

# KEMELERDE FORMALDEHİDİN KEMİK İLİĞİ, DERİ, DALAK, KARACİĞER, AKCİĞER ve BÖBREK ÜZERİNE ETKİSİNİN HISTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Yrd. Doç. Dr. Esin YILDIZ\*, Prof. Dr. Fahrettin GÖZE\*

**ÖZET:** Formaldehit keme (sıçan, rat)'lerde, nazal bölge için iyi tanınan bir karsinogen olmasına rağmen, kemik iliği üzerine etkisi konusundaki bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmada 2 aylık erkek albino kemelere, subletal dozda (40 mg/kg), iki ayrı süredeki (15 ve 30 gün) kronik uygulamada subkutan (sc) formaldehit solüsyonu verilerek öncelikle kemik iliği olmak üzere deri, karaciğer, dalak, akciğer ve böbreklerdeki histopatolojik değişiklikler araştırıldı. Deney grubu kemelerde, enjeksiyon bölgesinde tüylerin sarardığı, histopatolojik incelemede bu bölgedeki epidermiste erozyon, dermis ve subkutan dokuda koagülasyon nekrozu, nekroz çevresinde ise iliitabi granülasyon dokusu gelişimi görüldü. Deney grubu kemelerin kemik iliklerinde myeloid hiperplazi, eozinofillerde artış ve karaciğerdeki Kupffer hücre hiperplazisi dışında kemik iliği, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında kontrol grubundan belirgin bir farklılık gösteren herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Deney sonucundaki bu bulgular, formaldehidin uygulama bölgesinden uzakta yer alan organlarda makromoleküllere bağlanmasının metabolik bağlanma şeklinde, respiratuar mukoza, deri gibi giriş yerinde proteinlere bağlanmasının ise öncelikle kovalent (direkt) bağlanma şeklinde olduğu görüşünü destekledi.

**ANAHTAR KELİMELE:** Formaldehid, deri, kemik iliği, karaciğer, histopatoloji

**SUMMARY:** HISTOPATHOLOGIC CHANGES IN THE BONE MARROW, SKIN, SPLEEN; LIVER; LUNG AND KIDNEY IN ALBINO RATS FOLLOWING EXPOSURE TO FORMALDEHYDE: Formaldehyde is a well known nasal carcinogen in rats. Little is known about the effects of it on the bone marrow. In this male 2 months old albino rats exposed to sublethal concentrations of formaldehyde (40 mg/kg) by subcutaneous injection for 15 and 30 days. It was searched priority histopathologic changes in the bone marrow. In addition, the effect of formaldehyde in the skin, liver, spleen, lung and kidney was searched for. Grossly, local effect of the formaldehyde was yellow discoloration of the fur. Microscopically, ulceration in the epidermis, coagulation necrosis in the dermis, granulation tissue around necrosis was observed. Statistically, there was no difference between the ratios of histopathologic changes in bone marrow, liver, lung, kidney and spleen in experimental groups expect myeloid hyperplasia and increased eosinophil leucocytes in bone marrow and Kupffer cell hyperplasia in liver. Consequently, these findings supported that the major route of macromolecules labeling of formaldehyde in distant tissues was with metabolic incorporation, that protein labeling in the respiratory mucosa, skin was mainly due to covalent (direct) binding.

**KEY WORDS:** Formaldehid, skin, bone marrow, liver, histopathology.

## GİRİŞ

Formaldehit organik moleküllerin en basitlerinden birisi olup, tek tek moleküllerden ibaret olan monomoleküler formunda suda çözülebilir keskin kokulu bir gazdır (1-8). "Formol" veya "formalin" adı verilen sudaki % 30-50'lik çözeltisi en sık kullanılan ticari şeklini oluşturur (1,2,4,6,7).

Troposferde hidrokarbonların oksidasyonu ile doğal olarak oluşan formaldehit, endüstriyel olarak da büyük miktarda üretilir. Pek çok endüstriyel alan yanı sıra tıpta ve diş hekimliğinde çeşitli amaçlarla kullanılır ve bu ortamlarda yüksek hava konsantrasyonlarına ulaşır (1,7,9-29).

İnhalasyon dışında formaldehit yiyeceklerde koruyucu katkı maddesi olarak kullanıldığından oral yolla (7,18,30), kozmetiklerin, şampuanların içerisine koruyucu olarak katıldığından direkt temas ile de insanları etkileyebilmektedir (7,39). Eskiden, diyaliz sisteminin dezenfeksiyon, antisepsi ve sterilizasyonunda kullanıldığından intravenöz (iv) yolla etkileri görülebilmekteydi (12,17). Bugün için formaldehidin pa-

renteral yolla uygulanması, kinetik ve metabolizması ile ilgili çalışmalar ve bazı nörolojik araştırmalar için deney hayvanlarında söz konusudur (7,18,31-36).

Radyoaktif <sup>14</sup>C ile işaretlenmiş formaldehit (<sup>14</sup>C-formaldehit)'in inhalasyon, iv, intraperitoneal (ip) ve sc yolla verilmesinden sonra, kemelerin karaciğer, böbrek, kemik iliğini de içeren çeşitli dokuların ulaştığı gösterilmiştir (7,18,23,33,37,38). Buna karşılık formaldehidin özellikle kemik iliği ile metabolizmasından sorumlu organlar olan, karaciğer, akciğer ve böbrek üzerine olan etkilerini gösteren histopatolojik çalışmalar sınırlıdır (7,36,39-41).

Bu çalışmada, formaldehidin, öncelikle hemopoetik aktivite üzerindeki kronik etkilerini araştırmak amacı ile albino kemelere sc yolla formaldehit verilerek kemik iliği yanı sıra, deri, karaciğer, dalak ve böbreklerde oluşan değişiklikler rutin histopatolojik ve histokimyasal yöntemlere araştırılmıştır.

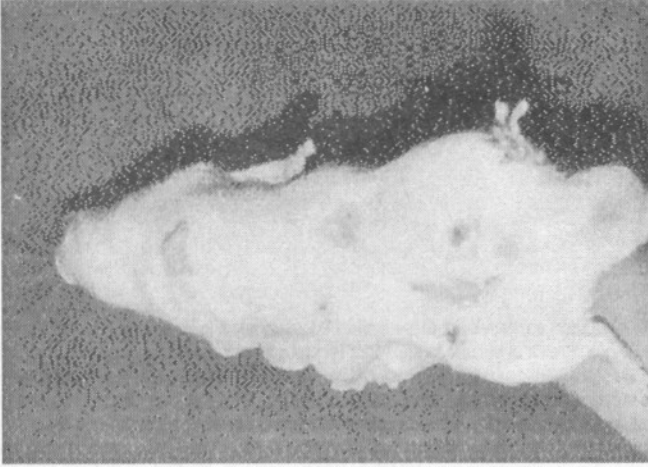
## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada kullanılacak subletal dozun belirlendiği ön çalışmada, canlı kalan 29 keme formaldehidin eliminasyonu için 4 hafta bekletildikten sonra, 11 keme daha eklenerek kullanıldı. Vücut ağırlıkları 100-150 gram arasında değişen 40 keme, 20'şer keme içeren kontrol ve deney gruplarına ayrıldı. Deney grubundaki kemelerin ağırlıkları 100-150 gram arasında olup ortalama ağırlık 110 gram idi. Kontrol grubundaki her bir kemeye sc 0.2 ml % 0.9 izotonik NaCl solüsyonu, deney grubundaki her bir kemeye ise, ön çalışmada belirlenen 40 mg/kg subletal dozda formaldehit içeren, deney

\* Cumburçet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı.

**NOT:** Bu çalışma, ilk yazarın uzmanlık tezinin bir bölümü (deneysel çalışma aşaması)'nden alınmış olup, C. Ü. Tıp Fak. Araştırma Fonu Soymanlığınca maddi olarak desteklenmiştir. Ayrıca, İzmir-Kuşadası'nda yapılan XI. Ulusal Patoloji Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

**Teşekkürler:** Çalışmamızın proje bazılarılması ve yazım aşamasındaki katkılarından dolayı C. Ü. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Handan AKER'e teşekkür ederiz.



**Resim 1.** Deney grubu kemelerden birinde enjeksiyon bölgesinde meydana gelen tüy ve deri değişikliklerinin makroskopik görünümü.

grubu ortalama vücut ağırlığına göre hazırlanan uygun solüsyon (% 5.8'lik, 0.73 Molar) 0.2 ml'lik volüm içerisinde günde bir kez haftada 5 gün olacak şekilde verildi.

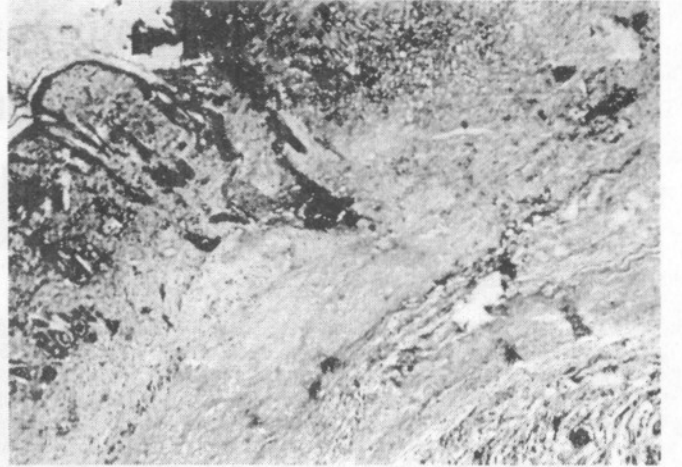
Çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Laboratuvarında yetiştirilen albino tipi 2 aylık erkek kemeler kullanıldı. Kemeler 37x15x15 cm boyutlarında, üzeri telle kaplı kafesler içerisinde normal oda ısı ve neminde tutuldular. Kemeler Sivas Yem Fabrikası tarafından üretilen standart keme yemi ile beslendi ve musluk suyu verildi.

Deneyde, serbest piyasada temin edilen Merck firmasına ait, 1 litresi 1.08 kg. mol ağırlığı 30.03 gr olan, formaldehidin % 35'lik sudaki solüsyonu kullanıldı. Bu solüsyon % 0.9 izotonik NaCl solüsyonunda dilüe edilerek uygun miktarda formaldehit içeren solüsyon hazırlandı. Solüsyon haftada bir yeniden hazırlanarak, kapalı renkli kaplarda ve karanlık ortamda tutuldu. Solüsyonları hazırlamada Pasteur fırınında sterilize edilen cam eşya kullanıldı.

Kontrol grubundan ve deney grubundan 10'ar keme, 2 haftalık gözlem süresi sonunda (A kontrol-Ak ve A deney-Ad), geriye kalan 10'ar keme ise 4 haftalık gözlem süresi sonunda (B kontrol-Bk ve B deney-Bd) servikal dislokasyonla öldürülerek hemen otopsileri yapıldı.

Enjeksiyon bölgesindeki kemelerin tüy ve derilerinde meydana gelen değişiklikler yanısıra, kemelerin akciğerleri, karaciğer, dalak ve böbrekleri incelenerek herhangi bir patolojik değişiklik olup olmadığı kaydedildi. Kemelerin, sternum ve her iki femurun proksimal ve distal epifizleri kemikten ayrılarak, birinden kemik iliği tamamen boşaltılarak lam üzerine yayma yapıldı. Diğer femur ve uzunlamasına iki parçaya ayrılan sternum hemen %10'luk formalinde tesbite alındı. Tesbitten sonra femur uzunlamasına açılarak kemik iliği çıkartıldı.

İncelenen böbrekler, akciğerler ve dalak ile enjeksiyon bölgesinden alınan deri % 10'luk formalin solüsyonunda, karaciğer ise absolu etil alkolde tesbit edildi. Tesbite alınan akciğerler, böbrekler, dalak karaciğer, deri örneği ile sternum ve femur kemik iliği dokularından hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapıldı. Hazırlanan tüm kesitler Hematoksilen Eozin (HE) ile, ayrıca ek olarak



**Resim 2.** Enjeksiyon bölgesinden alınan deri örneğinde, epidermis yüzeyinde erozyon, dermisde koagülasyon nekrozu ve çevrede iltihabi granülasyon dokusu (HEx30).

kemik iliğine ait birer kesit Gomori'nin retikulum boyası ile, kemik iliği yaymaları ise Giemsa ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Elde edilen sonuçlara iki yüzde arasındaki farkın önemli-lik "t" testi ve "Mann Whitney U testi" uygulanarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

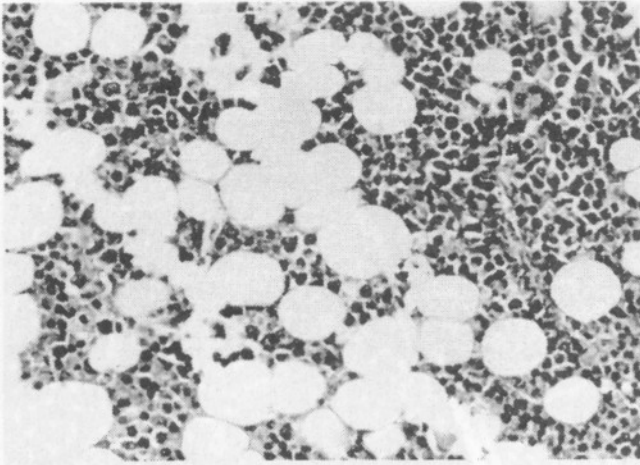
## BULGULAR

Çalışmada deney grubundaki 20 kemenin tümünde gözlemlenen bir bulgu ilk günden itibaren gelişen diyare idi. Kontrol grubundaki kemelerin hiçbirinde diyare izlenmedi. Bu özellik yönünden deney ve kontrol grupları arasındaki istatistiksel fark anlamlı bulundu (t:4.484, p<0.05).

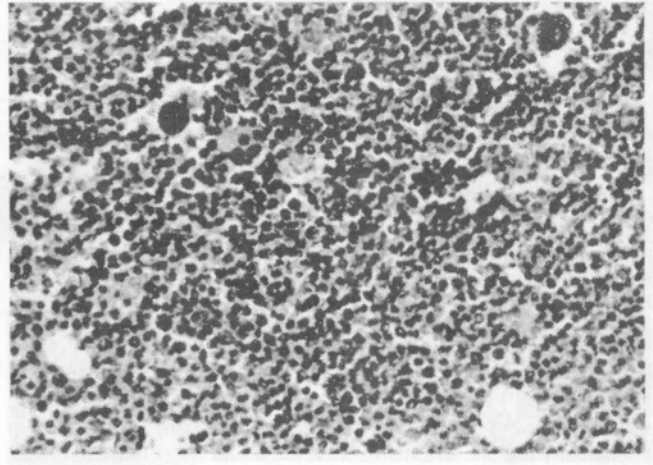
Deney grubundaki 20 kemenin tümünde de enjeksiyon bölgesindeki tüylerin sarardığı ve yer yer tüylerin dökülüp deride ülserasyonun geliştiği görüldü (Resim 1). Tekrarlayan enjeksiyonlar ile etkilenen deri bölgesinin genişlediği dikkati çekti. Bu bölgeden alınan deri örneğinin histopatolojik incelemesinde, yüzeyde çok katlı yassı epitelde erozyon, dermis ve subkutan dokuda koagülasyon nekrozu ve bunun çevresinde yer yer yoğun PMNL'ler, seyrek lenfositler ile kapiller ve fibroblast proliferasyonundan oluşan iltihabi granülasyon dokusu izlendi (Resim 2). Kontrol grubundan hiçbir kemede bu tür bir değişiklik izlenmedi. İstatistiksel değerlendirmede enjeksiyon bölgesindeki lokal değişiklik yönünden deney ve kontrol grupları arasında fark anlamlı bulundu (t:4.484, p<0.05).

Kemik iliğini etkileyebilirliği göz önünde bulundurularak hem kontrol hem de deney grubundan otopsileri yapılan kemeler içerisinde rastgele seçilen ikişer kemenin, GI sistemlerinde direkt yöntemle parazit varlığı araştırıldı. Kontrol ve deney grubu kemelerde aynı tür parazitleri (duodenumda giardia ve bol kandida, çekumda trikomonas, spiral organizmalar, nematod larvası ve amip, rektumda ise nematod yumurtası spiral organizmalar ve nematod larvası) varlığı tesbit edildi.

Kemelerin sternum ve femur kemik iliklerine ait doku kesitleri ışık mikroskopunda selülarite, hücre dağılımı, nekroz ile myelofibrosis gelişimi ve retikülün lifleri dağılımı yönünden



**Resim 3.** Kontrol grubundaki kemelerden birinin sternum kesitinde izlenen heterojen normoselüler kemik iliği (HEx300).



**Resim 4.** Deney grubu kemelerden birinin sternum kesitinde izlenen heterojen hiperselüler kemik iliği (HEx300).

incelenerek değerlendirildi. Değerlendirme sonucu elde edilen verilen Tablo 1'de gösterilmektedir.

Kontrol ve deney gruplarına ait bütün kemelerin kemik ilikleri her üç seriye ait hücresel elemanı da içermekte olup, heterojen görünümde idi (Resim 3-4). Hücre dağılımı yönünde Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ad ile Bd grupları arasındaki fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ). Selülarite yönünden değerlendirildiğinde, Ak grubundan 10 (% 100), Bk grubundan 9 (% 90), Ad grubundan 2 (% 20), Bd grubundan ise 3 (% 30) kemelerin kemik iliği kesitlerinde % 70-90 oranında kırmızı kemik iliği izlenirken, % 10-30 oranında sarı kemik iliği izlendi ve bunlar normoselüler olarak değerlendirildi (Resim 3). Bk grubundan 1 (% 10), Ad grubundan 8 (% 80), Bd grubundan ise 7 (% 70) kemelerin kemik iliği kesitlerinde % 100 oranında kırmızı kemik iliği izlenirken sarı kemik iliği hiç görülmedi ve bunlar hiperselüler olarak değerlendirildi (Resim 4). Buna göre Ak ile Ad, Bk ile Bd grupları arasındaki fark önemli bulunurken ( $t:3.65$ ,  $t:2.73$ ,  $p<0.05$ ), Ad ile Bd grupları arasındaki fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ).

Nekroz gelişimi yönünden değerlendirildiğinde, kontrol ve deney gruplarındaki kemelerin kemik iliklerine ait doku kesitlerinin hiçbirinde nekroz gelişimi izlenmedi.

Gomorinin retikülün boyası ile boyanan kemik iliği kesitlerinde hem kontrol hem de deney grubu kemelerde, kemik iliği hücre gruplarını kuşatan ince bir retikülün ağı tesbit edildi. Bu bulgu ile, HE boyalı sternum kemik iliği kesitlerinin birlikte incelenmesi sonucunda kontrol ve deney grubu kemelerin hiçbirinde myelofibrozis gelişimi izlenmedi.

Giemsa ile boyanan femur-kemik iliği yaymaları ışık mikroskopi ile en az 10 büyük büyütme alanı ( $\times 400$ ) sayılarak, hücre detayı ise immersiyon objektifi ( $\times 1000$ ) ile belirlenerek, myelositer serinin hücresel elemanlarının eritrositler seri hücresel elemanlarına oranı (M/E), eritrositer seri ve myelositer serideki prematür hücresel elemanlarının matür elemanlara oranı (p/m-E ve p/m-M) yanısıra ve 500 hücredeki megakaryosit, eozinofil ve mast hücre sayısı ve hücrelerdeki morfolojik farklılıklar yönünden incelenerek değerlendirildi.

Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ad ile Bd grubu kemelerden elde edilen sonuçlar arasında, kullanılan parametreler yönünden istatistiksel farkın önem derecesi belirlendi. Tablo II'de Ak ve Ad grubu, Tablo III'de Bk ve Bd grubu, Tablo IV'de Ad ve Bd grubu arasındaki istatistiksel değerlendirmeye sonucu elde edilen aritmetik ortalama, standart hata ve U değerleri gösterildi.

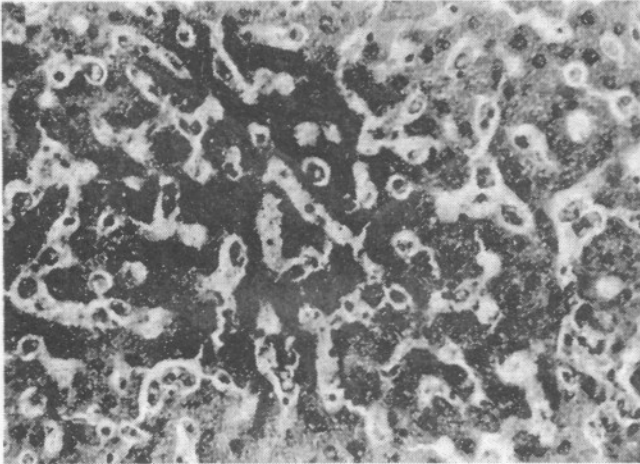
Buna göre M/E oranı yönünden değerlendirildiğinde Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ak ile Bd grubu arasındaki istatistiksel fark önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

p/m-E ve p/m-M oranları ve her 500 hücredeki megakaryosit sayısı yönünden değerlendirildiğinde gruplar arası fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ).

Her 500 hücredeki eozinofil seri hücre sayısı yönünden değerlendirildiğinde, Ak ile Ad grubu arasındaki istatistiksel fark önemsiz ( $p>0.05$ ), Bk ile Bd ve Ad ile Bd grupları arasındaki fark ise önemli bulundu ( $p<0.05$ ). Ancak tek tek değerlendirildiğinde, 10 kemelerin yer aldığı Bd grubundan 3 kemelerin kemik iliği eozinofil sayısı (14, 15, 16/500 hücrede) ortalama

**TABLO 1. KONTROL VE DENEY GRUPLARINDAKİ RATLARIN KEMİK İLİKLERİNDE GÖRÜLEN HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN DAĞILIMI.**

| Hücre dağılımı |         |     |           | Selülarite |             |     |              |       |              |      |        |     |               |     |
|----------------|---------|-----|-----------|------------|-------------|-----|--------------|-------|--------------|------|--------|-----|---------------|-----|
| Grup           | Homojen |     | Heterojen |            | Hiposelüler |     | Normoselüler |       | Hiperselüler |      | Nekroz |     | Myelofibrozis |     |
|                | Sayı    | %   | Sayı      | %          | Sayı        | %   | Sayı         | %     | Sayı         | %    | Sayı   | %   | Sayı          | %   |
| Ak             | -       | 0.0 | 10        | 100.0      | -           | 0.0 | 10           | 100.0 | -            | 0.0  | -      | 0.0 | -             | 0.0 |
| Bk             | -       | 0.0 | 10        | 100.0      | -           | 0.0 | 9            | 90.0  | 1            | 10.0 | -      | 0.0 | -             | 0.0 |
| Ad             | -       | 0.0 | 10        | 100.0      | -           | 0.0 | 2            | 20.0  | 8            | 80.0 | -      | 0.0 | -             | 0.0 |
| Bd             | -       | 0.0 | 10        | 100.0      | -           | 0.0 | 3            | 30.0  | 7            | 70.0 | -      | 0.0 | -             | 0.0 |



**Resim 5.** Deney grubu kemelerden birinin karaciğer kesitinde, sinüzoidlerle sayıca artmış, oval veya yuvarlak şekilde, iri granüle sitoplazmalı Kupffer hücreleri (HEEx300).

manın çok üzerinde iken, diğer 7 kemeninki (5 kemedede 1, diğer 2 kemedede 2) Bk ve Ad grubu eozinofil sayısı ortalamasına göre önemli bir fark göstermemektedir ( $p>0.05$ ).

Her 500 hücredeki mast hücre sayısı yönünden, Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ad ile Bd grubu arasındaki fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ). Bd grubundaki kemik iliği eozinofil sayısı yüksek olan 3 kemenin, mast hücre sayılarının diğer grup ortalamalarının iki katı olduğu dikkati çekti.

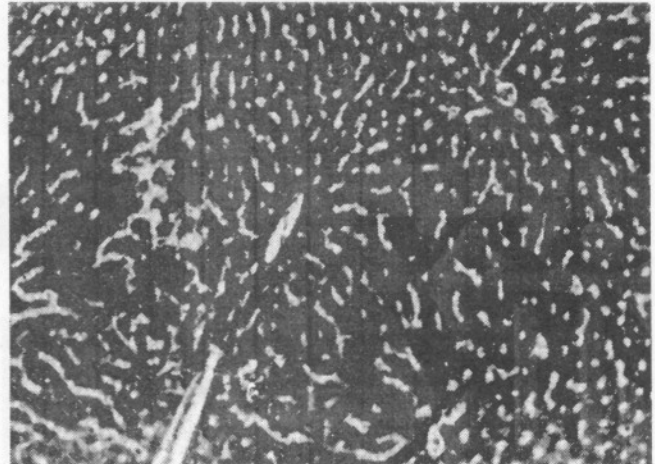
Ak, Ad, Bk, Bd grubu kemelerin kemik iliği yaymalarındaki hücrelerde herhangi bir morfolojik farklılık görülmezken, karaciğer ve dalaklarından hazırlanan doku kesitlerinin hiçbirinde ekstramedüller hemopoezis (EMH) odağı izlenmedi.

Ak, Ad, Bk, Bd grubu kemelerin tümünün dalaklarına ait kesitlerde hiperemi, böbreklerine ait kesitlerde ise hiperemi ve interstisiyel kanama saptandı. Gruplar arası istatistiksel fark önemsizdi ( $p>0.05$ ).

İncelenen akciğer dokularında ise Ak, Ad, Bk, Bd grubu kemelerin tümünde hiperemi ve interstisiyel kanama izlenirken, Ak grubundan 3 (% 30), Ad grubundan 1 (% 10), Bk grubundan 1 (% 10), Bd grubundan 2 (% 20) kemedede fokal peribronşial mononükleer iltihabi infiltrasyon, Bd grubundan 1 (% 10) kemedede ise akciğerde bir odakda köpüklü histiositler ile çevrelenmiş yoğun PMN'ler içeren abse odağı izlendi. Sözü geçen histopatolojik özellikler yönünden gruplar arası istatistiksel fark önemsiz bulundu ( $p > 0.05$ ).

**TABLO 2. AK İLE AD GRUPLARININ FEMUR-KEMİK İLİĞİ YAYMA PREPARATLARINDAN ELDE EDİLEN ORTALAMA DEĞERLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

|                   | Ak |           | Ad |            | SONUÇ               |
|-------------------|----|-----------|----|------------|---------------------|
|                   | n  | x-sx      | n  | x-sx       | u                   |
| M/E               | 10 | 1.3±0.033 | 10 | 2.7±0.3    | 100 $p<0.05$ önemli |
| p/m-E             | 10 | 0.25±0.0  | 10 | 0.25±0.0   | 50 $p>0.05$ önemsiz |
| p/m-M             | 10 | 0.24±0.08 | 10 | 0.24±0.006 | 55 $p>0.05$ önemsiz |
| megakaryosit/500h | 10 | 4.2±0.133 | 10 | 4.2±0.133  | 50 $p>0.05$ önemsiz |
| Eozinofil/500h    | 10 | 1.0±0.0   | 10 | 1.1±0.10   | 55 $p>0.05$ önemsiz |
| Mast hücresi/500h | 10 | 5.0±0.7   | 10 | 5.6±1.42   | 66 $p>0.05$ önemsiz |



**Resim 6.** Kontrol grubu kemelerden birinin karaciğerinde, sayıca artış göstermeyen, iğsi şekilli Kupffer hücreleri (HEEx300).

Ak, Ad, Bk, Bd gruplarında yer alan kemelerin karaciğer dokuları parankim ve portal alanlarda meydana gelen histopatolojik değişiklikler yönünden değerlendirildi. Değerlendirme sonucu elde edilen veriler Tablo V'de gösterilmektedir.

Hepatositlerdeki dejeneratif değişiklikler, çeşitli tipteki nekrozlar ve safra pigment birikimi yönünden gruplar arası istatistiksel fark önemsizdi ( $p>0.05$ ). Ancak, bu bulguların Ad ve Bd grubu kemelerde daha yüksek oranlarda görülmesi dikkati çekti. Kontrol ve deney gruplarındaki kemelerin tümünde hepatosit nükleusları veziküle görünümlü olup, ince bir kromatin ağına sahipti, kemelerin hiçbirinde piknoz, kromatinde kabalaşma gibi herhangi bir nükleer değişiklik izlenmedi.

Kupffer hücre hiperplazisi yönünden değerlendirildiğinde, Ad ve Bd grubu kemelerde yüksek oranlarda Kupffer hücre hiperplazisi mevcut olup (Resim 5) Ak ile Ad grubu arasındaki fark önemli ( $t:2.69$ ,  $p<0.05$ ) ve Bk ile Bd grubu arasındaki fark da önemli ( $t:3.153$ ,  $p<0.05$ ) bulunurken, Ad ile Bd grupları arasındaki fark önemsizdi ( $p>0.05$ ). Kupffer hücre morfolojisi yönünden değerlendirildiğinde, Ad ve Bd deney grubu kemelerde yüksek oranlarda, Kupffer hücrelerinin oval yuvarlak şekilli, iri granüle sitoplazmalı olduğu izlendi (Resim 5). Diğer kemelerde ise Kupffer hücreleri ince, iğsi şekilli, dar sitoplazmalı idi (Resim 6). Bu yönden Ak ile Ad grubu arasındaki fark önemli ( $t:2.690$ ,  $p<0.05$ ), Bk ile Bd arasındaki fark önemli ( $t:3.286$ ,  $p<0.05$ ) bulunurken, Ad ve Bd grupları arasındaki fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ).

Portal alanlarda görülen değişiklik yönünden değerlendirildiğinde ise gruplar arası istatistiksel fark önemsiz bulundu ( $p>0.05$ ).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, diyare gelişimi yönünden kontrol ve deney grupları arasında anlamlı fark bulundu. Upteri ve ark. Kemelerde formaldehidin toksikokinetikleri ve moleküler ilişkilerini inceledikleri çalışmalarında, GI kanalda yüksek 14 C-formaldehit aktivitesi saptamış ve bunun

**TABLO 3. BK İLE BD GRUPLARININ FEMUR-KEMİK İLİĞİ YAYMA PREPARATLARINDAN ELDE EDİLEN ORTALAMA DEĞERLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

|                   | Bk |             | Bd |             | SONUÇ               |
|-------------------|----|-------------|----|-------------|---------------------|
|                   | n  | x-sx        | n  | x-sx        | u                   |
| M/E               | 10 | 1.3±0.033   | 10 | 4.1±0.233   | 100 p<0.05 önemli   |
| p/m-E             | 10 | 0.25±0.0    | 10 | 0.258±0.008 | 55 p>0.05 önemsiz   |
| p/m-M             | 10 | 0.248±0.011 | 10 | 0.25±0.01   | 55 p>0.05 önemsiz   |
| megakaryosit/500h | 10 | 4.2±0.133   | 10 | 4.1±0.179   | 54 p>0.05 önemsiz   |
| Eozinofil/500h    | 10 | 1.6±0.305   | 10 | 5.4±1.75    | 80 p<0.05 önemli    |
| Mast hücresi/500h | 10 | 4.8±0.153   | 10 | 4.2±1.26    | 51.5 p>0.05 önemsiz |

safralı yolu ile formaldehit ve/veya metabolitlerinin sürekli olarak reseksiyonuna bağlı olabileceğini ve bu durumun sonuçta intestinal mukozanın devamlı iritasyonu ve diyareye neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar bunun yanı sıra kemelerde bunun kızarması, salivasyon, lakrimasyon ve diyare gibi bazı kolonomimetik işaretler de gözlemişlerdir (42). Çalışmada deney grubu kemelerin tümünde gözlenen "diyare" formaldehidin hem kolinomimetik etkisine, hem de enterohepatik sirkülasyon yolu ile devamlı intestinal mukozaya iritasyonu yapıcı etkisine bağlı olabilir.

Deney grubu kemelerin tümünde, 4 haftalık enjeksiyon grubunda daha belirgin olmak üzere, enjeksiyon bölgesindeki tüylerin sarı renk aldığı ve yer yer tüylerin dökülüp deride ülserasyon geliştiği görüldü. Bu bölgeye ait derinin histopatolojik kesitlerinde ise epidermiste ülserasyon, dermis ve subkutan dokuda koagülasyon nekrozu ve iltihabi granülasyon ülserasyon, dermis ve subkutan dokuda koagülasyon nekrozu ve iltihabi granülasyon dokusu gelişimi görüldü.

Till ve ark, 1964 yılında Brendell'in ve 1966'da Welsch'in yaptıkları çalışmalarda, formaldehidin keme tüyünün yapısında yer alan "kynurenine" ile reaksiyon vererek, tüyün beyaz rengini sarıya dönüştürdüğünü bildirmişlerdir. Oral formaldehit ile bu değişikliklerin oluşmamasının, tüylerin sararmasının endojen formaldehit veya metabolitlerden çok, formaldehit ile tüyler arasındaki direkt reaksiyona bağlı olduğu gösterilmiştir (43-45). Bu çalışmada sc olarak verilen formaldehidin enjeksiyon bölgesi üzerindeki tüylerin yapı elemanları ile direkt reaksiyona girerek rengini sarıya dönüştürdüğü söylenebilir.

Canlı organizmalarda metabolizma sırasında formaldehidin bir bölümü makromoleküllerin fonksiyonel grupları ile direkt reaksiyona girer (46). Bu reaksiyon cansız dokuları tesbit ile canlı dokulardaki iritasyon ve allerjenik etkilerini açıklar. Cansız dokularda "tesbit" işlemini gerçekleştiren bu reaksiyon, canlı bir dokuda, çalışmamızda dermis ve subkutan dokuda, "koagülasyon nekrozu" olarak ortaya çıkmaktadır. Epidermiste ise formaldehit ile direkt reaksiyon ve dermiste gelişen koagülasyon nekrozu sonucu difüzyon yolu ile olan epidermis beslenmesinin (47,49) bozulmasıyla koagülasyon nekrozu ve yüzeyde ülser oluşmuştur.

İltihabi infiltrasyon yaşayan vaskularize bir dokuda nek-

roz gibi lokal zedelenmeye karşı oluşan, aynı zamanda iyileşme ve onarımının da eşlik ettiği bir reaksiyondur (48). Deney grubu kemelerin enjeksiyon bölgesinde meydana gelen iltihabi infiltrasyon ile kapiller damar ve fibroblast proliferasyonu şeklindeki reaksiyonlar, bu bölgede formaldehit etkisi ile oluşan koagülasyon nekrozuna sekonder bulgulardır.

Gl sistemlerinde direkt yöntemle parazit varlığı araştırıldığında hem kontrol, hem de deney grubu kemelerde aynı tür parazitlerin varlığı tesbit edildi. Gl sistemde yer alan bu tür patojenler anemi ve hipersensitiviteye neden olarak kemik iliğinde hemopoezisi indirekt olarak etkileyebilir-

**TABLO 4. AD İLE BD GRUPLARININ FEMUR-KEMİK İLİĞİ YAYMA PREPARATLARINDAN ELDE EDİLEN ORTALAMA DEĞERLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

|                   | Ad |            | Bd |             | SONUÇ              |
|-------------------|----|------------|----|-------------|--------------------|
|                   | n  | x-sx       | n  | x-sx        | u                  |
| M/E               | 10 | 2.7±0.3    | 10 | 4.1±0.233   | 87.5 p<0.05 önemli |
| p/m-E             | 10 | 0.25±0.3   | 10 | 0.258±0.008 | 55 p>0.05 önemsiz  |
| p/m-M             | 10 | 0.24±0.006 | 10 | 0.25±0.01   | 54 p>0.05 önemsiz  |
| megakaryosit/500h | 10 | 4.2±0.133  | 10 | 4.1±0.179   | 54 p>0.05 önemsiz  |
| Eozinofil/500h    | 10 | 1.1±0.10   | 10 | 5.4±1.75    | 77 p<0.05 önemli   |
| Mast hücresi/500h | 10 | 5.6±1.42   | 10 | 4.2±1.26    | 50 p>0.05 önemsiz  |

ler (49). Çalışmada hem kontrol hem de deney grubu kemelerin, Gl sistemlerinde aynı tür parazitlerin olması nedeniyle, deney sonuçlarını fazlaca etkilemeyeceği açıktır.

Normal kemik iliği prematür ve matür hemopoetik elemanları içeren hemopoetik (kırmızı) kemik iliği ile yağ hücrelerinden ibaret non hemopoetik (sarı) kemik iliğinden oluşur (49-50). Hücre dağılımı yönünden değerlendirildiğinde, normal bir memeli hemopoetik kemik iliği, granülositler, eritrositler, trombositler, plazma hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri ve bu hücrelerin prekürsörlerini belirli oranlarda içeren heterojen bir yapıya sahiptir (15,48,49,51,52). Otopsi sonrasında incelemeye aldığımız Ak, Ad, Bk, Bd grubu kemelerin tümünün kemik ilikleri de myelositer, eritrositler ve megakaryositer seri elemanların her üçüne ait prematür ve matür elemanları içermekte olup heterojen görünümde idi.

Hemopoezis arttığında kırmızı kemik iliği sarı kemik iliğini işgal eder. Bu değişim etkenine bağlı olarak 24-48 saat içerisinde meydana gelebilir (49-51). İnsanlarda kırmızı ve sarı kemik iliği oranı yaş dekadlarına göre değişiklik gösterirken, kemelerde kemik kavitelesinin hemen tümünün kırmızı kemik iliği ile dolu olduğu, ancak gerektiğinde kullanım için rezerv bir boşluk bulunduğu belirtilmektedir (51). Kemelerde kırmızı kemik iliği % 70-90'lık bölümü kapsarken, % 10-30'luk bölüm sarı kemik iliğine aittir (53). Çalışmada, kırmızı ve sarı kemik iliğinin oranları ile ifade bulan selülarite yönünden değerlendirildiğinde Ak-Ad ve Bk-Bd grupları arasındaki fark önemli iken, Ad-Bd grupları arasındaki fark önemsizdi. Buna göre 2 ve 4 hafta süre ile sc formaldehit solüsyonu verilen Ad ve Bd

**TABLO 5. KONTROL VE DENEY GRUPLARINDAKİ KEMELERİN KARACİĞERLERİNDE MEYDANA GELEN HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN DAĞILIMI**

| HEPATOSİTLERDE |              |      |               |      |                       |      |                    |     |                                     |     |                    |     | Kupffer hücrelerinde |      |                   |      | Portal alanlarda |      |                         |      |                          |      |
|----------------|--------------|------|---------------|------|-----------------------|------|--------------------|-----|-------------------------------------|-----|--------------------|-----|----------------------|------|-------------------|------|------------------|------|-------------------------|------|--------------------------|------|
| Grup           | Fokal nekroz |      | Bulanık şişme |      | Vakuoler dejenerasyon |      | Yağlı dejenerasyon |     | Sitoplazmada safra pigment birikimi |     | Nükleer değişiklik |     | Asidofilik cisim     |      | Tek hücre nekrozu |      | Hiperplazi       |      | Yuvarlaklaşma, irileşme |      | Mononükleer infiltrasyon |      |
|                | Sayı         | %    | Sayı          | %    | Sayı                  | %    | Sayı               | %   | Sayı                                | %   | Sayı               | %   | Sayı                 | %    | Sayı              | %    | Sayı             | %    | Sayı                    | %    | Sayı                     | %    |
| Ak             | 4            | 40.0 | -             | 0.0  | -                     | 0.0  | -                  | 0.0 | -                                   | 0.0 | -                  | 0.0 | -                    | 0.0  | 2                 | 20.0 | 2                | 20.0 | 2                       | 20.0 | -                        | 0.0  |
| Bk             | 2            | 20.0 | -             | 0.0  | -                     | 0.0  | -                  | 0.0 | -                                   | 0.0 | -                  | 0.0 | -                    | 0.0  | 1                 | 10.0 | 1                | 10.0 | -                       | 0.0  | -                        | 0.0  |
| Ad             | 7            | 70.0 | 1             | 10.0 | -                     | 0.0  | -                  | 0.0 | -                                   | 0.0 | -                  | 0.0 | 3                    | 30.0 | 5                 | 50.0 | 8                | 80.0 | 8                       | 80.0 | 3                        | 30.0 |
| Bd             | 6            | 60.0 | 2             | 20.0 | 2                     | 20.0 | -                  | 0.0 | -                                   | 0.0 | -                  | 0.0 | 4                    | 40.0 | 4                 | 40.0 | 8                | 80.0 | 7                       | 70.0 | 3                        | 30.0 |

grubu kemelerin kemik iliklerinin hiperselüler olup, artmış hemopoetik aktivite sonucu kırmızı kemik iliğinin sarı kemik iliğini işgal etmiş olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kemik iliğindeki bu tür hiperplastik değişiklikler, myeloid, eritroid, megakaryositik hiperplazi şeklinde non-neoplastik veya neoplastik olabilir (53,49). Bu durumlardan hangisinin olduğunu belirlemede önemli olan parametrelerden biri, myeloid hücrelerin eritroid seri hücrelere oranı (M/E)'dir. Bu oran 2 aylık erkek kemelerde  $1.2 \pm 0.27$  olarak bildirilmektedir (53).

Bu aşamada hiperplazi gösteren hücre serisinde proliferasyon fazı hücreleri ile matürasyon fazı hücrelerinin sayısı ve morfolojisi önem kazanmaktadır. Normalde tüm memelilerde olduğu gibi kemelerde de proliferasyon kemik iliği hücrelerinin matür kemik iliği hücrelerine oranı (p/m) olan matürasyon indeksi  $0.25 (1/4)$ 'e yakın kalma eğilimindedir ve bu oranın sabit kalması matürasyonun eş zamanlı olduğunu gösterir (53).

M/E oranları ve p/m oranlarının değerlendirilmesi sonucunda, 2 hafta ve 4 hafta süre ile sc formaldehit verilen kemelerde, M/E oranında kontrol grubuna göre belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. Bu artış 4 hafta süre ile formaldehit uygulanan Bd grubunda daha belirgindi. Ancak matürasyon indeksleri (p/m) Ak, Ad, Bk ve Bd grubu kemelerin tümünde de 0.25 oranına yakın olup, eş zamanlı matürasyon özelliğine sahipti.

Kemik iliğinde M/E oranında artma, myeloid seri hücrelerinde artmaya (myeloid hiperplazi), eritroid seri hücrelerinde azalmaya (eritroid hipoplazi-aplazi) veya her ikisine birden bağlı olabilir. Kemelerde, eritroid prekürsörleri ve periferik kan retikülositlerinde azalma ile karakterize olan eritroid hipoplazi, diğer hücre serilerinde minimal değişiklik ile birliktedir; bu durumda M/E oranında minimal bir artma, eritroid seri matürasyon indeksi azalma ile birlikte myeloid seri matürasyon indeksinin normali yakın olduğu tesbit edilmiştir. Bu durumda beklenen hiposelüler bir kemik iliğidir. M/E oranındaki minimal artma ise eritroid seri hücrelerdeki azalmaya bağlı nisbi bir artmadır. Myeloid hiperplazi ise, M/E oranında artma ve eş zamanlı matürasyon ile karakterize bir durumdur, bu durumda eritroid hücrelerin matürasyon indeksi ise bu sistem üzerine stresin göstergesi olarak hafif bir artma olabilir (53).

Bu bilgiler ışığında, 2 hafta ve 4 hafta süre ile formaldehit uygulanan kemelerde, kemik iliklerinin parafin kesitlerinin hiperselüler olması, Giemsa yaymalarında ise M/E oranında belirgin artış ile birlikte hem eritroid hem de myeloid seri hücrelerin matürasyon indekslerinin  $0.25$ 'e çok yakın olması, Bd grubu kemelerde ise matürasyon indeksi azalma değil aksine minimal bir artış ( $0.258 \pm 0.008$ ) olması nedeni ile, çalışmada Ad ve Bd grubu kemelerde saptanan M/E oranında

artış "myeloid hiperplazi" ye bağlıdır. Myeloid hiperplazi ancak sola kaymalı myeloid hiperplazi olarak da tanımlanan matürasyon indeksi artma ile birlikte olduğunda, bir başka deyişle proliferasyon fazı hücrelerinin belirgin artışı durumunda, neoplastik hiperplazi (lösemi) ile karışabilir ve bu durumda kemik iliği hücrelerinde morfolojik farklılıklar da beklenir (49,53). Ad ve Bd grubu kemelerde myeloid seri matürasyon indeksi normal seviyelerde olduğu ve artış göstermediği için, saptanan myeloid hiperplazi non-neoplastik bir değişikliktir. Ayrıca kemik iliği hücrelerinde herhangi bir morfolojik farklılık görülmemesi de bu bulguyu desteklemektedir.

Femur kemik iliği yaymaları her 500 hücredeki megakaryosit sayısı yönünden değerlendirildiğinde Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ad ile Bd grupları arasındaki istatistiksel fark önemsizdi. Kemik iliğinde megakaryositler hiperplazi, periferik kanda trombositlerin sayısal azalması veya trombositlerin fonksiyonel bozukluğu nedeni ile kanda tromboprotein seviyesini arttıran mekanizma ile ortaya çıkan fizyolojik bir durumdur (54). Çalışmamızda Ad ve Bd grubu kemelerde megakaryosit sayısının, kontrol grubu kemelere göre önemli bir azalma veya artış göstermemesi nedeniyle, megakaryositler seri üzerine direkt veya trombositler üzerinde indirekt bir etkinin söz konusu olmadığı düşünüldü.

Femur kemik iliği yaymaları her 500 hücredeki eozinofil sayısı yönünden değerlendirildiğinde, Ak ve Ad grubu kemeler arasındaki istatistiksel fark önemsiz bulunurken, Bk ile Bd grubu ve Ad ile Bd grubu arasındaki istatistiksel fark önemli bulundu, Bd grubu kemelerin kemik iliğinde eozinofil sayısında belirgin bir artış olduğu sonucuna varıldı. Bu yaymalar mast hücreleri sayısı yönünden değerlendirildiğinde ise Ak ile Ad, Bk ile Bd ve Ad ile Bd grupları arasındaki istatistiksel fark önemsiz bulundu.

Formaldehit solüsyonu, allerjik kontakt dermatit (Tip IV, T hücre yolu ile gecikmiş hipersensitivite) ve kontakt ürtiker (Tip I, IgE yoluyla ani hipersensitivite) şeklinde primer deri sensitizasyonu oluşturabilir (1,14,21,32,55,57,58). Bu tür sensitizasyonun, proteinler ile kolaylıkla reaksiyon verebilen bir bileşik olan formaldehidin, protein-formaldehit kompleksi oluşturduğunda allerjen özellik (formaldehidin haptentik potansiyeli) kazanmasına bağlı olduğu bildirilmektedir (7,36).

Lokal anafilaksi şeklinde karşımıza çıkabilen Tip I hipersensitivite reaksiyonlarında, atopik bireylerde, antijen ile ilk karşılaşmada uyarılan B lenfositlerince üretilen IgE'nin bağlandığı mast hücrelerinden salınan "anafilaksinin eozinofilik kemotaktik faktörleri (ECF-A)"nin etkisi ile periferde eozinofiller artar, buna paralel olarak kemik iliğinde de eozinofillerde bir artış meydana gelir (48,49,58,59).

Çalışmada, Bd grubu kemelerde, femur kemik iliği yaymalarında eozinofillerin sayısının ortalaması, Bk ve Ad grubu kemelere göre önemli bir artış göstermekte idi. Ancak, tek tek değerlendirildiğinde, 10 kemenin yer aldığı Bd grubundan 3 kemenin kemik iliği eozinofil sayısı ortalamasının çok üzerinde iken, diğer 7 kemeninki Bk ve Ad grubu eozinofil ortalamasına göre önemli bir fark göstermemekteydi. Bu 3 kemenin, femur kemik iliği yaymalarındaki mast hücre sayıları Bk, Ad ve Bd grubu ortalamasının iki kat üzerinde idi. Bu bulgular, Bd grubundaki 3 kemedede, Tip I hipersensitivitenin gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum sc yolla verilen formaldehit solüsyonunun oluşturduğu bir tür lokal anafilaksi reaksiyonu olan kontakt ürtikere bağlı olabileceği gibi, pratik olarak deney hayvanlarının tümünde bulunduğu varsayılan barsak parazitlerinden de ileri gelebilir (48,60). Ancak, deney hayvanlarından alınan deri örneklerinde, kontakt ürtikere beklenen ödem, perivasküler yoğun eozinofiller ve az sayıdaki lenfositlerden oluşan iltihabi infiltrasyon (60) gibi histopatolojik bulguların bulunmaması, bu etkinin daha çok barsak parazitlerine bağlanmasını gerektirmektedir. Fakat, enjeksiyon bölgesindeki formaldehide bağlı geniş nekroz bu beklenen histopatolojik değişiklikleri örtmüştüğü için, bu nedenle, kesin bir yargıya varmak zordur.

Dean ve ark.larının farelere, Dallas ve ark.larının kemelere solunum yolu ile formaldehit vererek yaptıkları çalışmalarda kemik iliği selülaritesi ve hematolojik parametrelerle, kemik iliği hücrelerinin DNA ve RNA içeriğinin dağılımı üzerinde önemli bir etki ve herhangi bir kromozomal anomali oluşmadığı sonucuna varmışlardır (36,38).

Bu çalışmada Dean ve ark. ile Dallas ve ark.dan farklı olarak formaldehit kemelere inhalasyon yolu ile değil parenteral yol ile uygulanmıştır (36,38). Bunun sonucu Ad ve Bd grubu kemelerin tümünde, enjeksiyon bölgesinde formaldehidin direkt etkisi ile meydana gelen ve tekrarlayan enjeksiyonlar nedeniyle geniş alanda izlenen koagülasyon nekrozu ve buna bağlı yoğun PMNL infiltrasyonu söz konusudur. Bu durumda myeloid hiperplazi, beklenen bir kemik iliği reaksiyonudur (49,53,59). Ad ve Bd grubundaki kemelerin kemik iliklerinde izlenen myeloid hiperplazinin, formaldehidin direkt etkisi sonucu olmayıp, periferde oluşan nekroza bağlı bir dizi reaksiyonun sonucu olduğu söylenilebilir.

Çalışmada, dalak, akciğer ve böbrek dokularında hipere mi ve interstisyel kanama hem kontrol hem de deney grubu kemelerin tümünde görüldüğü için, bu durumun hayvanın öldürülme işlemi sırasında meydana gelen şoka bağlı olabileceği ve formaldehide bağlı bir etki olmadığı söylenilebilir.

Kontrol ve deney gruplarında yer alan kemelerin karaciğer dokuları incelendiğinde, hepatositlerde meydana gelen dejeneratif değişiklikler ve hücre nekrozları ile portal alanlara sınırlı fokal mononükleer iltihabi infiltrasyon yönünden kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmamasına rağmen, bu bulguların Ad ve Bd gruplarındaki kemelerde daha yüksek oranlarda görülmesi dikkati çekti. Bu durum kemelerdeki minimal metabolizma farklılıkları nedeniyle meydana gelmiş olabilir. Diğer bir sebep ise, hemen sonra ayrıntıları ile bahsedeceğimiz ve deney grubu kemelerin tümünde izlediğimiz bir bulgu olan Kupffer hücre aktivasyonu sonucu açığa çıkan oksijen metabolitlerinin (30,48) etkisi olabilir.

Karaciğerde Kupffer hücre değişiklikleri, hiperplazi ve hücre morfolojisinde meydana gelen farklılıklar yönünden incelendiğinde Ad ve Bd gruplarında belirgin Kupffer hücre hiperplazisi ve aktivasyonu olduğu sonucuna ulaşıldı.

Dean ve ark.ları ile Adams ve arkadaşları tarafından yapılan iki ayrı çalışmada, inhalasyon yolu ile 3 hafta, günde 6 saat, 15 ppm konsantrasyonda formaldehit etkisine bırakılan farelerin peritoneal makrofajlarından salınan hidrojen peroksit miktarının kontrol grubuna göre iki kat arttığı gösterilmiştir (34,36).

Karaciğerde Kupffer hücre aktivasyonu ile birlikte lobüler düzensizlik oluşturan difüz hepatosit zedelenmesi rejenere hepatositler ve portal alanlarda mononükleer iltihabi infiltrasyonun da izlenmesi akut ve kronik hepatitlerle bu lezyonların resolüsyon evresini düşündürür (48,61). Çalışmada Ad ve Bd grubu kemelerin karaciğerlerine ait kesitlerde, kontrol grubu kemeler ile karşılaştırıldığında önemli bir parankim hasarı ve portal alan değişikliği olmamasına rağmen, belirgin Kupffer hücre aktivasyonu dikkati çekmiştir. Bu da Mononükleer Fagositler Sisteme dahil olan Kupffer hücrelerinin (30,48) aktivasyonunun, Dean ve Adams'ın çalışmalarında gösterdikleri ve aynı sistemin bir başka üyesi olan peritoneal makrofaj aktivasyonuna benzer şekilde, kimyasal bir madde olan formaldehidin etkisi ile meydana geldiğini düşündürmektedir.

Formaldehit, canlı organizmalarda hızla metabolize olur (1,7,21,42). Formaldehidin eritrositler ve karaciğerde formik aside oksidasyonu metabolizmasının en önemli bölümü olup, aynı zamanda detoksifikasyonunu da sağlar (1,7,42,62). Formaldehidin metabolize olduktan sonra protein ve nükleik asitlere bağlanmasına "formaldehidin metabolik birleşmesi", aksine direkt bağlanma reaksiyonuna ise "kovalent bağlanma" denmektedir (7,37,42,46). Formaldehidin direkt bağlanması sonucunda, yaşayan canlı dokularda nekroz, antimikrobial aktivite, allerjenik ve mutajenik gibi çeşitli etkileri, canlılığını kaybetmiş ölü dokularda ise tesbit fonksiyonu oluşmaktadır (7,46,63).

Casanova-Schmitz ve ark. kemelere inhalasyon yolu ile 6 saat boyunca 0.3, 2, 6, 10 ve 15 ppm'lik konsantrasyonlarda, radyoaktif <sup>14</sup>C ve <sup>3</sup>H ile işaretlenmiş <sup>14</sup>C-<sup>3</sup>H formaldehit vererek nazal mukoza ve kemik iliğinde makromoleküllerin formaldehit ile reaksiyonlarında, metabolik birleşme ve kovalent bağlanma ayrımını yaptıkları çalışmalarında, formaldehidin organizmaya giriş yeri olan nazal mukozada hem metabolik birleşme hem de kovalent bağlanmanın gerçekleştiğini, oysa giriş yerinden uzak bir organ olan kemik iliğinde ise proteinler ve nükleik asitler ile olan reaksiyonun yalnızca metabolik birleşme şeklinde olduğu, bu nedenle de kemik iliğinin formaldehit toksisitesi için hedef olmadığı sonucuna varmışlardır (37). Casanova-Mercedes ve ark. ise maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada inhalasyon yolu ile verilen <sup>14</sup>C formaldehidin organizmaya giriş yeri olan respiratuar yolda DNA'ya direkt olarak bağlandığını göstermişlerdir (64).

Çalışmada, sc olarak formaldehit uygulanan kemelerde formaldehidin organizmaya giriş yeri olan deri ve subkutan dokuda makromoleküllere kovalent bağlanması sonucunda koagülasyon nekrozu olduğu sonucuna varılmıştır. Uygulama bölgesinden uzakta yer alan organlar olan kemik iliği ile akciğer, karaciğer, dalak ve böbrekte kontrol grubuna göre sekonder değişiklikler dışında önemli bir farklılık gösteren herhangi bir histopatolojik bulgu ile karşılaşılması ise, bu organlarda formaldehidin makromoleküllere bağlanmasının metabolik birleşme şeklinde olması yani formaldehidin direkt olarak değil, oksidasyon ile formik aside detoksifiye olan metabolitlerinin makromoleküllerle birleşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Bardana EJ, Montanaro A. Formaldehyde: An analysis of its respiratory, cutaneous and immunologic effects. *Ann Allergy* 1991;66 (6):441-52.
- Breush FL, Ulusoy E. Genel Organik Kimya. Bir süstitüentli alifatik bileşikler. Birinci Baskı. İst. Ü. Kimya Fak. Yayınları, Fatih Yayınevi, 1977;34-92.
- Graham Solomons TW. Organic Chemistry. Second ed. New York: John Wiley Sons Inc. 1980:696-748.
- Kalemlı M, Ertürk E. Deneyel mesane tümörlerinin mesaneyeye formalin instilasyonu ile tedavisi. *Kanser* 1979;1:259-68.
- Mortimer CE. Chemistry. A conceptual approach. Fourth ed. New York D. Van Nostrand Company 1979:725-52.
- Özen C, Sözen H. Adli Tıp ve Toksikoloji. Birinci Baskı. İst. Ü. Tıp Fak. Yayınları. Sermet Matbaası 1975:5915.
- World Health Organisation and published under the joint sponsorship of the United Nations environmental programme the International Labour Organisation. Formaldehyde: Environmental Health Criteria 89. First ed. Geneva: WHO 1989;3-176.
- Zlatkis A, Braithwaite E, Jung GA. Concise Introduction to organic chemistry. International student ed. Tokyo Printing Co. 1973:287-320.
- Berke JH. Cytologic examination of the nasal mucosa in formaldehyde exposed workers. *J Occup Med* 1987;28(8):681-4.
- Blair A, Saracci R, Stewart PA, Hayes RB, Shy C. Epidemiologic evidence on the relationship between formaldehyde exposure and cancer. *Scand J Work Environ Health* 1990;16:381-93.
- Buncher CR. Did formaldehyde cause lung cancer? *J Occup Med* 1989;31(11):885.
- Çetin ET. Dezenfeksiyon, antiseptik, sterilizasyon işlemleri ve hastanede uygulanışları. İst. Ü. İst. Tıp Fak. Birinci Baskı. İst. Sanat Matbaası. 1982:141-43.
- Dallas CE, Badaux P, Theiss JC, Fairchild EJ. The influence of formaldehyde on rat lung cytotoxicity P450. *Environmental Research* 1989;49:50-9.
- Grammer LC, Harris KE, Shaughnessy MA, Sparks P, Ayars GH, Altman LC, Patterson R. Clinical and immunologic evaluation of 37 workers exposed to gaseous formaldehyde. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86 (2): 177-81.
- Holmstrom M, Dagoo RB, Wilhelmson B. Antibody production in rat after long term exposure to formaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989;100:328-33.
- Kalkas M. Mesane tümörleri ve tedavi prensipleri. Ank. Ü. Tıp Fak. Yayınları. Birinci Baskı. Ank. Ü. Basınevi 1974:352-3.
- Korkud G, Karabay K. Üroloji. İst. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Birinci Baskı. İstanbul: Hilal Matbaacılık Kollektif Şirketi 1985:393.
- Ma TH, Harris MM. Review of the genotoxicity of formaldehyde. *Mutant Res* 1986;1(1):37-59.
- Malaka T, Kodama AM. Respiratory Health of plywood workers occupationally exposed to formaldehyde. *Arch Environ Health* 1990;45(5):288-94.
- Nunn AJ, Craigen AA, Darbyshire JH, Venables KM, Taylor AJN. Six year follow up of lung function in man occupationally exposed to formaldehyde. *Br J Ind Med* 1990;47(11):747-52.
- Pabst R. Exposure to formaldehyde in anatomy: An occupational health hazard? *The anatomical record* 1987;219:109-12.
- Partanen T, Kauppinen T, Hernberg S, Nichols J, Lukkonen R, Hakulinen T, Pukkala E. Formaldehyde exposure and respiratory cancer among woodworkers-an update. *Scand J Work Environ Health* 1990;16:394-400.
- Robbins JD, Norred WP. Bioavailability in rabbits of formaldehyde from durable-press textiles. *J Toxicol Environ Health* 1984;14:453-63.
- Rumph PH. Formaldehyde vapor levels in a gross anatomy laboratory during dissection of the lung. *Anat Histol Embryol* 1987;16(29):144-9.
- Schaugter EN, Witek TJ, Brody DJ, Tosun T, Beck GJ, Leaderer BP. A study of respiratory effects from exposure to 2.0 ppm formaldehyde in occupationally exposed workers. *Environ Res* 1987;44(2):188-205.
- Sterling TO, Weinkam JJ. Reanalysis of lung cancer mortality in a national cancer institute study on "mortality among industrial workers exposed to formaldehyde". *Exp Pathol* 1989;27:351-6.
- Vaughan TL, Strader C, Davis S, Dalgin CLR. Formaldehyde and cancer of the pharynx, sinus and nasal cavity: I. Occupational exposures. *Int J Cancer* 1986;38:677-83.
- Vaughan TL, Strader C, Davis S, Dalgin JR. Formaldehyde and cancers of the pharynx, sinus and nasal cavity: II. Residential exposures. *Int J Cancer* 1986;38(5):685-8.
- Yurdakök M, Çağlar M. Formaldehidin sıçanlar üzerindeki etkileri. *Ankara Hastanesi Dergisi* 1985;20:189-91.
- Sternberg SS. Toxic Terror: A counter attack (editorial) 1986;27:351-6.
- Sourgin S, Bars DL, Clot AM, Hamon M, Cesselin F. Subcutaneous formalin induces a segmental release of Met-enkephalin-like material the rat spinal cord. *Pain* 1990;41(3):323-9.
- Farooqui MYH, Upreti RK, Ahmed AE, Ansari GAS. Influence of intraperitoneally administered formaldehyde on bile production and tissue glutathione levels in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1986;53(2):233-6.
- Katakura Y, Kishi R, Okui T, Ikeda T, Miyake H. Distribution of radioactivity from 14C-formaldehyde in pregnant mice and their fetuses. *Br J Ind Med* 1993;50(2):176-82.
- Pertovaara A, Tuveka T. Effect of subcutaneous formalin treatment on responses to bulboreticular nociceptive neurons in the rat. *Brain Res Bull* 1989;23(6):457-62.
- Porro Cavazzuti M, Galetti A, Sassatelli L. Functional activity mapping of the rat brainstem during formalin-induced noxious stimulation. *Neuroscience* 1991;41(2-3): 667-80.
- Porro CA, Cavazzuti M, Galetti A, Sassatelli L, Barbieri FC. Functional activity mapping of the rat brainstem during formalin-induced noxious stimulation. *Neuroscience* 1991;41(2-3):655-65.
- Casanova-Schmitz M, Starr TB, Heck HD. Differentiation between metabolic incorporation and covalent binding in the labeling of macromolecules in the rat nasal mucosa and bone marrow by inhaled (14C) and (3H) formaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;76:26-44.
- Dallas CE, Mellard DN, Theis JC, Pentecost AR, Feirchild EJ. Distribution of DNA and RNA content in the bone marrow and alveolar macrophages of rats subchronic inhalation of formaldehyde. *Environ Res* 1987;43(1):191-202.
- Adams DO, Hamilton DA, Lauer LD, Dean JH. The effect of formaldehyde exposure upon the mononuclear phagocyte system of mice. *Toxicol Applied Pharmacol* 1987;88:165-74.
- Strubert O, Younes M, Pentz R. Mechanistic study on formaldehyde induced hepatotoxicity. *J Toxicol Environ Health* 1989;27:351-6.
- Wilmer JWGM, Woutersen RA, Appelman LM, Leeman WR. Subchronic (13 week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8 hour intermittent versus 8 hour continuous exposure. *Toxicology Letters* 1989;47:287-93.
- Upreti RK, Farooqui MYH, Ahmed AE, Ansari GAS. Toxicokinetics and molecular interaction of 14C-formaldehyde in rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 1987;16:262-73.
- Till HP, Woutersen RA, Feron VJ. Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4 week drinking water study in rats. *Food Chem Toxicol* 1988;26(5):447-52.
- Vural G. Formaldehit soluyan sıçanlarda görülen histopatolojik değişiklikler. *Türk Patoloji Dergisi* 1993;9:142-7.
- Aktan ZA, Onal B, Gövs F, Seyfioglu R, Şenilimaz Y, Günel Ö. Formaldehidin beyaz sıçanların akciğer dokusunda oluşturduğu histopatolojik değişiklikler. *İzmir Göğüs Hastalıkları Dergisi* 1995;9(1):21-31.
- Bolt HM. Experimental toxicology of formaldehyde. *J Cancer Res Clin Oncol* 1987;38:145-54.
- Erkoçak A. Genel Histoloji: Epitel dokusu. 3. Baskı. Ank. Ü. Tıp Fak. Yayınları 1980:110-55.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease: Cellular injury and adaptation. 4th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company 1994.
- Sun NJC. Bone marrow. In: Silverberg SG ed. Principles and practice of surgical pathology. Second ed. New York: Churchill Livingstone Inc 1990:431-67.
- Marsh JC, Boggs DR. Leukocytes and hematopoietic stem cells. In: Sodeman TM. Sodeman's pathologic physiology. Mechanism of disease. 7th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company 1985:584-647.
- Hardy J. Hematology of rats and mice. In: Cotchin E, Roe Francis JC, eds. Pathology of laboratory rats and mice. First ed. Oxford: Blackwell Scientific publications 1967:501-31.
- Lomax LG, Keyes DG, Kociba RJ. Extramedullary hemopoiesis, spleen, rat. In: Jones TC, Ward JM, Mohr U, Hund RD eds. Hemopoietic system: Monographs on pathology of laboratory animals. A sponsor by the International Life Sciences Institute. First ed. Berlin: Springer Verlag 1990:79-87.
- Cramer DM. Refutation of hemopoiesis. In: Jones TC, Ward JM, Mohr U, Hund RD eds. Hemopoietic system: Monographs on pathology of laboratory animals. A sponsored by the International Life Sciences Institute. First ed. Berlin: Springer Verlag 1990:3-65.
- Erdal S, Ullutun ON, Erdal M. Aspirin verilerek trombosit defekti oluşturulan sıçanlarda megakaryopoezin incelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi* 1990;12(1):19-26.
- Cronin E. Formaldehyde is a significant allergen in woman with hand eczema. *Contact Dermatitis* 1991; 25(5):276-82.
- Lee HK, Aleria Ya, Karol MA. Induction on formaldehyde sensitivity in guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;75:147-55.
- Rook G. Cell mediated immune responses. In: Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. Second ed. London: Churchill Livingstone 1989;9:1-9.14.
- Brostoff J, Hall T. Hypersensitivity type I. In: Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. Second ed. London: Churchill Livingstone 1989:19.1-19.9.
- Torunoğlu K. Dolaşım, solunum ve kan hastalıkları fizyolojisi. Ank. Ü. Tıp Fak. Yayınları 1981:225-362.
- Lever WF, Schamburg-Lever GB. Histopathology of the skin. Noninfectious vesicular and bullous diseases. 7th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company 1990:103-51.
- Ruebner BH, Montgomery CK, French SW. Diagnostic pathology of the liver and biliary tract: Acute, chronic hepatitis. First ed. New York: Hemisphere publishing Corporation 1991:49-122.
- Pocker Y, Li H. Kinetics and mechanism of methanol formaldehyde interconversion and formaldehyde oxidation catalysed by liver alcohol dehydrogenase. *Adv Exp Med Biol* 1991;284:315-35.
- Dallenbach-Helweg G. Histopathology of the endometrium: methods of obtaining, preparing and interpreting. 4th ed. Berlin: Springer-Verlag 1987:8-9.
- Casanova M, Morgan KT, Steinhagen WH, Everitt JL, Popp JA, Heck HD. Covalent binding of inhaled formaldehyde to DNA in the respiratory tract of rhesus monkeys: Pharmacokinetics, rat to monkey interspecies scaling and extrapolation to man. *Fundam Appl Toxicol* 1991; 17(2):409-28.