



ORJİNAL MAKALE / ORIGINAL ARTICLE

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi / BAUN Sağ Bil Derg
Balıkesir Health Sciences Journal / BAUN Health Sci J
ISSN: 2146-9601- e ISSN: 2147-2238
Doi: <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1067371>



Formaldehitin Sıçan Testislerine Zararı Üzerine Üzüm Çekirdeği Ekstraktının (*Vitis vinifera*) Koruyucu Etkisi

Gülşah AŞIK¹, Mehmet CAN², Emrah ÖZCAN³

¹Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi Anabilim Dalı

²Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı

³Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı

Geliş Tarihi / Received: 17.02.22, **Kabul Tarihi / Accepted:** 24.03.2022

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı formaldehitin testis dokusu üzerine olan toksik etkileri ve oluşan bu toksik etkilere karşı üzüm çekirdeği ekstraktının koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik düzeylerde araştırmaktır. **Gereç ve Yöntem:** Bu araştırma için toplam 21 adet *Wistar-Albino* cinsi erkek sıçan kullanıldı. Rastgele olarak yedilerli üç gruba ayrıldı. Grup I'deki sıçanlar kontrol grubu olarak belirlendi. Grup II'deki sıçanlara gün aşırı olarak formaldehit intraperitonel olarak enjekte edildi. Grup III'deki sıçanlara ise gün aşırı formaldehit enjeksiyonu ile birlikte her gün intragastrik olarak üzüm çekirdeği ekstraktı uygulandı. 30 günlük deney süresi sonunda tüm sıçanlar kanları alındıktan sonra dekapitasyon yöntemi ile öldürüldü ve testisleri diseke edilerek diğer dokulardan ayrıldı. Alınan testis dokularının bir kısmı süperoksitdismutaz (SOD), total antioksidant status (TAS), testosteron ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin analizi için ayrıldı. Diğer kısımları ise histopatolojik çalışmada kullanılmak üzere ayrıldı. **Bulgular:** Formaldehit uygulanan sıçanlara ait SOD ve TAS değerlerine bakıldığında; kontrol grubu ve üzüm çekirdeği ekstraktı ile tedavi edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmadığı görüldü. Testosteron düzeyleri incelendiğinde ise üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanan grubun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı. Ayrıca formaldehit maruziyeti sonrası intersitisyel ödemin ve seminifer tübül lümenlerindeki genişlemenin azaldığı, seminifer tübül içindeki germ hücre sayısının normale yakın olduğu tespit edildi. **Sonuç:** Formaldehitin testis dokusunda zararlı etkiler oluşturduğu ve üzüm çekirdeği ekstraktının bu etkilere koruyucu etki gösterdiği belirlendi. **Anahtar Kelimeler:** Formaldehit, Sıçan, Testis, Üzüm çekirdeği (*Vitis Vinifera*).

Protective Effect of Grape Seed Extract (*Vitis Vinifera*) on the Damage of Formaldehyde to Rat Testes

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the toxic effects of formaldehyde on testicular tissue and the protective effect of grape seed extract against these toxic effects at biochemical and histopathological levels. **Materials and Methods:** For this purpose, 21 male Wistar-Albino rats were divided in to three groups. First group rats were used as control. Second group rats were injected intraperitoneal every other day with formaldehyde. Third group rats were administered grape seed extract with intragastric injection of formaldehyde. After thirty days, all rats were killed by decapitation after blood samples were taken. The testes of rats were removed and dissected from the surrounding tissue. The activities of superoxide dismutase (SOD), total antioxidant serum (TAS), testosterone and malondialdehyde (MDA) were determined in the some of testicular tissue specimens. The remaining testicular tissue specimens were used for histopathological examination. **Results:** The activities of SOD and TAS were examined in second group; they were not significantly decreased. It was seen decrease of testosterone degrees in rats administered grape seed extract with exposure of formaldehyde compared to control group. Furthermore, histopathological damages caused by formaldehyde were restored in this group. **Conclusion:** Formaldehyde exposure caused to harmful effects in testes tissue and grape seed extract have protective effects to these damages.

Keywords: Formaldehyde, Rat, Testes, Grape Seed (*Vitis Vinifera*).

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Mehmet CAN, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

E-mail: mehmetcan@balikesir.edu.tr

Bu makaleye atıf yapmak için / Cite this article: Aşık, G., Can, M. & Özcan, E. (2022). Formaldehitin Sıçan Testislerine Zararı Üzerine Üzüm Çekirdeği Ekstraktının (*Vitis vinifera*) Koruyucu Etkisi. *BAUN Health Sci J*, 11(3), 487-494. <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1067371>



BAUN Health Sci J, OPEN ACCESS <https://dergipark.org.tr/tr/pub/balikesirsbd>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Formaldehit; aldehitler ailesinden, keskin kokulu ve renksiz ayrıca suda iyi çözünebilen kimyasal bir bileşiktir. Formaldehit çok reaktif bir bileşik olduğu için kolaylıkla her ortamda gaz haline dönüşebilmektedir (Feron ve ark., 1991; Smith, 1992). Formaldehit, vücuda başlıca solunum, deri ve sindirim yoluyla alınmaktadır. Egzoz gazı, sigara dumanı ve ortamdan buharlaşan formalin solunum yoluyla formaldehitin vücuda girişini oluştururken, sindirim yoluyla girişini gıdalarda bulunan katkı maddeleri, meyve sebzeler ve içme suyu sağlar

(www.cdc.gov/nceh/drywall/docs/WhatYouShouldKnowaboutFormaldehyde.pdf., 2015). Formaldehit vücuda giriş yaptığımda karaciğer ve kan hücrelerinden biri olan eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörlüğü ile formik aside dönüşür. FDH enzimi bu reaksiyonda glutatyonukofaktör olarak kullanır. Formik aside dönüşerek idrar ve feçes yoluyla veya karbondioksite okside olarak solunum yoluyla vücuttan atılımı gerçekleşir (Smith, 1992; Zararsız ve ark., 2007). Formaldehit'in organizmadaki sistemlerin birçoğunda zararlı etkilerinin olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Canbilen ve ark., 1999; Sarsılmaz ve ark., 2007). Formaldehit üreme sistemi üzerine de olumsuz etkilere sahiptir. Formaldehit'in üreme hücrelerine zarar verdiği, dişi ve erkek üreme hücrelerinde primer ve sekonder infertiliteye neden olduğu bildirilmiştir (Thrasher ve Kilburn, 2001). Formaldehit maruziyetinin sperm sayısı ve miktarında (Chowdhury ve ark., 1992), testis ağırlıkları ve seminifer tübül çaplarında azalmaya neden olduğu ve Leydig hücrelerinde histopatolojik değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte serum testosteron, çinko, bakır ve demir değerlerinde düşüklüğe sebep olduğu belirlenmiştir (Özen ve ark., 2005; Sarsılmaz ve ark., 1999).

Günümüzde bitkilerden elde edilen özütler tedavi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Zhou, 2006). Üzüm çekirdeği ekstraktı da bu amaçla kullanılan maddelerden bir tanesidir. Üzüm ve üzüm ürünleri monomerik flavanol, dimerik, trimerik ve polimerik prosiyanidin gibi flavonoidler ile gallik ve epigallik asit benzeri fenolik asit müştaklarını kapsamaktadır. Üzümün kabuk ve çekirdek kısmında ise yüksek oranda kondanse tanenler olarak bilinen proantosiyanidler bulunur (Kaya, 2008). Cos ve ark. (2004) göre proantosiyanidinlerin metalleri yakalayıcı etkisinde B-halkasının rolü olduğu iddia edilmiştir. Proantosiyanidinler prooksidatif enzimlerin inhibisyonu vasıtasıyla da antioksidan aktivite gösterebilirler.

Taze meyve ve yeşil sebze tüketiminin artması insan vücudunda antioksidan durumunu geliştirir. Diğer taraftan sigara içme ve fiziksel stres gibi sebepler serbest radikal üretimini artırarak dejeneratif hastalıklara yol açabilir. Bütün bunlar bir arada ele alındığında, araştırmalar üzüm çekirdeği ekstraktının biyoyararlanımının fazla olduğunu ve çeşitli kimyasalların, çevresel faktörlerin ve ilaçların neden olduğu hedef organ toksisitesine karşı koruyucu rol

oyunabileceğini göstermektedir. (Bagchi ve ark., 2002).

Sunulan çalışmada formaldehitin testis dokusu üzerindeki zararlı etkileri incelenmiştir. Ayrıca bu zararlı etkilere karşı üzüm çekirdeği ekstraktının muhtemel koruyucu etkileri de değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvan materyali

Araştırmada ortalama vücut ağırlığı 250-300 gr, toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar oda sıcaklığı 21 ±2°C olan 12 saat aydınlık (07.00-19.00) ve 12 saat karanlık (19.00-07.00) kafeslerde barındırıldı. Araştırma boyunca hayvanlar besin ihtiyacı temin edilen hazır pelet yem ve normal çeşme suyu ile karşılandı.

Deney protokolü

Çalışmada kullanılan sıçanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (Kontrol grubu)'de bulunan yedi adet sıçana deney süresi boyunca hiçbir şey uygulanmadı. Sıçanlar pelet yem ve içme suyu ile beslenmelerini sürdürdüler. Grup II (formaldehit grubu)'de bulunan yedi adet sıçana serum fizyolojik ile 0.1 oranında sulandırılmış 10 mg/kg formaldehit intraperitoneal olarak 30 gün boyunca gün aşırı olarak uygulandı. Grup III (formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu)'de bulunan yedi adet sıçana gün aşırı uygulanan serum fizyolojik ile 0.1 oranında sulandırılmış 10 mg/kg formaldehitin yanı sıra, serum fizyolojik ile 0.1 oranında sulandırılmış 25 mg/kg dozundaki üzüm çekirdeği ekstraktı intragastrik gavaj yoluyla 30 gün boyunca her gün uygulandı. 30 gün sonunda eter anestezisi altında kanları alındıktan sonra tüm hayvanlar dekapite edilerek öldürüldü. Sıçanlara ait testis dokuları histolojik analizler için kullanıldı.

Histolojik analiz

Histopatolojik değerlendirme için alınan testis dokusu, %10'luk formaldehit ile tespit edildi ve 0.3 cm boyutunda kesitler alınarak doku kasetlerine konuldu. Doku kasetleri, formol-alkol-xylo-parafin setinden geçirilerek bloklama yapıldı. Parafin kesitler beş mikron kalınlığında kesilerek, lam üzerine konuldu ve etüvde 60-70 °C'de parafin eriyene kadar tutuldu. Kesitler daha sonra, önceden hazırlanan xylo içerisinde yavaş bir şekilde geçirildi. Bu işlem sonrası kesitler farklı yüzdelerdeki alkol solüsyonlarından geçirildi. Kesitler parafinden tamamen arındırılana kadar distile su ile yıkandı (deparafinizasyon). Bu kesitler, Mayer Hemotoksilen çözeltisi içinde 45 saniye ile 1.5 dakika bekletilerek boyandı. Daha sonra çeşme suyunda yıkandı ve %70'lik alkolde hazırlanan; %0.5'lik HCL solüsyonuna batırıldı. Çeşme suyu ile yıkanan lamlar ardından %1'lik NH₃'ten geçirildi. %50'lik alkol solüsyonundan geçirilen lam üzerindeki dokuların boyama işlemi eozin içinde 5-15 saniye bekletilerek yapıldı. Boyama işlemi gerçekleştikten sonra dokular tekrar çeşme suyu ile yıkandı. Daha sonra %70-99.9'luk alkol solüsyonlarından geçirildi (dehidrasyon). Hazırlanan lamlar, minimum 10 dakika xylo'de bekletildi ve mikroskop altında uygun inceleme için

üzerlerine lameller kapatıldı. Testis dokuları eksize edilerek hazırlanan histopatolojik kesitler ışık mikroskopuyla değerlendirildi. Kesitlerden rastgele seçilen semifer tubül çapları ışık mikroskopunda Lecia Application Suit (acquire image) programı kullanılarak incelendi.

Biyokimyasal parametrelerin analizi

Testis dokuları, öncelikle soğuk (+4°C) 0.15'lik M'lık potasyum klorür (KCL) ile yıkanarak kurutma kâğıdı ile kurutuldu. Homojenizatör (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) vasıtasıyla 0.15'lik M'lık KCL çözeltisi içerisinde 16000 rpm'de üç dakikada homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabı içerisinde yapıldı. Homojenat 5000 xg'de bir saat (+4°C) santrifüjlenerek süpernatant elde edildikten sonra analiz zamanına kadar -40°C'de bekletildi. Süpernatanda antioksidan enzimlerden süperoksitdismutaz (SOD) ve total antioksidan status (TAS) ile oksidatif hasarın bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) ölçümleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

SOD analizi

Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen metoda göre çalışıldı. Hazır ticari kit (Cayman assay kit 70600002 USA) ile ELISA (Thermo Multiskan FC Microplate Photometer, USA)'da süperoksitdismutaz enzim değeri analizleri çalışıldı. Sunulan çalışmada SOD düzeyi ünite/gram (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

TAS analizi

TAS analizleri, hazır ticari kit (Total Antioxidant Status Assay kit, Rel Assay Diagnostics, Turkey) ile ELISA (Thermo Multiskan FC Microplate Photometer, USA)'da çalışıldı. TAS yeni otomatik ölçme yöntemleri kullanılarak ölçüldü. TAS düzeyi, mmol trolox Equiv./mg protein olarak belirtildi.

MDA analizi

MDA analizi Yoshioka ve ark. (1979) bildirdiği yöntemle çalışıldı. Çıkan sonuçlar nanomol/gram (nmol/g) doku proteini ile ifade edildi.

Testosteron analizi

Testosteron analizleri hazır ticari kit (Cayman Testosterone EIA Kit 582701 USA) ile ELISA (Thermo Multiskan FC Microplate Photometer, USA)'da çalışıldı. Çalışmamızda testosteron birimi, pg/mg protein ile ifade edildi.

İstatistiksel analiz

Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi "IBM SPSS Statistics 21" programı ile yapıldı. Non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test kullanılarak grupların dağılımları değerlendirildi. Gruplar normal dağılım gösterdiği için değerler karşılaştırılırken parametrik testlerden one-way ANOVA ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. P<0.05 olan değerlerin anlamlı olduğu kabul edildi. Hesaplanan veriler aritmetik ortalama ±standart sapma (SS) şeklinde tabloda belirtildi.

Araştırmanın etik yönü

Çanakkale On sekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik

Kurulunun 30.05.2013 tarihinde karar numarası 2013/05-08 olan etik kurul kararı sonucu çalışmaya başlanmıştır.

BULGULAR

Deney süresi boyunca kontrol grubu olarak sıçanların motor hareketlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken formaldehit uygulanan grupta, motor hareketlerde yavaşlama ve kilo kaybı şeklindeki bulgular tespit edildi. Formaldehit maruziyetinin yedinci gününden itibaren ise deneklerin kıllarında sararma olduğu ve bu sararmanın deney süreci boyunca devam ettiği görüldü. Formaldehit ile birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanan sıçanlarda ise vücut ağırlığı artışı motor hareketlerinde iyileşme ve kıllardaki sararmaların azaldığı görüldü (Tablo 1).

Tablo 1. Gruplarda vücut ağırlığı değerleri.

	Ortalama (g)	Standart Sapma
Kontrol grubu	304.60	18.62
Formaldehit grubu	299.45	32.90
Formaldehit ve Üzüm çekirdeği ekstraktı grubu	319.86	48.66

Biyokimyasal bulgular

Serum TAS düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 1.34, formaldehit grubunda 0.74 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 1.12 mmol trolox Equiv./mg olarak hesaplandı. Formaldehit uygulaması kan serum TAS düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalttı (p<0.05). Formaldehit ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve kontrol grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu karşılaştırıldığında çıkan sonuçların istatistiksel olarak formaldehit uygulanan gruba göre arttığı görüldü (p>0.05).

Serum SOD düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 1.31, formaldehit grubunda 1.25 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 1.22 U/g olarak hesaplandı. Formaldehit uygulanmasına bağlı olarak kontrol grubu ile formaldehit grubu; formaldehit grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve kontrol grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu serum SOD değerleri istatistiksel olarak formaldehit grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde arttığı belirlendi, ancak sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). Serum Testosteron düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 316.63, formaldehit grubunda 269.36 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 263.75 pg/mg olarak hesaplandı. Formaldehit uygulanması sonucunda kontrol grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı ve kontrol grubu ile formaldehit grubundaki istatistiksel sonuçlar anlamlı bulundu (p<0.05).

Tablo 2. Gruplarda biyokimyasal bulguların verileri.

	TAS düzeyi ortalaması (Equiv./mg)		SOD düzeyi ortalaması (U/g)		Testesteron düzeyi ortalaması (pg/mg)		MDA düzeyi ortalaması (nmol/g)	
	Serum verileri	Doku verileri	Serum verileri	Doku verileri	Serum verileri	Doku verileri	Serum verileri	Doku verileri
Kontrol grubu	1.34	1.21	1.31	0.2928	316.63	202.10	17.57	7.87
Formaldehit grubu	0.74	1.25	1.25	0.2965	269.36	198.74	18.30	8.28
Formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu	1.12	1.41	1.22	0.2902	263.75	194.27	18.08	8.20

Serum MDA düzeyi ortalaması kontrol grubunda 17.57, formaldehit grubunda 18.30 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 18.08 nmol/g olarak tespit edildi. Formaldehit uygulanması sonucunda kontrol grubu ile formaldehit grubu; formaldehit grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve kontrol ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu serum MDA değerleri istatistiksel olarak formaldehit grubu lehine arttı ($p>0.05$). Üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanmasıyla serum MDA düzeyinde anlamlı bir azalma olmadığı görüldü.

TAS düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 1.21, formaldehit grubunda 1.25 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 1.41 trolox Equiv./mg olarak bulundu. Formaldehit uygulanmasına bağlı olarak kontrol grubu ile formaldehit grubu; formaldehit grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve kontrol ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu TAS değerleri istatistiksel olarak formaldehit grubu lehine arttı ($p>0.05$). İstatistiksel olarak, üzüm çekirdeği ekstraktının dokuların TAS değerleri üzerine anlamlı bir düzeltici etkisinin olduğu gözlemlendi.

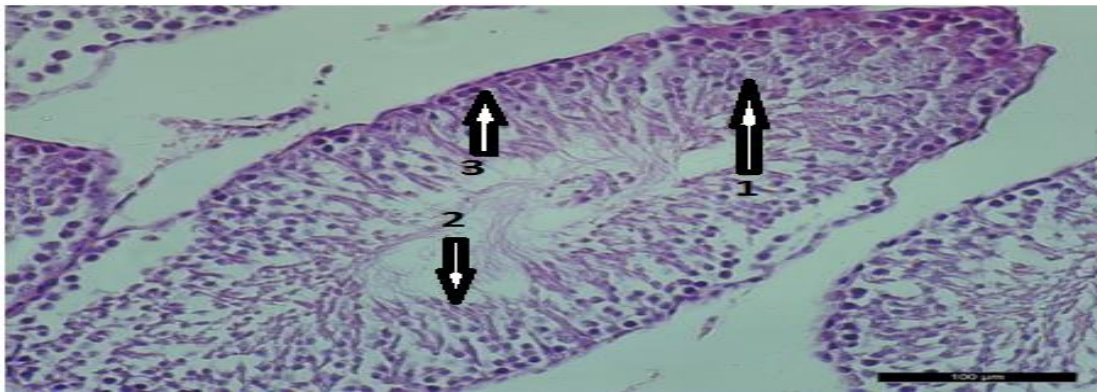
SOD düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 0.2928, formaldehit grubunda 0.2965 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 0.2902 U/g olarak hesaplandı.

Formaldehit uygulanması sonucunda olarak kontrol grubu ile formaldehit grubu; formaldehit grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve kontrol ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu SOD değerleri istatistiksel olarak formaldehit grubu lehine arttı, ancak elde edilen sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Testosteron düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 202.10, formaldehit grubunda 198.74 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 194.27 pg/mg olarak hesaplandı. Formaldehit uygulanması bağlı olarak istatistiksel olarak hesaplanan sonuçlara göre kontrol grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu testosteron değerleri anlamlı bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile formaldehit grubu ve formaldehit ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu arasındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

MDA düzeyi ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubunda 7.87, formaldehit grubunda 8.28 ve formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubunda 8.20 nmol/g olarak tespit edildi. Yapılan deney sonucuna göre kontrol grubu ile formaldehit grubu; kontrol grubu ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grubu ve formaldehit ile formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı grupları arasındaki istatistiksel olarak çıkan sonuçlar anlamlı olarak bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

1



Şekil 1. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (bar: 200 µm, H&E x 4 BBA).
1: Sertoli hücresi, 2: Spermatojenik hücre serileri, 3: Leydig hücreleri (µm: Mikrometre, H&E x 4 BBA: Hemotoksilen ve Eozin ile 4'lük büyük büyütme alanı)

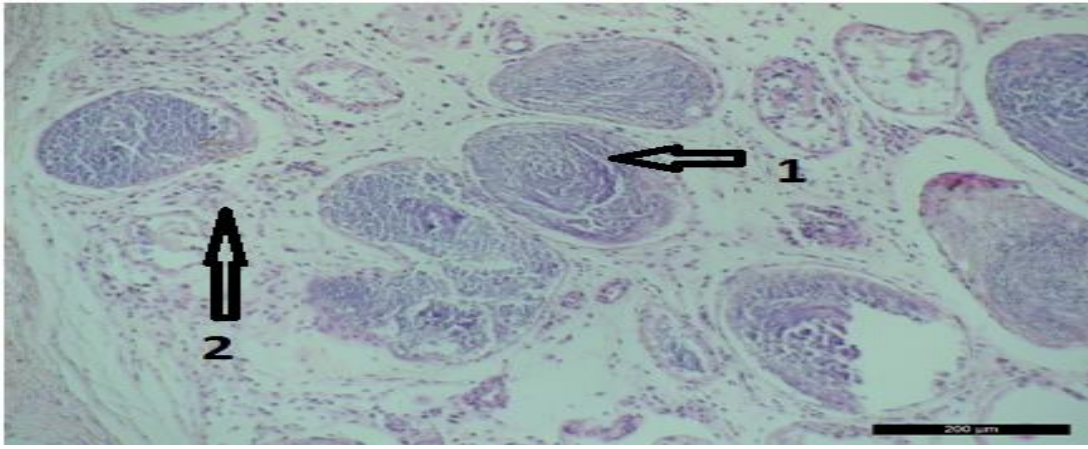
Histopatolojik bulgular

Çalışmamızda, histopatolojik değişiklikleri açığa çıkarmak amacı ile her üç gruba ait testis doku örnekleri incelendi.

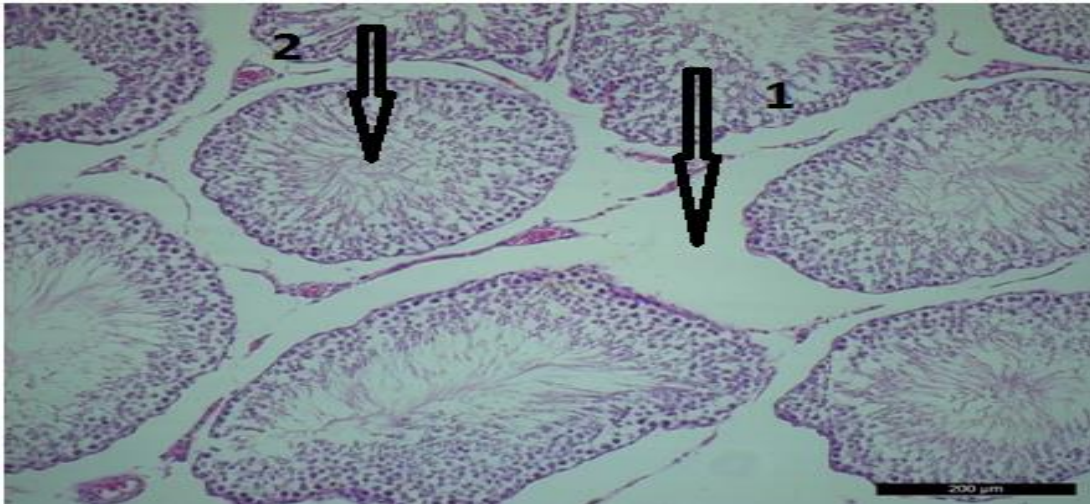
Kontrol grubunu oluşturan sıçanların testis doku örneklerinin mikroskopik incelemelerinde, tubuli seminiferi kontorti ve intersitisyel alanların normal histolojik görünümde olduğu belirlendi. Seminifer tubül sınırlarının düzgün, sertoli hücrelerinin belirgin olduğu tubüllerde; spermatogenik hücrelerinin düzenli dizildiği, spermiyogenezin tüm basamaklarının belirgin olduğu, intersitisyel alanlarda özellikle damar çevrelerinde gruplar halinde oval çekirdekli Leydig hücrelerinin bulunduğu görüldü (Şekil 1).

Formaldehit verilen sıçanların testis doku örneklerinde, tubuli seminiferi kontortiler de yaygın ve şiddetli nekroz

ile intersitisyel bölgede ödem, fibrin iplikleri ve kanama ile Leydig hücrelerinde nekroz tespit edildi. Sıçanların altısında tubuli seminiferi kontorti'de yaygın ve şiddetli nekroz sebebiyle sertoli hücre ve spermatogenik hücrelerin tamamen gözden silinerek geriye sadece bazal tabakanın kaldığı görüldü. Yoğun nekrozun şekillendiği bazı tubüllerde dökülmüş nekrotik hücreler nedeniyle dilatasyon şekillenmişti. Daha az şiddetli nekrozun şekillendiği dört vakada ise, intersitisyel alanda ödem, hiperemi ile birlikte bazı tubüllerde nekrotik hücrelerin yanında az sayıda sağlam kalmış sertoli ve spermatogenik hücrelerin bulunduğu, kanal lümenlerinde spermatozoa yoğunluğunda azalma şekillendiği dikkati çekti (Şekil 2).



Şekil 2. Formaldehit uygulanan sıçan testis dokusunda yaygın ve şiddetli nekroz, intersitisyel bölgede yoğun ödem nedeniyle genişleme (bar: 200 µm H&E x 4 BBA). 1: Nekrotik hücreler, 2: İntersitisyel ödem (µm: Mikrometre, H&E x 4 BBA: Hemotoksilen ve Eozin ile 4'lük büyükbüyütme alanı)



Şekil 3. Formaldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktı verilen sıçan testis dokusu (bar: 200 µm, H&E x 4 BBA). 1: İntersitisyel ödem, 2: Spermatogenetik hücreler (µm: Mikrometre, H&E x 4 BBA: Hemotoksilen ve Eozin ile 4'lük büyük büyütm alanı).

Formaldehit ile birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı verilen sıçanların testis dokusu, sadece formaldehit verilen sıçanlarla kıyaslandığında patolojik bulguların şiddeti ve sayısında azalma saptandı. Bu grupta ayırıcı bulgu tubuli seminiferi kontortiller de, formaldehit grubunda görülen yaygın ve şiddetli nekrozun yerine segmental nekrozların şekillenmesiydi. Segmental nekroz şekillenen beş vakada tubül lümenlerinde pembe renkli hiyalinize materyal, nekroze olup dökülmüş hücreler ile birlikte sağlam kalan alanlarda dejeneratif sertoli hücrelerine rastlandı. Segmental nekroz görülen tubüllerde spermiyogenezis tamamen kaybolmuş görünürken, etkilenmenin daha az olduğu tubüllerde farklı derecelerde de olsa spermiyogenezin değişik aşamalarına rastlandı.

İntersitisyel alanda ise ödemin yanı sıra eozinofilik sitoplazmalı dejeneratif Leydig hücreleri ile tek tük nekrotik hücreler belirlendi. Segmental nekroz görülmeyen deneklerin testis dokularında, intersitisyel alanlarda belirgin ödem, tubüllerde lümenine yakın sertoli ve spermatogenik hücrelerde nekroz nedeniyle dökülme ile çok sayıda spermatozalar görüldü (Şekil 3).

TARTIŞMA

Formaldehit; aldehitler grubundan, oldukça reaktif, renksiz, keskin kokulu ve ayrıca suda iyi çözünen bir kimyasal bileşiktir. Literatürde yaygın kullanım alanı olan formaldehit ile ilgili yapılan çalışmalarda, formaldehit'in uygulama şekli, dozu ve etki süresi ile ilgili çeşitli çalışmalar ortaya çıkmıştır. Yapılan literatür taramalarında, 0.1 ppm ile 1000 ppm aralığında farklılık gösteren ve uygulama süresi on altı gün ile iki yıl arasında süren çalışmaların olduğu görülmüştür (Canbilen ve ark., 1999; Çelik ve ark., 2001; Sarsılmaz ve ark., 1999).

Balu ve ark. (2005a-2005b) yılında yapmış olduğu çalışmaya göre; genç ve yaşlı sıçanlara günlük 100 mg/kg oral üzüm çekirdeği ekstraktının 30 gün süresince verilmesi, yaşlı olan sıçanlarda omurilik, serebral korteks, striatum ve hippokampus alanlarında artan; protein karbonil, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarını önemli ölçüde azaltmıştır. Azalan enzimatik (SOD, GPx ve CAT) ve non-enzimatik (GSH, E ve C vitamini) antioksidanlar, üzüm çekirdeği ekstraktı verilmeyen yaşlı sıçanlara göre önemli ölçüde artmıştır. Ancak sunulan deneysel çalışmada üzüm çekirdeği grubuna ait SOD değerinin kontrol ve formaldehit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmadığı görüldü. Iwasaki ve ark. (2004) yapmış olduğu bir çalışmada gastrik mukoza hasarı oluşturulan sıçanlara içme suyunda %0.002, %0.02, % 0.2 veya %1 oranında iki hafta boyunca adlibitum üzüm çekirdeği ekstraktı verilmiştir. Deneysel çalışma sonunda üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanmasının gastrik mukoza hasarı ve MPO aktiviteleri önemli ölçüde baskıladığı, SOD aktivitesini ise artırdığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada formaldehite maruz kalan testis doku örneklerinde SOD aktivitelerinin gruplara göre istatistiksel olarak formaldehit uygulanan grupta anlamlı bir şekilde arttığı, TAS değerinin ise formaldehit ile üzüm çekirdeği

uygulanan grupta anlamlı olarak arttığını, formaldehit uygulanan grupta ise azaldığı gözlemlendi.

Testosteron, Leydig hücrelerinden salgılanan ve germinal hücrelerin bölünme ve gelişmesinde etkili olan bir hormondur. Bu hormon erkek cinsiyet organlarının gelişmesine neden olur (Hall ve Guyton, 2006). Yapılan çalışmada formaldehit uygulanan gruptaki testosteron düzeyi formaldehit uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış ve formaldehit ile birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı verilen grupta ise artmıştır. Çalışmamızın biyokimyasal verileri incelendiğinde formaldehit ile birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanan sıçanlara ait testis dokusundaki testosteron değerinin formaldehit uygulanan gruptaki sıçanların testosteron değerlerine göre istatistiksel anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

Metabolizma, oksidan streslere karşı kendi antioksidan sistemlerini ortaya çıkararak oksidatif strese karşı çıkmaktadır. Oluşan oksidatif stres, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmaları ile tespit edilmektedir. TAS değeri bütün bu bileşimlerin hepsini temsil etmektedir. Deneysel olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada, testis dokusundaki TAS değerlerini karşılaştırdığımızda istatistiksel açıdan anlamlı bir değişme olmadığı saptandı. Sadece serum TAS değerinin, kontrol grubu ile formaldehit uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif hasarı gösteren parametrelerden en önemlisi malondialdehittir (MDA). Zhou ve ark. (2006) yılında yaptıkları çalışmaya göre formaldehitin oksidatif stresi yükselterek testisin yapı ve fonksiyon bozukluğuna yol açtığı bu durumun E vitamini ile düzeltildiği gösterilmiştir. Tang ve ark. (2003) yaptığı çalışmaya göre farelere beş gün boyunca intraperitoneal olarak formaldehit uygulanması sonucunda testis doku MDA değerlerinde anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Ayrıca Zararsız ve ark. (2006) yaptığı bazı deneysel çalışmada formaldehit uygulanması sonucu dokularda oksidatif hasar oluştuğu gözlemiştir. Yürütülen çalışmanın doku MDA verileri; Zhou ve ark. (2006), Tang ve ark. (2003) ve Zararsız ve ark. (2006) belirttiği sonuçlar ile paraleldir. Ancak sadece serum MDA analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde olmadığı görülmüştür. Deneysel olarak yapılmış olan birçok çalışmada, formaldehit maruziyeti sonrasında morfolojik olarak sıçanların testislerinde farklılıklar gözlenmiştir (Chowdhury ve ark., 1992; Özen ve ark., 2005; Tang ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2006). Zhou ve ark. (2006) yaptığı deneysel bir çalışmada iki hafta boyunca formaldehit inhalasyonu sonrasında seminifer tubüllerde atrofi olduğu görülmüştür. Özen ve ark. (2005) ile Sarsılmaz ve ark. (1999) yapmış olduğu çalışmalara göre formaldehit maruziyetinin testis ağırlıkları ve seminifer tubül çaplarında azalma meydana getirdiği belirtilmiştir. Benzer şekilde, deneysel olarak yapılan başka çalışmalarda da formaldehitin sperm sayıları ve miktarında azalma neden olduğu görülmüştür (Chowdhury ve ark., 1992; Hall ve Guyton, 2006; Iwasaki ve ark., 2004; Tang ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2006).

Sunulan çalışmada literatür bildirimleriyle uyumlu sonuçlar ortaya çıkmıştır. Formaldehit maruziyetiyle testis hücrelerindeki interstisyel ödemin arttığı, tubül lümenlerinin genişlediği, tubüllerdeki germ hücreleri ile spermatazoa sayısında ve de Leydig hücrelerinde azalma olduğu görülmüştür.

SONUÇ

Elde edilen bulgular ışığında formaldehit maruziyetiyle birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı uygulanan sıçanlara ait testis doku örneklerindeki SOD değerleri ve TAS parametrelerinin anlamlı bir şekilde artmadığı; testosteron değerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. MDA seviyelerinin ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Ayrıca histopatolojik olarak yapılan incelemelerde, formaldehit ile meydana gelen patolojik hasarın, üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan özelliği sayesinde kısmen giderildiği tespit edilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar bu makalenin araştırılması, yazarlığa ve/veya yayınlanması ile ilgili olarak çıkar çatışması beyan etmemiştir.

Yazar Katkıları

Plan, tasarım: MC, GA; **Gereç, Yöntem ve veri toplama:** GA, EÖ; **Analiz ve yorum:** MC, GA; **Yazım ve eleştirel değerlendirme:** GA.

KAYNAKLAR

- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S., Ray, S. D., Sen, C. K., & Preuss, H. G. (2002). Cellular protection with proanthocyanidins derived from grapeseeds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957, 260-270. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02922.x>
- Balu, M., Sangeetha, P., Haripriya, D., & Panneerselvam, C. (2005a). Rejuvenation of antioxidant system in central nervous system of aged rats by grapeseed extract. *Neuroscience Letters*, 383, 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.04.042>
- Balu, M., Sangeetha, P., Murali, G., & Panneerselvam, C. (2005b). Age-related oxidative protein damages in central nervous system of rats: modulatory role of grapeseed extract. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23, 501-507. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2005.06.001>
- Canbilen, A., Sezen, S., Avunduk, M. C., & Con, N. E. (1999). Formaldehit ve toksik etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 9, 33-39.
- Chowdhury, A. R., Gautam, A. K., Patel, K. G., & Trivedi, H. S. (1992). Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 36, 162-168.
- Cos, P., De Bruyne, T., Hermans, N., Apers, S., Berghe, D. V., & Vlietinck, A. J. (2004). Proanthocyanidins in healthcare: current and new trends. *Current Medicinal Chemistry*, 11, 1345-1359. <https://doi.org/10.2174/0929867043365288>
- Çelik, H. H., Sargon, M. F., Çelik, M. H., Uslu, S. S., & Çelik, T. H. A. (2001). Review of the health effects of formaldehyde toxicity. *Morfoloji Dergisi*, 9, 49-52.

- Feron, V. J., Till, H. P., De Vriger, F., Woutersen, R. A., Cassee, F. R., & Van Bladeren, P. J. (1991). Aldehydes: Occurrence carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. *Mutation Research*, 259, 363-385. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90128-9](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90128-9)
- Formaldehyde Sampling of FEMA Temporary-Housing Trailers, 2015: www.cdc.gov/nceh/drywall/docs/WhatYouShouldKnowaboutFormaldehyde.pdf. Erişim tarihi:05.07.2015
- Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2006). *Textbook of medical physiology*. Elsevier, Philadelphia.
- Iwasaki, Y., Matsui, T., & Arakawa, Y. (2004). The protective and hormonal effects of proanthocyanidin against gastric mucosal injury in Wistar rats. *Journal of Gastroenterology*, 39, 831-837. <https://doi.org/10.1007/s00535-004-1399-5>
- Kaya, S. (2008). *Tıbbi botanik ve tıbbi bitkiler, "Beşeri hekimlikte kullanılan tıbbi bitkiler"*. Medisan Yayinevi, Ankara.
- Özen, O. A., Akpolat, N., Songur, A., Kuş, İ., Zararsız, İ., Özçmak, V. H., & Sarsılmaz, M. (2005). Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rattes: an immunohistochemical study. *Toxicology and Industrial Health*, 21, 249-254. <https://doi.org/10.1191/0748233705th235oa>
- Sarsılmaz, M., Özen, O. A., Akpolat, N., Kuş, İ., & Songur, A. (1999). Subakut dönemde solunan formaldehitin sıçanların Leydig hücreleri üzerindeki histopatolojik etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13, 37-40.
- Sarsılmaz, M., Kaplan, S., Songur, A., Çolakoğlu, S., Aslan, H., Tunç, A. T., Özen, O. A., Turgut, M., & Baş, O. (2007). Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of celllayer in hippocampus and hemisphere in therat: a stereological study. *Brain Research*, 1145, 157-167. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.01.139>
- Smith, A. E. (1992). Formaldehyde. *Occupational Medicine*, 428, 83-88.
- Sun, Y., Oberley, L. W., & Li, Y. A. (1988). Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34, 497-500.
- Tang, M., Xie, Y., Yi, Y., & Wang, W. (2003). Effects of formaldehyde on germ cells of malemice. *Wei Sheng Yan Jiu*, 32, 544-548.
- Thrasher, J. D., & Kilburn, K. H. (2001). Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 56, 300-311. <https://doi.org/10.1080/00039890109604460>
- Yoshioka, T., Kawada, K., & Shimada, T. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism aganist activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics & Gynecol*, 135, 372-376. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(79\)90708-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(79)90708-7)
- Zararsız, İ., Kuş, İ., Akpolat, N., Songur, A., Ögetürk, M., & Sarsılmaz, M. (2006). Protective effects of omega 3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell Biochemistry & Function*, 24, 237-244. <https://doi.org/10.1002/cbf.1204>

- Zararsız, İ., Kuş, İ., Ögetürk, M., Akpolat, N., Köse, E., Meydan, S., & Sarsılmaz, M. (2007). Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study. *Cell Biochemistry & Function*, 25, 413–418.
<https://doi.org/10.1002/cbf.1315>
- Zhou, D., Qiu, D. S., Zhang, J., Tian, H., & Wang, H. X. (2006). The protective effects of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian Journal of Andrology*, 8, 584-588.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2006.00198.x>