

NKUBAP.00.20.AR.14.21 nolu proje

**SIÇANLARDA FORMALDEHİT'İN NEDEN OLDUĞU
KARACİĞER TOKSİSİTE ÜZERİNE
KURKUMİN'İN KORUYUCU ETKİLERİ**

Yürütücü:

Yrd. Doç. Dr. İbrahim GELİNCİK

Araştırmacılar:

Yrd. Doç. Dr. OĞuzhan YILDIRIM

Yrd. Doç. Dr. İlhan BALI

Uzman Dr. Çağla BALI

Yrd. Doç. Dr. Cem ORUÇ

2017

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ**

**SIÇANLARDA FORMALDEHİT'İN NEDEN OLDUĞU KARACİĞER TOKSİSİTE
ÜZERİNE KURKUMİN'İN KORUYUCU ETKİLERİ**

ARAŞTIRMA PROJESİ

Yürütücü:

Yrd. Doç. Dr. İbrahim GELİNCİK

Araştırmacılar:

Yrd. Doç. Dr. Oğuzhan YILDIRIM
Yrd. Doç. Dr. İlhan BALI
Uzman Dr. Çağla BALI
Yrd. Doç. Dr. Cem ORUÇ

Proje No: NKUBAP.00.20.AR.14.21

2017 – TEKİRDAĞ

ÖNSÖZ

Çalışmamız, sıçanlarda formaldehit'in neden olduğu karaciğer toksisite üzerine kurkumin'in koruyucu etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amacıyla yapıldı. Çalışmamız Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklendi (Proje No: NKUBAP.00.20.AR.14.21). Projemizin amacı doğrultusunda gerekli malzemeler proje bütçesinden alınarak çalışmamız tamamlandı.

Çalışmamızda 21 adet sıçan 3 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, Formaldehit grubu ve Formaldehit+Kurkumin grubu. 30 günlük formaldehit uygulaması sonunda sıçanlar ketamin-xylazin anestezisi altında sakrifiye edildi ve karaciğer dokusu çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Işık mikroskopik incelemeler için alınan karaciğer dokusu Bouin solüsyonu içinde fikse edilerek parafin inklüzyonu yapıldıktan sonra, elde edilen bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak histolojik yapı değişikliklerinin incelenmesi için hematoksilin-eozin (H&E) ile boyandı. Ayrıca biyokimyasal olarak dokuda malondialdehit (MDA), süperoksit dimutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (KAT), nitrik oksit (NO) ve ksantin oksidaz (XO) düzeylerine bakıldı. Alınan serum örneklerinde ise tümör nekrozu faktörü (TNF), chitinase-3-benzeri protein 1 (YKL-40), interlökin-6 (IL-6), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-β) ve periostin düzeylerine bakıldı.

Sadece formaldehit uygulanan grupta oksidatif hasarı gösteren TNF, YKL-40, IL-6, TGF-β, periostin, MDA, NO ve XO düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken CAT, SOD ve GSH-Px seviyesinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan gruplarda ise bu değişimlerin kontrol grubu lehinde düzeldiği gözlemlendi. Formaldehit grubun karaciğer doku kesitlerinde ise hepatositlerde dejenerasyon, sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik kayıp ve hipertrofik hepatositlerin varlığı görüldü. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan grupta ise, karaciğer doku kesitlerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin düzeldiği tespit edildi.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Özet.....	7
Abstract.....	8
1.Giriş.....	9
2.Materyal Metod.....	10
3.Bulgular.....	12
4.Tartışma.....	15
5.Kaynaklar.....	17

RESİMLER

Sayfa

Resim 3.1. Tüm gruplara ait H&E boyaması

14

TABLULAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Histolojik takip basamakları.....	11
Tablo 2.2. Hematoksilen - Eozin boyama protokolü.....	12
Tablo 3.1. Tüm gruplara ait doku MDA, XO, NO, CAT, GSH-Px ve SOD düzeyleri	12
Tablo 3.2. Tüm gruplara ait serum TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , ve Periostin düzeyleri	13

ÖZET

Amaç: Formaldehit, çeşitli endüstri alanlarında kullanılan kimyasal bir maddedir. Ayrıca, tıpta da kullanımı vardır. Endüstride ve tıp laboratuvarlarında formaldehite maruz kalılabilmektedir. Çeşitli çalışmalarda kurkuminin, çeşitli maddelerle sıçanlarda oluşturulmuş karaciğer hasarını önleyici etkisi gösterilmiştir. Bu amaçla çalışmamızda sıçanlarda deneysel olarak formaldehite bağlı karaciğer toksisite oluşturulması ve kurkumin verilerek formaldehitin olumsuz etkilerinin önlenmesi planlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 21 adet sıçan 3 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, Formaldehit grubu ve Formaldehit+Kirkumin grubu. 30 günlük formaldehit uygulaması sonunda sıçanlar ketamin-xylazin anestezisi altında sakrifiye edildi ve karaciğer dokusu çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Işık mikroskopik incelemeler için alınan karaciğer dokusu Bouin solüsyonu içinde fikse edilerek parafin inklüzyonu yapıldıktan sonra, elde edilen bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak histolojik yapı değişikliklerinin incelenmesi için hematoksilin-eozin (H&E) ile boyandı. Ayrıca biyokimyasal olarak dokuda malondialdehit (MDA), süperoksit dimutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (KAT), nitrik oksit (NO) ve ksantin oksidaz (XO) düzeylerine bakıldı. Alınan serum örneklerinde ise Tümör nekrozu faktörü (TNF), chitinase-3-benzeri protein 1 (YKL-40), interlökin-6 (IL-6), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-β) ve periostin düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Sadece formaldehit uygulanan grupta oksidatif hasarı gösteren TNF, YKL-40, IL-6, TGF-β, periostin, MDA, NO ve XO düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken CAT, SOD ve GSH-Px seviyesinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan gruplarda ise bu değişimlerin kontrol grubu lehinde düzeldiği gözlemlendi. Formaldehit grubun karaciğer doku kesitlerinde ise hepatositlerde dejenerasyon, sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik kayıp ve hipertrofik hepatositlerin varlığı görüldü. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan grupta ise, karaciğer doku kesitlerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin düzeldiği tespit edildi.

Sonuç: Antioksidatif ve koruyucu etkileri olan kurkuminin, formaldehit maruziyetinin sıçan karaciğerlerinde neden olduğu histopatolojik değişiklikleri ve oksidatif hasarı önlediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: formaldehit, kurkumin, karaciğer, oksidatif stres, sıçan

ABSTRACT

Protective Effects of Curcumin on Formaldehyde Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats

Objective: Curcumin (Cur), a polyphenolic antioxidant derived from the turmeric root has undergone extensive preclinical development, showing remarkable efficacy in wound repair, cancer and inflammatory disorders. Formaldehyde (FA) is a colorless toxic chemical. It is used as a disinfectant in medicine, in addition to its use as a fixative in anatomy, pathology, and histology laboratories. The aim of this study was to investigate the protective effect of Cur on FA induced hepatotoxicity and oxidative stress.

Material and Method: A total of 21 Sprague dawley male rats were divided into three groups: control, FA and FA treated with Cur. FA and FA + Cur treated groups received i.p injection of 10 mg/kg FA for 30 days. The rats in the Cur-treated group were given Cur (100 mg/kg) once a day intra gastric for 30 days starting with FA administration. Liver tissues and blood samples were collected for histopathological and biochemical analysis.

Results: In FA group, a significant increase in MDA, NO and XO levels was observed in liver tissues and a significant decrease in the levels of CAT, SOD and GSH-Px activities in liver tissues was determined when compared with control group. In addition, a significant decrease in MDA, NO and XO levels was observed in curcumin treated rats and a significant increase was determined in the levels of CAT, SOD and GSH-Px activities in liver tissues, when compared with FA group. FA caused significant increases in TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , periostin levels in plasma. In the FA group, degeneration in hepatocytes, cytoplasm vacuolization, cytoplasm losses and hypertrophic hepatocytes were observed. The Cur treated rats in the FA group showed an improved histological appearance and serum TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , periostin levels.

Conclusion: It was concluded that Cur treatment might be beneficial in preventing FA-induced hepatotoxicity and oxidative stress in liver tissue damage, therefore, shows potential for clinical use.

Keywords: formaldehyde, curcumin, liver, oxidative stress, rat

1. GİRİŞ

Aldehit ailesinin önemli bir üyesi olan Formaldehit (FA) (CH₂O) sıvı olarak metanolün oksidasyonundan elde edilir. FA kuvvetli elektrofilik özelliği nedeniyle oldukça reaktif bir özelliğe sahip, oda sıcaklığında hızla gaz haline geçebilen, yanabilen, suda çok iyi çözünen, renksiz, keskin kokulu, irrite edici, düşük molekül ağırlıklı zehirli bir gazdır (Smith, 1992; Shaham ve ark., 1996). Organizmaya dışarıdan alınan FA vücut içerisinde depo edilmez. Formaldehit dehidrogenaz (FDH) enzimi aracılığıyla karaciğer ve eritrositlerde formik asite metabolize olan bu kimyasal ajan idrar ve dışkı yoluyla ya da karbondioksite okside olarak solunum yoluyla atılır (Smith, 1992; Usanmaz ve ark., 2002).

Formaldehit kimyasal özellikleri nedeniyle çok yaygın olarak kullanılan, organizmanın doğal yapısında da yer alan kimyasal bir maddedir. Endüstriyel alanda kontraplak, sunta, yalıtım malzemeleri, boya ve plastik malzemelerin yapımında, tekstil endüstrisinde, halı, mobilya, duvar kaplamalarında ve ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır (Blair ve ark., 1990; Smith, 1992; Usanmaz ve ark., 2002). Bu kimyasal, proteinleri sertleştirip çürümeleri önlediğinden biyolojik örneklerin saklanması ve mumyacılıkta, ayrıca böcekleri ve birçok mikroorganizmayı öldürdüğünden dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Schlink ve ark., 1999). Formaldehitin bina içi kaynakları kereste ve kontrplak kullanılan ev ve mobilya malzemeleridir. Ayrıca sigara dumanından da bina içi havaya yayılır Sigara ile her pakette ortalama olarak 0.38 mg kadar FA alınmaktadır (Blair ve ark., 1986). Tıp alanında ise, FA'nın kullanımı laboratuvarlarda yoğunlaşmaktadır. Anatomide kadavranın tespiti ve bozulmadan uzun süre saklanması, histoloji ve patoloji laboratuvarlarında dokuların fiksasyon aşamasında kullanılmaktadır. Dış hekimliğinde kaplamaların yapısında, klinikte inatçı sistit tedavisinde ve bazı ilaçlarda da koruyucu madde olarak FA'dan faydalanılmaktadır. Ayrıca hemodiyaliz ünitesinde kullanılan solüsyonlar da formalin içermektedir. Dizel araçların egzoz dumanında, fueloil, benzin ve doğal gazda, ağaç ve odunun yanmasıyla ortaya çıkan FA ise hava kirliliğinin sebepleri arasında gösterilmektedir (Smith, 1992; Khanzadeh ve ark., 1994; Cohen ve ark., 1998; Sarnak ve ark., 1999; Zararsız ve ark., 2006b).

Formaldehit, yaygın kullanımının yanında insan sağlığına önemli zararlar içerir. Formaldehit üretiminin yapıldığı ya da kullanıldığı endüstriyel alanlardaki meslek grupları ile anatomistler, patologlar ve tahniçiler formaldehite ve dolayısıyla onun olumsuz etkilerine işlerinden dolayı aşırı maruz kalan kişiler üzerinde yapılan araştırmalarda, beyin kanseri, kan kanseri ve kolon kanserinden ölenlerin sayısında normal popülasyona göre bir artış olduğu gözlenmiştir (Shaham ve ark., 1996; Schlink ve ark., 1999). Ayrıca, günlük hayatta FA içeren ürünlerin ev ve işyerinde kullanılması (duvar boyası, mobilyalar, cila kaplamalar, deodorantlar, temizlik ürünleri vb.) ve çevresel etkenlerle maruziyet (fueloil ve odunun yanması ile, egzoz gazı ve sigara dumanı gibi) etkilenmeyi daha da artırmaktadır (Smith, 1992; Usanmaz ve ark., 2002).

Yapılan deneysel araştırmalarla kanserojenik olduğu vurgulanan formaldehitin, solunum sistemi, sinir sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde zararlı etkiler gösterdiği ortaya konmuştur. (Smith, 1992; Usanmaz ve ark., 2002; Zararsız ve ark., 2006a). Üreme sistemi üzerinde de olumsuz etkiler gösteren formaldehitin, germinal hücrelere zarar vererek fertilité problemlerine yol açtığı, testis morfolojik yapısını bozduğu, sperm sayısı ve serum testosteron düzeylerinde azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir. (Chowdhury ve ark., 1992; Thrasher ve Kilburn, 2001; Özen ve ark., 2005). Zararsız ve ark. (2004a, 2004b), sıçanlarda formaldehit maruziyeti

sonucu akciğer dokusunda hasarın oluştuğunu ve bu hasarın melatonin ve ω -3 yağ asitleri uygulamasıyla önlendiğini tespit etmişlerdir. FA'nın solunum sisteminin yanında santral sinir sistemi, deri, göz, testis ve menstrüel fonksiyonlar üzerinde de toksik etkilere sahip olduğu, tavşan gözünün korneasına verilen formaldehitin ise retinaya zarar verdiği bildirilmiştir (Hayasaka ve ark., 2001; Kilburn, 1987; Chowdhury ve ark., 1992).

Ku ve Billings (1984), formaldehitin karaciğer hücrelerinde glutatyon seviyelerini azalttığını ve LDH enzim aktivitesini de arttırdığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla bir antioksidan olan glutatyonun azalması, karaciğer üzerine FA toksisitesini artırmaktadır (Smith, 1992; Zararsız ve ark., 2005). Zararsız ve ark. (2005) sıçanlarda formaldehit maruziyeti sonucu karaciğer dokusunda oksidatif hasar oluştuğunu ve bu hasarın omega-3 yağ asitleri uygulaması ile azaldığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak; formaldehit vücuttaki pek çok doku ve organ üzerinde zararlı ve hatta toksik etkiye sahip olmakla beraber, melatonin ve ω -3 yağ asitleri formaldehitin zararlı etkilerine karşı koruyucu ve sağaltıcı rol üstlenmektedir.

Curcuma Longa, Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan kurkumin (difuruloylmetan) portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak da kullanılmaktadır. Çok iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan köri baharatının ana komponentidir. Kurkumin yerel paramedikal kullanımı son yıllarda birçok araştırmacı için zihinlerinde yanıt bekleyen sorular oluşturmuştur (Pandya ve ark., 2000). Kurkuminin antioksidan özelliğinin yanı sıra antienflamatuar, immunomodulatuar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği gösterilmiştir (Miquel ve ark., 2002). Kurkuminin antioksidan özellikleri böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer İ/R hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (Thiyagarajan ve Sharma, 2004). Kurkumin antioksidan etkinliğini XD'nin XO ya dönüşümünün önlenmesi, lipit peroksidasyonu oluşumunun engellenmesi ve iskemik ortamda bulunan SOR'ları toplayarak gösterir (Miquel ve ark., 2002). Kurkumin KAT, SOD ve GPx enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipitlerin peroksidasyonunu azaltır (Araujo ve Leon, 2001).

Sonuç olarak yapılan literatür incelemelerinde, formaldehitin yol açtığı karaciğer hasarına karşı kurkuminin koruyucu etkilerini inceleyen çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada; kurkuminin formaldehit hasarına karşı olan etkinliğini histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırmayı planladık. Bu sonuçlara dayanılarak ileri klinik çalışmalar yapıldıktan sonra rutin kullanıma geçebilir.

2. MATERYAL ve METOD

Çalışmamızda, standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 0C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulmakta olan, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip, 21 adet Sprague-Dawley türü erkek sıçanın ağırlıkları birbirine yakın olanları aynı grupta olacak şekilde üç grup oluşturulması planlandı. Deneklerin gruplandırılması aşağıdaki şekilde yapıldı;

Grup I (Kontrol, n=7): 30 gün boyunca intragastrik yoldan 10 ml/kg serum fizyolojik verildi.

Grup II (Formaldehit, n=7): 30 gün boyunca günde Formaldehit 10 mg/kg, intraperitoneal yoldan verildi.

Grup III (Formaldehit+Kurkumin, n=7): 30 gün boyunca günde Formaldehit 10 mg/kg, intraperitoneal yoldan verilmesi ile beraber 100 mg/kg dozundaki Kurkuminin intragastrik yoldan verildi.

Çalışmanın sonunda tüm gruplara ait sıçanlar, 30. günde ketamin-xylazin anestezisi altında sakrifiye edildiler, karaciğer dokusu çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerin yapılabilmesi için işlemlendirildi.

Elde edilen karaciğerler bisturi yardımıyla iki parçaya bölünerek, birinci parçalar cerrahi tampon ile kurulandıktan sonra biyokimyasal işlemler için mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi ve ölçüm yapılacağı güne kadar -80°C'de derin dondurucu içinde saklandı. İkinci parçalar ise histopatolojik incelemeler için Bouin solüsyonu içerisine konuldu.

Histopatolojik inceleme için alınan her bir karaciğer parçası Bouin's fiksatif ile fikse edilerek daha sonra alkol ile dehidrate edildikten sonra parafin bloklara gömüldü (Tablo 2.1). Işık mikroskopisinde inceleme yapılması için parafin bloklardan ince kesitler elde edildi, bu kesitler hemotoksilen-eozin boyasıyla boyandılar (Tablo 2.2). Biyokimyasal incelemeler için alınan dokularda ise malondialdehit (MDA), süperoksit dimutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (KAT), nitrik oksit (NO) ve ksantin oksidaz (XO) düzeylerine bakıldı. Alınan serum örneklerinde ise Tümör nekrozu faktörü (TNF), chitinase-3-benzeri protein 1 (YKL-40), interlökin-6 (IL-6), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) ve periostin düzeylerine bakıldı.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde "PASW® Statistics 18 for Windows" (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanıldı. Grupların dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Veriler normal dağılım göstermediği için non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile, alt grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Elde edilen "p" değerinin <0,05 olması istatistiksel olarak anlamlılık ifadesi olarak kabul edildi.

Tablo 2.1. Histolojik takip basamakları

Sıra No	Kullanılan Madde	Süre
1	% 70 Alkol	1 saat
2	% 90 Alkol I	1 saat
3	% 90 Alkol II	1 saat
4	% 96 Alkol I	1 saat
5	% 96 Alkol II	1 saat
6	% 100 Alkol I	45 dk
7	% 100 Alkol II	45 dk
8	% 100 Alkol III	45 dk
9	Ksilol I	1 saat
10	Ksilol II	1 saat
11	Ksilol III	1 saat
12	Yumuşak Parafin	1 saat
13	Y. Parafin + Sert Parafin	1 saat
14	Sert Parafin	3 saat

Tablo 2.2. Hematoksilen - Eozin boyama protokolü

Kullanılan Madde	Süre
Ksilen (I)	10 dk
Ksilen (II)	10 dk
Ksilen (III)	10 dk
% 100 (Absolü) Alkol	2 dk
% 96 Alkol	2 dk
% 80 Alkol	2 dk
% 70 Alkol	2 dk
Çeşme Suyu	2 dk
Hematoksilen	5 dk
Çeşme Suyu	4 dk
Eozin	30 s
% 80 Alkol	2 kez daldır çıkar
% 96 Alkol	2 kez daldır çıkar
% 100 (Absolü) Alkol	5 dk
Ksilen (I)	10 dk
Ksilen (II)	10 dk
Ksilen (III)	10 dk
Entellan ile kapat	

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

Sadece formaldehit uygulanan grupta oksidatif hasarı gösteren TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , periostin, MDA, NO ve XO düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken CAT, SOD ve GSH-Px seviyesinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan gruplarda ise bu değişimlerin kontrol grubu lehinde düzeldiği gözlemlendi.

Tablo 3.1. Kontrol, Formaldehit ve Formaldehit+Kurkumin gruplarına ait doku MDA, XO, NO, CAT, GSH-Px ve SOD düzeyleri.

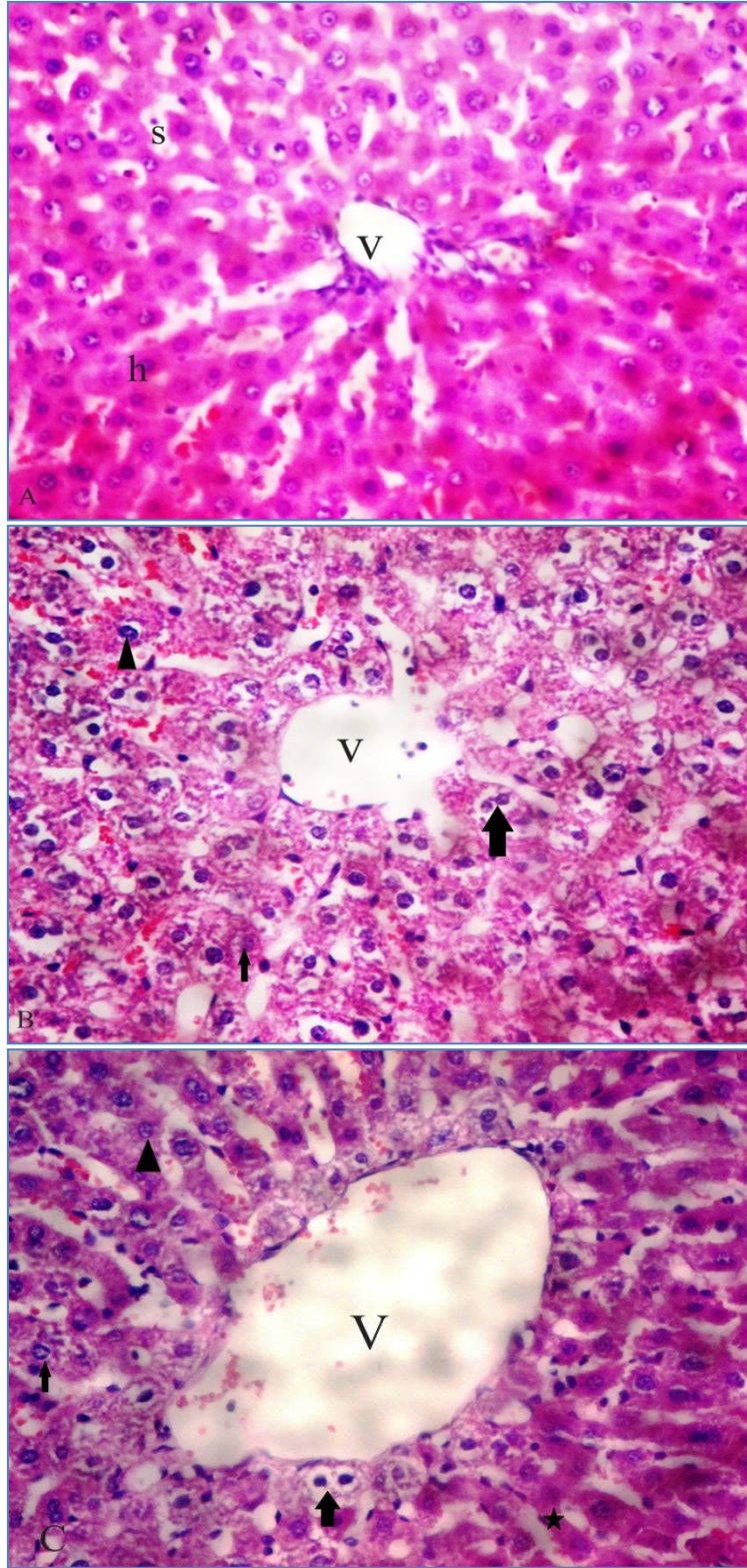
Groups	MDA (nmol/g)	XO (μmol/g)	NO (μmol/g)	CAT (k/g)	GSH-Px (U/g)	SOD (U/mg)
Control	2.505 \pm 0.611	23.973 \pm 2.039	0.485 \pm 0.003	84.367 \pm 7.855	0.027 \pm 0.002	0.004 \pm 0.0008
FA	4.579 \pm 0.878	31.384 \pm 2.344	0.611 \pm 0.005	64.224 \pm 5.758	0.016 \pm 0.002	0.002 \pm 0.0006
FA+Cur	3.092 \pm 0.501	27.286 \pm 2.059	0.565 \pm 0.003	77.146 \pm 7.562	0.021 \pm 0.002	0.003 \pm 0.0009
p values						
I-II	0.000	0.000	0.000	0.000	0,000	0.003
I-III	0.268	0.026	0.007	0.168	0.005	0.108
II-III	0.002	0.006	0.145	0.009	0.005	0.202

Tablo 3.2. Kontrol, Formaldehit ve Formaldehit+Kurkumin gruplarına ait serum TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , ve Periostin düzeyleri.

Groups	TNF	YKL-40	IL-6	TGF- β	Periostin
Control	117.62 \pm 10.93	30.07 \pm 2.75	38.91 \pm 4.06	43.04 \pm 6.85	154.75 \pm 14.62
FA	182.07 \pm 19.78	41.83 \pm 4.91	49.69 \pm 4.02	83.24 \pm 8.31	199.69 \pm 16.77
FA + Cur	140.82 \pm 12.52	33.42 \pm 2.93	43.31 \pm 3.21	60.95 \pm 8.61	171.62 \pm 12.44
p values					
I-II	0.000	0.000	0.000	0.000	0,000
I-III	0.024	0.229	0.104	0.001	0.109
II-III	0.000	0.001	0.015	0.000	0.006

3.2. Histopatolojik Bulgular

Karaciğer doku kesitlerinde kontrol gurubunda karaciğerin normal histolojik yapıda, formaldehit grubunda hepatositlerin dejenerasyonu, sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik kayıp ve hepatositlerde hipertrofi, formaldehit+kurkumin grubunda ise kurkumininin iyileştirici etkisinden dolayı karaciğer yapısında genel bir iyileşme görülmesine rağmen formaldehit toksisitesine maruz kalmış hepatositlerde hala az miktarda hepatositlerin dejenerasyonu, sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik kayıp ve hepatositlerde hipertrofinin var olduğu görüldü.



Resim 3.1. (A) Kontrol (V: santral ven, s: sinüzoid, h: hepatosit), (B) Formaldehit (V: santral ven, ok başı: hipertrofik hepatosit, ince ok: dejenere hepatosit, kalın ok: hepatositlerin sitoplazmik vakuolizasyonu ve kaybı), ve (C) Formaldehit+Kurkumin (V: santral ven, ok başı: hipertrofik hepatosit, ince ok: dejenere hepatosit, kalın ok:

hepatositlerin sitoplazmik vakuolizasyonu ve kaybı, yıldız: rejenere hepatosit) gruplarına ait H&E boyaması. (H&E, x 200).

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda sıçanlarda formaldehit maruziyetine bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine güçlü bir antioksidan olan kurkuminin antioksidan ve koruyucu etkileri incelendi.

Formaldehitin solunum sistemi, santral sinir sistemi, deri, göz, testis ve menstrüel fonksiyonlar üzerinde toksik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Zararsız ve ark., 2004b). Ağız yoluyla FA alınmasını takiben üst gastrointestinal sistemde lokal korozif etki meydana getirir. Mide bulantısı, şiddetli ishal, karın ağrısı gibi semptomların ardından nekroz, perforasyon ve kanama gelişir. Daha sonra dolaşım kollapsı, şiddetli metabolik asidoz ortaya çıkar ve birkaç gün içerisinde ölüme sonuclanır (Smith, 1992).

Çalışmamızda, formaldehit uygulanan grubun ışık mikroskopik incelenmesinde karaciğer dokusunda çeşitli histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir. Benzer bulgular daha önceki çalışmalarda da gözlenmiştir (Zararsız ve ark., 2005; Bakar ve ark., 2015). Bu çalışma histopatolojik hasar aracılığıyla formaldehitin karaciğer üzerinde hücrel toksik etkisini doğrulamıştır. Ayrıca kurkumin uygulaması ile tüm bu değişikliklerin nispeten düzeltildiği de gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da kurkumin uygulamasının formaldehit hasarına bağlı olarak böbrekte gelişen histopatolojik hasarları azalttığı bildirilmiştir (Sener ve ark., 2015).

Zararsız ve ark. (Zararsız ve ark., 2005), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında intraperitoneal yolla verdikleri yüksek doz formaldehit sonucu karaciğer dokularında CAT, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde artış olduğunu ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA düzeyinde yükseliş gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Farooqui ve ark. (1986) i.p yolla verdikleri yüksek doz formaldehitin neticesinde safra sekresyonunda glutatyon konsantrasyonunun arttığını, buna karşılık karaciğer dokusunda glutatyon seviyesinin azaldığını belirlemişlerdir. Benzer olarak, Skrzydlewska (1996) da yapmış olduğu çalışmada, formik asit ve formaldehite metabolize olan metanolün, sıçan karaciğer dokusunda SOD ve CAT enzim düzeylerinde yükselişe neden olduğunu bildirmiştir. Teng ve ark. (2001) izole sıçan hepatositleri ile ilgili deneysel çalışmalarında, düşük konsantrasyonlu formaldehitin bile oksidatif hasara yol açtığını tespit etmişlerdir. Dobrzynska ve ark (2000) da, metanol uyguladıkları sıçanların karaciğer dokusunda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış olduğunu ortaya koymuşlardır. TBARS düzeyindeki bu artış, formaldehitin karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonuna ve doğal olarak oksidatif hasara yol açtığını göstermiştir. Güleç ve ark. (2006) ise ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada formaldehit uygulanan karaciğer dokularında SOD ve CAT enzim aktivitelerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

Kurkuminin ise formaldehite karşı antoksidan etkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Sener ve ark., 2015; Ciftci ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda da oksidatif hasarı gösteren TNF, YKL-40, IL-6, TGF- β , periostin, MDA, NO ve XO düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken CAT, SOD ve GSH-Px seviyesinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Formaldehit ile birlikte kurkumin uygulanan gruplarda ise bu değişimlerin kontrol grubu lehinde düzeldiği gözlemlendi. Bu yönüyle bakıldığında sonuçların bizim çalışmamızla uyumlu olduğu ve kurkuminin oksidatif hasara karşı koruyucu rolü olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak, formaldehit maruziyeti sonucunda oksidatif strese bağlı hasar ve histopatolojik hasar ile karakterize bir durum olan ve hepatositlerin dejenerasyonu, sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik kayıp ve hepatositlerde hipertrofi Őeklinde karaciğer toksisitenin ortaya ııktığı, kurkuminin ise antioksidatif ve koruyucu etkisi ile karaciğer toksisitesinin önemli ölçüde azalttığı tespit edildi. Bu durum kurkuminin antioksidatif ve koruyucu özelliği sayesinde formaldehit maruziyetine bağlı karaciğer toksisitesini önleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Formaldehitin kanda belli seviyeye ııktığında insanların karaciğeri üzerinde de histopatolojik hasar oluşturabileceği düşünölebilir. Patoloji laboratuvarında ıalıŐan personelin özellikle inhalasyon yoluyla yoğun formaldehit toksisitesine maruz kalması sonucunda karaciğerlerinde histopatolojik hasar oluŐma ihtimali mevcuttur. Bu personelin elden geldiğince formaldehitin yoğun olduğu ortamlardan uzak durması ve formaldehiti ellerinden geldiğince solumamaya ıalıŐmaları gerekmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında, karaciğer hasarına neden olan mekanizmaların anlaşılması sonucunda klinik olarak fayda sağlayacak yardımcı yeni antioksidan tedavi seğeneklerinin geliŐtirilmesi aıısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Araujo CC, Leon LL (2001). Biological activities of *Curcuma longa*. *L Mem Inst Oswaldo Cruz* 96(5):723-8.
- Bakar E, Ulucam E, Cerkezayabekir A (2015). Investigation of the protective effects of proanthocyanidin and vitamin E against the toxic effect caused by formaldehyde on the liver tissue. *Environ Toxicol* 30(12):1406-15.
- Blair A, Stewart PA, Hoover RN (1990). Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries, *Am J Ind Med*, 17, 683-699.
- Blair A, Stewart PA, Hoover RN, et al (1986). Mortality among industrial workers exposed to formaldehyde. *J Natl Cancer Inst*, 76, 1071-1084.
- Chowdhury AR, Gautam AK, Patel KG, Trivedi HS (1992). Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats, *Indian J Physiol Pharmacol*, 36, 162-168.
- Ciftci G, Aksoy A, Cenesiz S, Sogut MU, Yarim GF, Nisbet C, Guvenc D, Ertekin A (2015). Therapeutic role of curcumin in oxidative DNA damage caused by formaldehyde. *Microsc Res Tech*. 78(5):391-5.
- Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS (1998). Formaldehyde evaluation from endodontic materials, *Oral Health*, 88, 37-9.
- Dobrzynska, I., Skrzydlewska, E., Kasacka, I., Figaszewski, Z. (2000). Protective effect of N-acetylcysteine on rat liver cell membrane during methanol intoxication. *Pharm Pharmacooogi*, 52, 547-52.
- Farooqui, MY., Upreti, RK., Ahmed, AE., Ansari, GA. (1986). Influence of intraperitoneally administered formaldehyde on bile production and tissue glutathione levels in rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 53, 233-36.
- Gulec, M., Gurel, A., Armutcu, F. (2006). Vitamin E Protects Against Oxidative Damage Caused by Formaldehyde in the Liver and Plasma of Rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 290, Issue 1-2, pp 61-67.
- Hayasaka Y, Hayasaka S, Nagaki Y (2001). Ocular changes after intravitreal injection of methanol, formaldehyde, or formate in rabbits, *Pharmacol Toxicol*, 89(2), 74-78.
- Khanzadeh FA, Vaquerano MU, Khanzadeh MA, Bisesi MS (1994). Formaldehyde exposure, acute pulmoner response and exposure control options in a gross anatomy laboratory, *Am J Indust Med*, 26, 61-8.
- Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC (1987). Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure, *Arch Environ Health*, 42, 117-120.
- Ku R. H, Billings R. E (1984). Relationships between formaldehyde metabolism and toxicity and glutathione concentrations in isolated rat hepatocytes, *Chem Biol Interact*, 51(1), 25-36.
- Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Arch Gerontol Geriatr* 2002;34(1):37-46.
- Özen OA, Akpolat N, Songur A, et al (2005). Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study, *Toxicol Ind Health*, 21, 249- 254.
- Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC (2000). Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett* 115(3):195-204.

Sarnak MJ, Long J, King AJ (1999). Intravesicular formaldehyde instillation and renal complications, *Clin nephrol*, 51, 122- 25.

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

Sener U, Uygur R, Kurt O, Caglar V, Gelincik I, Gurel A, Erdogan H (2015). Protective Effects of Curcumin against Formaldehyde-induced Renal Toxicity in Rats. *West Indian Med J*. 2015 Oct 15. pii: wimj.2015.385. doi: 10.7727/wimj.2015.385.

Shaham J, Bomstein Y, Meltzer A, Kaufman Z, Palma E, Ribak J (1996). DNA-protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde in vitro and in vivo studies. *Carcinogenesis*, 17, 121- 125.

Skrzydłowska, E. (1996). Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in rats after methanol intoxication. *Rocz Akad Med Białymst*, 41,397-404.

Smith AE (1992). Formaldehyde. *Occup Med* 42: 83-8.

Teng, S., Beard, K., Pourahmad, J., Moridani, M., Easson, E., Poon, R., (2001) The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chemico Biological Interactions*, 130-132, 285-96.

Thiyagarajan M, Sharma SS (2004). Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci*;74(8):969-85.

Thrasher JD, Kilburn KH (2001). Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde, *Arch Environ Health*, 56, 300- 311.

Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N (2002). Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice, *Envir Toxicol Pharmacol*, 11, 93-100.

Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N, Pekmez H, Yılmaz H. R, Sarsılmaz M (2004a). Formaldehit Maruziyeti Sonucu Sıçan Akciğerinde Oluşan Oksidatif Hasara Karşı Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışma, *Van Tıp Derg*, 11(4), 105-112.

Zararsız İ, Kuş İ, Yılmaz H.R, Pekmez H, Ögetürk M, Sarsılmaz M (2004b). Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi, *Fırat Tıp Derg*, 9, 35-39.

Zararsız İ, Sarsılmaz M, Sonmez MF, Kose E, Yılmaz HR, Ozan E (2005). Kadavra Tespitinde Kullanılan Formaldehitin Sıçan Karaciğerinde Oluşturduğu Hasar ve Buna Omega-3 Yağ Asitlerinin Etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10(3):103-107

Zararsız I, Kus I, Akpolat N, Songur A, Ogeturk M, Sarsilmaz M (2006a). Protective effects of O-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats, *Cell Biochem Funct*, 24, 237- 244.

Zararsız I, Sönmez MF, Yılmaz HR et al (2006b). Effects of omega- 3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats, *Toxicol Ind Health*, 22, 223-229.