.14). FNDC5 aynı zamanda fibronectin tip III repeat (tekrar) containing (taşıyıcı) gene (FRCP2) ve peroksizomal protein (PeP) olarak da bilinmekte ve iki bağımsız grup tarafından 2002 yılında keşif ve karakterize edilmiştir (97, 98). Transmembran FNDC5'in moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 32 kD'dur ve hücresel FNDC5 ile kıyaslandığında daha büyüktür. Bu farklılık FNDC5'in C-terminal bölgesinde kırılarak sekrete olduğunu göstermektedir. Fare FNDC5'i, 29 amino asitlik bir sinyal peptid bunu takip eden 94 amino asitlik single FNIII fibronectin domain ve bir C-terminal olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (99). Fare ve insan irisleri birbiriyle %100 benzerlik gösterirken, insülin ile %85, glukagon ile %90, leptin ile %83 benzeştiği ve evrimsel süreç içinde iyi korunduğu bildirilmiştir (96).

3.9.3. İrisin Hormonunun Başlıca Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri

İrisinin ana fonksiyonu beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirerek enerjinin ısı olarak ortaya çıkmasını sağlamaktır (85). FNDC5 geninin ekspresyonu egzersiz, ısı veya soğukla indüklendiğinde, kahve renkli yağ dokusu hücrelerinin mitokondrial membranlarının iç kısımlarında bulunan uncoupling protein-1 (UCP1)'in sentezini arttırmaktadır (96). Sentezi artan bu protein (UCP1)'den dolayı protonlar mitokondriyal membrandan geri sızmakta ve

gradyent kayıp olmakta (proton gradyenti kayıp olmazsa ADP, ATP'ye dönüştürülür) ve enerji yerine ısı üretimi gerçekleşmektedir. Normal kişilerde alınan gıdalardan oluşan enerji aktivitelerde, ısı oluşumunda ve az bir kısmı da yağ olarak depolanmaktadır. Eğer irisin derişimleri fizyolojik dozun altında kalırsa (genel olarak fizyolojik miktar 100-150 ng/ml kabul edilmektedir, ancak bu miktar kullanılan kitten kite değişmektedir) obezite ile sonuçlanmaktadır (96). Obezite gittikçe yaygınlaşan önemli bir halk sağlığı sorunu olup organizmada yağ kütesinin artması ile karakterizedir (100, 101). İrisin termojenik bir ajan olduğundan yağ kütesinin azaltılmasında önemli rolü olduğu düşünölmektedir (85). İrisinin başlıca fizyolojik ve biyokimyasal etkileri Şekil 12' de görölmektedir (96).

Bebeklik döneminde; kahverengi yağ dokusunun, bebeğin vücut ısısının düzenlenmesinde görev aldığı bilinmesine rağmen, erişkin dönem fizyolojisinde ne işe yaradığı irisin hormonunun keşfine kadar bilinmiyordu. İrisinin keşfi, yağ doku metabolizmasının aydınlatılmasında Rönesans etkisi yaratmıştır (102).



Şekil 14. İrisin'in Sentezlendiği Başlıca Dokular ve Muhtemel Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkileri

3.9.4. İrisin'le İlgili Hayvan ve İnsan Çalışmaları

Yapılan hayvan ve insan çalışmaları daha çok egzersiz ve irisin bağlantısı üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak sonuçlar birbiriyle çelişkilidir (96, 103, 104). Boström ve çalışma arkadaşları (85) egzersizlerden sonra FNDC5'in olağan üstü arttığını gözlemlemişlerdir. Boström ve çalışma arkadaşları (85) bu verileri ortaya koyduktan hemen sonra Timmons ve ekibi de (105) FNDC5'in gerçekten iskelet kasındaki artışın egzersize bağlı olup olmadığını ortaya koymak için 24 sedanter genç erkeği 6 haftalık yoğun bir egzersiz programına dahil ettiler, egzersiz sonrasında alınan iskelet kası biyopsilerinde FNDC5 m-RNA miktarlarında değişme olmadığını rapor ettiler. Timmons ve arkadaşları ayrıca 10 genç ve 10

yaşlı deneğe bu kez ağır egzersiz yaptırdılar, egzersiz sonrasında yaşlı deneklerin iskelet kası biyopsilerinde FNDC5 m-RNA miktarlarının, genç denekler ile kıyaslandığında %30 artış gösterdiğini bildirdiler. Başka bir egzersiz çalışmasında fareler üç hafta boyunca serbest teker koşusuna maruz bırakılmış ve irisin miktarlarının egzersiz sonrasında % 65 oranda arttığı görülmüştür (106).

Lecker ve arkadaşları (107) ise sistolik kalp yetmezliği olan 24 hastaya düşük ve yüksek aerobik performans uygulamışlar, yüksek aerobik performans yapanlarda FNDC5 m-RNA miktarlarının arttığını rapor etmişlerdir. Yine bir başka çalışmada egzersiz yaptırılan ailesel hiperkolesterolemik (familial hypercholesterolemic=FHM) ve normal domuzların deltoid ve triceps brachii'lerinde FNDC5 m-RNA miktarlarında bir artış gözlenmezken sadece FHM'lı domuzların dolaşımdaki irisin düzeylerinde bir artış gözlemlenmiştir (88). Raschke ve arkadaşları da (89) endurance ve strength training egzersiz yaptırdıkları deneklerden aldıkları iskelet kası biyopsi numunelerindeki FNDC5 m-RNA miktarlarının egzersiz öncesi ve sonrasına göre farklı olmadığını dolayısı ile farelerde görülen yararlı etkinin insanlar için uygulanamayacağını ifade etmişlerdir. Aydın ve arkadaşları (108), yaşlı ve genç farelere yüzdürme egzersizi uygulamışlar ve uygulamanın sonunda egzersize bağlı olarak dolaşımdaki irisin miktarının arttığını bildirmişlerdir.

İrisinin ısı ile mi yoksa egzersizle mi daha fazla salındığını anlamak için; 45 dakika egzersiz veya 45 dakika hamamda duş yaptırılmış, egzersiz ve duş sonrası irisin miktarlarında artış olduğu ve hamamda duş alma ile daha fazla irisin'in dolaşıma ve tükürüğe geçtiğini rapor edilmiştir. İrisin artışı obez deneklerde daha fazla olmuştur (95).

İrisinin egzersiz ile ilgili bağlantısını araştıran çalışmalara ek olarak diğer metabolik olaylarla ilişkisini araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada irisin seviyeleri obezlerde 353.1 ± 18.6 ng/ml bulunurken kontrollerde ise 198.4 ± 7.8 ng/ml bulunmuştur. Erkek deneklerde irisin seviyeleri erkeklerde kadınlara göre daha yüksek bulunmuştur (96, 103, 104). Kilo kaybı ile irisin seviyeleri azalmakta ve dolaşımdaki irisin seviyeleri vücudun yağ kütlesini yansıtın bir gösterge olabileceği ileri sürülmüştür. Diğer bir anlatımla irisin miktarları yağ kütlesine ile doğru orantılıdır. Bariatrik cerrahisi geçiren obez hastalardan altı ay sonra iskelet kası ve kan örneklere alınmış, iskelet kası örneklere FNDC5 mRNA ve ayrıca dolaşımdaki irisin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (91).

Dolaşımdaki düşük irisin seviyeleri ile kronik böbrek hastalıkları (109), alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması (110) ve tip 2 diyabet (111, 112) gibi hastalıklar arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada da FNDC5/irisin seviyeleri ile insülin duyarlılığı arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (113) ve FNDC5 genetik varyasyonları da insülin duyarlılığında rol oynamaktadır (114).

Yukarıdaki genel bilgileri bir arada düşündüğümüzde, formaldehit birçok dokuda hasara neden olmakta, antioksidan kapasiteyi düşürmekte ve enerji metabolizmasının reglyonunu bozmaktadır. Antioksidan moleküller, bu hasarların ortadan kaldırılmasına aracılık etmektedir (48-50, 52). Karnozin beta-alanil-L-histidin'den oluşan bir antioksidan dipeptiddir. Yapılan hayvan modellerinde karnozinin, kanser gelişimini engellediği, alkole bağlı oluşan oksidatif strese koruduğu ve etanolün neden olduğu karaciğerdeki hasarı ortadan

kaldırıldığı rapor edilmiştir (54, 55, 61, 64, 69, 73). Bu nedenlerle karnozinin, formaldehit maruziyetine bağlı zararlı etkileri bertaraf etmede rol alabileceği düşünölmektedir. Karnozin Rus kimyacı V.Gulevich (54, 55) tarafından 1900 yılında keşfedilmesine rağmen, formaldehitten en fazla hasar gören karaciğer ve akciğer dokuları üzerindeki etkileri bugüne kadar çalışılmamıştır. Ayrıca; Liu ve Bai (115), 2005 yılında formaldehitin postnatal ratların beyin korteks nöronlarında enerji metabolizmasını olumsuz etkilediğini göstermelerine rağmen, bu enerji dengesinde görevli olan irisin hormonu ve total antioksidan kapasite üzerine karnozinin etkileri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Dolayısı ile bu çalışmada temel amaçlarımız:

1. Çeşitli dozlarda formaldehite maruz kalan ratların karaciğer ve akciğer dokularında karnozinin olumlu etkisinin olup olmadığını ortaya koymak ve ayrıca bu doku ve serumlarda irisin derişimlerinin karnozin verilmesine bağlı olarak nasıl değiştiğini,

2. Formaldehit maruziyetinin, antioksidan kapasiteyi düşürdüğüne göre karnozin verilmesinin antioksidan kapasite üzerine nasıl etki ettiğini ortaya çıkarmaktır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. DeneY Hayvanları ve DeneY Prosedürleri

Bu çalışmaya Fırat Üniversitesi Hayvan DeneYleri Etik Kurulu Başkanlığının 09.05.2013 tarih ve 2013/04 sayılı toplantısının 62 nolu karar onayı ile başlanmıştır. Çalışmada ağırlıkları 260-280 gr arasında değişen 8-10 haftalık 48 adet *Sprague-Dawley* cinsi erkek sıçanlar, başlangıçta her grupta rast gele 6 hayvan olacak şekilde 8 eşit gruba ayrıldı ve deneY 4 hafta sürdü.

4.2. DeneY Grupları

I) Kontrol: normal atmosfer havasına maruz bırakılan sıçanlar; FA solumayan sıçanlar;

II) Sham: deneY süresi boyunca aynı ölçülerdeki fanus içerisinde karnozin (K) 100 mg /kg/gün oral olarak verilen ve normal atmosfer havasına maruz bırakılan sıçanlar (FA solumayan sıçanlar);

III) Düşük doz formaldehite (5.27 ± 0.24 ppm; 8 saat/gün, 5 gün/hafta) maruz kalan sıçanlar (DDFA); IV) DDFA maruz kalan + K verilen sıçanlar; V) Orta doz (10.02 ± 0.16 ppm; 8 saat/gün, 5 gün/hafta) formaldehite maruz kalan sıçanlar (ODFA); VI) ODFA'ya maruz kalan + K verilen sıçanlar; VII) Yüksek doz (15.2 ± 0.19 ppm; 8 saat/gün, 5 gün/ hafta) formaldehite maruz kalan sıçanlar (YDFA); VIII) YDFA'ya maruz kalan + K verilen sıçanlar. Cumartesi ve Pazar günleri hariç, sıçanlar (kontrol ve sham hariç) saat sekizden itibaren haftanın beş günü sekiz saat, 100X50X20 cm'lik cam kafeslerde (Şekil 15) formaldehite maruz bırakıldı. Saat 16.00'da sıçanlar otel odasına getirildi ve deneY 4 hafta sürdü. Bu 4

hafta süresince hayvanlar 22 ± 1 °C’de 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda tutuldu.



Şekil 15. Cam Kafes, Pamuk FA Küreleri, Hava Pompası ve FA Rezervuarları

Hayvanların formaldehite maruz kalma prosedürü daha önce (16) tarif edilen prosedüre ufak bir modifikasyon yapılarak tatbik edildi. Paraformaldehit (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Almanya), FA maruziyet deneyi ve özel sıçan kafesleri kısaca şöyledir. Önce 8 adet 20x50x100 cm ebatlarındaki cam fanus yapıldı. Her kafese hava giriş ve çıkışını sağlamak için iki adet 0.5 cm çapında delik açıldı. Formaldehitin eşit dağılımını sağlamak amacıyla cam fanus 0.1 cm² lik çaplı tel elek ile bir taraf 70 cm, diğer taraf 30 cm olacak şekilde ikiye ayrıldı. İkiye bölünen bu kısımların tavanına biri sıçanları yerleştirmek (70 cm) için diğeri formaldehit miktarlarını takviye etmek için 10.5 cm çapında pencereler açıldı (Şekil 16).



Şekil 16. Dışı Beyaz Pamuk İple Örülmüş 5 gram Ağırlığındaki Pamuk Kürelere FA Takviyesi Yapılırken

Havadan ağır olan formaldehitin dibe çöküşünü önlemek için, cam fanusların 30 cm'lik kısmının tavanına asmak üzere 4.5 gramlık pamuğun üzerine 0.5 gram ince beyaz pamuktan yapılmış ip sarılarak 1.0 cm çapında küre oluşturuldu. DDFA seviyesi için birer pamuk küre, ODFA formaldehit seviyesi için ikişer pamuk küre, YDFA formaldehit seviyesi için üçer pamuk küre cam fanuslara asıldı. Ayrıca cam fanusun FA düzeylerini istenen seviyede tutmak için 50 mililitrelik ependorf tüplerine 40 ml %37'lik FA eklenerek hava pompasına bağlı serum setlerindeki damla ayarlayıcı aparat ile kontrol edilebilen bir FA deposu oluşturuldu ve bu aparat cam fanuslara açılan delikle yerleştirildi. Sekiz saat süresince pompalar dakikada 0.01-0.02 ppm formaldehit takviyesi yapacak şekilde ayarlandı. Aslında bu pompalar FA takviyesi sağlamadan ziyade formaldehitin dibe çökmesini önlemek ve formaldehitin cam fanus içinde

homojen dağılımına sağlamak amacıyla kullanılan hava pompalarıydı. Formaldehitin ortama yavaş salınımını sağlayan pamuk küreler 3-4 günlük sabit FA salınımı yapabiliyordu (Şekil 16; YDFA maruziyeti için kafesin tavanında asılı 3 adet top). Cam kafes içindeki FA konsantrasyonu, sürekli olarak OSHA (Occupational Safety and Health Administration) tavsiyeli, kalibrasyonu yapılmış bir FA monitörü (Environmental Sensors Co. Boca Raton FL 33432 USA-Catalog No: ZDL-300) ile tespit edildi. Sekiz saatlik ağırlıklı ortalamaya göre [Doz= (konsantrasyon X zaman) / 8 saat] istenen konsantrasyonlar ayarlandı. Formaldehit seviyesinin düşmesi halinde, %37'lik formaldehitten yeniden 1 ml pamuk kürenin merkezine enjekte edildi. Bilindiği gibi bazı insanlar işleri gereği (örneğin patologlar, anatomistler) günde sekiz saat FA'ya maruz kalmaktadırlar. Bu FA hayvan deneyinde gerçek yaşam ile bağdaşması için kontrol ve sham grubu hariç diğer tüm gruplar sekiz saat süresince solunum yolu ile FA'ya maruz bırakıldı. Hayvanlar günlük sekiz saat formaldehite maruz bırakıldıktan sonra FA'sız bir ortama alınarak normal rat yemi ile *ad libitum* su ve beslenmeye devam edildi. Kontrol ve sham grubu sıçanlar havaya karışan formaldehitten etkilenmesin diye benzer kafeslerde farklı bir odaya alındı. Sekiz saatlik süre sonunda tüm sıçanlar aynı yerde beslenmeye alındılar. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. fabrikasında hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 1 görülmektedir.

Tablo 1. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

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

Deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi ve dokuları çıkarıldı (Şekil 17).



Şekil 17. Araştırmacılar Tarafından Sıçanların Dokularının Çıkarılması ve Muhafazaya Alınması

Sakrifikasyondan sonra kanların yarısı lipid ve glukoz parametrelerini çalışmak için düz biyokimya tüplerine, diğer yarısı da 500 Kallikrein İnbitör Unit (KİU) aprotinin içeren biyokimya tüpleri içine alındı (113). Aprotinin ihtiva eden bu tüpler irisini proteazlardan korumaktadır ve irisin konsantrasyonlarını belirlemek için kullanıldı.

4.3. Kullanılan Cihazlar, Aletler ve Kimyasallar

Tezin bu kısmında, önce kullanılan cihazlar ve aletler sonra ise kullanılan kimyasallar alfabetik sıraya göre verildi.

Kullanılan Cihazlar ve Aletler

1. AEC kromojen kiti: TA-125-HA, Lab Vision Corporation, CA 94539, ABD
2. Anti irisin sıçan doku kiti (Kat no: H-067-17). Phoenix, ABD
3. Aprotinin (Trasyolol): Bayer Türk Kimya San Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye
4. Biotinylated Goat Anti-Mouse: Lab Vision (Thermo Fisher Scientific) TM-125-BN; Fremont CA 94538, USA.
5. Buzdolabı: VestelB2PL2303WCP Ankara, Türkiye.
6. Deney tüpü: Borosilikat cam tüp (12 x 75 mm).
7. Derin dondurucu: Arçelik 2573D, Türkiye.
8. Doku homojenatör cihazı
9. ELISA Cihazı (BioTek Instruments, ABD)
10. Ependorf: ETPP 0004 Eppendorf tubes (polypropylene), Isolab Laborgerate GmbH, Almanya
11. Etüv: Nüve FN500, Türkiye.
12. Formaldehit ölçüm cihazı (Catalog No: ZDL-300; Environmental Sensors Co. Boca Raton FL 33432 ABD)
13. Fosfat Tamponu (P4417-100 TAB 021M8204, Sigma, Aldrich, Londra İngiltere)

14. Fotoğraf Makinesi: DF295-Leica.
15. İrisin kiti (cat no:), Phoenix, ABD.
16. Karnozin (Sigma-aldrich, Chemie GmbH, Münih, Almanya).
17. Mavi pipet ucu: Isolab laborgeräte GmbH, Almanya.
18. Mikrodalga ısıtıcı: Arçelik 553, Türkiye.
19. Mikroskop: Olympus BX50.
20. Mikrotom: 1 - Leica RM 2125RT Microsystems nussloch GmbH, Almanya
21. Otoanalizör: Olimpus 2700.
22. Otomatik pipet: 1 - Biohit proline 100 µl.
23. Parafin takip cihazı: Shandon Cryotome SME 77200101, İngiltere.
24. Paraformaldehit (Merck KGaA, 64271), Darmstadt, Almanya).
25. pH metre: Thermo Electron Corporation, Orion 3 starpH, Benchtop, ABD.
26. Polizinli lam: POLYSINETM 25x75x1.0 mm Art. No. 041400 Menzel-Glaser, Almanya.
27. Santrifüj: Hettich Universal K2S, Tuttlingen, Almanya.
28. Sarı pipet ucu: Isolab laborgeräte GmbH, Almanya.
29. Shaker: Oxoid ltd. RS911, Basingstok Hants, İngiltere.
30. Spektrofotometre: Thermo Spectronic Helios alpha, Cambridge, İngiltere
31. Streptavidin peroxidase: Lab Vision (Thermo Fisher Scientific) TS-125-HR; Fremont CA 94538, ABD.
32. Su banyosu: Nüve BM402, Türkiye.
33. Tris: Sigma Aldrich, Londra, İngiltere.
34. TUNEL KİTİ: (Millipore, ApopTag Plus, peroxidase, in situ apoptosis detection kit Temecula, CA, 92590, ABD.
35. Vorteks: Nüve MN110, Türkiye.

4.4. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Saklanması

Karaciğer ve Akciğer dokuları -80 °C'den alındıktan sonra 200 mg olacak şekilde tartıldı. Dokulardaki kan ve artıkları uzaklaştırmak için üç kez fosfat tamponuyla yıkandı. Daha sonra her bir doku içerisinde 500 KIU/ml olacak şekilde ayarlanan ependorfların içerisine yerleştirildi. Her bir ependorf içerisine 200 ml 0.5 mm çaplı zirkonyum oksit boncuk (beads)'larından konuldu. Bütün örnekler bir ml'ye tamamlanacak şekilde fosfat tamponu ilave edildi. Mikrosantrifüj tüplerinin ağızları kapatılıp Bullet Blender adındaki homojenizatörün içerisine yerleştirildi (Şekil 18). Homojenizatörde 5 dakika homojenize edildi. Tam homojenize olmayan akciğer dokuları 5 dakika daha homojenize edildi. Elde edilen süpernatant tabaka başka ependorflara aktarıldı. Tekrar 10 dakika daha 4000 rpm'de santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant biyokimyasal analiz ve enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) çalışmalarında kullanılmak üzere ayrıldı ve derhal çalışıldı.



Şekil 18. Doku Süpernatantlarının Hazırlanmasında Kullanılan Homojenizatörün Genel Görünümü

4.5. Analitik Ölçümler

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

4.5.1.1. TAS Ölçümü

Serum TAS düzeyleri İnvitro Laboratuvarında Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (117).

Prensip: Örnekteki antioksidanlar, asetat tampon (0,4 mol/L, pH:3.6) solüsyonunun içerisinde bulunan konsantre haldeki koyu mavi-yeşil renkli ABTS•+ (30 mmol/L) [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radikalini indirgenmiş renksiz ABTS şekline çevirir. Yüksek pH'daki asetat tampon (0.4 mol/L, pH:5.8) solüsyonu ile dilüe edildiğinde örneklerde bulunan antioksidanlar sayesinde ABTS molekülü indirgenir ve renk açılır. Örneklerde bulunan antioksidan maddelerin konsantrasyonu ile renkteki açılma arasında ters orantı vardır. Spektrofotometrik olarak saptanan absorbans değişikliği örnekteki antioksidan seviyesiyle ilişkilidir. Stabil antioksidan standart solüsyonu (Trolox equivalent) ile kalibrasyon yapılır. Vitamin E analogu olan Trolox ile reaksiyon hızı ayarlanır ve birimi Trolox equivalent/L'dir (117).

4.5.1.2. TOS Ölçümü

Serum TOS düzeyleri İnvitro Laboratuvarında Olympus AU2700 otoanalizöründe Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü (118).

Prensip: Örnekte bulunan oksidan ajanlar ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyonu okside ederler. Reaksiyon okside edici moleküller tarafından sürdürülür. Ferrik iyonu, asidik ortamda bulunan kromojen ile renkli bir kompleks yapar. Spektrofotometrik olarak ölçülen rengin yoğunluğu örneklerde bulunan oksidan maddelerin miktarı ile doğru orantılıdır. Bu ölçüm yöntemi hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar litrede mikromolar hidrojen peroksit equivalent ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$) olarak ölçülür. Oksidatif stres indeksi (OSI), toplam oksidan seviyenin (TOS) toplam antioksidan seviyeye (TAS) bölünmesi hesaplanır ve birimi Arbitrary Unit (AU)'dir (118).

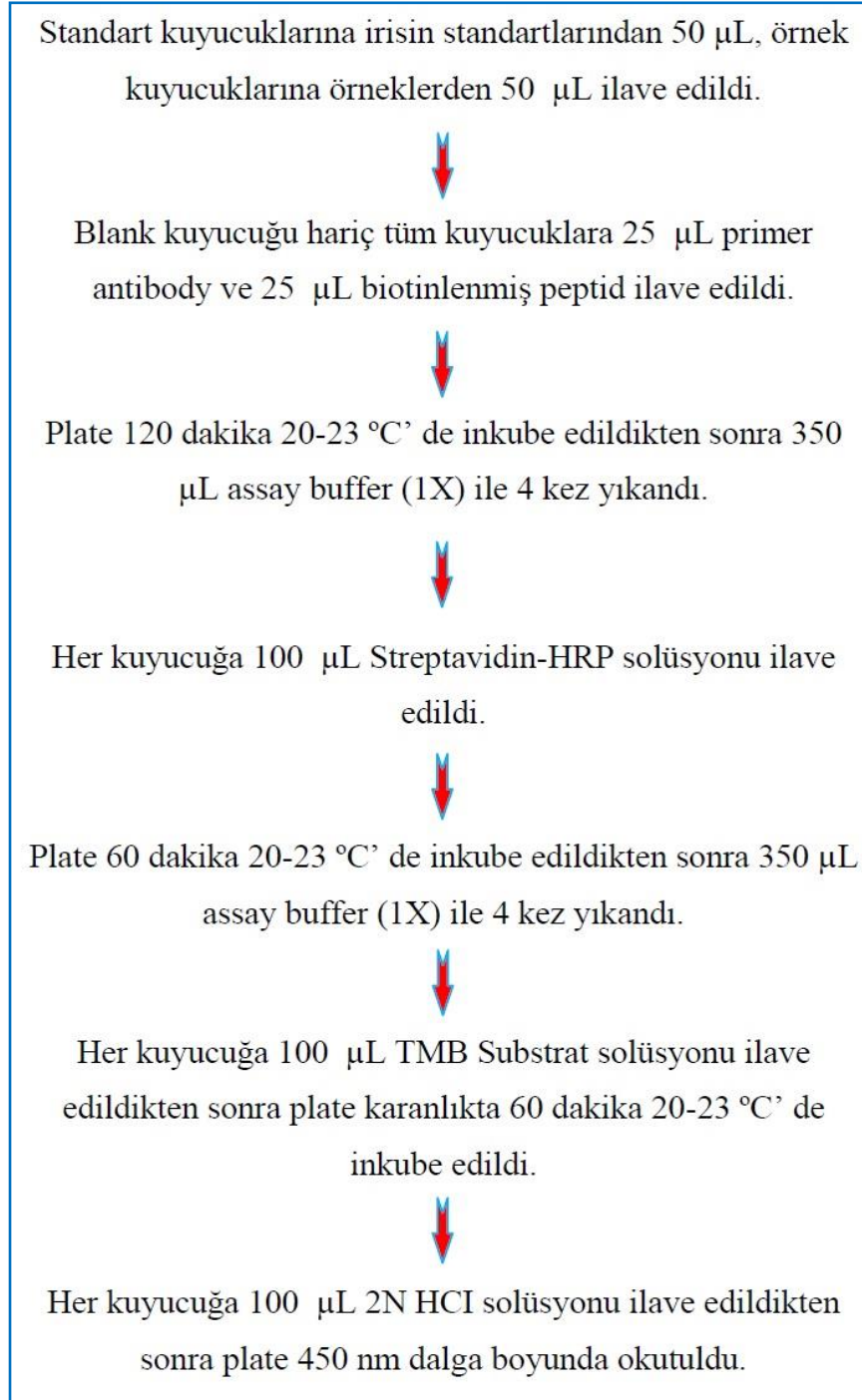
4.6. Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Sıçanlardan alınan kanlar aprotinin ihtiva eden ve etmeyen olmak üzere iki ayrı düz biyokimya tüplerine alındı. 4000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışılincaya kadar -80°C 'de saklandı. Aprotinin ihtiva etmeyen biyokimya tüplerine alınan kanlarda, total protein ve albumin, kan glukozu, lipid profili, total kolesterol, (yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) ve çok yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (VHDL)] ölçüldü. Aprotinin ihtiva eden tüplerden elde edilen serumlarda da irisin derişimleri ölçüldü.

4.6.1. Numunelerde İrisin Düzeylerinin Ölçümü

Ratların serum, karaciğer ve akciğer supernatantlarında irisin düzeyleri, İrisin Enzyme immunoassay (EIA) kiti (Phoenix Pharmaceuticals, katalog no:

EK-067-16, Burlingame, USA) kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı (Şekil 19).



Şekil 19. Adım Adım ELISA Basamakları

Kitin Intra assay CV değeri %8 iken, inter assay CV değeri %12 idi. Üretici firma tarafından minimum ölçüm limiti, 5 ng/ml olarak belirtilmişti. Doku supernatanlarında irisin ölçümlerinin doğruluğunu göstermek için biyokimyasal assay geçerlik deneyleri (lineerite, recovery, specifity, sensitivity, intra ve inter assay deneyleri) daha önce tarif edildiği gibi yapıldı (119). Doku supernatantlarında, irisin seviyesinin aynı duyarlılıkla ölçüldüğü tespit edildi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (Şekil 20-A) (BioTek Instruments, USA) cihazı, absorbans okumalarında Bio-Tek ELX800 cihazı (Şekil 20-B), sonuçları yazdırmada ise panosonik yazıcı (Şekil 20-C) kullanıldı. Test sonuçları ng/ml olarak belirtildi.



Şekil 20. ELISA Cihazının Bileşenleri [Yıkayıcı (A), Okuyucu (B) ve Yazıcı (C)]

4.7. İmmünohistokimya

Yöntemin prensibi: Temel prensipleri 1930'larda ortaya kondu. Ancak ilk laboratuvar uygulaması 1941'de Coons ve ark. (120) tarafından gerçekleştirildi. Prensibi dokularda antijen- antikor birleşmesine dayanmaktadır (120, 121).

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara aktarıldı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antijen retrieval için mikrodalga fırında sitrat tampon (pH:6) solüsyonunda (750W) 7,5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğumaya bırakılan dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, ABD) ile 3x5 dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit blok solusyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, ABD). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, ABD) solüsyonu ile muamele edildi. Sonra 1/200 oranında dilüe edilen primer antikor (Rabbit Irisin primary antibody, H-067-17, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., California, ABD) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dk. yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dk. nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, ABD) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi ve PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, ABD) solüsyonu damlatıldı. Işık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra PBS ile yıkandı. Mayer'in hematoksilin boyası ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG,

Lab Vision Corporation, ABD) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskobunda değerlendirildi ve fotoğraflandı. Skala bar: 50µm.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede boyanmanın yaygınlığı esas alındı (116). Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semikantitatif olarak skorlandı (0: Yok, +1: Çok az, +2: Az, +3: Orta, +4: Şiddetli) ve analizleri yapıldı.

4.8. TUNEL Yöntemi

Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxy-uridine-triphosphate (dUTP) nick end labeling (TUNEL) yöntemi, hücrelerde DNA kırıklarını görünür hale getirerek tanıya yardımcı olmaktadır (122). Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, Kat no: S7101, ABD) kullanılarak apoptoza giden hücreler Kawauchi ve ark. (122) tarafından tarif edildiği şekilde belirlendi. TUNEL prosedürü kısaca şöyledir. Kesitler 60 °C etüvde bir gece bekletilerek deparafinize edildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra 15 dakikada 3 kez ksilenden geçirilerek deparafinizasyon tamamlandı. Daha sonra %99, %96, %80, %70'lik etil alkol serilerinden üçer dakika geçirilerek hidrate edildi. Fosfat buffer salin (PBS)'de 5 dakika yıkandı. Lam üzerindeki dokuların etrafı hidrofobik kalemle çizildi. 20 dakika 20 µg/ml proteinkinaz K solüsyonu ile inkübe edildi ve ardından üç defa beşer dakika tampon solüsyon ile yıkandı. Doku endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla 3 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandıktan sonra, %4'lük paraformaldehit ile post fiksasyon yapıldı ve sonra üç defa beşer dakika fosfat buffer salin ile yıkandı.

10 dakika equilibration tampon solüsyonu uygulanan kesitler, çalışma solüsyonu ile (%70 μ l Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de bir saat inkübe edildi. Ardından Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) tampon solüsyon ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanan kesitler, anti-Digoxigenin-Peroxidase ile 30 dakika inkübe edildi. Tampon solüsyon ile tekrar yıkanan kesitler TUNEL tepkimesinin görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine (DAB Dilution Buffer + DAB Substrate) ile boyandı. Tekrar üçer kez beş dakika PBS'den geçirilen dokular beş dakika su ile yıkandı. Renk alan preparatlar distile suda yıkandı. Harris hematoksilende bir dakika bekletilen kesitler dehidrate edildi. Şeffaflaştırıldıktan sonra distile su ile yıkanarak uygun kapama vasatı ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar mikroskopta (Olympus BX 50, Tokya, Japon) değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyaması basamakları adım adım Şekil 21'de gösterilmiştir. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde metil green ile yeşile boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. TUNEL boyamanın değerlendirme yoğunluğu 0 (negatif), 1 (zayıf boyanma), 2 (orta derecede boyanma) ve 3 (kuvvetli boyanma) dört kategoride yapıldı. Olgulardaki boyanan hücre sayısı %5'den az ise sıfır kabul edildi (YDFA'ya maruz kalan karaciğer dokusunda olduğu gibi), %5'den yukarısı boyanma yoğunluğu ve hücre sayısına göre skor 1, 2 ve 3 olarak değerlendirildi. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranıyla apoptotik indeks (AI)'i hesaplandı. Skala bar: 50 μ m.



Şekil 21. Adım adım TUNEL prosedürünün basamakları

4.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS sürüm 22 programı kullanılarak yapıldı (123). Çalışmada elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Gruplar arasında parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analiz testi kullanıldı. Gruplar arasında ikili karşılaştırmalarda ise Mann Whitney-U testi kullanıldı. Gruplardaki parametrelerin birbirleri ile olan ilişkilerinin incelenmesinde Spearman korelasyon testi kullanıldı. Ayrıca gruplar arasındaki ilişkinin gücünü belirlemek ve bunu matematiksel olarak modellemek için regresyon analizi yapıldı. En düşük anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ değerleri kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Formaldehit Ölçümleri

Sabah, öğle ve akşam yapılan formaldehit ölçümlerinde, düşük doz formaldehite maruz kalan sıçanların (DDFA) maruziyet değeri 5.27 ± 0.24 , orta doz formaldehite maruz kalan sıçanların (ODFA) maruziyet değeri 10.02 ± 0.16 ve Yüksek doz formaldehite maruz kalan sıçanların (YDFA) maruziyet değeri 15.20 ± 0.19 olduğu belirlendi (Şekil 22).

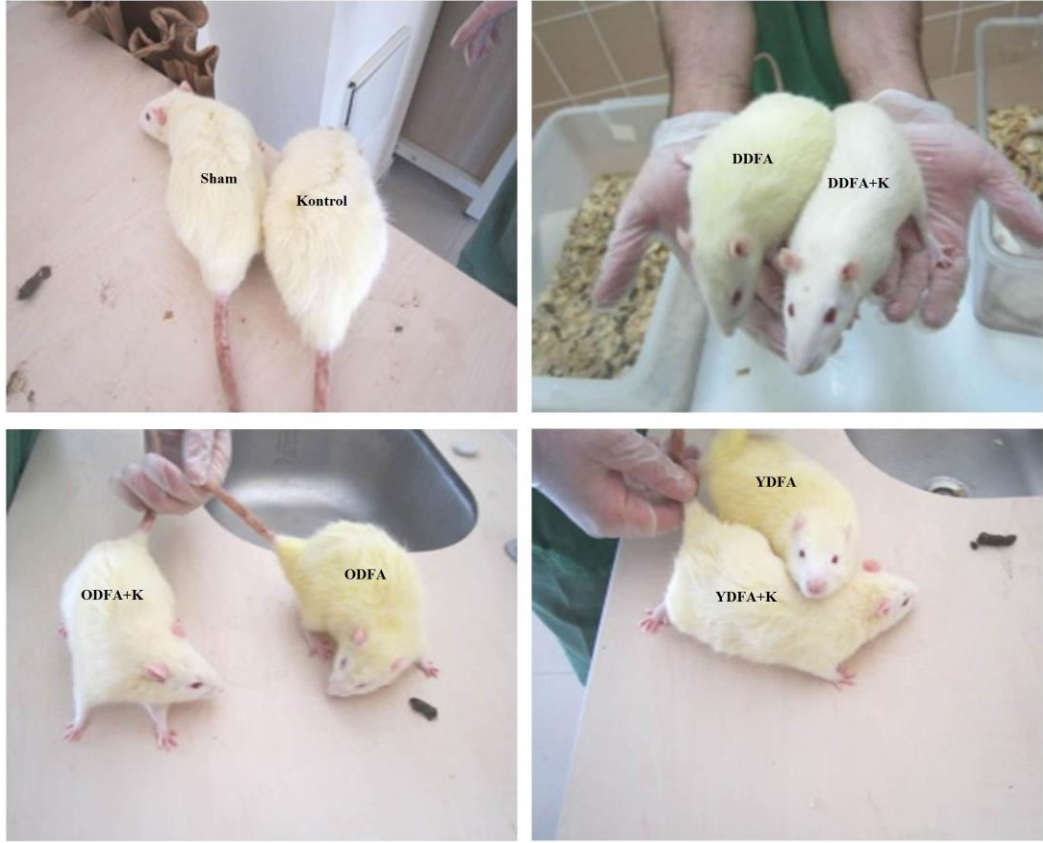


Şekil 22. Formaldehit ölçümlerinden Temsili Görsel Sonuçlar

5.2. Klinik Bulgular

Dört hafta boyunca solunum yolu ile DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz bırakılan sıçanlarda FA'nın dozu artıka su ve yem tüketiminde belirgin azalma (FA sıçanları; 155-172 gr yem/6 sıçan/gün; kontrol/ sham sıçanları yem tüketimi: 174-183 gr yem/6 sıçan/gün), iştahsızlık, gözlerde sulanma, sık göz kırpma, bitkinlik, burunda kanama, tüylerde sararma (Şekil 23) ve vücut ağırlıklarında (başlangıç, DDFA'ya maruz kalan sıçan ağırlığı 280 gram; deney sonu sıçan

ağırlığı=272 gram; ODFA'ya maruz kalan sıçanların başlangıç ağırlığı 285 gram; deney sonu ağırlığı=262 gram; başlangıç, YDFA'ya maruz kalan sıçanların başlangıç ağırlığı 270 gram; deney sonu sıçan ağırlığı=255 gram) azalma olduğu tespit edildi. Kontrol sıçanlarının başlangıç ortalama ağırlığı: 277; deney sonunda ise ortalama ağırlığı: 330 gram idi. Sham sıçanlarında ise başlangıç ortalama ağırlığı: 287; deney sonu ortalama ağırlığı: 345 gramdı. DDFA ve ODFA'ya maruz kalan sıçanlarda, karnozin verilmesi ile klinik bulgular kısmi olarak düzelmekteydi (yem tüketiminde iyileşme ve kilo alımı gibi). Ancak YDFA'ya maruz kalan sıçanların klinik bulgularında kısmi iyileşme olsa da, burun kanaması, sık göz kırpma, bitkinlik ve tüylerin sararma şiddetinde belirgin bir azalma olmadı. Deney boyunca kafes içerisinde FA salınımı yapan beyaz top kürelerin renklerinde sararma gözlenmedi. Ancak FA dozunun artmasıyla sıçanların tüylerindeki sararma artmaktaydı. Karnozin verilmesiyle ise tüylerde gözlenen bu sararma azalmaktaydı (Şekil 23). Kontrol ve sham sıçanlarında kilo artışı olağan seyrindeydi, anormal bulguya rastlanılmadı.



Şekil 23. Deney Sonunda DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Kalan ve Karnozin (K) Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Tüy Değişimleri

5.3. Biyokimyasal Bulgular

DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanların kan glukozu ve lipid profil (total kolesterol, HDL-K, LDL-K ve VHDL) değerleri, kontrol ve sham sıçanlarının değerleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (Tablo 2).

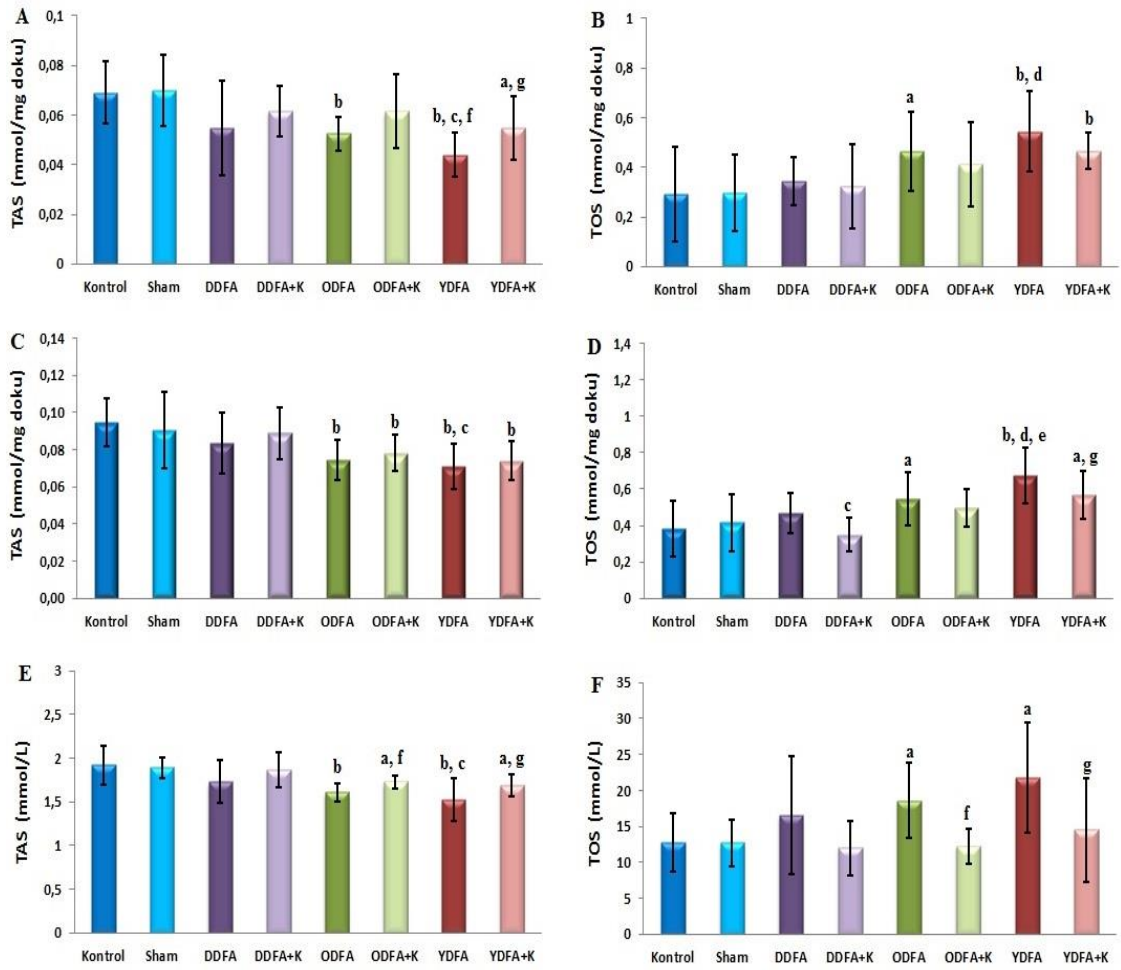
Tablo 2. DDFA, ODFA ve YDFA'ya Maruz Kalan Sıçanların Biyokimyasal Parametrelerinin Değişimi

Parametreler	Glukoz (mg/dl)	Kolesterol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	T.Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)
Kontrol	118.4±5.03	67.6±5.17	20.54±1.37	5.72±0.89	57.2±6.18	6.68±0.25	3.56±0.15
Sham	119.8±7.01	65.2±6.18	20.68±1.35	5.94±0.63	54.4±5.41	6.72±0.23	3.50±0.25
DDFA	117.0±6.28	65.8±9.41	18.60±2.12	4.80±0.98	59.8±6.37	6.70±0.61	3.52±0.26
DDFA +K	116.6±4.61	70.2±5.72	20.32±1.27	4.38±0.35	55.2±5.45	6.78±0.27	3.66±0.13
ODFA	115.8±7.12	65.2±6.18	18.26±1.85	4.56±0.76	58.2±5.36	5.96±0.29	2.58±0.14
ODFA +K	115.0±7.84	71.0±6.63	19.04±1.62	3.92±0.61	56.4±5.32	6.76±0.12	3.64±0.15
YDFA	116.2±8.35	66.2±7.19	16.78±4.38	4.20±0.90	55.6±6.80	5.62±0.40	2.56±0.16
YDFA +K	114.4±4.39	68.8±6.14	19.32±2.27	3.86±0.35	55.0±4.06	6.70±0.30	3.62±0.19

5.4. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda TAS ve TOS Seviyeleri

Akciğer TAS (Şekil 24-A), akciğer TOS (Şekil 24-B), karaciğer TAS (Şekil 24-C), karaciğer TOS (Şekil 24-D) seviyeleri kontrol/sham gruplarıyla, DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan gruplar ile karşılaştırıldığında, formaldehitin dozu arttıkça hem serum (Şekil 24-E, TAS; Şekil 24-F, TOS) hem de doku süpernatantlarında TAS seviyeleri azalmakta, TOS seviyeleri ise artmaktaydı ($p<0.05$) ODFA'nın üzerindeki maruziyetlerde TAS seviyesi istatistiksel anlamlı bir düşüş sergiledi ve TAS seviyelerindeki en fazla düşüş ise YDFA'ya maruz kalan farelerin serum, karaciğer ve akciğer doku süpernatantlarında görüldü ($p<0.05$), (Şekil 24-A ve D). TOS seviyeleri ise bu gözlemin tam tersi bir durum sergilemekteydi. Serum, karaciğer ve akciğer doku TAS ve TOS seviyeleri açısından ODFA'ya maruz kalan sıçanlar ile YDFA'ya maruz kalanlar karşılaştırıldığında, YDFA'ya maruz kalan sıçanlarda TAS'da azalma belirlenirken TOS seviyelerinde ise artış oldu. FA maruziyetine bağlı olarak serum, karaciğer ve akciğer dokularının süpernatantlarındaki TAS azalması karnozin verilmesi ile düzeldi ve hatta karnozine bağlı olarak serum, karaciğer ve akciğer dokularının süpernatantlarındaki TAS seviyeleri kontrol ve sham grubunun değerleriyle örtüşür duruma ulaştı. TOS değerlerinde ise tersi bir durum gözlemlendi. DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanların, serum, karaciğer ve akciğer dokularının süpernatantlarındaki TAS seviyeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında DDFA FA'ya maruz kalan sıçanlara göre ODFA sıçanlarında daha fazla bir azalma mevcuttu, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0.05$). Sadece YDFA'ya maruz kalanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş söz konusuydu.

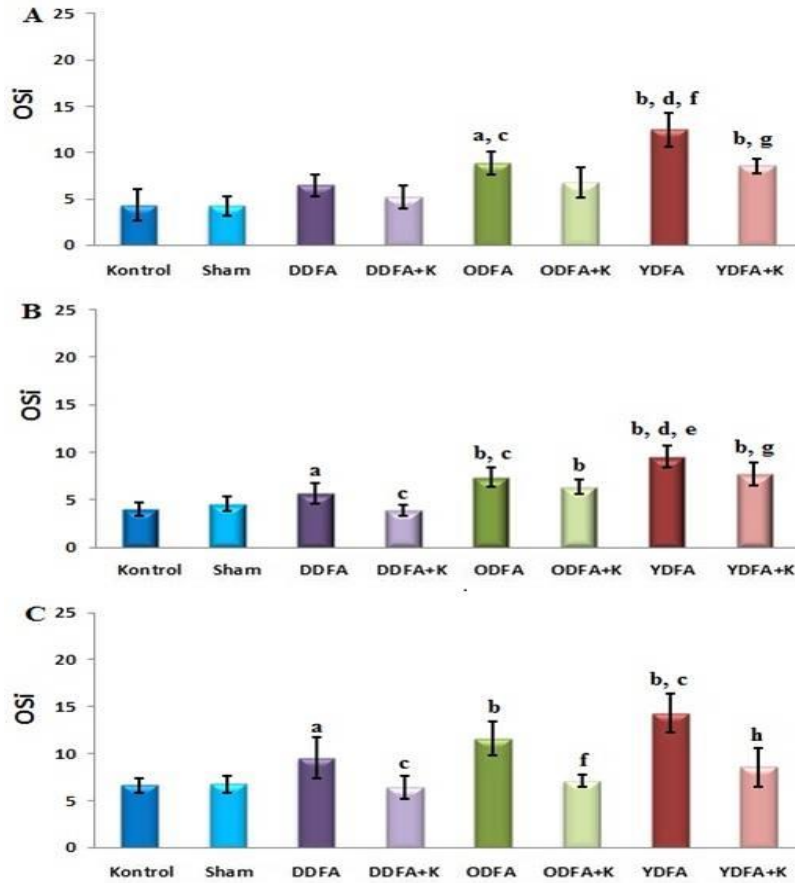
Diğer yandan DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanların serum, karaciğer ve akciğer dokularının supernatantlarındaki TOS seviyeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında DDFA'ya maruz kalan sıçanlara göre ODFA'ya maruz kalan sıçanların TOS seviyelerinde artma mevcut iken, bu fark istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$). YDFA'ya maruz kalan sıçanlarda ise bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$) (Şekil 24).



Şekil 24. DDFA, ODFA ve YDFA inhalasyonuna maruz bırakılan ve karnozin suplementasyonu yapılan sıçanların serum, karaciğer ve akciğer dokularında TAS ve TOS derişimleri. **A)** akciğer (TAS); **B)** akciğer (TOS); **C)** karaciğer (TAS); **D)** karaciğer (TOS); **E)** serum (TAS); **F)** serum (TOS) seviyeleri. ^{ab} $p<0.05$, kontrol sham ile karşılaştırıldığında; ^{cd} $p<0.05$, kontrol LDFA ile karşılaştırıldığında; ^{ef} $p<0.05$, kontrol MDFA ile karşılaştırıldığında; ^g $p<0.05$, kontrol HDFA ile karşılaştırıldığında.

5.5. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda Oksidatif Stres İndeksleri

Çalışmada DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanların serum, karaciğer ve akciğer dokularının supernatantlarındaki oksidatif stres indeksleri (OSİ=TOS/TAS) karşılaştırıldığında DDFA'ya maruz kalan sıçanlara göre ODFA'ya maruz kalanlarda daha fazla bir artış söz konusuydu, en fazla artış ise YDFA'ya maruz kalan sıçanların serum, karaciğer ve akciğer dokularında görüldü (Şekil 25).

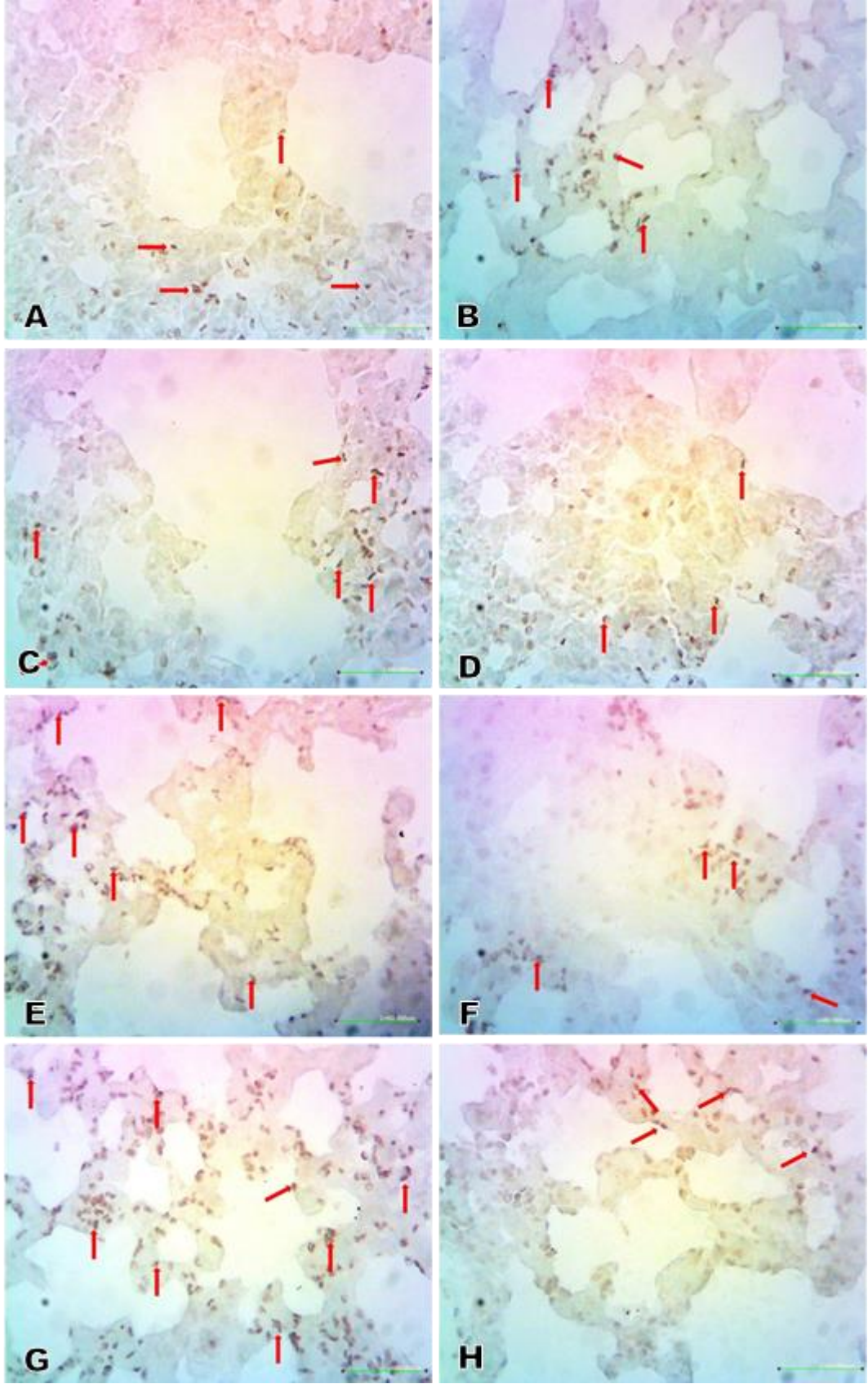


Şekil 25. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer (A) ve Karaciğer (B) Dokularında ve Serumlarında (C) Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Değişimleri. ^a $p < 0.05$, ve ^b $p < 0.01$ kontrol ile karşılaştırıldığında; ^c $p < 0.05$, ve ^d $p < 0.01$, DDFA ile karşılaştırıldığında; ^e $p < 0.05$, ve ^f $p < 0.01$, ODFA ile karşılaştırıldığında; ^g $p < 0.05$, kontrol ODFA ile karşılaştırıldığında; ^h $p < 0.05$, kontrol YDFA ile karşılaştırıldığında.

FA maruziyet doz miktarına bađlı olarak artan oksidatif stres indeksleri, karnozin suplementasyonu ile dűştű; YDFA'ya maruz kalan sıçanlar hariç, kontrol ve sham sıçanlarının oksidatif stres indeks deđerlerine istatistiksel olarak geri dűndű (Tablo 3).

5.6. Akciđer ve Karaciđer Dokularında TUNEL Boyama ve Apoptotik İndeks Yűzdeleri

Apoptotik hűcrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışıık mikroskop altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği akciğer dokusunda parankimal hűcrelerde izlendi. TUNEL pozitifliği kontrol ve sham sıçanlarında benzerdi (Şekil 26-A ve B). Kontrol sıçanlarıyla ile karşılaştırıldığında DDFA (Şekil 26-C), ODFA (Şekil 26-E) ve YDFA (Şekil 26-G) sıçanlarında anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). DDFA sıçanları ile kıyaslandığında DDFA + K sıçanlarda (Şekil 26-D), ODFA sıçanları ile kıyaslandığında ODFA + K sıçanlarında (Şekil 26F) ve YDFA sıçanları ile kıyaslandığında YDFA + K (Şekil 26-H) sıçanlarında anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$).



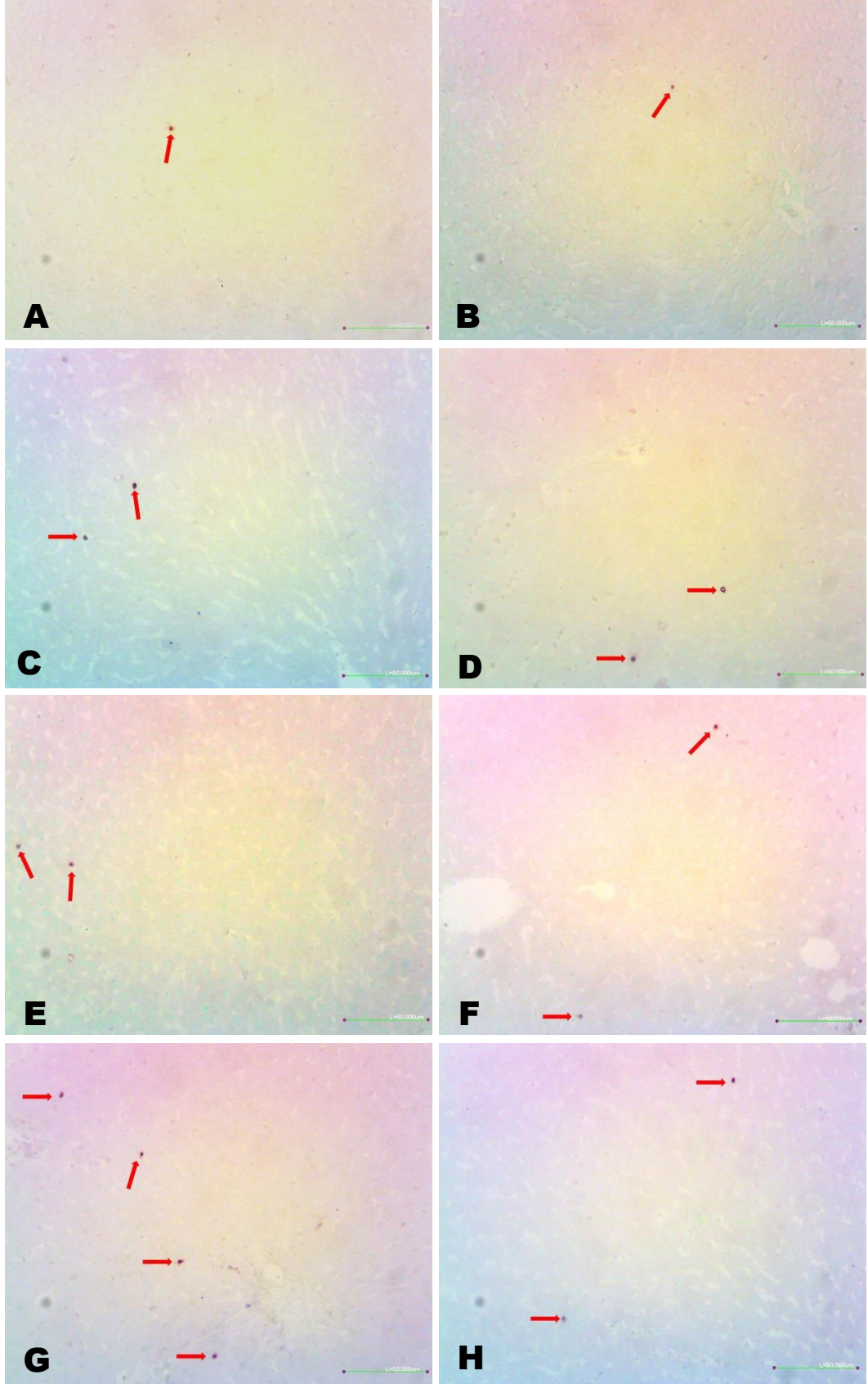
Şekil 26. DDDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Supplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer Dokularında TUNEL Değişimleri. **A)** Kontrol, **B)** Sham, **C)** DDDFA, **D)** DDDFA + K, **E)** ODFA, **F)** ODFA + K, **G)** YDFA ve **H)** YDFA + K.

TUNEL pozitifliği karaciğer dokusunda sinüzoidal hücrelerde gözlemlendi. TUNEL pozitifliği kontrol ve sham gruplarında benzerdi (Şekil 27-A ve B). Kontrol sıçanlar ile karşılaştırıldığında DDFA (Şekil 27-C), ODFA (Şekil 27-E) ve YDFA (Şekil 27-G) sıçanlarında anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). DDFA sıçanlar ile kıyaslandığında DDFA + K grubunda (Şekil 27-D), ODFA sıçanlar ile kıyaslandığında ODFA + K grubunda (Şekil 27-F) ve YDFA sıçanlar ile kıyaslandığında YDFA + K (Şekil 27-H) sıçanlarında anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$). Karaciğer ve akciğer dokularında, FA maruziyeti ile TUNEL pozitifliğindeki görülen bu artış, karnozin verilmesi ile azaldı. Ayrıca kontrol ve sham sıçanlarına benzer şekilde büyük çoğunluğu TUNEL negatif veya düşük yoğunlukta TUNEL pozitif paterni sergiledi. Deney gruplarına ait dokuların apoptotik indeks yüzdeleri Tablo 3'te görülmektedir.

Tablo 3. Deney Gruplarına Ait Dokuların Apoptotik İndeks Yüzdeleri

Parametreler	Karaciğer	Akciğer
Kontrol	1.20±0.44	6.20±0.44 ^{bcd}
Sham +K	1.40±0.54	6.40±0.54 ^{bcd}
DDFA	3.60±0.89 ^{ad}	11.40±0.54 ^{ad}
DDFA+K	1.40±0.54 ^{bcd}	6.20±0.83 ^{bcd}
ODFA	4.60±0.54 ^{ad}	12.80±0.44 ^{ad}
ODFA+K	2.40±0.54 ^{bcd}	6.80±0.44 ^{bcd}
YDFA	7.20±0.44 ^{abc}	27.40±1.51 ^{abc}
YDFA+K	3.20±0.44 ^{acd}	7.20±0.83 ^{bcd}

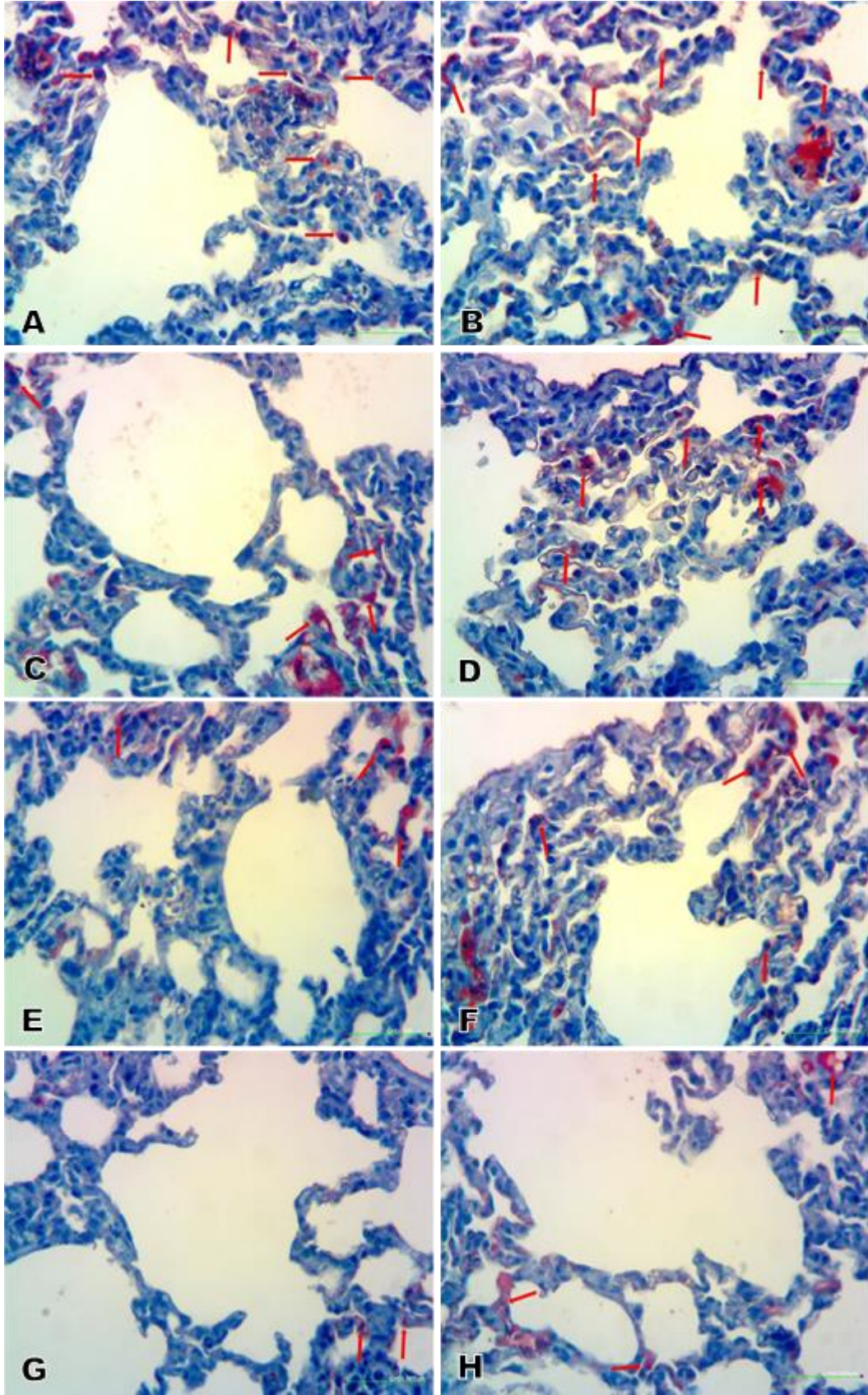
^aKontrol sıçanları ile karşılaştırıldığında, ^bDDFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ^cODFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ^dYDFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$). Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 27. DDFFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Karaciğer Dokularında TUNEL Değişimleri. A) Kontrol, B) Sham, C) DDFFA, D) DDFFA + K, E) ODFA, F) ODFA + K, G) YDFA ve H) YDFA + K.

5.7. Akciğer ve Karaciğer Dokularının İrisin İmmünreaktivitesi

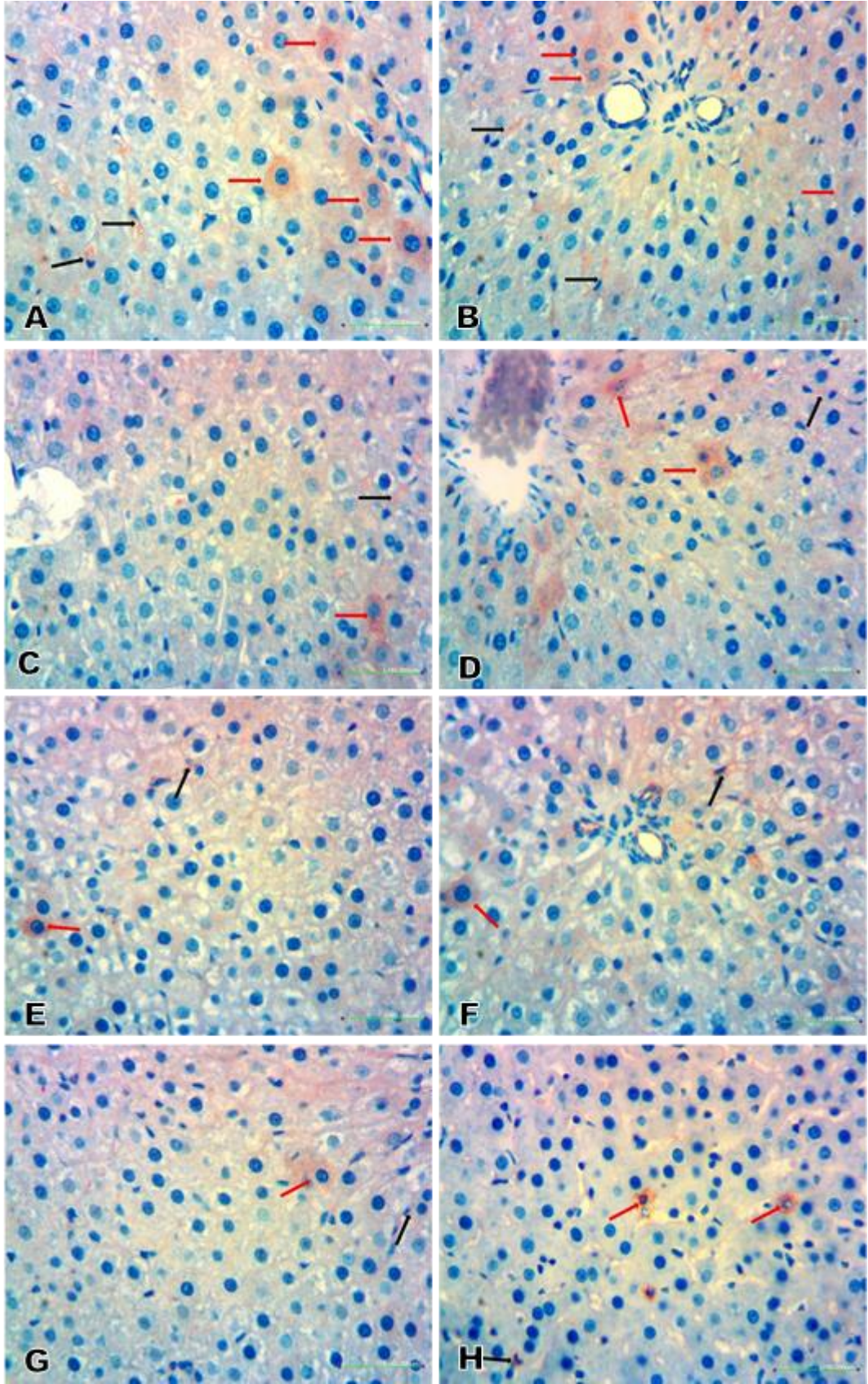
İrisin İmmünreaktivitesi akciğer parankim hücrelerinde (kırmızı ok) izlendi. İrisin İmmünreaktivitesi kontrol ve sham sıçanlarında benzerdi (Şekil 28-A ve B). Kontrol sıçanlar ile karşılaştırıldığında DDFA (Şekil 28-C) sıçanlarında değişiklik izlenmezken, ODFA (Şekil 28-E) ve YDFA (Şekil 28-G) sıçanlarında anlamlı bir azalma vardı ($p < 0.05$). DDFA sıçanları ile kıyaslandığında DDFA + K sıçanlarında hafif bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$; Şekil 28-D). ODFA sıçanları ile kıyaslandığında ODFA + K sıçanlarında (Şekil 28-F) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). YDFA sıçanları ile kıyaslandığında YDFA + K sıçanlarında hafif bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$; Şekil 28-H).



Şekil 28. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Akciğer Dokusunda İrisin Değişimleri. **A)** kontrol, **B)** sham, **C)** DDFA, **D)** DDFA + K, **E)** ODFA, **F)** ODFA + K, **G)** YDFA ve **H)** YDFA + K.

İrisin İmmünreaktivitesi karaciğer dokusunda hepatositlerde (kırmızı ok) ve sinüzoidal hücrelerde (siyah ok) izlendi. İrisin İmmünreaktivitesi kontrol ve sham sıçanlarında benzerdi (Şekil 29-A ve B). Kontrol sıçanları ile karşılaştırıldığında DDFA (Şekil 29-C) sıçanlarında değişiklik izlenmezken, ODFA (Şekil 29-E) ve YDFA (Şekil 29-G) sıçanlarında anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$). DDFA sıçanları ile kıyaslandığında DDFA + K sıçanlarında hafif bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdı (Şekil 29-D). ODFA sıçanları ile kıyaslandığında ODFA + K sıçanlarında (Şekil 29-F) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). YDFA sıçanları ile kıyaslandığında YDFA + K (Şekil 29-H) sıçanlarında hafif bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdı.

Dokulardaki irisin azalması karnozin verilmesi ile arttı, kontrol ve sham değeri ile örtüştü. DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanlar kendi aralarında karşılaştırıldığında sıçanlar arasında ODFA'nın üzerindeki maruziyetlerde doku irisin ekspresyonları kayda değer şekilde azaldı. İrisin karaciğer dokusunun hepatosit ve sinüzoidal hücrelerinde gözlemlendi. Ancak akciğer dokusunun parankimal hücrelerinde sentezlendiği ilk kez bu çalışma ile gösterildi. Ayrıca karaciğer ve akciğer dokularının FA maruziyetlerinde ve karnozin verilmesinde irisin immünreaktivitesinin istatistiksel değerlendirilmesi Tablo 4'te verildi.



Şekil 29. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Karaciğer Dokusunda İrisin Değişimleri. A) kontrol, B) sham, C) DDFA, D) DDFA + K, E) ODFA, F) ODFA + K, G) YDFA ve H) YDFA + K.

Tablo 4. Karaciğer ve Akciğer Dokularının FA Maruziyetlerinde ve Karnozin Verilmesinde İrisin İmmünreaktivitesinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Parametreler	Karaciğer	Akciğer
Kontrol	3.60±0.54	3.50±0.57
Sham +K	3.80±0.44	3.75±0.50
DDFA	3.40±0.54 ^d	3.25±0.50
DDFA+K	3.80±0.44	3.75±0.50
ODFA	1.80±0.44 ^{ab}	1.75±0.50 ^{ab}
ODFA+K	3.60±0.54 ^c	3.50±0.57 ^c
YDFA	2.00±0.70 ^{ab}	2.00±0.81 ^a
YDFA+K	2.40±0.54 ^a	2.50±0.57

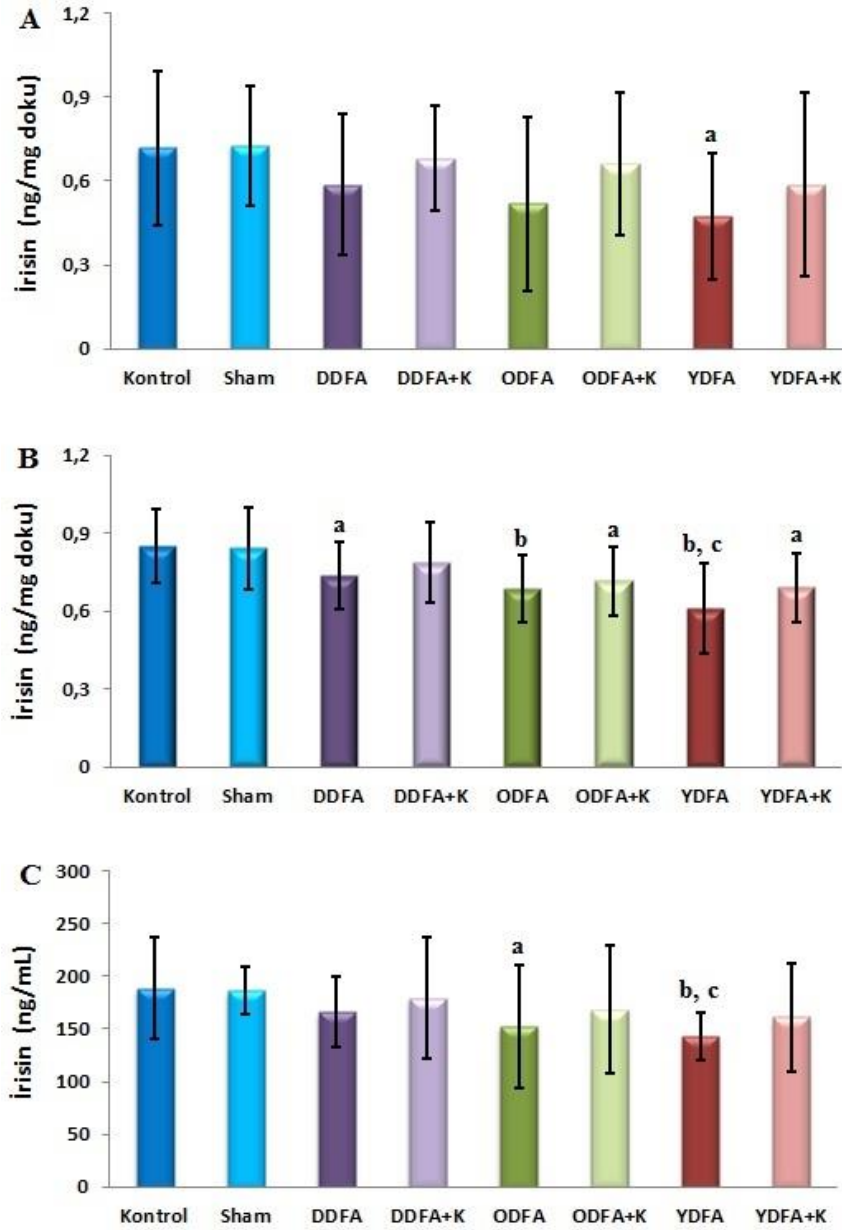
^aKontrol sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ^bDDFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ^cODFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, ^dYDFA sıçanlarına göre karşılaştırıldığında, (p<0.05). Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

5.8. Akciğer ve Karaciğer Doku Süpernatantlarında ve Serumlarda

İrisin Seviyeleri

Serum irisin seviyeleri kontrol/sham sıçanlarıyla, DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanlar ile karşılaştırıldığında, formaldehitin dozu artıkça serum irisin seviyeleri azalmaktaydı ve ODFA'nın üzerindeki maruziyetlerde istatistiksel anlamlı bir düşüş sergilemekteydi (Şekil 30). Serum irisin seviyelerindeki en fazla düşüş ise YDFA'ya maruz kalan sıçanların serum irisin seviyelerinde görüldü. Serum irisin seviyeleri ODFA'ya maruz kalan sıçanlar ile YDFA'ya maruz kalanlar karşılaştırıldığında, YDFA'ya maruz kalan sıçanlara göre, istatistiksel anlamsız bir azalma mevcuttu (p>0.05). Formaldehit maruziyetine bağlı olarak serum irisin seviyelerindeki azalma karnozin verilmesi ile artmakta ve hatta serum irisin seviyeleri kontrol ve sham sıçanlarının değerleriyle örtüşmekteydi. DDFA, ODFA ve YDFA'ya maruz kalan sıçanların

serum irisin seviyeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında DDFA'ya maruz kalan sıçanlara göre ODFA maruziyete göre bir azalma mevcuttu, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0.05$). Ancak sadece YDFA'ya maruz kalanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş söz konusuydu.



Şekil 30. DDFA, ODFA ve YDFA İnhalasyonuna Maruz Bırakılan ve Karnozin Suplementasyonu Yapılan Sıçanların Serum, Karaciğer ve Akciğer Dokularında İrisin Derişimleri. **A)** Akciğer (irisin); **B)** karaciğer (irisin); **C)** serum (irisin) seviyeleri. ^a $p<0.05$, Kontrol ile sham kıyaslandığında; ^b $p<0.01$, Kontrol ile sham kıyaslandığında; ^c $p<0.05$, Kontrol ile DDFA kıyaslandığında.

6. TARTIŞMA

FA, bitkilerin ve hayvanların tüm yaşayan hücrelerinde doğal olarak üretilen, kullanılan bir madde olup, soluduğumuz havada, içtiğimiz suda ve yediğimiz yemekte de bulunmaktadır (1, 3). Dünya sağlık örgütü (DSÖ) insanların günlük 1.5-14 mg (ortalama 7.8 mg/gün) formaldehite maruz kaldığını bildirmiştir (124, 125). FA maruziyeti baş dönmesi, baş ağrısı, uykusuzluk, keyifsizlik, iştahsızlık, davranış bozuklukları, ruhsal dengesizlik ve öğrenme güçlüğüne neden olmaktadır. Ayrıca biyolojik sistem dokularında hasara, antioksidan kapasiteyi düşürmeye (1, 3, 5-10, 14, 16, 19) ve enerji metabolizmasının regülasyonunu bozmaya sebep olmaktadır (115). Dolayısı ile FA'nın zararlı etkilerini tamamen bertaraf etmek veya azaltmak önemlidir. Bu çalışmada kontrol, sham, düşük, orta ve yüksek dozlarda solunum yoluyla 4 hafta boyunca (haftada beş gün sekiz saat, cumartesi ve pazar hariç) formaldehite maruz bırakılan, ratların karaciğer ve akciğer dokularında karnozinin olumlu etkisinin olup olmadığı, bu doku ve serumlarda enerji regülasyonunda görevli irisin miktarlarının karnozin verilmesine bağlı olarak nasıl değiştiği, karnozin verilmesinin antioksidan kapasite üzerindeki etkisinin nasıl olduğu ve ayrıca bu dokulardaki apoptotik durumlar araştırıldı.

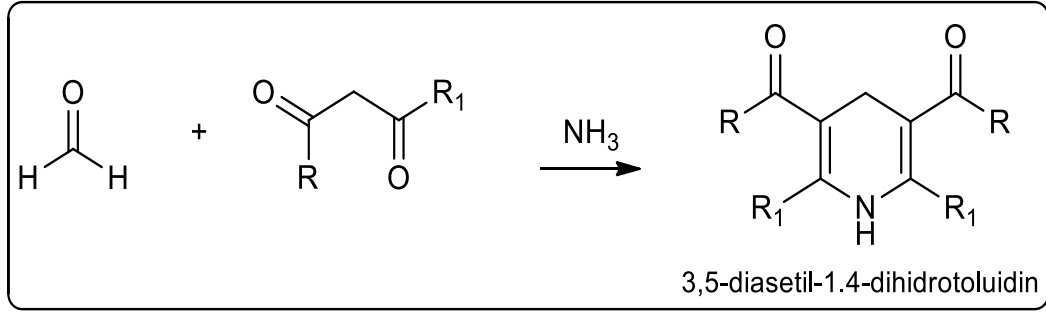
Çalışmamızda formaldehitin dozu yükseldikçe (DDFA, ODFA, YDFA), özellikle YDFA derişimlerinde, aşırı yalanma, sık nefes alma, nefes almada zorluk, burun temizliğinde artma, burun mukozasında kanama, göz kırpmada artış ve gözlerin yaşarması gibi bulgular sıçanlarda gözlemlendi. Daha önce birçok araştırmacı tarafından da ifade edilen bu bulguların formaldehitin iritatif özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Fakat burada ifade ettiğimiz bu

linik bulgular (sık burun temizleme, burun mukozasında kanama, vs.) karnozin alan gruplarda ortadan kalkmaktaydı (YDFA sıçanları hariç). YDFA sıçanlarında ise orta derecede görülmekteydi. Literatürde karnozin ve FA ilişkisini araştıran başka bir çalışma olmadığından sonuçlarımızı bu an itibarıyla karşılaştıramıyoruz. Fakat karnozin molekülünün oksidatif stresi önleyerek bu klinik bulguları azalttığını düşünmekteyiz. Çünkü daha önce yapılan birçok çalışmada karnozinin oksidatif hasarı azalttığı rapor edilmiştir (126-128). Yine Kohen ve arkadaşları yaptıkları iki çalışmada yara iyileşmesini hızlandırdığını, immunostimülan olduğunu ve metal iyonlarını bağlayarak antioksidan ve serbest radikal temizleyicisi olarak görev yaptığını rapor etmişlerdir (71, 72). Ayrıca karnozin hücre bölünmesini artırmakta (75-77) ve yaşa bağlı olarak ortaya çıkan el ve yüzlerde meydana gelen kırışıklıkları azaltmaktadır (73, 74, 79). Deneysel olarak yaşlanma oluşturulan farelerde karnozin verilmesi hayvanların fiziksel görünümünde iyileşmeye ve yaşam sürelerinin uzamasına neden olduğu rapor edilmiştir (55, 80). Biz de bu yüzden sıçanlarda gözlemlediğimiz klinik bulgulardaki azalmanın (tüy sararması ve burun kanaması, vs.) karnozin molekülünden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bu çalışmada gözlemlediğimiz en çarpıcı bulgulardan biri de FA'nın dozu arttıkça sıçanların tüylerinde deneyin üçüncü gününden itibaren sararmanın artmasıydı. Sıçanlarda gözlenen bu tüy sararması karnozin suplementasyonu ile azaldı ve hatta karnozin alan DDFA sıçanların tüyleri, sham grubu ve kontrol grubuyla aynıydı. FA maruziyetine bağlı olarak sıçan tüylerindeki sararma daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiş olup, bu sararmanın tüylerin yapısındaki "kynurenine" adlı proteinin solunum havasındaki FA ile reaksiyona girmesinden

kaynaklandığı ileri sürülmüştür (129, 130). Bir başka araştırmacı grubu formaldehiti deri altına uygulamışlar ve tüylerdeki sararmanın sadece formaldehitin uygulandığı bölgede olduğunu, diğer kısımlarda olmadığını bu yüzden de formaldehitin sararmaya neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (131). Çalışmamızdaki sıçanların tüy sararmasının formaldehitle bağlantısı olduğunu ancak sıçan tüylerinin yapısında bulunan kynurenine'den kaynaklanmadığını düşünmekteyiz. Çünkü bildiğimiz kadarıyla kynurenine'nin sarı renk oluşturma özelliği bulunmamaktadır. Kynurenine, niasinin (nikotinic asit/B3 vitamini) oluşması esnasında ortaya çıkan L-triptofanın bir metabolitidir (132). Farelerin tüylerindeki sararma muhtemelen metabolik olaylar sonunda oluşan keton (metabolizma sonucu) ve amonyak varlığında (havadan) formaldehitin 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoludin'e dönüşmesinden dolayı olduğu sanıyoruz. Çünkü 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoludin'e sarı renk veren bir kimyasaldır. Aseton ve amonyak varlığında formaldehitten oluşan bu sarı renkli ürün formaldehit miktarlarını spektrofotometrik olarak ölçmede kullanılmaktadır. Bu durum biyokimyada Hantzsch reaksiyonu olarak da bilinmektedir (133, 134).

Hantzsch reaksiyonuna göre formaldehitin keton ve amonyak varlığında sarı renk veren 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoluidin dönüşümü Şekil 31'de gösterilmiştir. 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoluidin bileşiği yapısındaki karbonil grubu, azot atomu üzerinde bulunan eşleşmemiş elektron çifti ve karbon-karbon çift bağı ile rezonansa girerek molekülün kararlılığını artırarak molekülün UV-görünür bölgedeki $\pi-\pi^*$ geçişinin dalga boyunu artırmaktadır (133).



Şekil 31. Formaldehitin Keton ve Amonyak Varlığında Sarı Renk Veren 3,5-diasetil-1,4-dihidrotoluidin Dönüşümü

Hücrelerin sağlıklı yaşam sürmesi fizyolojik dengenin korunmasına bağlıdır. Sağlıklı hücrelerde pro-oksidan ve antioksidan dengenin bozulması serbest radikallerin artmasına neden olmaktadır (3). Yaşayan hücrelerde serbest radikal-lerin artması, antioksidan mekanizmaları olumsuz etkilemektedir (1, 3). Oksidan ve antioksidan dengenin bozulmasında birçok faktör rol oynamaktadır (1). Formaldehit, oksidan ve antioksidan dengeyi bozarak hücrelerde oksidatif hasara neden olmaktadır (1, 3, 5, 135, 136). Bu çalışmada çeşitli dozlarda formaldehite maruz bırakılan sıçanlarda total oksidan ve antioksidan kapasite ölçülerek organizmadaki oksidatif stres durumu ortaya konuldu. FA maruziyeti serum, karaciğer ve akciğer dokularında doz bağımlı (sıfır, düşük, orta, yüksek FA) olarak total oksidan kapasitenin artmasına neden olur iken total antioksidan kapasitenin ise düşmesine sebep olmaktadır. Daha önce yapılan birçok çalışmada FA maruziyeti ile total antioksidan kapasitenin düştüğü bildirilmiştir (137, 138). Biz de bu çalışmada FA inhalasyonuna bağlı olarak, total antioksidan kapasitedeki bu düşüşün glutasyon redüktaz (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin değişimine ve ayrıca verilen karnozinin etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Karnozin, bu enzimlerin aktivitelerini değiştirerek oksidatif hasara karşı hücresel korumaktadır (139-141). Zhou ve arkadaşları (142) yaptıkları bir çalışmada FA'ya maruz bırakılan farelerin testis dokularında glutatyon redüktaz (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerinin azaldığını belirtirken, süperoksit dismutaz ve katalazın ise yükseldiğini rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada da süperoksit dismutazın formaldehit maruziyeti ile azaldığı bildirilmiştir (143). FA'ya bağlı olarak süperoksit dismutaz azalması, süperoksit dismutazın kofaktörleri olan bakır ve çinko elementlerinin yetersizliğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (142, 143). Çalışmamızda antioksidan kapasite artışında karnozinin doğrudan katkısı olduğunu düşünüyoruz. Çünkü karnozin verilen farelerde ODFA'ya kadar formaldehitin yaptığı zararlı etki tamamen ortadan kalkarken YDFA maruziyetinin zararlı etkileri ise kısmen azalmış ve total antioksidan kapasite seviyeleri yükselmeye başlamıştır. YDFA maruziyetine bağlı zararlı etkilerin tamamen ortadan kalkmamasının muhtemel sebebi karnozin dozunun yetersiz kalmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Daha önce yapılan birçok çalışmada diğer eksojen antioksidanların (melatonin) suplementasyonunun FA'nın zararlı etkilerini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir (43). Çalışmamızda FA maruziyetiyle doz (sıfır, DDFA, ODFA, YDFA) bağımlı olarak total oksidan kapasitede yükselme tespit edildi. FA maruziyeti sebebiyle serbest radikallerde bir artış olduğu, total oksidan kapasitenin arttığı, buna bağlı olarak akciğer ve karaciğer hücrelerinde zedelenmeye sebep olduğunu düşünmekteyiz. Çünkü serbest radikaller protein ve lipitleri oksidasyona uğratarak membran hasarı ve hücre zedelenmesine yol açmaktadırlar (1, 3, 5). Bilindiği gibi çok miktarda doymamış yağ asitleri içeren hücre membranları antioksidan

kapasite azaldığında serbest radikallerin hedefi haline gelmektedir (1, 8, 9, 14). Hücrelerde oksidasyon oluşurken, hücre sayısının azalması ve/veya hücrenin küçülmesi (atrofi), hücrenin değişmesi veya farklılaşması (metaplazi), hücre sayısının artması veya hücrenin büyümesi (hiperplazi/hipertrofi), farklılaşma (differansiasyon), yaşlanma (senescence), ölüm (apoptozis) gibi bir takım adaptasyon olayları da olmaktadır (144).

Bu çalışmada FA maruziyetiyle doz (0, DDFA, ODFA, YDFA) bağımlı olarak oksidatif stres indeksinde yükselme tespit edildi. Oksidatif stres indeksi redoks dengesinin bir göstergesidir (145, 148). Oksidatif stres indeksindeki bu yükselme karnozin alımı ile azalma göstermekteydi. Bildiğimiz kadarıyla daha önce FA maruziyeti, karnozin suplementasyonu ve oksidatif stres indeksi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak oksidatif stres indeksi ile total antioksidan/oksidan arasında bağlantıyı gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (145-149). FA maruziyetine bağlı olarak oksidatif stres indeksindeki artış antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişme ve bu enzimlerin kofaktörlerinde azalma (SOD için çinkoda azalma) veya antioksidan moleküllerdeki yetersizliklerden (Vit. A, C vs) kaynaklanabilir. Tüm bunlardan başka Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesindeki azalma ile de ilişkili olabilir. Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi eritrositleri ve dokuları oksidatif hasara karşı korumaktadır (150, 151) ve aktivitesi FA maruziyeti ile kısmi olarak azalmaktadır (152).

Bu çalışmada hücrelerde meydana gelen DNA kırıklarını ve apoptozis gibi adaptasyonları görmek amacıyla TUNEL yöntemi ile dokular tarandı. Çalışmamızda FA maruziyetiyle doz (düşük, orta, yüksek) bağımlı olarak apoptozisin

arttığı karnozin suplementasyonu ile azaldığı tespit edildi. Daha önce yapılan çalışmalarda da karnozin molekülünün değişik dokularda apoptozisi önlediği de bildirilmiştir (54, 56, 61, 64, 70, 71, 76). Strese maruz kalan farelere karnozin suplementasyonu yapıldığında dalak dokularında TUNEL pozitif hücrelerin sayısında bir düşüş olduğu yani apoptozisi engellediği rapor edilmiştir (153). FA maruziyeti genotoksisitesine (DNA ve kromozomal hasara) ve sitotoksisiteye (hücre ölümü ve apoptosis) neden olmaktadır. Ancak mekanizması tam aydınlığa kavuşturulmamıştır (1, 3, 5). Bazı çalışmalar DNA hasarlanmasının formaldehit maruziyetine bağlı ortaya çıkan serbest radikallerden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (1). Çünkü birçok çalışma, aşırı miktarlarda üretilen serbest radikallerin DNA'yı, proteinleri ve lipitleri oksidatif hasara uğrattığını göstermiştir (1, 3, 5-8, 10, 19). FA inhalasyonu karaciğer ve beyin dokularında lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır (154). Çalışmamızda karaciğer ve akciğerde gözlemlediğimiz apoptotik etkiler muhtemelen akciğerlerin, FA inhalasyonuna bağlı olarak oluşan inflamasyonundan kaynaklanmaktadır. Çünkü daha önce Wistar cinsi erkek sıçanlarla yapılan bir deneyde lokal ve sistemik inflamasyonun arttığı bildirilmiştir (155). Çalışmamızda gözlediğimiz bu klinik durum karnozin verilmesi ile düzeldi. Oral olarak verilen karnozinin antioksidan özelliği sebebiyle bleomisininden neden olduğu akciğer hasarını ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (156).

Daha önce yapılan çalışmalarda FA maruziyetine bağlı kilo kayıpları rapor edilmesine rağmen altta yatan metabolik mekanizma açıklanmamıştır (16). Dolayısıyla biz bu çalışmada yağ yıkımından sorumlu yeni keşfedilmiş bir hormon olan irisin konsantrasyonları ile FA maruziyetinde gözlemlenen kilo kayıpları arasında bir bağlantının olup olmadığını da araştırdık. Çalışmamızda FA

maruziyetinin dozu artıkça (sıfır, düşük, orta, yüksek) kilo kaybının arttığı, irisin derişimlerinin ise azaldığı ve karnozin verilmesi ile kilo artışının olduğu ve irisin miktarlarının da arttığı görüldü. Sıçanlarda FA maruziyetinin doz bağımlı olarak kilo kaybına sebep olması muhtemelen hücrelerin enerji santralleri olan mitokondrilerin FA tarafından tahrip edilmesinden kaynaklanmaktaydı. Çünkü yapılan bir çalışmada karaciğer dokusu FA'ya maruz bırakılmış ve elektron mikroskopuyla incelendiğinde mitokondrilerin membranlarında rüptür, krista (cristae) kaybı ve oksijen tüketiminde de %60-70 azalma olduğu bildirilmiştir. Hatta FA maruziyetinin granüllü endoplazmik retikulumlarda da hasara yol açtığı bildirilmiştir (157). Dolayısı ile protein sentez organelleri ve enerji santralleri bozulan bir organizmada kilo kaybı kaçınılmazdır. FA maruziyetiyle doz bağımlı olarak irisin miktarlarında azalma tespit edildi ve karnozin suplementasyonu ile iyileşme gözlemlendi. FA maruziyetinin sebep olduğu irisin miktarlarındaki azalmanın muhtemelen yağ yıkımını engelleyerek kilo kaybını önlediğini düşünüyoruz. Çünkü irisin beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirir ve kahverengi yağ dokusundan uncoupling (ayırıcı; elektron eşleşmesine mani) proteinlerin miktarlarını artırarak ATP sentezi yerine ısı salınımına yol açmaktadır (85, 86, 96). FA maruziyeti ile tahrip edilen mitokondride aksiyon potansiyel ($\Delta\psi$) kaybı da olmakta, ATP sentezi bozulmakta ve yağ yıkımı için irisine artık gerek kalmamaktadır. Diğer bir deyişle hücreler maksimum ekonomi ilkesine (Kleiber's law=Kleiber kanunu) göre çalıştığından (158, 159), yağın metabolize edildiği mekanizmalar tahrip edilirse, yağ yıkımında görev alan proteinlere ihtiyaç olmadığını düşünüyoruz. Hücreler enerjilerini israf etmemek için irisin sentezini durdurmuş olabilirler bu yüzden de karaciğer, akciğer ve dolaşımdaki irisin

miktarları azalmış olabilir. FA'nın granüllü endoplazmik retikulumlarda hasarlar oluşturduğunu belirtmiştik (157). Protein sentezinde görev alan granüllü endoplazmik retikulum hasarı, bir protein olan irisin sentezini de azaltmış olabilir ve bu yüzden de gerek dokularda gerekse dolaşımdaki irisin miktarlarındaki azalmanın sebebi de bu olabilir. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmasa da çalışmamızda gözlemlediğimiz albümin ve total protein miktarlarındaki azalma da bu savı desteklemektedir. Yukarıda ileri sürdüğümüz mekanizmaya ek olarak çalışmamızda gözlemlediğimiz kilo kaybının bir diğer muhtemel sebebi de şu şekilde olabilir. FA maruziyeti doz bağımlı olarak iştah kaybına neden olmakta ve bu yüzden sıçanlar az yem tüketmekte ve dolayısı ile yetersiz beslenmeye bağlı kilo kaybı gerçekleşmektedir.

Ayrıca, bu çalışmada serum irisin seviyeleri ile karaciğer ve akciğer dokularının irisin seviyeleri mukayese edildiğinde, serum irisin seviyesi dokulardan yaklaşık 10 kat fazla idi. Serumda dokulardan 10 kat fazla irisin bulunmasının muhtemel sebebi, irisinin üreme, kas ve sinir sistemi dahil hemen hemen tüm biyolojik sistem dokuları tarafından üretilmesi ve bunun da serum irisin havuzuna katkı yapmasından dolayı olduğunu düşünüyoruz.

FA maruziyetinin zararlı etkilerini bertaraf etmek için vitamin A, C, D, melatonin gibi antioksidanlar araştırılmış ve koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (21, 43, 44). Bu çalışmada da karnozinin FA maruziyetinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaya aracı olduğu tespit edildi. Gelecekte bu antioksidan moleküllerin tek tek kullanılması mı yoksa ikili veya üçlü yahut ta kombine kullanılmasının mı daha etkili olup olmadığının ortaya konmasında fayda bulunduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda FA'ya maruz kalan sıçanlarda doz bağımlı olarak

kilo kayıpları gözlemlendi ve karnozin verilmesi ile kilolarda artış oldu. Bu çalışmada ve daha önceki çalışmalarda rapor edildiği gibi FA maruziyeti kilo kaybına neden olmaktadır. Yaşayan hücrelerde doğal olarak üretildiğinden dolaşımdaki FA seviyesi ile kaşeksi arasında önemli bir bağlantı olabileceğini ve bu durumun gelecekte araştırılmaya değer olduğunu da düşünmekteyiz. Ayrıca FA'nın dokulara verdiği hasarlar incelenirken glukoz-6-fosfat-dehidrojenaz enzim aktivitesinin de bakılması önem arz etmektedir. Çünkü glukoz-6-fosfat-dehidrojenaz enzimi kırmızı kan hücrelerini ve dokuları oksidatif hasara karşı korurken, FA maruziyeti bu enzim aktivitesini düşürmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalar için yaptığımız bu önerileri çalışmamızın kısıtlılıkları olarak da kabul etmekteyiz.

Sonuç olarak; FA maruziyeti karaciğer ve akciğer dokularında doz bağımlı olarak hasara neden olmaktadır (160). Ayrıca, FA maruziyeti serum ve dokularda doz bağımlı (DDFA, ODFA, YDFA) olarak irisin konsantrasyonlarının düşmesine ve total oksidan kapasitenin artmasına neden olurken, total antioksidan kapasitenin ise düşmesine ve doz bağımlı olarak da TUNEL pozitifliğinin artmasına sebep olmaktadır. Karnozin suplementasyonu DDFA, ODFA, maruziyetinin sebep olduğu olumsuz etkileri hemen hemen tamamen ortadan kaldırırken, YDFA maruziyetinin olumsuz etkilerini ise önemli ölçüde azaltmaktadır. Kısaca, FA maruziyeti dokularda oksidatif hasar oluşturmakta olup karnozin suplementasyonları ise oksidatif stresi azaltarak histopatolojik ve biyokimyasal bulguları düzelttiğinden, gelecekte gündelik yaşamda FA'nın zararlı etkilerini bertaraf etmede kullanım alanı bulabileceğini düşünmekteyiz (160).

7. KAYNAKLAR

1. Salthammer T, Mentese S, Marutzky R. Formaldehyde in the indoor environment. *Chem Rev* 2010; 110: 2536-2572.
2. Loew OU. Formaldehyd und dessen Condensation. *Journal für praktische Chemie* 1886; 33: 321–351.
3. Tang X, Bai Y, Duong A, *et al.* Formaldehyde in China: production, consumption, exposure levels, and health effects. *Environ Int* 2009; 35: 1210-1224.
4. Gleckman R, Alvarez S, Joubert DW, Matthews SJ. Drug therapy reviews: methenamine mandelate and methenamine hippurate. *Am J Hosp Pharm* 1979; 36: 1509-1512.
5. De Groot AC, Veenstra M. Formaldehyde-releasers in cosmetics in the USA and in Europe. *Contact Dermatitis* 2010; 62: 221-224.
6. Odhav A, Belsito DV. Is quaternium-15 a formaldehyde releaser? Correlation between positive patch test reactions to formaldehyde and quaternium-15. *Dermatitis* 2012; 23: 39-43.
7. Duong A, Steinmaus C, McHale CM, Vaughan CP, Zhang L. Reproductive and developmental toxicity of formaldehyde: a systematic review. *Mutat Res* 2011; 728: 118-138.
8. Speit G, Linsenmeyer R, Duong G, Bausinger J. Investigations on potential co-mutagenic effects of formaldehyde. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen* 2014; 760: 48-56.
9. Tulpule K, Dringen R. Formaldehyde in brain: an overlooked player in neurodegeneration? *J Neurochem* 2013; 127: 7-21.
10. Metz B, Kersten GF, Hoogerhout P, *et al.* Identification of formaldehyde-induced modifications in proteins: reactions with model peptides. *J Biol Chem* 2004; 279: 6235-6243.
11. Nosticzius A. Role of formaldehyde in direct formation of glycine and serine in bean leaves. *Acta Biol Hung* 1998; 49: 193-199.
12. Khanna P, Jorns MS. Tautomeric rearrangement of a dihydroflavin bound to monomeric sarcosine oxidase or N-methyltryptophan oxidase. *Biochemistry* 2003; 42: 864-869.
13. Stover PJ. One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. *J Nutr* 2009; 139: 2402-2405.

14. Milnes AR. Persuasive evidence that formocresol use in pediatric dentistry is safe. *J Can Dent Assoc* 2006; 72: 247-248.
15. Satterfield Z. "What is ppm and what does it mean?" <http://www.nesc.wvu.edu/ndwc/articles/ot/fa04/q&a.pdf> 14.10.2014.
16. Irmak Sapmaz H. Solunan Formaldehitin Sıçanlarda Humoral İmmünite Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı 2010.
17. Formacare, The Formaldehyde Sector Group of The European Chemical Industry Council (Cefic) <http://www.formacare.org/index.php?page=reach> 14.10.2014.
18. Liteplo RG, Meek ME. Inhaled formaldehyde: exposure estimation, hazard characterization, and exposure-response analysis. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2003; 6: 85-114.
19. Conolly RB, Kimbell JS, Janszen DB, Miller FJ. Dose response for formaldehyde-induced cytotoxicity in the human respiratory tract. *Regul Toxicol Pharmacol* 2002; 35: 32-43.
20. Lino dos Santos Franco A, Domingos HV, Damazo AS, *et al.* Reduced allergic lung inflammation in rats following formaldehyde exposure: long term effects on multiple effector systems. *Toxicology* 2009; 256: 157-163.
21. Rager JE, Smeester L, Jaspers I, Sexton KG, Fry RC. Epigenetic changes induced by air toxics: formaldehyde exposure alters miRNA expression profiles in human lung cells. *Environ Health Perspect* 2011; 119: 494-500.
22. Zararsız İ, Sarsılmaz M, Sönmez MF, ve ark. Kadavra tespitinde kullanılan formaldehitin sıçan karaciğerinde oluşturduğu hasar ve buna omega-3 yağ asitlerinin etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10: 103-107.
23. Cıkırmaz S, Kutoglu T, Kanter M, Mesut R. Effect of formaldehyde inhalation on rat livers: a light and electron microscopic study. *Toxicol Ind Health* 2010; 26: 113-119.
24. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Arch Environ Health* 2001; 56: 300-301.
25. Coggon D, Ntani G, Harris EC, Palmer KT. Upper airway cancer, myeloid leukemia, and other cancers in a cohort of British chemical workers exposed to formaldehyde. *Am J Epidemiol* 2014; 179: 1301-1311.
26. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, *et al.* Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37: 629-727.

27. Zwart A, Woutersen RA, Wilmer JW, Spit BJ, Feron VJ. Cytotoxic and adaptive effects in rat nasal epithelium after 3-day and 13-week exposure to low concentrations of formaldehyde vapour. *Toxicology* 1988; 51: 87-99.
28. Maronpot RR, Miller RA, Clarke WJ, *et al.* Toxicity of formaldehyde vapor in B6C3F1 mice exposed for 13 weeks. *Toxicology* 1986; 41: 253-266.
29. Monticello TM, Morgan KT, Everitt JI, Popp JA. Effects of formaldehyde gas on the respiratory tract of rhesus monkeys. *Pathology and cell proliferation. Am J Pathol* 1989; 134: 515-527.
30. Moore KL, Persaud TVN, Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H, Yıldırım M. (Çeviren). Ankara: Nobel Tıp Kitabevi. 2009.
31. Sadler T.W. Langman's Medikal Embriyoloji 11. Baskı, A.C.Başaklar (Çeviren). Ankara: Palme Yayıncılık, 2011.
32. Drake RL, Vogl W, Tibbitts WM. (Editors). *Gray's anatomy for students Philadelphia. Elsevier/Churchill Livingstone* 2005.
33. Sinnatamby CS. *Last's Anatomy; Regional and Applied. 11th ed. New York: Churchill Livingstone* 2006; 219-224.
34. Johnson D, Shah P. Thorax. In: Standring S, (Editors). *Gray's anatomy, 39th ed. Edinburgh, Scotland: Churchill Livingstone* 2005; 951-1079.
35. Suwatanapongched T, Gierada DS. CT of thoracic lymph nodes. Part I: anatomy and drainage. *Br J Radiol* 2006; 79: 922-928.
36. Effros RM, *Anatomy, development and physiology of the lungs. GI Motility online* 2006, doi:10.1038/gimo73.
37. Fraser RS, Müller NL, Colman N, *et al.* The lymphatic system of the lungs, pleura, and mediastinum. In: Fraser RS, Müller NL, Colman N, Paré PD (Editors). *Fraser and Paré's diagnosis of diseases of the chest, 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company* 1999: 172-195.
38. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi, 5. Baskı, Güneş Kitap Evi, Sıhhiye, Ankara* 2014.
39. Juza RM, Pauli EM. Clinical and surgical anatomy of the liver: A review for clinicians. *Clin Anat* 2014; 27: 764-769.
40. Macchi V, Porzionato A, Parenti A, *et al.* Main accessory sulcus of the liver. *Clin Anat* 2005; 18: 39-45.
41. Diehl-Jones WL, Askin DF. The neonatal liver, Part 1: embryology, anatomy, and physiology. *Neonatal Netw* 2002; 21: 5-12.

42. Kukielka E, Cederbaum AI. Increased oxidation of ethylene glycol to formaldehyde by microsomes after ethanol treatment: role of oxygen radicals and cytochrome P450. *Toxicol Lett* 1995; 78: 9-15.
43. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, ve ark. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2004; 13: 1-7.
44. Zararsız İ, Kuş İ, Yılmaz HR, ve ark. Deneysel formaldehit toksisitesi sonucu hipokampusta oluşan doku hasarına karşı omega-3 yağ asitlerinin antioksidan etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2008; 22: 59-64.
45. Bachi A, Dalle-Donne I, Scaloni A. Redox proteomics: chemical principles, methodological approaches and biological/biomedical promises. *Chem Rev.* 2013; 113: 596-698.
46. Elkins KL, Cowley SC, Bosio CM. Innate and adaptive immunity to Francisella. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1105: 284-324.
47. Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A, Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 1611-1626.
48. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep* 2004; 9: 145-152.
49. Wahlqvist ML. Antioxidant relevance to human health. *Asia Pac J Clin Nutr* 2013; 22: 171-176.
50. Fraga CG, Oteiza PI, Galleano M. In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840: 931-934.
51. Handy DE, Loscalzo J, Leopold JA. Systems analysis of oxidant stress in the vasculature. *IUBMB Life* 2013; 65: 911-920.
52. Rahal A, Kumar A, Singh V, *et al.* Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int* 2014; 761264.
53. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* 2009; 29: 646-682.
54. Boldyrev AA. Carnosine: new concept for the function of an old molecule. *Biochemistry (Mosc)* 2012; 77: 313-326.
55. Budzen S, Rymaszewska J. The biological role of carnosine and its possible applications in medicine. *Adv Clin Exp Med* 2013; 22: 739-744.

56. Pfister F, Riedl E, Wang Q, *et al.* Oral carnosine supplementation prevents vascular damage in experimental diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem* 2011; 28: 125-136.
57. Babizhayev MA, Burke L, Micans P, Richer SP. N-Acetylcarnosine sustained drug delivery eye drops to control the signs of ageless vision: glare sensitivity, cataract, amelioration and quality of vision currently available treatment for the challenging 50,000-patient population. *Clin Interv Aging* 2009; 4: 31-50.
58. Babizhayev MA, Deyev AI, Yermakova VN, *et al.* N-Acetylcarnosine, a natural histidine-containing dipeptide, as a potent ophthalmic drug in treatment of human cataracts. *Peptides* 2001; 22: 979-994.
59. Babizhayev MA, Deyev AI, Yermakova VN, *et al.* Efficacy of N-acetylcarnosine in the treatment of cataracts. *Drugs R D* 2002; 3: 87-103.
60. Babizhayev MA. Biochemical, Biomedical and Metabolic Aspects of Imidazole-Containing Dipeptides with the Inherent Complexity to Neurodegenerative Diseases and Various States of Mental Well-Being: A Challenging Correction and Neurotherapeutic Pharmaceutical Biotechnology for Treating Cognitive Deficits, Depression and Intellectual Disabilities. *Curr Pharm Biotechnol* 2014; 15: 738-778.
61. Babizhayev MA, Seguin MC, Gueyne J, *et al.* L-carnosine (beta-alanyl-L-histidine) and carbinine (beta-alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl-radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. *Biochem J* 1994; 304: 509-516.
62. Sozio P, Iannitelli A, Cerasa LS, *et al.* New L-dopa codrugs as potential antiparkinson agents. *Arch Pharm (Weinheim)* 2008; 341: 412-417.
63. Boldyrev A, Fedorova T, Stepanova M, *et al.* Carnosine increases efficiency of DOPA therapy of Parkinson's disease: a pilot study. *Rejuvenation Res* 2008; 11: 821-827.
64. Boldyrev AA, Stvolinsky SL, Fedorova TN, Suslina ZA. Carnosine as a natural antioxidant and geroprotector: from molecular mechanisms to clinical trials. *Rejuvenation Res* 2010; 13: 156-158.
65. Dzielska-Olczak M, Graczyk-Wojciechowska J, Pakulska W, Zieba R. Influence of doxorubicin and carnosine on the standard 12-lead electrocardiogram in rabbits. *Acta Pol Pharm* 2004; 61 Suppl: 56-58.
66. Zieba R, Wagrowska-Danilewicz M. Influence of carnosine on the cardiotoxicity of doxorubicin in rabbits. *Pol J Pharmacol* 2003; 55: 1079-1087.

67. Naghshvar F, Abianeh SM, Ahmadashrafi S, Hosseinimehr SJ. Chemoprotective effects of carnosine against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. *Cell Biochem Funct* 2012; 30: 569-573.
68. Xu M, He RR, Zhai YJ, Abe K, Kurihara H. Effects of carnosine on cyclophosphamide-induced hematopoietic suppression in mice. *Am J Chin Med* 2014; 42: 131-142.
69. Liu WH, Liu TC, Yin MC. Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1503-1509.
70. Aldini G, Orioli M, Rossoni G, *et al.* The carbonyl scavenger carnosine ameliorates dyslipidaemia and renal function in Zucker obese rats. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 1339-1354.
71. Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC, Ames BN. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3175-3179.
72. Kohen R, Misgav R, Ginsburg I. The SOD like activity of copper: carnosine, copper: anserine and copper: homocarnosine complexes. *Free Radic Res Commun* 1991; 1: 179-185.
73. Boldyrev AA, Gallant SC, Sukhich GT. Carnosine, the protective, anti-aging peptide. *Biosci Rep* 1999; 19: 581-587.
74. Kaczvinsky JR, Griffiths CE, Schnicker MS, Li J. Efficacy of anti-aging products for periorbital wrinkles as measured by 3-D imaging. *J Cosmet Dermatol* 2009; 8: 228-233.
75. Shao L, Li QH, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324: 931-936.
76. Holliday R, McFarland GA. A role for carnosine in cellular maintenance. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 65: 843-848.
77. Hipkiss AR, Brownson C. A possible new role for the anti-ageing peptide carnosine. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 747-753.
78. Rona C, Vailati F, Berardesca E. The cosmetic treatment of wrinkles. *J Cosmet Dermatol* 2004; 3: 26-34.
79. Babizhayev MA, Deyev AI, Savel'yeva EL, Lankin VZ, Yegorov YE. Skin beautification with oral non-hydrolyzed versions of carnosine and carbinine: Effective therapeutic management and cosmetic skincare solutions against

oxidative glycation and free-radical production as a causal mechanism of diabetic complications and skin aging. *J Dermatolog Treat* 2012; 23: 345-384.

80. Babizhayev MA, Vishnyakova KS, Yegorov YE. Hormone-brain-aging relationships, broadly reactive with imidazole-containing dipeptides: targeting of telomere attrition as an aging biomarker and dynamic telomerase activity flirting. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2014, doi: 10.1515/jbcpp-2014-0045. [Epub ahead of print]
81. Renner C, Seyffarth A, Garcia de Arriba S, *et al.* Carnosine inhibits growth of cells isolated from human glioblastoma multiforme. *Int J Pept Res Ther* 2008; 14: 127-135.
82. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, *et al.* Preventive effect of L-carnosine on ischemia/ reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 474: 261-267.
83. Lee JW, Miyawaki H, Bobst EV, *et al.* Improved functional recovery of ischemic rat hearts due to singlet oxygen scavengers histidine and carnosine. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 113-121.
84. Roberts PR, Black KW, Santamauro JT, Zaloga GP. Dietary peptides improve wound healing following surgery. *Nutrition* 1998; 14: 266-269.
85. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, *et al.* A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481: 463-468.
86. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, *et al.* A comprehensive immunohistochemical examination of the distribution of the fat-burning protein irisin in biological tissues. *Peptides* 2014; 61: 130-136.
87. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, *et al.* The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J* 2014; 281: 739-749.
88. Fain JN, Company JM, Booth FW, *et al.* Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism*. 2013; 62: 1503-1511.
89. Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, *et al.* Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS One* 2013; 8: e73680.
90. Bayless DS, Company JM, Jenkins NT, *et al.* Elevated skeletal muscle irisin precursor FNDC5 mRNA in obese OLETF rats. *Metabolism* 2013; 62: 1052-1056.

91. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, *et al.* FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* 2012; 61: 1725-1738.
92. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, *et al.* Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol* 2013; 591: 5393-5400.
93. Peterson JM, Mart R, Bond CE. Effect of obesity and exercise on the expression of the novel myokines, Myonectin and Fibronectin type III domain containing 5. *PeerJ* 2014; 2: e605.
94. Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K, *et al.* Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci* 2014; 10: 338-349.
95. Aydin S, Aydin S, Kuloglu T, *et al.* Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides* 2013; 50: 13-18.
96. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides* 2014; 56: 94-110.
97. Ferrer-Martínez A, Ruiz-Lozano P, Chien KR. Mouse PeP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development. *Dev Dyn* 2002; 224: 154-167.
98. Teufel A, Malik N, Mukhopadhyay M, Westphal H. *Frcp1* and *Frcp2*, two novel fibronectin type III repeat containing genes. *Gene* 2002; 297: 79-83.
99. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte* 2013; 2: 289-293.
100. Gutiérrez-Fisac JL, León-Muñoz LM, Regidor E, Banegas J, Rodríguez-Artalejo F. Trends in obesity and abdominal obesity in the older adult population of Spain (2000-2010). *Obes Facts* 2013; 6: 1-8.
101. Kushner RF, Ryan DH. Assessment and lifestyle management of patients with obesity: clinical recommendations from systematic reviews. *JAMA* 2014; 312: 943-952.
102. Polyzos SA, Kountouras J, Shields K, Mantzoros CS. Irisin: a renaissance in metabolism? *Metabolism* 2013; 62: 1037-1044.
103. Sanchis-Gomar F, Alis R, Pareja-Galeano H, Romagnoli M, Perez-Quilis C. Inconsistency in circulating irisin levels: what is really happening? *Horm Metab Res* 2014; 46: 591-596.

104. Elbelt U, Hofmann T, Stengel A. Irisin: what promise does it hold? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16: 541-547.
105. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature* 2012; 488: E9-10.
106. Colaianni G, Cuscito C, Mongelli T, *et al.* Irisin enhances osteoblast differentiation in vitro. *Int J Endocrinol* 2014; 2014: 902186.
107. Lecker SH, Zavin A, Cao P, *et al.* Expression of the irisin precursor FNDC5 in skeletal muscle correlates with aerobic exercise performance in patients with heart failure. *Circ Heart Fail* 2012; 5: 812-818.
108. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, *et al.* Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 2014; 52: 68-73.
109. Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC. Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. *PLoS One* 2013; 8: e64025.
110. Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, *et al.* Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *J Hepatol* 2013; 59: 557-562.
111. Choi YK, Kim MK, Bae KH, *et al.* Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 100: 96-101.
112. Liu JJ, Wong MD, Toy WC, *et al.* Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2013; 27: 365-369.
113. Liu JJ, Liu S, Wong MD, *et al.* Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2014; 28: 208-213.
114. Staiger H, Böhm A, Scheler M, *et al.* Common genetic variation in the human FNDC5 locus, encoding the novel muscle-derived 'browning' factor irisin, determines insulin sensitivity. *PLoS One* 2013; 8: e61903.
115. Liu T, Bai XT. Effect of formaldehyde on energy metabolism in postnatal rat cortex neurons in culture. *Wei Sheng Yan Jiu* 2005; 34: 275-277.
116. Sahin I, Aydin S, Ozkan Y, *et al.* Diet-induced obesity suppresses ghrelin in rat gastrointestinal tract and serum. *Mol Cell Biochem* 2011; 355: 299-308.
117. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277-285.

118. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.
119. Aydin S. A comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40: 29-35.
120. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of antibody containing a fluorescent group. *Proc Soc Exp Biol Med* 1941; 47: 200-202.
121. Burnett R, Guichard Y, Barale E. Immunohistochemistry for light microscopy in safety evaluation of therapeutic agents: an overview. *Toxicology* 1997; 119: 83-93.
122. Kawauchi S, Goto Y, Ihara K, *et al.* Survival analysis with p27 expression and apoptosis appears to estimate the prognosis of patients with synovial sarcoma more accurately. *Cancer* 2002; 94: 2712-2718.
123. IBM Corp. Released. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp 2013.
124. World Health Organization. Formaldehyde: environmental health criteria 89, International Programme on Chemical Safety, Geneva, 1989. “www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehcnumerical/en”. 14.10.2014.
125. Goyal S, Abuwala T, Joshi K, *et al.* The Clinical, Radiographic and Histological evaluation of three different concentrations of Formocresol as apulpotomy agent. *J Int Oral Health* 2014; 6: 118-125.
126. Evran B, Karpuzoğlu H, Develi S, *et al.* Effects of carnosine on prooxidant-antioxidant status in heart tissue, plasma and erythrocytes of rats with isoproterenol-induced myocardial infarction. *Pharmacol Rep* 2014; 66: 81-86.
127. Giriş M, Doğru-Abbasoğlu S, Kumral A, *et al.* Effect of carnosine alone or combined with α -tocopherol on hepatic steatosis and oxidative stress in fructose-induced insulin-resistant rats. *J Physiol Biochem* 2014; 70: 385-395.
128. Zhang H, Guo S, Zhang L, *et al.* Treatment with carnosine reduces hypoxia-ischemia brain damage in a neonatal rat model. *Eur J Pharmacol* 2014; 727: 174-180.
129. Wilmer JW, Woutersen RA, Appelman LM, Leeman WR, Feron VJ. Subacute (4-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *J Appl Toxicol* 1987; 7: 15-16.
130. Wilmer JW, Woutersen RA, Appelman LM, Leeman WR, Feron VJ. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats:

- 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *Toxicol Lett* 1989; 47: 287-293.
131. Yıldız E, Göze F. Kemelerde formaldehitin kemik iliği, deri, dalak, karaciğer, akciğer ve böbrek üzerine etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Türk Patoloji Dergisi* 1997; 13: 57-59.
132. Le Floc'h N, Otten W, Merlot E. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. *Amino Acids* 2011; 41: 1195-1205.
133. Li Q, Sudou N, Oshima M, Motomizu S. Fluorometric flow injection method for the determination of ammonia based on Hantzsch reaction and its application to ammonia determination in the atmosphere. *J Flow Injection Anal* 2006; 23: 29–34.
134. Sritharathikhun P, Oshima M, Motomizu S. On-line collection/ concentration of trace amounts of formaldehyde in air with chromatomembrane cell and its sensitive determination by flow injection technique coupled with spectrophotometric and fluorometric detection. *Talanta* 2005; 67: 1014-1022.
135. Ozmen E, Ozsoy SY, Donmez N, Ozsoy B, Yumuşak N. The protective effect of L-carnitine against hippocampal damage due to experimental formaldehyde intoxication in rats. *Biotech Histochem* 2014; 89: 336-341.
136. Tajaddini S, Ebrahimi S, Behnam B, *et al.* Antioxidant effect of manganese on the testis structure and sperm parameters of formalin-treated mice. *Andrologia* 2014; 46: 246-253.
137. Kasem RF, Hegazy RH, Arafa MA, AbdelMohsen MM. Chemopreventive effect of *Mentha piperita* on dimethylbenz[a]anthracene and formaldehyde-induced tongue carcinogenesis in mice (histological and immunohistochemical study). *J Oral Pathol Med* 2014; 43: 484-491.
138. Wang HX, Wang XY, Zhou DX, *et al.* Effects of low-dose, long-term formaldehyde exposure on the structure and functions of the ovary in rats. *Toxicol Ind Health* 2013; 29: 609-615.
139. Kang JH, Kim KS, Choi SY, *et al.* Protective effects of carnosine, homocarnosine and anserine against peroxyl radical-mediated Cu, Zn-superoxide dismutase modification. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1570: 89-96.
140. Noori S, Mahboob T. Antioxidant effect of carnosine pretreatment on cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *Indian J Clin Biochem* 2010; 25: 86-91.

141. Kopeć W, Jamroz D, Wiliczkiwicz A, *et al.* Antioxidation status and histidine dipeptides content in broiler blood and muscles depending on protein sources in feed. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2013; 97: 586-598.
142. Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl* 2006; 8: 584-588.
143. Songur A, Sarsilmaz M, Ozen O, *et al.* The effects of inhaled formaldehyde on oxidant and antioxidant systems of rat cerebellum during the postnatal development process. *Toxicol Mech Methods* 2008; 18: 569-574.
144. Latella L, Puri PL. Redox or death: checking on fetal myogenesis. *Dev Cell* 2014; 29: 373-374.
145. Demir M, Ulas T, Tutoglu A, *et al.* Evaluation of oxidative stress parameters and urinary deoxypyridinoline levels in geriatric patients with osteoporosis. *J Phys Ther Sci* 2014; 26: 1405-1409.
146. Verma AK, Chandra S, Singh RG, *et al.* Serum prolidase activity and oxidative stress in diabetic nephropathy and end stage renal disease: a correlative study with glucose and creatinine. *Biochem Res Int* 2014; 2014: 291458.
147. Eren E, Abuhandan M, Solmaz A, Taşkın A. Serum paraoxonase/arylesterase activity and oxidative stress status in children with metabolic syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2014; 6: 163-168.
148. Al-Saleh I, Al-Rouqi R, Obsum CA, *et al.* Interaction between cadmium (Cd), selenium (Se) and oxidative stress biomarkers in healthy mothers and its impact on birth anthropometric measures. *Int J Hyg Environ Health* 2015; 218: 66-90.
149. Protano C, Andreoli R, Mutti A, Petti S, Vitali M. Biomarkers of oxidative stress to nucleic acids: Background levels and effects of body mass index and life-style factors in an urban paediatric population. *Sci Total Environ* 2014; 500-501: 44-51.
150. Bergandi L, Aina V, Garetto S, *et al.* Fluoride-containing bioactive glasses inhibit pentose phosphate oxidative pathway and glucose 6-phosphate dehydrogenase activity in human osteoblasts. *Chem Biol Interact* 2010; 183: 405-415.
151. Sobngwi E, Gautier JF, Kevorkian JP, *et al.* High prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency without gene mutation suggests a novel genetic mechanism predisposing to ketosis-prone diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4446-4451.

152. Cassee FR, Feron VJ. Biochemical and histopathological changes in nasal epithelium of rats after 3-day intermittent exposure to formaldehyde and ozone alone or in combination. *Toxicol Lett* 1994; 72: 257-268.
153. Li YF, He RR, Tsoi B, *et al.* Anti-stress effects of carnosine on restraint-evoked immunocompromise in mice through spleen lymphocyte number maintenance. *PLoS One* 2012; 7: e33190.
154. Stewart PA, Schairer C, Blair A. Comparison of jobs, exposures, and mortality risks for short-term and long-term workers. *Occup Med* 1990; 32: 703-708.
155. Lino-dos-Santos-Franco A, Amemiya RM, Oliveira AP, *et al.* The putative role of ovary removal and progesterone when considering the effect of formaldehyde exposure on lung inflammation induced by ovalbumin. *Clinics (Sao Paulo)* 2013; 68: 1528-1536.
156. Cuzzocrea S, Genovese T, Failla M, *et al.* Protective effect of orally administered carnosine on bleomycin-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292: L1095-1104.
157. Strubelt O, Younes M, Pentz R, Kühnel W. Mechanistic study on formaldehyde-induced hepatotoxicity. *J Toxicol Environ Health* 1989; 27: 351-366.
158. Kleiber M. Body size and metabolic rate. *Physiol Rev* 1947; 27: 511-541.
159. Kuzawa CW, Chugani HT, Grossman LI, *et al.* Metabolic costs and evolutionary implications of human brain development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 13010-13015.
160. Aydin S, Ogeturk M, Kuloglu T, Kavakli A, Aydin S. Effect of carnosine supplementation on apoptosis and irisin, total oxidant and antioxidants levels in the serum, liver and lung tissues in rats exposed to formaldehyde inhalation. *Peptides* 2015; 64: 14-23.

8. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta, lise ve Yükseköğrenimimi (Tıp Fakültesi) Elazığ'da bitirdim. 2011 yılında Dicle Üniversitesinde, Kalp ve Damar Cerrahisi ihtisasını tamamladım. Halen Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniğinde cerrah olarak görev yapmaktayım.

Evli ve bir çocuk annesiyim.