

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2013-YL-005**

**SUNSET YELLOW'UN TAVUK EMBRİYOSU
DERİ VE BARSAK MAST HÜCRELERİNDE
DEGRANÜLASYON ETKİLERİ**

Tülay GÜLER

**Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA**

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Tülay GÜLER tarafından hazırlanan “Sunset Yellow’un Tavuk Embriyosu Deri ve Barsak Mast Hücrelerinde Degranülasyon Etkileri” başlıklı tez, .././2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı,	Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Alparslan GÖKÇİMEN	ADÜ
Üye :	Doç. Dr. Yücel KOCA	ADÜ
Üye :	Doç. Dr. Beyhan GÜRCÜ	CBÜ

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.././2012

Tülay GÜLER

ÖZET**SUNSET YELLOW' UN TAVUK EMBRİYOSU DERİ VE BARSAK
MAST HÜCRELERİNDE DEGRANÜLASYON ETKİLERİ**

Tülay GÜLER

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA

2012, 91 sayfa

Bu çalışmada, hazır gıdalarda yapay renklendirici olarak kullanılan sunset yellowun (E110) tavuk embriyosu dermal ve mukozal mast hücrelerindeki degranülasyon etkisi histolojik yönden incelenmiştir. Çalışma kontrol ve deney gruplarına ayrılmıştır. Deney gruplarına ait yumurtaların vitellusuna inkübasyonun 15. gününde sunset yellow (2.5mg/kg) enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 6, 12, 24 saat sonra, embriyolardan alınan deri ve barsak dokuları rutin histolojik işlemlerden geçirildikten sonra incelenip değerlendirilmiştir.

Sunset yellow enjeksiyonundan 6 saat sonra deri örneklerinde sıkı paketlenmiş granül içeren çok sayıda mast hücresi tespit edilmiştir. 12 saat sonra kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon, 24 saat sonra ise pek çok mast hücresinde ileri düzeyde degranülasyon tespit edilmiştir. Barsak dokusu mast hücreleri incelendiğinde SY enjeksiyonundan 6 saat sonra kısmi, 12 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon tespit edilmiştir. Enjeksiyondan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyonun devam ettiği, sıkı paketlenmiş granüller içeren mast hücrelerinin sayıca az olduğu gözlenmiştir. Her iki dokuda kısmi degranüle mast hücresi granüllerinin gevşek ve kaba granüller oluşturduğu, ileri degranülasyon gösteren mast hücrelerinin ise daha az granül içerdiklerinden dolayı daha aydınlık sitoplazmaya sahip oldukları görülmüştür.

Sonuç olarak; sunset yellowun mast hücrelerinde bulunan mediatörleri harekete geçirdiği, bunun sonucu olarak mast hücrelerinde degranülasyona neden olduğu ve sunset yellowa maruz bırakılma süresine bağlı olarak degranülasyon derecesinde farklılık olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Sunset yellow, tavuk embriyosu, mast hücresi, deri, barsak.

ABSTRACT**DEGRANULATION EFFECTS OF SUNSET YELLOW ON DERMAL AND
INTESTINAL MAST CELLS OF CHICKEN EMBRYO**

Tülay GÜLER

M.Sc. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Assoc.: Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA

2012, 91 pages

In this study, the degranulation effect of sunset yellow (E110) which is used as artificial coloring agent in ready food was histologically examined on dermal and mucosal mast cells of chicken embryo. Experimental set was divided into two groups as control and treatment. Sunset yellow (2.5mg/kg) was injected into vitellus of treatment group embryos of eggs on the 15th day of incubation. Skin and intestine tissues obtained from embryos were evaluated, following routine histological procedure, 6, 12, 24 hours after injection.

6 hours after injection of sunset yellow, a large number of mast cells with tightly packed granule in the samples of skin tissues were observed. After 12 hours, medium to high levels of degranulation was determined while high levels of degranulation was seen in most of mast cells after 24 hours treatment. Moreover, examination of intestinal mast cells showed that while injection of sunset yellow caused low level degranulation after 6 hours, high level degranulation was observed after 12 hours of injection. It was observed although the number of mast cells containing tightly packed granules were less in numbers but degranulation continued at high levels. In both types of tissues, it was found that partially degranulated mast cell formed loose and coarse granules where mast cells showing high level of degranulation have brighter cytoplasm since they contain less granules.

In conclusion, it was found that sunset yellow treatment triggered mediator which is located in mast cells and therefore caused degranulation in mast cells. Degranulation levels showed differences which was associated with the exposure time to sunset yellow.

Key Words: Sunset yellow, chicken embryo, mast cell, skin, intestine.

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve bütün çalışmalarım boyunca ihtiyaç duyduğum her zaman manevi desteğini ve bilimsel tecrübelerini benden esirgemeyen, bana rehber olan, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum danışman hocam Doç. Dr. Yücel Başimoğlu KOCA sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans çalışmalarımda bilgi ve tecrübeleriyle bana değerli katkılarda bulunan Doç. Dr. Serdar KOCA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın, bu zorlu ve uzun serüveninde, tüm sevinçlerini ve zorluklarını birlikte paylaştığım, desteği ile varlığını her zaman omuzumda hissettiğim değerli Biyolog Erkan SERTKAYA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Evlatları olmaktan büyük gurur ve mutluluk duyduğum, tüm eğitimim süresince maddi ve manevi destek ve yardımlarıyla sonuna kadar yanımda olan sevgili babam Kasım GÜLER ve annem Gülten GÜLER'e, emek ve sevgileri için yürekten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
SİMGELER DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Gıda Renk Maddeleri ve Gıdalarda Kullanımı.....	4
1.1.1. Sunset Yellow (F.C.F.).....	7
1.2. Tavuk Yumurtasının Yapısı	9
1.3. Tavuklarda Embriyonik Gelişim.....	11
1.4. Kanatlılarda Deri Gelişimi ve Morfolojisi	13
1.5. Kanatlılarda Barsak Gelişimi ve Morfolojisi	15
1.6. Mast Hücreleri.....	17
1.6.1. Mast hücrelerinin morfolojisi.....	18
1.6.2. Mast hücrelerinin orijini ve farklılaşması	19
1.6.3. Mast hücrelerinin heterojenitesi ve boyanma özellikleri	21
1.6.4. Mast hücrelerinin mediatörleri	23
1.6.4.1. Önceden şekillenmiş mast hücre mediatörleri.....	23
1.6.4.2. Yeni şekillenen mast hücre mediatörleri.....	25
1.6.4.3. Mast hücre sitokinleri.....	26
1.6.5. Mast hücrelerinin fonksiyonları	27
2.KAYNAK ÖZETLERİ	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	34
4. BULGULAR	38
4.1. Deri.....	38
4.1.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu	38
4.1.2. Deney grubu	41
4.2. Barsak.....	54
4.2.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu	54
4.2.2. Deney grubu	57
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	68







KAYNAKLAR.....	77
ÖZGEÇMİŞ.....	91

KISALTMALAR

AB/SO	Alcian Blue / Safranin O
°C	Santigrat Derece
CD13	Aminopeptidase N
CD34+	Hematopoetik Kök Hücre Yüzey Belirteci
CD4+	Yardımcı T hücreleri
CHEST	Chicken Embryotoxicity Screening Test
$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	Sunset Yellow
c-kit	Proto-onkogen
CTMC	Connective Tissue Mast Cells
d	Dermis
DBPFC	Double-blind placebo-controlled food challenge
e	Epidermis
ECF-A	Eozinofilik Kemotaktik Faktör-Anafilaksi
FAO	Food Agriculture Organization
F.C.F	For Colouring of Food
g	Gram
GKM	Gıda katkı maddesi
H1	Histamin 1
H2	Histamin 2
H3	Histamin 3
H4	Histamin 4
HET	Hen's Eggs Test
H-E	Hematoksilen Eosin
HH skalası	Hamburger ve Hamilton skalası
IgE	İmmünglobülin E
IL-4	İnterlökin 4
IL-5	İnterlökin 5
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
k	Kas
kd	Kan damarı
kf	Kıl folikülü
kg	Kilogram
L	Lümen
LH	Lüteinleştirilen Hormon
Lp	Lamina propria

μm	Mikro Metre
mg	Miligram
MHT	Triptaz
MHTC	Kimaz
ml	Mililitre
MMC	Mucosal Mast Cells
MÖ	Milattan Önce
N	Azot
NaSO_3	Sodyum Sülfid
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
pH	Power of Hydrogen
RMCP I	Rat Mast Cell Proteaz I
RMCP II	Rat Mast Cell Proteaz II
s	Subkutis
SCF	Stem Cell Factor
SO_3Na	Sülfonat
SPF	Spesific Pathogen Free
str.	Stratum
SY	Sunset Yellow
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
tm	Tunika mukoza
Tm	Tunika muskularis
TNF- α	Tümör Nekroze Edici Faktör
Ts	Tunika seroza
V	Villus
vd.	Ve Diğerleri

SİMGELER DİZİNİ

-  Mast Hücresi
-  Mukozal Mast Hücresi
-  Kısmi Düzeyde Mast Hücresi
-  İleri Düzeyde Mast Hücresi
-  Sıkı Paketlenmiş Granül İçeren Mast Hücresi
-  Metakromatik Granüllere Sahip Mast Hücresi
- * Yağ Hücresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sunset yellow'un kimyasal formülü.....	7
Şekil 1.2. Tavuk yumurtası.....	9
Şekil 3.1. Hamburger ve Hamilton (1992)'a göre yeniden hazırlanmış embriyo safhaları.....	37
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu derinin genel görünümü.....	39
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu derisinde sıkı paketlenmiş, yoğun granüller içeren dermal mast hücreleri. Metilen mavisi, 80X.....	40
Şekil 4.3. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu dermal mast hücreleri. Modifiye giemsa, 80X.....	40
Şekil 4.4. 15 günlük 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesiti, kıl folikülü ve kan damarı etrafında yer alan çok sayıda mast hücreleri kıl folikülü, kan damarı. Metilen mavisi, 40X.....	42
Şekil 4.5. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermiste yer alan kısmi ve ileri degranüle mast hücreleri. Metilen mavisi, 100X.....	42
Şekil 4.6. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermiste sıkı paketlenmiş granül içeren ve kısmi degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Metilen mavisi, 100X.....	43
Şekil 4.7. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş granüllere sahip mast hücresi. Metilen mavisi, 160X.....	43
Şekil 4.8. 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesitinde kıl folikülü etrafında toplanmış sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücreleri. Modifiye giemsa, 40X.....	44
Şekil 4.9. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon. Modifiye giemsa, 100X.....	44
Şekil 4.10. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon. Thionin, 100X.....	45
Şekil 4.11. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen degranülasyon. Çok sayıda sıkı paketlenmiş mast hücreleri Thionin, 100X.....	45

- Şekil 4.12. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra iri, kaba, metakromatik granüllere sahip mast hücresi. Thionin, 160X..... 46
- Şekil 4.13. 15 günlük 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesiti. Kan damarı etrafında yer alan çok sayıda mast hücreleri. Metilen mavisi, 40X..... 46
- Şekil 4.14. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen degranülasyon. Kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon. Metilen mavisi, 100X.....47
- Şekil 4.15. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Metilen mavisi, 160X..... 47
- Şekil 4.16. 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu dokusu dermis tabakasında yer alan çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Modifiye giemsa, 40X..... 48
- Şekil 4.17. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücreleri. Modifiye giemsa, 100X..... 48
- Şekil 4.18. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücreleri. Modifiye giemsa, 160X..... 49
- Şekil 4.19. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren mast hücreleri .İleri düzeyde degranüle mast hücresi. Modifiye giemsa, 160X..... 49
- Şekil 4.20. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi. Thionin, 100X.....50
- Şekil 4.21. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra iri, kaba ve gevşek granüllere sahip dermal mast hücresi izlenmektedir. Toluidin mavisi, 160X..... 50
- Şekil 4.22. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi. Metilen mavisi, 100X.....51
- Şekil 4.23. Sunset yellowun enjeksiyonundan 24 saat sonra tavuk embriyosu deri kesiti genel görünüm. Dermiste yer alan çok sayıda mast hücresi. Modifiye giemsa, 40X..... 51
- Şekil 4.24. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kan damarı etrafında yerleşim gösteren ileri düzeyde degranüle çok sayıda mast hücresi. Modifiye giemsa, 100X.....52

Şekil 4.25. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi ve ileri düzeyde degranüle mast hücreleri. Modifiye giemsa, 160X.....	52
Şekil 4.26. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücreleri. Thionin, 100X.....	53
Şekil 4.27. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra dermal mast hücresinde ileri düzeyde degranülasyon . Toluidin mavisi, 160X.....	53
Şekil 4.28. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsağın genel görünümü.....	55
Şekil 4.29. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak mast hücresi genel görünümü. Metilen mavisi, 80X.....	56
Şekil 4.30. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak mast hücresi genel görünümü. Modifiye giemsa , 80X.....	56
Şekil 4.31. 15 günlük 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti.Metilen mavisi, 40X	58
Şekil 4.32. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş granül içeren ve kısmi degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi. Metilen mavisi, 100X.....	58
Şekil 4.33. 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti.Modifiye giemsa, 40X	59
Şekil 4.34. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş ve kısmi degranülasyon gösteren mast hücresi. Modifiye giemsa, 100X.....	59
Şekil 4.35. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş, kısmi degranülasyon gösteren ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mukozal mast hücresi. Modifiye giemsa, 100X.....	60
Şekil 4.36. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi . Toluidin mavisi, 100X.....	60
Şekil 4.37. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi . Toluidin mavisi, 160X.....	61
Şekil 4.38. 15 günlük 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti.Thionin, 40X.....	61
Şekil 4.39. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi. Metilen mavisi, 100X	62

- Şekil 4.40. SY' enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Modifiye giemsa, 100X.....62
- Şekil 4.41. Enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren ve ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mukozal mast hücreleri. Modifiye giemsa, 100X.....63
- Şekil 4.42. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücreleri izlenmektedir. Toluidin mavisi, 160X..... 63
- Şekil 4.43. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra birkaç iri metakromatik granül içeren mukozal mast hücresi. Toluidin mavisi, 200X..... 64
- Şekil 4.44. 24 saatlik deney grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak kesiti. Metilen mavisi, 40X.....64
- Şekil 4.45. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi . Metilen mavisi, 160X.....65
- Şekil 4.46. 24 saatlik deney grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak kesiti. Modifiye giemsa, 40X..... 65
- Şekil 4.47. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Modifiye giemsa, 100X.....66
- Şekil 4.48. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra metakromatik ve sıkı paketlenmiş granüllere sahip mast hücreleri. Thionin, 160X.....66
- Şekil 4.49. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi. Toluidin mavisi,100X67
- Şekil 4.50. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi ve ileri degranülasyon gösteren mast hücreleri izlenmektedir. Toluidin mavisi, 160X..... 67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Dermal mast hücrelerinin süreye bağlı degranülasyon yoğunluğu.....	41
Çizelge 4.2. Mukozal mast hücrelerinin süreye bağlı degranülasyon yoğunluğu.....	57

1. GİRİŞ

Beslenme; canlıların büyüme, gelişme sağlıklı ve üretken olarak uzun süre yaşaması için gerekli olan besin öğelerini yeterli miktarlarda alıp vücudunda kullanmasıdır. Bu öğelerin herhangi biri alınmadığında veya gereğinden az ya da çok alındığında, büyüme ve gelişmenin engellendiği ve sağlığın bozulduğu bilimsel olarak ortaya konmuştur. Sağlıklı bir yaşam için vücudun gereksinim duyduğu enerji ve madde ihtiyacının karşılanması dengeli ve düzenli bir beslenme ile olur. İnsan beslenmeden büyümez ve sağlıklı yaşayamaz. Beslenmenin insan sağlığı ve yaşamındaki önemi gün geçtikçe daha iyi anlaşılmaktadır. 2000'li yıllara geldiğimiz şu dönemde, elli yıl öncesiyle kıyasladığımızda beslenme alışkanlıklarımızın neredeyse tamamen değiştiğini söyleyebiliriz. Günümüzde hem zaman darlığından, hem pratik olduklarından, hem de çekici görüntüleri nedeniyle, üzerinde çok da fazla düşünmeden tükettiğimiz hazır yiyeceklerle, doğal besinlerden hızla uzaklaşıyoruz (Çalışır ve Çalışkan, 2003).

Dünya nüfusundaki artışlar, gıda sektörünü besleyen hammadde kaynaklarındaki azalmalar, insanların yaşam standartlarını yükseltme eğilimleri, hızlı şehirleşme, hazır yiyeceklere olan talebi arttırmış insanları teknolojik buluşlara yönlendirmiştir. Gıda sektörüne yeni ve üstün teknolojilerin kazandırdığı değişik üretim teknikleri, buna göre ürünlerin çeşitlenmesi, tüketici beğenisinin değişmesi ve bilinçlenmesi, mevsimlik gıdaların yılın her döneminde tüketilme eğilimlerinin artması, ürünlerde raf ömrünün uzatılması ve kalitede standardizasyon zorunluluğu, daralan gıda kaynaklarının rasyonel kullanımı gibi hususlar, gıda endüstrisinde kullanılan tekniklerin yanı sıra "gıda katkı maddeleri" nin kullanımını zorunlu hale getirmiştir (Jacobs, 1958).

İnsanlık tarihi ile kullanıma başlandığı söylenebilecek katkı maddelerinin tarihsel gelişmelerinin iki etki ile şekillendiği anlaşılmaktadır. Birincisi, gelişen teknolojiye paralel olarak gıda saklama yöntemlerinin de geliştirilmesine duyulan gereksinim; ikincisi ise, tüketici gözünde gıdanın mevcut kalitesini daha iyi olarak algılanmasını sağlamaktır (Altuğ, 2001).

Tüketicilerin isteklerine yanıt vermek üzere, hızla gelişen gıda endüstrisi sayesinde teknolojik şartlarda çok çeşitli gıda maddesi üretilmekte ve tüketicilere sunulmaktadır. Günümüzde tüketiciye sunulan bu gıdalar pek çok kimyasal madde içermektedir. Bu kimyasalların çoğu gıdaların doğal bileşeni iken, gıda işleme

sırasında gıdaya istenilerek katılan veya bulaşan bazı maddeler de bulunmaktadır. Örneğin; gıdaları korumak için yapılan işlemlerin tarihsel altyapısı incelendiğinde, tuz ve odun tütsüsü bilinen en eski yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. M.Ö. 3000 yıllarında et ürünlerini kürlenmede tuzdan yararlanıldığı, M.Ö. 900 yıllarında ise tuz ve odun tütsüsünün gıda saklama yöntemleri olarak kullanıldıkları görülmektedir (Altuğ, 2001; Çalışır ve Çalışkan, 2003) . M.Ö. 50. yüz yılda tuz, odun tütsüsü ve baharatlardan lezzet verici olarak yararlanılmış, gıda boyaları ise 3500 yıl kadar önce Mısırlılar tarafından renklendirici amaçla kullanılmıştır. 20. yüzyılda gıda üretiminin artması ile gıda katkı maddelerinin kullanımında da önemli artışlar yaşanmıştır (Altuğ, 2001). Bu artışların yaşanması ile gıda sanayinde de önemli adımlar atılmıştır. Böylece, işlenmiş gıda ürünleri son derece çeşitlenmiş ve üretimlerinde kullanılan gıda katkı maddelerinin sayıları da hızla artmıştır. Günümüzde 2000’den fazla katkı maddesinin kullanımı söz konusudur (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

Katkı maddesi terimi latince “katmak” anlamındaki “addere” kelimesinden türetilmiştir. Gıda katkıları genel anlamda, tek başına gıda niteliği taşımayan ancak gıdalara üretim, işleme, depolama veya ambalajlama gibi aşamalarda katılan madde veya karışımları olarak ifade edilmektedir (Altuğ, 2001).

Gıda katkı maddesi (GKM) Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinde şöyle tanımlanmaktadır; tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham ya da yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan, işlem veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılan maddelerdir (Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği, 2002).

Gıda katkı maddelerinin sınıflandırılmasında katkı maddesinin eklendiği gıdadaki fonksiyonu göz önüne alınabilir ancak Türk Gıda Mevzuatında Avrupa Birliği ülkelerinde olduğu gibi E-kodları üzerinden pratik bir kodlama yöntemi kullanılarak sınıflandırılma yapılmıştır (Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği, 2002; Türk Gıda Mevzuatı, 2004).

E-kodları Avrupa Birliği'nin ilgili sağlık/gıda otoritelerinin gerekli güvenlik testlerinden geçmiş ve tüm spesifikasyonu belirlenmiş gıda katkılarına verilen kodları gösterir. Kodlama güvenliğinin ifadesi olup, bu kodlarda bir kullanım grubu temsil edilir (JECFA/WHO, 2005).

Gıda katkı maddelerinin kodlarına göre sınıflandırılması:

1. Renklendiriciler (E 100- 199)
2. Koruyucular (E 200- 299)
3. Antioksidanlar, asitlik düzenleyiciler (E 300- 399)
4. İncelticiler, emigülatörler, stabilizatörler (E 400- 499)
5. Asit- baz sağlayıcılar (E 500- 599)
6. Tatlandırıcı ve koku verenler (E 600- 699)
7. Antibiyotikler (E 700- 799)
8. Geniş amaçlı gıda katkı maddeleri (E 900-999)
9. Diğer kimyasallar (E 1000 1999)

(Çok, 2010; Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği, 2002).

Gıda katkı maddeleri doğal, doğala özdeş veya yapay olabilir. Doğal olanlar şeker pancarından elde edilen kırmızı renklendirici gibi maddeler, doğala özdeş olanlar vanilya gibi insanlar tarafından yapılan ancak doğanın aynı olan maddelerdir. Yapay olanlar ise sakarin gibi doğada bulunmayan sadece insanlar tarafından yapılan maddelerdir (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

Kullanılan kimyasal maddelerin kullanım amaçları; gıdaların dayanıklılığını arttırmak, lezzetini ve rengini daha çekici hale getirmek, gıdaların besleyici değerlerini korumak gibi örneklendirilse de Türk Gıda Kodeksinde gıda katkı maddeleri olarak adlandırılan bu kimyasallar amaçlarına göre sınıflandırılmış ve belli günlük kullanım dozları belirtilmiştir (Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği, 2002).

Gıda sanayinde ürünün renk kalitesini artırmak ya da dekoratif amaçlı olarak yapay ve doğal renk maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapay renk maddelerinin daha dayanıklı bir yapıya sahip olduğu belirtilmesine karşın, astma neden olabileceği, toksik ve alerjik etkileri görülebileceği bildirilmektedir (Karaali ve Özçelik, 1993; Yentür, 1998).

1.1. Renk Maddeleri ve Gıdalarda Kullanımı

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre, renk maddeleri tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıdalarda ana bileşen olarak kullanılmayan, gıdaya renk artırıcı veya renk düzenleyici olarak katılan maddeler olarak tanımlanmaktadır (ANON, 2002a).

Gıda boyaları, gıda katkı maddeleri içerisinde önemli bir grubu oluşturmakta ve gıdaların cazibesinin artışında önemli bir rol oynamaktadır (Brownsell vd., 1992; Yaman, 1996). Tüketicinin gıdanın kalitesi hakkındaki ilk izlenimi rengi ile ilgilidir (Saldamlı ve Uygun, 2004). Bu nedenle renk gıdada olgunluğun, bozulmanın, kalitenin göstergesi olarak tüketicinin gıdayı kabul ya da reddetme kararını etkilemektedir. Yani gıdanın toplam kalitesini belirlemede uygulanan duyuşal değerlendirmesinde toplam kalite puanının önemli bir oranını renk oluşturmaktadır (Ural, 1983).

Boya maddeleri gıdalara; işlem ve depolama sırasında gıda maddesinin kaybolan doğal rengini yeniden vermek, zayıf olan doğal rengi kuvvetlendirmek, gerçekte rensiz olan gıdalara renk vermek, düşük kalitelerini gizlememek koşuluyla cazip ve kabul edilebilen ürünler elde etmek amacıyla katılmaktadır (Karaali ve Özçelik, 1993; Yaman, 1996; Yentür, 1998). Uygulanan gıda işleme tekniklerine bağlı olarak ortaya çıkan renk bozukluklarını gidermek amacıyla da bazı gıdalarda renk maddeleri kullanılmaktadır. Ayrıca, üründe homojen renk dağılımını, görünümü çekici hale getirmek ve yeni formülasyonlarda gıdaya renk kazandırmak amacıyla da renk maddeleri kullanılmaktadır (Saldamlı ve Uygun, 2004).

Çeşitli gıda maddelerinin renklendirilmesinde duyulan gereksinim; sosyal, coğrafik, etnik ve tarihsel gelişim faktörleri etkisinde oluşmuştur. Aslında antik çağlarda baharatlar ve meyveler gibi çeşitli maddeler şarap, ekmek gibi maddelerin renklendirilmesinde kullanılmıştır (Altuğ, 2001). On binlerce yıldır, kurkuma, kök boya, anatto, indigo ve çivitotu gibi bitki materyalleri gıdalarda renk maddesi olarak kullanılmaktadır (Henry, 1980). Gıdalarda kullanılan ilk ticari renk maddeleri basit bitki ekstraktlarıdır. Kırmızıdan maviye kadar renk aralığı oluşturan antosiyeninler genel olarak üzümlerden, mürver ağacı çiçeğinden ve kırmızı lahanadan ekstrakte edilmiştir. Sarı, turuncu ve kırmızı renk aralığı oluşturan karotenoidler, havuç, kırmızı domates ve biber gibi çok çeşitli meyve ve

sebzelerde bulunmuştur. Kadife çiçeğinden, sarı renkli lutein ve kırmızı pancardan da betalainler ekstrakte edilmiştir (Genç, 1999).

18. yüzyılda başlayan sanayi devrimi ile birlikte hızla şehirleşme başlamış ve buna bağlı olarak hazır gıda tüketimi yaygınlaşmıştır. Hazır gıdaların yüksek miktarda üretilmesine rağmen, bu gıdalarda kullanılacak doğal renk maddelerinin üretim miktarı artan talebi karşılayamamıştır. Bu nedenle de bakır ve kurşun tuzları, bakır sülfat gibi çeşitli kimyasal maddeler renk maddesi olarak kullanılmıştır. Bu toksik maddelerle gıdaların renklendirilmesi sonucu İngiltere’de birçok ölüm vakası bildirilmiştir. Artan renk maddeleri talebini karşılaması için yapay renk maddeleri üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmıştır (Henry, 1980). Doğal renk maddelerine göre yapay renk maddelerinin renk verme gücü, renk aralıkları ve stabiliteyi daha yüksek ve ayrıca kullanımları daha uygundur. Bu nedenle de yapay renk maddeleri sanayide çok geniş kullanım alanı bulmuştur. Yapay renk maddelerinin keşfedildiği ve üretildiği 19. yüzyılın ortalarından itibaren, bu boyalar geleneksel olarak kullanılan doğal renk maddelerinin yerini almış ve günümüze kadar pek çok yapay renk maddesi sentezlenmiştir (Henry, 1980). Bu nedenle de doğal renk maddelerinin ticari olarak yaygın kullanımı 19. yüzyılın ortalarına kadar devam etmiştir (Karaali ve Özçelik, 1993). Ancak sonraki yıllarda yapılan araştırmalarda çeşitli yapay renk maddelerinin kullanımında sınırlamalar yapılması ve tüketicinin yapay renk maddeleri kullanılan gıdalara şüpheli yaklaşımı nedenleriyle, üreticiler tekrardan doğal renk maddelerini kullanmaya yönelmişlerdir (Henry, 1980). Ayrıca teknolojik gelişmelerle birlikte, başlangıçta üretilen doğal renk maddelerinin mat ve zayıf stabilite özellikleri geliştirilmiş ve böylece üreticilerin doğal renk maddesi kullanım oranı artmıştır (Genç, 1999).

Günümüzde gıdalarda kullanılan renk maddelerinin elde ediliş şekillerine göre doğal ve yapay renk maddeleri olarak iki guruba ayrılmaktadır. Doğal renk maddeleri mikrobiyal, bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan elde edilen pigment maddeleridir. Yapay renk maddeleri ise kimyasal yapıları nedeniyle doğada bulunmayan ancak kimyasal sentez yoluyla üretilen renk maddeleridir. Yapay renk maddelerinin çoğunluğunun sentezinde kömür katranı kullanılır. Yapay renk maddeleri çözünürlüklerine göre suda çözünen, yağda çözünen ve lake renk maddeler olarak üç grupta toplanmıştır. Yapay renk maddelerinin yapısında en az bir tuz formunun bulunması nedeniyle suda çözünebilmektedirler. Gıda maddelerinde kullanılan renk maddeleri sadece suda çözünme özelliği gösterenler arasından seçilmiştir. Yağda çözünen renk maddeleri yapılarında tuz formu

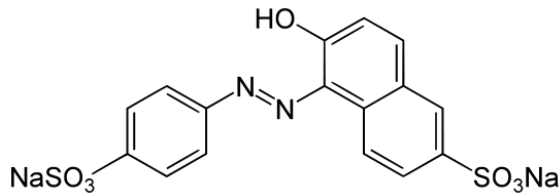
bulunmadığı için suda çözünmezler. Bu renk maddeleri toksik özellikleri nedeniyle gıdalarda kullanımına izin verilmemektedir. Lake renk maddeleri ise suda çözünen yapay renk maddelerinin alüminyum oksit üzerine alüminyum klorür ilavesi ile alüminyum tuzu olarak çöktürülmeleri yoluyla elde edilen suda çözünmeyen pigmentlerdir (Altuğ, 2001).

Yapay renk maddeleri arasında azo boyaları da bulunmaktadır. Azo boyaları, azo grubu içeren sentetik renklendirici olarak kullanılan gıda boyalarındandır. $-N=N-$, azo grubu yapısının bir parçasıdır. Bu azo grupları kendiliğinden meydana gelmezler. Azo boyalarının çoğu sadece bir azo grubu içerir. Fakat bazı azo boyaları iki azo grubu içerir ki bunlara diazo, üç azo grubu içerenlere de triazo denir. Daha fazla azo grubu içeren azo boyaları da mevcuttur (ANON, 2002a). Azo boyaları, tekstil ve gıda üretiminde kullanılan bütün boyaların yaklaşık yüzde 60-70' ini oluşturur. Teorik olarak, azo boyaları gökkuşağı renklerinin tamamını içerir. Fakat sarı/kırmızı renkleri mavi/kahverengi renklerine göre daha yaygındır. Azo bağının çevresinde bulunan, genellikle aromatik, farklı yan gruplar $N=N$ grubunun stabilizesine yardımcı olurlar. Bu grupların yerleştirilmesi, genişletilmiş dağınık bir sistemin parçası tarafından gerçekleşir. Bu farklı grupların yerleşmesiyle, birçok azo bileşenleri farklı renkler oluşturur. Çünkü dağınık ya da konjuge sistemler genellikle ışığın görünebilir frekanslarını emer. Aromatik azo bileşikleri ($R = R' = \text{aromatik}$) genellikle kararlı ve oldukça parlak renkler oluşturmaya eğilimlidir. Bir azo boyasının genel formülü için, iki tane organik bileşik gereklidir. Bunlar, bir bağlayıcı bileşen ve bir de diazo bileşenidir. Bu bileşenler önemli bir derecede değiştirilebildiği için özellikle, başlangıç molekülleri kolaylıkla elde edildiği ve maliyeti ucuz olduğu için çok fazla sayıda boya çeşidi elde edilir. Reaksiyonun basit olması, sürecin kolayca uzatılmasını ya da kısaltılmasını sağlar. Reaksiyonların enerji gereksinimleri düşüktür. Çünkü birçok kimyasal reaksiyon oda sıcaklığında ya da daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşir. Bütün reaksiyonların su içerisinde gerçekleşmesi, çevresel etkiyi azaltır. Çünkü suyu elde etmek kolay ve ucuzdur, ayrıca temizdir. Bütün bu faktörler, azo boyası üretiminin oldukça ucuz olmasını sağlar. Azo boyaları birçok doğal gıda boyalarından daha da kararlıdır. Azo boyaları bütün gıdaların pH aralığında kararlıdır. Azo boyaları ısıya karşı dayanıklıdır ve ışığa ya da oksijene maruz kaldığı zaman rengini kaybetmez. Bu da azo boyalarının her gıda için kullanılabilirliğinin göstergesidir. Azo boyaları yağlarda çözünmez. Ancak; bu boyaları, yağda çözünen bir madde içerisinde çözerek ya da çok küçük parçacıklar

halinde yağ içerisine yayarak, boyanın yağa rengini vermesi gerçekleştirilebilir (ANON, 2002a). Çalışmamızda kullandığımız sunset yellow da azo boyası grubuna girmektedir.

1.1.1. Sunset Yellow

Monoazo sınıfından olan sunset yellowun, CI Food Yellow 3, Orange Yellow S, CI (1975) no. 15985, INS No.110. isimleri de bulunmaktadır. Kimyasal adı ise Disodium 6-hydroxy-5-(4-sulfonato-phenylazo)-2-naphthalene-sulfonate dır. Kimyasal formülü $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$, molekül ağırlığı 452.38 g/mol' dür (FAO, 2001).



Şekil 1.1. Sunset yellowun kimyasal formülü (FAO, 2001).

Sunset yellowun fiziksel ve kimyasal özellikleri; toz ve granül halinde ve kırmızı portakal rengindedir. Asitlerle reaksiyona girdiği zaman rengi değişmez. Kalay klorür ilave edildiği zaman sunset yellow çözeltisinin rengi 2 dakika içinde açılır. Sodyum perborat eklendiğinde ise çözeltinin portakal rengi koyulaşır. Suda çözünen en az miktarı % 85'dir. Eser miktarda etanolde çözünür. Kurutmadaki kayıp en çok % 15'tir (ANON, 2002a).

Sunset yellow hazır gıdalarda renklendirici olarak kullanılan ve E kodu 110 ile tanınan gıda renk maddelerinden biridir. Sunset yellow toz formda olup suda çözünür. Oldukça kompleks bir kimyasal yapıya sahip olan azo boyasıdır. Sunset yellowun kullanıldığı gıdalar arasında portakal suyu, jel şekerlemeler, tahıl, pasta, tatlı, çerez, dondurma ve konserve balık bulunur. Ayrıca Berocca, Polaramine ve Ventolin şurup gibi ilaçların üretiminde kullanılır (<http://www.gıdacılar.net>). Kabul edilebilir günlük alım miktarı: vücut ağırlığı üzerinden 2.5 mg/kg'dır (FAO, 2001).

Sunset yellow azo boyası olarak kullanıldığından beri, insanlarda salisilatlar intolerans oluşturmaktadır. Buna ek olarak, histamini serbest bırakır ve astım belirtilerini yoğunlaştırır. Benzoatlarla kombinasyonlar halinde, çocuklarda hiperaktiviteye dahi yol açabilir (ANON, 2002a). Bunların yanı sıra; kurdeşen, rinit (burun akması), burun tıkanıklığı, allerji, hiper aktivite, böbrek tümörü, kromozom hasarı, karın ağrısı, bulantı ve kusma, hazımsızlık ve iştahsızlıktır. Hayvanlarda tümöre neden olduğu görülmüştür (<http://katkimaddeleri.blogspot.com>).

Yaygın olarak kullanılan gıda katkı maddeleriyle ve gıda boyalarıyla ilgili yapılan çok sayıda çalışma da bulunmaktadır. Gıda boyalarının toksikolojik etkileri (Güneşli, 2000), sodyum benzoatın fareler üzerine olan ontogenetik etkisi (Kamal ve Lashin, 1998) gibi çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar farklı organizmalar kullanılarak yapılmakla birlikte erken dönem tavuk embriyosu, toksik maddelerin embriyonel gelişim üzerine etkilerinin incelendiği ideal bir model olması, kolay erişilebilmesi, ucuzluğu, erken sonuç alınması ve döllenen yumurtaların çalışmaya başlanmadan önce bir kaç hafta boyunca 10 – 14 °C’ de saklanabilmesi gibi özellikleri nedeni ile sıklıkla tercih edilmektedir (Demirel, 2007).

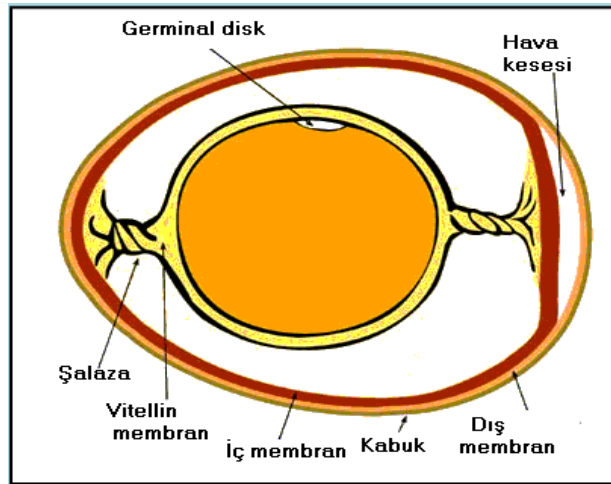
Farklı konsantrasyonlardaki gıda boyaalarının *Drosophila melanogaster*’ de yaşama yüzdesi üzerine etkisi (Sarıkaya vd., 2010), tartrazinin fare dermal mast hücrelerinde etkisi (Kalender, 2000) bu çalışmalar arasındadır. Ayrıca bazı antibiotiklerin ve sülfamidlerin tavuk embriyosu myoglobinin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkileri (Bilge ve Bingöl, 1976), benzoik asit’in drosophila üzerindeki genotoksik etkisi (Sarıkaya ve Solak, 2003), erken dönem tavuk embriyosu nöral tüp gelişimine değişik dozlarda difenil hidantoin’in etkisi (Demirel, 2007), yumurtaya verilen organik insektisit fipronil’in tavukların embriyonik ve kuluçka sonu erken dönem gelişim üzerindeki zararlı etkileri (Özparlak, 2006) araştırılmıştır. Tavuk embriyolarında pestisit toksisitesinin değerlendirilmesi (Khera ve Lyon, 1968), erken dönem tavuk embriyonel tüp gelişiminde etanolün etkisi (Barutçuoğlu vd., 2001) gibi araştırmalar önceki yıllardan günümüze kadar tavuk yumurtaları ile yapılmış çalışmalara örnektir.

Ayrıca tavuk embriyolarıyla yapılan çok sayıda embriyotoksite çalışmaları da bulunmaktadır. Erken embriyonik dönemdeki kanatlı embriyoları kullanılarak alkolün (Aydemir ve Gürcü, 2011; Barutçuoğlu vd., 2001), ağır metallerin (Kaya vd., 1995) mikotoksinlerin (Cilieveci vd., 1980; Vesely vd., 1982; Prelusky vd.,

1987; Vesely ve Vesela, 1991; Çelik vd., 2000; Henry ve Wyatt, 2001), insektisitlerin (Özparlak, 2006), fungusitlerin (Maci ve Arias, 1987), kotinin (Dalgıç vd., 2009), endüstriyel bileşiklerin (Elovaara vd., 1979; Korhonen, vd, 1982; Korhonen, vd., 1983; Chibber ve Gilani, 1986; Özcan, 1992), herbisitlerin (Ahmed vd., 1988; Varnagy vd., 2002) ve diğer bazı bileşiklerin (Kury ve Craig, 1967; Verret vd., 1980; Jelinek vd., 1985; Harold vd., 1987; Brunström vd., 1990; Becker ve Shipley, 1998; Zhang vd.,2002) etkilerini araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır.

1.2. Tavuk Yumurtasının Yapısı

Oval şekilde olan tavuk yumurtalarının ağırlığı yaşa ve ırka bağlı olarak 50-60 g arasındadır. Renkleri beyazdan sarıya kadar değişir. Tavuk yumurtası, yumurta sarısı olarak da bilinen vitellus tarafından sitoplazmasının tamamına yakını doldurulan yumurta hücresi ile bunun etrafını saran albumin, kabuk altı zarları ve kireç kabuk olmak üzere dört kısımdan oluşur.



Şekil 1.2. Tavuk yumurtası (<http://www.homepage.uludag.edu.tr>)

Yumurtanın büyüklüğüne göre % 7. 8-13. 6' sını yumurta kabuğu oluşturur. Kabuk mineral ve organik maddeler ile sudan ibaret olup % 3-4 oranında bir protein ağı ve % 95-96 oranında birikerek yerleşmiş anorganik tuzlardan oluşmuştur. En dışta kabuğun dış yüzeyini örten keratine benzer bir proteinden oluşan ve kütikula adı verilen bir zar vardır. Bu yumurtlama esnasında havanın etkisiyle yumurta yüzeyinde albümin'in kurumasıyla oluşur. Kütikül tabakasından sonra geriye

süngerimsi tabaka ortaya çıkar. Kabuğun iç yüzünde süngerimsi tabakaya paralel, mamillar tabaka adı verilen bir tabaka vardır. Bu tabaka kalın yüzeye paralel dizilmiş kalsiyum zerreciklerinden oluşmuştur (Hamburger ve Hamilton, 1951; Patten, 1971; Romanoff, 1997).

Kabuk altı zarları isthimusta (yumurta kanalının bir bölümü) oluşur. Kabuğun hemen altında birbirine yapışık iki zar bulunur. İç kısımdaki zar (15-25µm) yumurta akını sarmakta, dış zar (50-70 µm) ise kabuğun iç kısmını kaplamaktadır. Glikoprotein yapıdaki zar gaz geçişini engellemezken bakterilerin içeri girmesine engel olurlar (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Yumurta dışarı bırakıldığında 41°C'dir ve hızla soğur; büzülmeye, dışarıdan hava almaya başlar. Bu sırada dış zar ile iç zar arasında hava girişinin en yoğun olduğu küt uçta hava boşluğu oluşur (Hamilton, 1952; Patten, 1971; Türkoğlu ve Sarıca, 2004).

Bütün yumurtanın % 66-70'ini oluşturan yumurta akı ortalama % 88 su ve % 12 (% 9-15) oranında kuru maddeden oluşur. Yumurta akı tam bir yumurtada; yumurta sarısına yapışık şalaziferöz tabaka, iç seyreltik tabaka, koyu kıvamlı tabaka ve dış ince tabaka olmak üzere dört bölümden oluşmuştur. Yumurta akının dörtte üçü kalın ve dış ince tabakalardan oluşmaktadır (Hamburger ve Hamilton, 1951; Patten, 1971; Özparlak, 2006). Yumurta akı oldukça fazla oranda su içermekte ve kuru maddesinin tamamına yakın bir kısmı proteinden oluşmaktadır. Yumurta akında proteinler çok az miktarda tuz ve karbonhidratla birlikte çözelti şeklinde bulunur. Yumurta akı basit proteinler olarak bilinen ovalbumin, konalbumin, ovoglobulin ve glukoproteinlerden (ovomukoid ve ovomusin) ibarettir. (<http://www.homepage.uludag.edu.tr>). Albumin, şalaz dışında hemen hemen homojen bir yapıdadır. Ancak vitellüs yakınındaki albumin periferaldeki albuminden daha yoğundur. Albumin ovaryuma yakın ovidukt kısmında sentezlenir. Albuminin yapısında ovomukoid, ovomusin gibi glikoproteinler ile ovalbumin, ovokonalbumin ve ovoglobulin gibi proteinler bulunur. Albumin embriyoyu mekanik ve kimyasal etkilerden korurken aynı zamanda embriyonun büyümesi esnasında kullanılan besin deposu görevi de yapar (Hamilton, 1952).

Vitellus hem miktar bakımından hem de kimyasal bileşimi açısından yumurta akından çok farklıdır. Yumurta sarısı % 48. 7 su, % 32. 6 yağ, % 16. 6 protein, % 1 karbonhidrat ve % 1. 1 oranında mineral içerir. Sarı veya sarı-kırmızı renktedir. Vitellus, yumurta hücresinin sitoplazmasındaki depolanmış besin maddesi olup, hem yapı hem de renk bakımından düzenli bir yapıya sahip değildir.

Beyaz ve sarı vitellus olmak üzere farklı halkalar içerir. Beyaz vitellusun birikimi latebra adı verilen merkezi bölgede olur. Latebra, germinal diski (blastodisk) yumurtanın merkezine bağlayan bir kanaldır ve embriyonun beslenmesinde rol alır. Germinal disk döllü yumurtalarda embriyonun gelişmeye başladığı kısımdır. Bu bölge blastoderme doğru yayılır ve pander çekirdeği olarak bilinen bir kitlenin altında bulunur. Latebra ve pander çekirdeğine ilave olarak sarı vitellusun daha kalın tabakaları arasında beyaz vitellusun ince tabakaları vardır. En dıştaki vitellus vitellin membran ile çevrilidir. Bu zar vitellusun dağılmasını önler. Vitellus blastoderm hücreleri tarafından emilen oldukça yüksek oranda besin değerine sahiptir (Hamilton, 1952; Patten, 1971).

1.3. Tavuklarda Embriyonik Gelişim

Tavuk yumurtalarında bölünme ve gelişmeler animal kutupta gerçekleşir; animal kutup sitoplazmanın az olduğu ve çekirdeğin bulunduğu kutuptur. Çiftleşmeden hemen sonra sperm hücreleri infundibulumda hareket ederler ya da sperm tüplerinde depolanırlar. Ovulasyonla birlikte LH salgısının etkisiyle spermler yumurtayı dölemek için infundibulumda ilerlerler. Bol miktarda vitellusa (polilesital) sahip olan tavuk yumurtalarında bölünme ve gelişmeler az miktarda sitoplazma ve çekirdeğin bulunduğu animal kutupta gerçekleşir (Romanoff, 1997). Embriyonik gelişiminin ilk aşaması döllenme ile başlayıp gelişimin yaklaşık %4,5'i yumurta kanalında tamamlanmaktadır. Bölünme yarıklanma şeklindedir. Zigotun ilk bölünmesi yumurtanın isthmusa girme anında ikincisi 20 dakika sonra gerçekleşir. Üçüncü bölünme de isthmusta olur ve embriyo 8 hücrelidir. Uterusta kabuk yapı oluşturulurken embriyo 16 hücrelidir (Romanoff, 1997; Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Bölünmeler her 20 dakikada bir meydana gelir ve böylece binlerce hücre tabakası gastrulayı oluşturur (Romanoff, 1997). Gastrulasyon safhasının yumurta yumurtladığı anda tamamlandığı düşünülmektedir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). İlk olarak embriyonun kuyruk kısmında görünmeye başlayan primitif çizgidir, bu yapı kuluçka başladıktan hemen sonra kalınlaşmaya başlayan hücre tabakasıdır. Kuluçkanın yirmi dört saati dolmadan birçok yeni organın oluşumu başlar. (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

Tavuk embriyosu gelişimi iç organların gelişmeye başladığı birinci dönem (1-5. günler), dış organların gelişmeye başladığı ikinci dönem (6-14 günler), embriyonun büyüdüğü üçüncü dönem (15-20. günler) ve civciv çıkışının

gerçekleştiği dördüncü dönem (21. gün) olarak 4 dönemde gerçekleşir (Romanoff, 1997; Türkoğlu ve Sarıca, 2004; Özparlak, 2006).

Kuluçkanın 1. günü bitmeden pek çok yeni organ şekillenir. Embriyonun başı ayırt edilebilir, sindirim sisteminin öncüsü ön barsak şekillenir, kan adacıkları görülür ve nöral oluğu oluşturacak olan yarık oluşur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

Kuluçkanın 2. gününde nöral oluk şekillenir. Baş bölgesi gelişir. Kulak gelişmeye başlar ve gözdeki merceğe oluşur. Kalp oluşurken, kan adacıkları birbirleri ile bağlantı yaparak vasküler sistemi oluşturur. Kuluçkanın 44. saatinde kalp ve damar sistemi bağlanır ve kalp atmaya başlar. İki farklı dolaşım sistemi oluşur. Birincisi embriyo içi embriyonik sistem, ikincisi yumurta içinde yayılan vitellin sistemdir. Embriyonik gelişimin daha sonraki evrelerinde iki farklı embriyo dışı dolaşım sistemi vardır. Vitellin sistem embriyoya vitellustan besinleri aktarır. Allantoik damarlardan oluşan diğer bir dolaşım sistemi solunum ve allantoisteki atık ürünlerin saklanması ile ilişkilidir. Cıvcıv yumurtadan çıktığı zaman her iki dolaşım sistemi de işlevini durdurur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

Kuluçkanın 3. günü sonunda gaga gelişmeye başlar, kanat ve bacak tomurcukları görünür. Başın ve boynun iki tarafında üç visseral yay gelişir. Bu oluşumlar arterial sistem, kulaktaki östaki borusu, yüz, çene ve bazı kanalsız bezlerin gelişiminde önemlidir. Embriyo, korunma amacıyla sıvı ile dolu amnion ile çevrelenir. Kuyruk ortaya çıkar ve allantois görünür. Allantoik kese solunum ve boşaltım organıdır. Embriyo albuminden beslenir ve kabuktan kalsiyum embriyoya allantoisten aktarılır. 3 günlük embriyoda solunum sisteminin farklılaşmasının ilk göstergesi faringeal bölgenin posteriorunda laringo-trakeal oluğun oluşmasıdır. Laringo-trakeal oluk farinksin arka kısmından evaginasyon ile meydana gelir. Daha sonra bu yapı trake olarak kaudale doğru büyür. Trake özofagus ile yaklaşık olarak paralel ve ventralde bulunur. Trakeal büyüme uzadıkça kaudal kısım ikiye ayrılarak akciğer tomurcuklarını oluşturur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

Kuluçkanın 4. günü boyunca torsiyon ve fleksiyon devam eder. Embriyonun vücudu 90° döner ve vitellusun üzerinde sol tarafa doğru kayar. Baş ve kuyruk birbirine çok yakındır. Bu hali ile embriyo “C” şeklindedir. Sindirim ve solunum sisteminin bir parçası olan ağız, dil ve nasal açıklık gelişir. Kalp büyümeye devam eder. Kuluçkanın 4. günü sona ererken embriyo yaşamak için ihtiyaç duyduğu tüm

organlara sahiptir ve embriyonun tüm kısımları tanımlanabilir (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). Kuluçkanın 7. gününde kanat ve ayak parmakları görünür hale gelir, kalp bütünüyle torasik boşluğu doldurur ve embriyo büyük ölçüde kuşa benzer. 10. gününden sonra tüyler görünür ve gaga sertleşir. 14. gününde pençeler şekillenir ve embriyo yumurtadan çıkmak için pozisyonunu alır. 16. gününde albumin desteği tükenir. Böylece vitellus besin için temel kaynak olur. Kuluçkanın 18. gün sonunda gaga hava boşluğunu deler ve akciğer solunumu başlar. 20. gün sonunda civciv yumurtadan çıkma pozisyonundadır (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

Akciğer olarak fonksiyon gören allantois, civciv kendi akciğerlerini kullandıkça kurumaya başlar. Kuluçka başlangıcından 21 gün sonra yumurta dişi denilen gaganın üst kısmındaki sert boynuzumsu yapı ve boynun arka kısmında bulunan kasların yardımıyla yumurta kabuğu kırılır. Yumurtadan tamamen kurtulan civcivin göbek açıklığı kapanır ve kurumaya baslar. Civciv yumurtadan çıktıktan birkaç gün sonra gaga üzerindeki boynuzumsu yapı düşer. Protein, yağ, vitamin, mineral ve su açısından oldukça zengin olan vitellus yumurtadan çıktıktan sonra saatlerce civciv için besin sağlayabildiğinden, yumurtadan çıkan civciv 72 saat boyunca beslenmeksizin yaşayabilmektedir (Romanoff, 1997).

1.4. Kanatlılarda Deri Gelişimi ve Morfolojisi

Erişkin kanatlılarda deri, epidermis, dermis ve subkutis katmanlarından meydana gelmektedir (Ahmed vd., 1968; Banks, 1968; Hodges, 1974). Ektodermden köken alan epidermis, embriyonel dönemde periderm adı verilen yassı hücreler katmanı ile epiderm denilen kübik bazal hücreler katmanını içermektedir. Periderm, epiderminin koruyucu örtüsüdür ve geçici bir yapıdır. Tavukta embriyonel gelişimin ilk günlerinde tek sıra halindeki hücrelerden oluşan periderm, 14 günlük embriyoda iki sıralı yassı hücreler içerir. Bu dönemde periderm hücrelerinin sitoplazmalarında değişik şekil ve büyüklükte "periderm granülleri" bulunur. Embriyonun 17. -18. günlerinde epiderme komşu periderm hücrelerinde, sitoplazma tamamen fibröz materyal ile dolar. Yassı hücre katmanında ise, nükleus ile sitoplazmik organellerin görülmemesine karşın periderm granülleri varlığını sürdürür. Sonuçta periderm katmanı dejenere olup dağılır ve amniyon sıvısına dökülür (Matoltsy, 1958; Parakkal ve Matoltsy, 1963).

Embriyonal gelişimin ilk günlerinde tek katlı kübik hücrelerden oluşan epiderm, 14 günlük embriyoda üç katlı olur. Embriyonun 16. gününde epiderm hücrelerinin sitoplazmalarında, multigranüler cisimler ve üst katmandaki hücrelerde keratohiyalin granülleri belirir. Gelişimin 17. gününde ise ilk boynuzsu hücre katmanı şekillenir ve kanatlı embriyosunun epidermisi morfolojik olarak erişkin kanatlıninkine benzer hale gelir (Matoltsy, 1958; Parakkal ve Matoltsy, 1963).

Erişkin kanatlı epidermisinde, stratum (str.) bazale, str. intermedium, str. transitivum ve str. corneum olmak üzere dört alt katman ayırt edilir (Ahmed vd., 1968; Banks, 1968; Hodges, 1974; Getty, 1975). Str. bazale ve str. intermedium katmanlarına, str. corneum' da ölüp atılan hücrelerin yerine yenilerini üretmeleri nedeniyle, str. germinativum adı da verilir (Hodges, 1974). Kanatlı epidermisi, str. germinativum'dan başlamak üzere, üst katmanlara doğru artan miktarlarda yağ damlacıkları içerir. Epidermisdeki hücrelerde bulunan bu yağ damlacıkları, str. corneum' daki ve deri yüzeyindeki yağ materyalini oluşturur (Lucas, 1968).

Epidermin dermisle birleşme yerinde belirgin bir bazal membran bulunur (Banks, 1968; Getty, 1975). Embriyonal dönemde mezodermden köken alan dermis, epidermisle birlikte gelişimini sürdürür. Bu dönemde dermis, birbirine dikey konumda kollagen iplik demetlerinden oluşmuştur. Bu ipliklerin aralarında da fibroblastlar görülür (Parakkal ve Matoltsy, 1963). Erişkin kanatlılarda dermis, str. superficiale, str. compactum, str. laxum ve lamina elastica alt katmanlarından meydana gelir. Dermisin derin katmanları olan str. compactum ve str. laxum'a str. profundum adı da verilir (Getty, 1975).

Subkutis, vücudun üzerini saran kas fasiyası ile kaynaşan ve bol miktarda kan damarı ile yağ hücresi içeren bağ doku katmanıdır. Pannikulus adipozus, subkutis içinde yerleşmiştir (Ahmed vd., 1968; Hodges, 1974 ; Getty, 1975).

Deriye gelen sinirlerden bir kısmı epidermis içinde (tüysüz kısımlarda) ve tüy folliküllerinin etrafında sonlanırken, diğer bir kısmı da düz kaslarla bağlantı kurarlar (Jenkinson ve Blackburn, 1968). Bunun dışında Merkel, Grandry ve Herbst türündeki korpusküllerde sonlanan sinirler de vardır (Hodges, 1974).

Memelilerde epidermis içinde bulunan Merkel hücreleri, kanatlılarda dermiste yerleşir ve memelilerden farklı olarak korpuskül oluştururlar (Natstad, 1971;

Saxod, 1978). Merkel korpuskülleri, Merkel hücreleri, sinir sonları ve lamellar hücrelerden meydana gelirler (Natstad, 1971).

Grandry korpuskülünün yapı ve fonksiyon yönünden Merkel korpuskülüne benzediği bildirilmektedir. Her iki korpuskülün, asla bir arada görülmediği ve bunların aynı reseptörün iki ayrı varyetesi oldukları belirtilmektedir (Saxod, 1972; Saxod, 1978). Grandry korpuskülü (Trautmann ve Fiebiger, 1952; Munger, 1966; Chouchkov, 1978; Ide ve Munger, 1978) ile Merkel korpuskülünün (Andersen ve Nafstad, 1968; Saxod, 1978) kanatlıların dil, damak, ayak tabanı ve gaga derisinde bulunduğu bahsedilmektedir.

Herbst korpuskülü, su kuşlarının gagası ile bütün kanatlıların damak ve dillerinde, ayrıca tüylerin yakınında bulunur (Trautmann ve Fiebiger, 1952; Munger, 1966; Chouchkov, 1978). Her tüy follükülü ile beraber, birden fazla sayıda Herbst korpuskülü bulunabilir (Hodges, 1974). Herbst korpuskülü kalın ve lamelli bir kapsüle sahiptir (Munger, 1966; Chouchkov, 1978). Kapsül, fibroblastlar ve kollagen ipliklerden oluşmuştur (Andersen ve Nafstad, 1968). Korpuskülün en belirgin özelliği, oldukça geniş subkapsüler aralığa sahip olmasıdır. Bu subkapsüler aralık, makrofajlar, fibroblastlar ve kollagen iplikler içerir (Chouchkov, 1978). Her bir korpusküle bir tek miyelinli sinir teli girer (Munger, 1966; Andersen ve Nafstad, 1970; Chouchkov, 1978). Bu sinir telinin sonuncu Ranvier boğumu, iç kor'un başlangıç kısmındadır. Korpuskülün merkez kısmında bulunan kor, 2-24 çift Schwann reseptör hücre sırası ve bunların lamelleri tarafından oluşturulur (Chouchkov, 1978).

1.5. Kanatlılarda Barsak Gelişimi ve Morfolojisi

Kanatlı hayvanların sindirim sistemi embriyonik dönemde anatomik olarak oluşur, yumurtadan çıktıktan sonra beslenmenin etkisiyle de meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişiklikler sonucunda fonksiyonellik kazanır (Çelik ve Açıkgöz, 2006).

İlk barsak kanalı, ductus vitellinus ile vitellus kesesine bağlıdır. Barsak öbeği denen bu bölgeden öne doğru uzayan kısma ön barsak arkaya doğru uzayana da arka barsak denir. Barsak kanalının iç yüzü endodermden gelişmiş olup bunun dış kısmında splanchnic mezoderme ait bağ doku ve düz kaslar yer alır. En dışta da sölom epitelinden oluşan bir seroza katmanı barsağı sarar. Ön ve arka barsak

bölümlerinden; yutak, yemek borusu, mide, ince ve kalın barsaklar, karaciğer, pankreas ve kloak meydana gelir (Smith vd., 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Clauer, 2002; Dibner ve Richardson, 2004). Kanatlılarda kuluçkadan çıkıştan sonra ilk 2-3 hafta gelişim hızlıdır. Bu dönemde canlının besin ile alınan enerjisinin çoğu sindirim sisteminin gelişimi için kullanılır (Lilja, 1983). Kanatlılarda kuluçkadan çıkıştan sonra ince barsak, kuvvetli bir şekilde morfolojik ve görevsel değişimlere uğrar (Cook ve Bird, 1973; Uni vd., 1996; Sklan, 2001). Barsakların bu gelişimini; beslenme, sağlık koşulları ve stres gibi birçok faktör etkiler (Noy ve Sklan, 1998; Geyra vd., 2001). Kuluçkadan çıkışta verilen yemlere adaptasyonla birlikte, sindirim kanalında önemli bir gelişme olduğu görülür. Vücut ağırlığına paralel olarak, pankreas ve ince barsakta gözlenen büyüme 5. ve 10. günler arasında maksimum düzeye ulaşır. Villus gelişimi, ince barsak bölümlerinde eş zamanlarda oluşmaz. Duodenumda villus gelişimi 7 günde tamamlanırken, jejunum ile ileumda 14 gün sonrasında gözlenir (Nir ve Şenköylü, 2000).

Kanatlı barsağının ilk bölümü olan duodenumun yanında pankreas uzanır. Jejunum anterior olarak, ileum ise posterior olarak yer alır ve geçiş yerlerinde kesin bir sınır yoktur. Memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da barsak mukozası, bulunduğu yere göre sayı, şekil ve uzunlukları değişen, parmak şeklinde villus intestinalis'lere sahiptir. Kanatlılarda ince barsağın epitel katı memelilerde olduğu gibidir, ancak villuslar daha uzun ve daha çok sayıdadır. Lamina propriayı dolduran Lieberkühn kripleri kısa, basit tubulerdir ve villusların arasına açılırlar. Lamina proprianın kalan kısmını kan ve lenf damarları, sinirler, kas iplikleri ve diffuz lenf follikülleri doldurur. Lamina muskularis, ince barsaklarda iyi gelişmemiştir, kalın barsaklarda ise biraz daha kalındır. Lamina muskularis çekum hariç longitudinal seyirli olup, çekumda ise içte sirküler, dışta longitudinal olarak uzanan iki katman halindedir. Submukoza, ince barsaklarda oldukça zayıf gelişmiş veya hiç yoktur. Submukoza sinir pleksuslarının ve büyük kan damarlarının bulunduğu yerlerde kalınlaşır. Tunika muskularis içte daha kalın olan internal ve eksternal kas katmanı halinde yer alır. Kanatlı barsağında, dışta yassı bir epitel ve altında da elastik iplik içeren, ince gevşek bağ dokusundan oluşan seroza katı vardır (Hodges, 1974).

Duodenumun villus ve kriplerinin epiteli, üç tipden oluşan tek katlı prizmatik hücrelerle örtülüdür. Bunlar; temel epitel hücreleri, kadeh hücreleri ve enterokromaffin hücrelerdir. Bu hücreler kriplerin bazalinde mitoz bölünmeyle çoğalırlar. Kriplerin bazalinde ve az sayıda bulunan enterokromaffin hücreler,

piramit şekillidir ve bez lümenine ulaşamazlar. Bu hücreler gümüş boyaları ile boyanan güçlü eozinofilik granüllere sahiptir. Enterokromaffin hücreler 5-hidroksi triptamin içerirler; argirofil, argentafile ve kromaffin tipleri vardır. Fakat yapısal olarak iki tip belirlenmiştir. Bunlardan bir tanesi proventrikülüs ve muskuler midede, ender olarak da barsaklarda görülen argirofillerdir. Diğer de barsaklarda görülen argentafilelerdir. İnce barsakların lamina propriyasında yaşla birlikte artan lenf follikülleri vardır ve bu bölgede epitele lenfosit infiltrasyonu yoğundur (Hodges, 1974).

İnce barsakların sonuna doğru gidildikçe tunika mukozanın derinliğinde bir azalma görülür. Villuslar gittikçe kısalır ve genişlerler. Lieberkühn kriptalarının derinliği azalır. Kadeh hücrelerinin sayısı artarken enterokromaffin hücreler azalır (Hodges, 1974).

1.6. Mast Hücreleri

Mast hücrelerinin kan dolaşımına sahip tüm türlerde mevcut olan filogenetik olarak eski hücrelerdir. Memelilerde mast hücreleri mineralize kemik, kırık ve kornea gibi avasküler dokular hariç tüm vücutta çok yaygın olarak bulunur. Bağ dokularında özellikle mukozal yüzeylerde kan ve lenf damarları ile periferik sinirlere yakın yerleşimli olarak yer alırlar (Norrby, 2002).

Yapılan ilk çalışmalar 1863 yılında Von Recklinghausen tarafından başlatılmıştır. Araştırmacı granüler olan bu hücrelere kurbağa peritonunda rastlamıştır ve bu çalışma mast hücrelerinin hemen hemen ilk gözlemidir (Melman, 1987). Bu hücrelerin sahip olduğu büyük granüller nedeniyle Paul Ehrlich bu hücrelerinin yakınında bulunduğu doku hücrelerini besleyip, desteklediği kanısına varmıştır. Bu yanlış kanısından yola çıkarak 1878’ de Paul Ehrlich bu granüler hücrelere mastzellen “iyi beslenmiş hücre” adını vermiştir. Bugün mast hücrelerinin bağışıklık sisteminin bir parçası olduğu bilinmektedir (Prussin ve Metcalfe, 2003).

1.6.1. Mast Hücrelerinin Morfolojisi

Bağ dokularında bulunan mast hücreleri metakromazi gösteren intrasitoplazmik granüllere sahiptir. Bağ dokusu içinde özellikle kan damarları ile ilişkili olarak küçük gruplar halinde bulunurlar (Lee vd. 1985; Dvorak vd., 1992).

Doğumdan itibaren sayıları artan mast hücrelerinin büyüklükleri, şekilleri ve granül dağılımları türe ve dokuya göre değişir (Soylu vd., 1990). Mast hücreleri genellikle yuvarlak veya oval olup 15-30 µm büyüklüğünde olan, sitoplazması bazofilik granüllerle dolu, küçük nükleuslu hücrelerdir (Cook vd., 2001). Nükleusları merkezi konumludur ve sıklıkla intrasitoplazmik granüller tarafından maskelenmiştir. Salgı granülleri 0.2-0.3 mikron çapındadır. Granüller içerdikleri glikozaminoglikanların asidik radikalleri nedeniyle metakromatik olarak boyanırlar. Bu granüller ganglion, file ya da kristal şeklindedir. Bunların varlığı mast hücrelerinin statik varlığının göstergesi sayılır (Nienartowicz vd. 2006). Bazı hücrelerde sitoplazma içinde yağ damlacıklarına da rastlanır. (Junquera vd., 1998; Penissi vd., 2003).

Mast hücreleri bütün insan dokularında çok fazla bulunmasına rağmen deri, üst ve alt solunum yolları mukozası, gastrointestinal sistemde olduğu gibi vücudun dışarı açılan boşluklarını kaplayan mukozalarda çok sayıda bulunurlar (Wasserman, 1990).

Nükleus genellikle tek, loblu ve merkezdedir. Bazen birden fazla nükleusa sahip olabilirler Merkezi veya eksentrik konumda olan nükleus genelde segmentsiz olarak gözlenir. Nükleustaki heterokromatin daha çok nükleus membranı boyunca kümeler halindedir. (Junquera vd., 1998). Işık mikroskopik incelemelerde çoğu zaman granüller yoğun boyandığından tek tek seçilemezken bazı hücrelerin çekirdeğinin de granüller tarafından tamamen örtüldüğü görülür (Bancroft ve Stevens, 1990). Sitoplazmada çok sayıda bulunan granüller ya hücrede homojen olarak dağılmış ya da olgunlaşmalarına bağlı olarak hücre membranına yakın olarak yerleşmiştir (Junquera vd.,1998; Penissi vd., 2003).

Mast hücre membranında IgE reseptörleri bulunmaktadır. Birçok etken mediatör salıverilmesini uyarır. Mast hücrelerinin uyarıya fizyolojik cevabı daha çok IgE reseptörleri vasıtasıyla olur. IgE reseptörü ile bağlanması hücreyi aktive edip, degranülasyona neden olmaz. Ancak “multivalent” antijenlerin, mast hücre

yüzeyindeki reseptörlerine tutunan spesifik IgE' ler ile çapraz bağlar oluşturması mast hücre aktivasyonunu başlatır. IgE aracılı mast hücre cevabı, aşırı duyarlılık reaksiyonlarının yanı sıra, parazitlere karşı savunma mekanizmasında da önemli rol oynamaktadır. Son yıllardaki çalışmalar mast hücrelerinin Ig' lerin aracılığı olmadan da aktive olabileceğini göstermiştir (Metzger, 1991; Metcalfe vd., 1997; McCurdy vd., 2001; Erpek, 2004).

Çeşitli araştırmalarda kemirici mast hücrelerinin morfolojik ve fonksiyonel farklılıklara sahip oldukları belirtilmiştir. Bu farklılıklar hücrenin büyüklüğü ve içerdikleri granüllerin yoğunluğu, T-hücre bağımlılığı, içerdikleri granül proteazları, salgılatıcı ajanlara verdikleri yanıtlar ile içerdikleri proteoglikanların yapı ve içeriği olarak sıralanabilir (Metcalfe vd., 1997; Koçak Harem, 2001).

1.6.2. Mast Hücrelerinin Orijini ve Farklılaşması

Mast hücreleri kemik iliğindeki multipotent CD34+ öncül hücrelerden köken alırlar ve periferel dokularda differensiyasyonunu tamamlarlar. Güçlü inflamatuvar mediatörleri içeren mast hücreleri doku mononükleer hücreleridir. Normal durumda olgun mast hücreleri periferel dolaşımda bulunmaz. Olgunlaşmamış mast hücreleri dokulara göçten sonra tipik granüllere sahip olurlar (Tharp, 2003; Slomin ve Boone, 2004; Karaca ve Yörük, 2005).

Nötrofil ve eozinofillere benzer olarak bazofillerde differensiyasyonunu kemik iliğinde gerçekleştirmektedir (Galli, 1990). Fakat bazofillerin aksine mast hücreleri normal bağ dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (Befus vd., 1985; Befus vd., 1986; Galli, 1990; Ribatti vd., 1992).

Mast hücreleri pluripotent hematopoietik kök hücrelerinden kaynaklanır ve hedef dokuya ulaşmadan olgunlaşmazlar. Bu öncül hücreler yerleştikleri doku tipi ve ortam şartlarından etkilenerek özgün bir fenotipe ulaşıp, olgunlaşmasını tamamlarlar (Gurish ve Austen, 2001).

Mast hücrelerinin özellikleri fonksiyonel, morfolojik ve biyokimyasal açıdan buldukları çevreye göre değişmektedir. Örneğin; fare periton kavitesindeki prekürsörlerden elde edilen mast hücre grupları, eğer farenin derisi içine enjekte edilirse bağ dokusu mast hücrelerinin özelliklerini, karın içine enjekte edilirse mukozal mast hücre özelliklerini gösterirler (Tharp vd., 1987). Bu verilerden mast

hücrelerinin ortak öncüllerden geliştiği, gelişiminin farklı safhalarının olduğu ve hücrenin içinde bulunduğu çevrenin de farklılaşmayı etkilediği belirtilmektedir (Tharp vd., 1987).

Kemik iliğinden farklılaşan prekürsör hücreler ait oldukları doku içine göç ederler. Mikro çevre ve uygun koşulların altında bu prekürsör hücreler mutasyona uğrarlar ve heparin gibi sülfatlı proteoglikanlar kapsayan salgı granüllerine sahip olurlar. Bu mutasyonla ilgili faktörler genelde hemopoetik büyüme faktörü olup, interlökin-3' ü kapsarlar (Theoharides, 1990; Wasserman, 1990; Tekelioğlu, 2002).

Mast hücrelerinin gelişim ve farklılaşmalarında sitokinler ve başka faktörler karmaşık bir ađ içinde etki yaparlar. Büyüme faktörlerinin en önemlisi kök hücre faktörüdür. Bu faktör mast hücre büyüme faktörü veya KİT ligandı olarak da adlandırılır. Kök hücre faktörü, mast hücrelerinin CD34 pozitif öncüllerinden gelişmesini sağlar (Mitsui vd., 1990). Kök hücre faktörünün mast hücre ve mast hücre progenitörleri üzerindeki etkileri c-kit protoontogeni tarafından kodlanan SCF (Stem cell factor) için tirozin kinaz yapısında bir reseptör olan kit aracılığı ile oluşur (Galli vd., 1993). Farklılaşmamış mast hücre progenitörleri CD34, CD13 ve c-kit eksprese ederler. Olgunlaşma esnasında CD4+ ile birlikte başka bazı reseptörleri kaybederler, ancak c-kit eksprese etmeye devam ederler (Galli vd., 1993). Ratlar ve sıçanlar üzerindeki bir çalışmada mast hücre prekürsörlerinin değişik lenfoid dokularda bulunduğu belirtilmiştir. En fazla kemik iliğinde, daha az olarak dalakta ve seyrek olarak da lenf foliküllerinde bulunmuştur (Guy-Grand vd., 1986).

Mast hücreleri yüksek afiniteli IgE reseptörleri taşıyan bazofiller ile içerik ve aktivasyon mekanizmalarının yakınlığı nedeniyle birlikte düşünölmüş ve birbirlerine benzetilmişlerdir. Önceleri sadece bir bazofil türü veya eşdeğeri olarak düşünölmüş olan mast hücreleri, son yıllarda ayrı bir hücre olarak ele alınmakta ve her geçen gün yeni fonksiyonları belirlenmektedir (Özdemir ve Savaşan, 2005). Çalışmalar memeli mast hücreleri ve bazofillerin birçok sitokimyasal ve fonksiyonel özellikleri benzer olmasına karşın kesinlikle birbirlerinin aynı olmadığını ortaya koymuştur (Karaca ve Yörük, 2005).

1.6.3. Mast Hücrelerinin Heterojenitesi ve Boyanma Özellikleri

Enerback 1996' da sıçanlarla yaptığı çalışmalarda mast hücrelerini fiksasyon özellikleri ve histokimyasal boyanmalarına göre incelemiş ve bağ dokularında ya da intestinal mukozalarda bulunan bu hücrelerin biyokimyasal özelliklerini yansıtan iki farklı fenotipini tanımlamıştır (Enerback, 1966; Erpek ve Otlu, 1995).

Mast hücreleri orijinleri, yerleşim yerleri, kullanılan tespit çözeltisine verilen cevap, taşıdığı farklılıklar, fonksiyonel kriterler ve hücrelerin morfolojik özellikleri gibi unsurlar göz önüne alındığında iki temel mast hücresi tipi tanımlanmıştır (Karaca ve Yörük, 2005).

1) T-hücrelerine bağımlı mukozal mast hücreleri (Mucosal Mast Cells: MMC); esas olarak gastrointestinal sistem mukozasında ve solunum yolunun lamina propriasında bulunurlar. Mukozalarda, özellikle sindirim ve solunum sistemi mukozalarında bulunan mast hücreleri, diğer bölgelerde bulunan mast hücrelerinden daha küçük (5-10 µm) ve daha az granül içermektedirler (Atkins vd., 1985; Chen vd., 1990; Huntley, 1992; Erpek, 2004).

2) T-hücrelerine bağımlı olmayan bağ dokusu mast hücreleri (Connective Tissue Mast Cells: CTMC); gastrointestinal sistem submukozasında, deride, peritonda, damar yakınlıklarında ve organ serozalarında bulunurlar ve daha iri (10-20 µm) hücrelerdir (Atkins vd., 1985; Chen vd., 1990; Huntley, 1992; Erpek, 2004).

MMC ve CTMC granüllerinde bulunan glikozaminoglikan ve proteinlerin uzaysal dizilimleri açısından da farklılıklar bulunmaktadır. MMC' lerde heparin yoktur (Pearce, 1986; Ribatti vd., 1992). CTMC' lerde proteoglikanlardan temel olarak heparin bulunmakta, MMC' lerde ise kondroitin di sülfat-B bulunmaktadır (Marshall ve Bienenstock, 1990).

Mast hücrelerinin boyanma özellikleri kullanılan tespit çözeltisinin türüne bağlı olarak değişmektedir (Karaca ve Yörük, 2005). Mast hücrelerinin sitoplazmalarında bazik boyalarla mor menekşe boyanan granüller bulunur. Mast hücreleri granülleri glikozaminoglikanlar içerdiği için bazik boyalarla boyandıklarında mavi değil, mor-kırmızı-menekşe renkte boyanırlar ve bu olguya "metakromazi" denir. Metakromazi, mast hücrelerinin heparin ve kondroitin sülfat gibi granül içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Granüller suda kolay erirler. Bu

granüllerin çapları 0.8 milimikron kadardır ve en iyi metilen mavisi, toluidin mavisi, alcian mavisi ile boyanırlar. Degranülasyon sırasında değişen granüller Toluidin mavisi ile pembeye boyanır. İstirahat halindeki granüller ise koyu mavi ya da mor renge boyanır (Krüger, 1984; Schmauder-Choc ve Chock, 1987; Lever ve Schaumburg-Lever, 1990; Tavlı vd., 1990; Özdemir ve Savaşan, 2005).

Mukozal mast hücreleri (MMC), Alcian mavisi gibi boyalarla boyanabilmesi için Carnoy, Mota çözeltisi, izotonik formol asetik asit gibi tespit çözeltilerine ihtiyaç vardır. Nötral buffer formalin gibi tipik aldehit tespit çözeltileri MMC' lerin bu boyalarla boyanmasını bloke etmektedir (Enerback, 1981). MMC' ler formaldehitin %4' lük tespitinden sonra hiçbir boyama yöntemi ile boyanamazlar (Karaca ve Yörük, 2005; Özdemir ve Savaşan, 2005). Bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) ise tespit çözeltilerine bağlı olmaksızın boyanabilmektedirler (Karaca ve Yörük, 2005; Özdemir ve Savaşan, 2005).

CTMC' ler heparin ve sıçan mast hücre proteazı I (Rat Mast Cell Proteaz I: RMCP I) içerirken, MMC' ler kondroitin sülfat ve sıçan mast hücre proteazı II (Rat Mast Cell Proteaz II: RMCP II) içermektedirler (Schwartz, 1994; Erpek, 2004; Marshall ve Bienenstock, 1990).

İnsan mast hücrelerinde heterojenitenin varlığına dair ilk kanıt fiksasyon özelliklerinin farklılığının gösterilmesi olmuştur. Bu çalışmada insan barsak mukozasındaki mast hücreleri Carnoy çözeltisi ile fiksasyondan sonra metakromatik boyanma göstermiştir, fakat formalinle fiksasyondan sonra boyanmamışlardır. Buna karşılık barsak submukozasındaki mast hücreleri kullanılan fiksasifden etkilenmeksizin metakromatik olarak boyanmışlardır.

Pearse vd. (1991) kolon mukozası ve kası mide mukozası, akciğer, deri ve uterusun izole ettiği mast hücrelerinden derideki bir kısım (%3) hücre dışında hepsinin alcian blue/safranin O boyanmasında yalnızca alcian blue ile mavi boyandığını bildirmiştir. Ayrıca insan derisinde, barsak mukozasında ve akciğer dokusunda hem heparin hem de kondroitin sülfat içeren mast hücre popülasyonları tanımlanmıştır. İnsan mast hücrelerinin bu kriterlere göre MMC ve CTMC olarak ikiye ayırmanın yeterli olmadığı düşünülerek granüllerindeki farklı proteaz paternlerine göre iki temel mast hücre tipi tanımlanmıştır. Bunlardan MHT (triptaz immunoreaktivitesi pozitif olan fakat kimaz içermeyen mast hücresi) ve MHTC (triptaz ve kimaz immunoreaktivitesi olan mast hücresi)dir. Histolojik olarak

normal dokularda yapılan immünohistokimyasal çalışmalar MHT' nin akciğer ve ince barsak mukozasında; MHTC' nin ise deride ve gastrointestinal submukozada çoğunlukta olduğunu göstermiştir. Bu yüzden doku lokalizasyonuna göre insan MHT kemirici MMC' lerine uyarken, MHTC de kemirici CTMC' lerine uymaktadır. Ek olarak, rolleri henüz tam olarak açıklanmamış olmakla birlikte, mast hücrelerinin çeşitli insan dokularında MHC (yalnızca kimaz içeren mast hücresi de) gösterilmiştir.

1.6.4. Mast Hücrelerinin Mediatörleri

Mast hücre salgı ürünleri histamin ve serotonin gibi biyolojik aminleri, heparin gibi proteoglikanları, çok sayıda enzimleri, prostaglandinler ve lökotrienler gibi araşidonik asit ürünlerini ve bir çok interlökin içerikli sitokinleri içerirler. Mast hücre mediatörleri genellikle iki tiptir. Bir kısmı önceden sentezlenerek depolanmış olarak bulunurlar, bazıları da uyarıya cevap olarak sentez edilirler (Dahm ve Latimer, 2001; Özdemir ve Savaşan, 2005).

1.6.4.1. Önceden Şekillenmiş Mast Hücre Mediatörleri

Mast hücrelerinin önceden şekillenmiş granül içerikleri çeşitlilik göstermektedir. Bunlardan bilinenleri; histamin, heparin, serotonin, ECF-A ve proteazlardır. Üzerinde en çok çalışılanları, histamin, heparin ve serotonin mediatörleridir.

Histamin; insanlarda akut alerjik yangının bir mediatörü olarak tanımlanmış olan histamin mast hücreleriyle ilişkili olan ilk kimyasal maddelerden biridir. Histamin, B-imidazoletilen aminden ilk olarak 1907' de sentezlenmiş ve hayvan dokularında da bulunmasından dolayı daha sonra histamin olarak adlandırılmıştır. Histamin mast hücrelerinde golgi aygıtında sentezlenmektedir (Church vd., 2003). Organizmadaki ana kaynağı mast hücreleridir. Mast hücre granüllerinde depolanır ve sinir uçlarından nöromediatörlere benzer şekilde salgılanır. Kapiller damarlarda genişleme ve geçirgenliğin artmasını sağlayan bir biyolojik amin yapısındadır. Hedef hücredeki reseptöre bağlanarak etkisini gösterir (Tharp, 2003). Damar geçirgenliğinin artışı bir mekanizma, mast hücrelerinin direk aktivasyonu sonucu deri ve akciğer mast hücrelerinden histamin salgılanmasıdır. Ancak burada triptaz histamin salınımında bir uyarıya neden olmaktadır (Rossi ve Olivieri, 1997). Çünkü triptaz ve histamin mast hücre granüllerinde bir arada bulunur ve

degranülasyon sırasında beraber salgılanır (Wolters vd., 2000; Weidinger vd., 2000).

Histamin dört farklı reseptörünün (H1, H2, H3, H4) etkisi altında değişik biyolojik etkiler oluşturmaktadır. Alerjik reaksiyonlarda histamin üzerinde H1 reseptörünün etkisi vardır. H2 reseptörünün mide asit sekresyonunu arttırdığı düşünülmektedir. H3 reseptörü sinir telleri üzerindeki histamin için presinaptik bir reseptör olarak görev yapar. H4 reseptörünün, immun sistemin düzenlenmesinde bir rolü olduğu gibi, kemik iliği hücreleri, periferik kandaki mononükleer hücreler ve eozinofillerle de bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Norrby, 2002; Church vd., 2003). Histamin barsak ve bronş düz kaslarında kasılmaya yol açar. Histaminin mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna da yardım ettiği gösterilmiştir (Norrby, 1983; Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Levi-Schaffer ve Weg, 1997).

Reseptöre bağlanan histamin, hücre içi olayları başlatır. Endotel hücrelerinde büzüşmeye yol açar ve hücreler arasından civar dokulara plazma geçişi olur. Histaminin bir başka etkisi endotel hücrelerden prostosiklin ve nitrik oksit (NO) sentezine yol açmasıdır. Bunlar damar düz kaslarını gevşetici etki yaparak, vazodilasyona yol açarlar (Jackson vd., 1998; McCauley vd., 2005).

Heparin; ilk kez 1916 yılında karaciğerden izole edilmiştir. Antikoagulan özellikteki bu madde karaciğerde lokalize olması nedeniyle heparin adını almıştır (Majerus vd., 1990). Mast hücrelerinin metakromatik boyanmasına neden olan temel maddedir. Düşük molekül ağırlığı yaklaşık 650.000 daltondur ve glikozaminoglikan zincirleriyle bağlanmış protein çekirdeğinden meydana gelir (Melman, 1987). İnsanda mast hücrelerinin tümü heparin içermektedir. Bununla birlikte kemiricilerdeki heparin bağ doku ve serozadaki mast hücrelerinde bulunurken, mukozadaki mast hücrelerinde bulunmamaktadır. Heparinin mast hücrelerindeki biyosentezi granüllü endoplazmik retikulumun polipeptit korlarının formasyonu ile başlar. Heparin sülfatlı proteoglikandır (Church vd., 2003). Heparin, antitrombin III ve platelet faktör IV' e bağlıdır, komplementlerin aktivasyonunu azaltır, fibroblast büyüme faktörlerine bağlanır, plazminojen aktivatörüdür, fosfolipaz A ve trigliseritlerin salınımını artırır, kollajen bağlı fibronektini yükseltir, triptazın, kimazın ve nötrofil elastazın aktivitelerini düzenler (Tharp, 2003).

Serotonin; triptofanın 5-hidroksitriptofana hidroksilasyonu, karaciğer tirozin hidroksilazı tarafından katalizlenir. Daha sonraki dekarboksilasyonla güçlü bir vazokonsrikör ve düz kas kasılmasını uyaran bir madde olan serotonin (5-hidroksitripamin) oluşur (Murray vd., 1998). Başlıca etkileri düz kasların kasılmasına ve vazokontrüksiyona neden olmasıdır (Melman, 1987). Mast hücreleri, trombosit ve bazofillerden salınan serotonin, kan damarlarının büzüşmesine yol açar. Hasarlı bölgedeki damarın iç yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinden salınan entolin, damar duvarlarındaki düz kasların kasılmasını ve onarımını hızlandırmaları için endotel hücrelerinin, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların bölünmesini uyarır (Akay, 2001). Serotonin özellikle beyin dokusunda, mide ve barsak mukozasının enterokromoffin hücrelerinde, epifizde ve mast hücrelerinde bulunur (Baban, 1980).

Diğer önceden şekillenmiş mast hücre mediatörlerinden ECF-A (anafilaksinin eozinofil kemotaktik faktörü); eozinofillere kemotaktik etki yaparlar ve aktive ederler. Bronşlarda kas kasılması, trombosit toplanması ve vazodilasyon yaparlar (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994). Proteazlar ise, triptaz, kimaz, karboksipeptidaz, katapsin C ve G gibi alt gruplara ayrılırlar. Bu nötral proteazlar özellikle insan ve rat mast hücrelerindeki salgı granüllerinin dominant protein unsurlarıdır ve seçici olarak bu hücrelerde lökale olurlar (Harem, 2005).

1.6.4.2. Yeni Şekillenen Mast Hücre Mediatörleri

Bunların yapımı önceden şekillenmiş mast hücreleri grubundaki mediatörlerin ilişkide oldukları doku ya da hücrelerle etkileşimi sonucu uyarılır. Bu gruptaki mast hücre mediatörleri araşidonik asit ve türevleridir (Melman, 1987). Mast hücresi ve bazofil granülositlerdeki lipit mediatörler yeni sentezlenen maddelerdir. Ana maddeleri ünüt zarda ve lipit cisimciklerinde bulunan fosfolipitlerdir (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994). Prostaglandinler, lökotrienler ve platelet aktive edici faktör (PAF) bu gruba girer. Prostaglandinler ve lökotrienler, ortak bir prekürsör olan araşidonik asitten köken alan lipit mediatörleridir. Prostaglandinler siklooksijenaz enzimi, lökotrienlerde lipoksijenaz ve diğer enzimlerin etkisiyle sentezlenirler. Düz kas hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, vazodilatatör ve bronş spazmı yapıcı etki gösterirler (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Tharp, 2003). PAF ise, bazofil granülositlerde daha fazla bulunur, vazokonstriksiyonu sağlar, damar geçirgenliğini artırır, bronş spazmı yapar (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Tharp, 2003).

1.6.4.3. Mast Hücre Sitokinleri

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanırlar ve hedef hücrenin davranışını etkilerler (Güneş, 1999). Mast hücrelerindeki aktivasyon sitokinlerin ve kemokinlerin sentezi yoluyla da izlenebilir. Son yıllarda insan mast hücrelerinin aynı zamanda çeşitli sitokinlerin de kaynağı olduğu belirtilmiştir. Bu sitokinlerin hastalıklarda önemi kesin değilken, onlar hem fizyolojik hem patolojik durumda önemli bir rol oynayabilirler (Metcalf vd., 1997; Tharp, 2003).

Mast hücre sitokinlerinden TNF- α (tümör nekroze edici faktör), alerjik yangı olgularında önemli bir sitokindir. Makrofaj ve lenfositlerde fazla miktarda üretilmesine rağmen depolama kapasitesi mast hücrelerinden daha azdır ya da yoktur. (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Schwartz, 1994; Macleod vd., 1997; Church vd., 2003).

IL-4 (interlökin 4); insan fibroblastlarıyla kollajen üretimini uyarır, B hücre proliferasyonunu, IL-6 üretimini, T-hücre proliferasyonunu arttırmayı, makrofaj ölümü ve sitokin üretimini azaltmayı, atopi gelişimini ve IgE üretimini uyarır (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Schwartz, 1994; Macleod vd., 1997; Church vd., 2003).

IL-5 (interlökin 5); eozinofil kemotaksisini, gelişimini ve canlılığını artırır. İmmunohistokimyasal ve in situ hibridizasyon yoluyla yaklaşık olarak mast hücrelerinin %10' nunu oluşturdukları görülür (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Schwartz, 1994; Macleod vd., 1997; Church vd., 2003).

IL-6 (interlökin 6); IgE dahil, Ig yapımını B-hücreleriyle artırır ve T lenfositlerini de uyarır (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Schwartz, 1994; Macleod vd., 1997; Church vd., 2003).

IL-8 (interlökin 8); İnsan mast hücreleriyle ilişkili olan IL-8, özellikle IgE bağımlı deri mast hücrelerinin stimülasyonunda sitoplazmik membran boyunca ve intrasellüler granüllerde ortaya konulmuştur (Gülmezoğlu ve Ergüven, 1994; Schwartz, 1994; Macleod vd., 1997; Church vd., 2003).

1.6.5. Mast Hücrelerinin Fonksiyonları

Mast hücreleri doğal ve uyarlanmış bağışıklıkta vücudun ihtiyacına göre rol alabilmekte, çevre şartlarına bağlı olarak kendini göreve hazırlayabilmektedir. Mast hücresi bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ve konak savunmasında önemli rol oynayan birçok kuvvetli sitokinin kaynağıdır (Özdemir ve Savaşan, 2005). En önemli fonksiyonlarından biri bağışıklık sistemi hücrelerini enflamasyon ve enfeksiyon alanına toplamasıdır. Mast hücreleri alerjide geç ve kronik evrelerde önemli işlevlere sahiptir. Bu evrelerde mast hücreleri; eozinofil, lenfositler gibi infiltre olmuş hücreler vasıtasıyla aktive olabilirler ve bu hücrelerle etkileşebilirler. Aktive olmuş mast hücreleri eozinofillerin kemotaksisi, yaşaması ve aktivasyonuna yardım eden mediatörler salgırlar. Makrofajlar ve epitel hücrelerini de lenfosit ve eozinofiller için kemotaktik maddeler oluşturmaları konusunda uyarırlar (Enerback vd., 1989; Erpek, 2004).

Doğal bağışıklıkta; mast hücrelerinin özellikle immünolojik cevabın başlatılmasındaki temel fonksiyonları anlaşılmıştır. Vücudun bağışıklık sisteminde kritik rol oynayacak şekilde yapısal olarak donatılmış ve yerleştirilmiştir (Abraham ve Malaviya, 1997).

Mast hücreleri doğal bağışıklıkta; deri, mukozal yüzeyler, lenf ve kan damarları çevresindeki yerleşimleri, patojen ile çok erken temaslarını sağlar. Enflamatuar mediatörleri önceden sentez, depo ve salgılayabilme özellikleri patojene hızlı cevabı olanaklı kılar. Mast hücreleri dolaşımda adanmış fakat tam olarak differansiye olmamış durumda olduklarından, enflamasyon ortamına kolaylıkla gider, orada prolifer ve differansiye olup, o ortam için gerekli özelliklerle donanı görevlerini yerine getirirler. Bağ dokusu hücrelerini modüle etme kapasitesine sahiptirler (Abraham ve Malaviya, 1997). Kısaca doğal bağışıklıkta; mast hücreleri enfeksiyöz ajanı tanır ve direk olarak mikroorganizmalara bağlanır, degranüle olan mast hücresi patojenin türüne göre depo edilen ya da uyarı sonrası sentezlenen mediatörlerini salar (Abraham ve Malaviya, 1997).

Uyarlanmış bağışıklıkta ise en klasik örneği parazitlere karşı IgE aracılığıyla verdiği cevaptır. Mast hücrelerinin bağışıklığı düzenlemede görev alan sitokinleri salgılayarak lenfosit cevabını etkilemelerinin, patojenleri direkt olarak işleyip bağışıklık sistem hücrelerine sunmalarının gösterilmesi bu hücrelerin adaptif bağışıklıktaki önemini belirtmektedir (Özdemir ve Savaşan, 2005).

Mast hücreleri fibrozisin esas sorumluları olan fibroblastları direk etkileme potansiyeline sahiptirler. Histamin ve heparin, fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini arttırmaktadır. Proteazlar veya histamin gibi mast hücre mediatörlerinin, mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna yardım ettiği gösterilmiştir (Steen vd., 1982; Norrby, 1983; Metcalfe vd., 1997; Puxeddu ve Levi-Schaffer, 2002; Erpek, 2004).

Mast hücrelerinin romatoid artrit, ovulasyon, yara iyileşmesi ve doku tamiri gibi durumlarda artmış olarak saptanması, anjiogenez süreci ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Mast hücresinin anjiogenezde rol alan TNF- α , IL-8, fibroblast ve damar endoteli büyüme faktörlerini sentezlediği bilinmektedir. Triptazın yeni damar gelişimi için gerekli olan alanı açmak üzere bağ dokusunu yıktığı ve güçlü bir anjiyojenik uyarıcı olduğu da ileri sürülmüştür (Hiromatsu ve Toda, 2003).

Mast hücrelerinin dokunun homeostasis, onarım ve yeniden yapılandırılmalarında önemli olduğu ortaya konulmuştur (Crivellato vd., 2003). Mast hücresi tarafından salınan bazı mediatörler (anjiyojenik faktörler gibi) kanser büyümesini arttırabildiği gibi, özellikle kimaz, TNF- α , IL-4 gibi bazıları da tümör büyümesini baskılar (Özdemir ve Savaşan, 2005).

Gastrointestinal sistemde, mukoza epitelinin içerisinde mast hücreleri olmadığı, ancak mukozal alerji ve parazit istilaları sonucunda mast hücrelerinin veya prekürsörlerinin epitel içerisine göç edebildikleri belirtilmiştir (Enerback, 1987). Ayrıca mast hücrelerinin alerjik hastalıklar, iltihabi süreç, inflamatuvar barsak hastalıkları, osteoporoz, romatizmal hastalıklar, periferik nöropati, nöromlar, hipertansiyon, hipoksi, interstisyel akciğer hastalıkları, deride ürtikerya pigmentoza, skleroderma, immünite, koroner spazmlar, birçok tümörler, gebelik ve doğum gibi patolojik ve fizyolojik olaylarda rol aldıkları bildirilmektedir (Stevens ve Austen 1989; Marshall ve Bienenstock, 1990; Padilla vd., 1990; Vural vd., 1991).

Mast hücreleri ile yapılan çalışmalar son yıllarda giderek önem kazanmaktadır. Karaoğlu vd. (2010) tarafından bildirilen larinks, trake ve bronkus mukozalarındaki mast hücrelerinin dağılımı ve yoğunluğu incelenmiştir. Prenatal ve postnatal dönemlerde *Gallus gallus domestica*'nın bezsel midesinde mast hücrelerinin ontogenisi, dağılımı histokimyasal karakterleri belirlenmiştir (Aksoy ve Çınar, 2008). Hindilerde sindirim sisteminde mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi

üzerine morfolojik ve histometrik araştırmalar yapılmıştır (Uslu ve Yörük, 2008). Apaydın ve Bahadır (1999) dermatolojide mast hücrelerinin boyanma özellikleri ve mediatörlerini araştırmışlardır. Aktaş ve Dağlıoğlu (2009) koyun fötüs derisinde mast hücrelerinin gelişimi ve sayısal yoğunluğu ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Kronik alkol tüketiminin sıçanların ileum mast hücre popülasyonu üzerine etkileri Vardı vd. (2000) tarafından gözlemlenmiştir. Kurtdede vd. (2000) Ankara keçisinin alt solunum yollarında mast hücrelerine yönelik histolojik çalışmalar yapmışlardır. Canbilen vd. (1999) ise değişik tespit çözeltilerinin insan kolon mast hücrelerine etkilerini ele almışlardır.

Karaoğlu vd. (2010)'nin yaptıkları çalışmada mast hücre yoğunluğunun larinks mukozasında trake ve bronkus mukozalarına nazaran daha fazla olduğu ve trakede çok az sayıda mast hücresi bulunduğu tespit etmişlerdir. Ayrıca bağ dokusunda yerleşim gösteren bu hücrelerin kas tabakasına komşu yerleşim gösterdikleri belirlenmiştir.

Kelek ve ınar (2010) prenatal dönemin bazı evrelerindeki (inkübasyonun 9., 11., 13., 15. ve 17. günleri) bıldırcın derisi mast hücrelerinin dağılımının belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlar ve yapılan bu çalışmada bütün evrelerde derinin farklı bölgelerinde farklı yoğunlukta olmak üzere mast hücreleri gözlenmiştir. İnkübasyonun 9. gününden itibaren gözlenen mast hücrelerinin inkübasyonun 15. gününe kadar sayılarında artış saptanmıştır. İnkübasyonun 17. gününde ise mast hücre sayısında azalma belirlenmiştir.

Aksoy ve ınar (2008) yaptıkları çalışmada prenatal ve postnatal dönemlerde *Gallus gallus domestica*'nın glandular midesindeki mast hücrelerinin dağılımı, yoğunluğu ve histokimyasal karakteri araştırılmıştır. Mast hücreleri ilk kez inkübasyonun 12. gününde gözlemlenmiştir. Embriyonun yumurtadan çıkışı yaklařtıķça, mast hücre yoğunluğunun düzenli olarak arttığı, fakat kuluçkadan sonra 1 haftalık civcivlerde mast hücre mitarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Erişkin bireylerde mast hücre yoğunluğunun, 1haftalık civcivlerdekine benzer olduğu gözlenmiştir.

Uslu ve Yörük (2008) hindilerde sindirim sisteminde bulunan mast hücrelerinin dağılımlarını ve heterojenitelerini ortaya koymak amacıyla çalışma yapmışlardır. Yapılan bu çalışmaya göre, en fazla özofagus ve ön midede, en azda taşlık ve kolonda mast hücresi saptamışlardır. Elde edilen bulgulara göre kullanılan

tespitlerden BLA tespit çözültisi diğer kullanılan çözültülerden daha iyi sonuç vermiştir. Alcian mavisi –Safranin O kombine boyaması ile MMC'ler Alcian mavisi ile pozitif reaksiyon vererek maviye, CTMC'ler ise safranin O ile (+) reaksiyon vererek kırmızıya boyanmıştır ve heterojenite belirlenmiştir. MMC'lere incelenen tüm organlarda rastlanırken, CTMC'lere dil, özofagus, kursak, ön mide, taşlık, duodenum ve çekumda rastlanmıştır.

Gıdalarda renk maddelerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda, kullanımına izin verilen renk maddelerinin yüksek miktarda kullanıldığı ve ayrıca izin verilmeyen renk maddelerine de rastlanıldığı belirtilmiştir (Demirer, 1974; Yentür ve Karakaya, 1985; Topsoy vd., 1990; Kalyoncu ve Yurttagül, 1995).

Çeşitli gıda katkı maddelerinin erişkin dokulardaki etkileriyle ilgili çok sayıda çalışma yayınlanmış olmasına rağmen özellikle gelişim üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı sayıdadır. Yapılan literatür taramalarında hazır gıdalarda renk verme amacıyla kullanımına izin verilen ve yaygın olarak kullanılan sunset yellowun tavuk embriyosu dokularındaki etkilerini histolojik yönden ele alan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sunset yellow içeren gıdaların tüketiciler tarafından daha bilinçli kullanılması hususunda ön bilgiler sağlayacağı düşüncesi ile bu tez çalışmasında, sunset yellowun allerjik reaksiyonlarda önemli rol oynayan mast hücreleri üzerindeki degranülasyon etkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ / KURAMSAL TEMELLER

Gıda katkı maddeleri ile ilgili çalışmalar önceki yıllardan beri yapılmakta olup son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Aralarında sunset yellowun da bulunduğu hazır gıdalarda renklendirici olarak kullanılan maddelerle ilgili yapılan araştırmaların çoğu biyokimyasal, fizyolojik, klinik ağırlıklıdır. Bu yöndeki bazı çalışmalar şekerlemeler ve toz içeceklerle katılmış sunset yellow ve tartrazin gibi boyar maddelerin analizlerinin nitel ve nicel tayinlerinin, spektrofotometrik ve voltametri yoluyla yapılabildiğini ortaya koyan araştırmalardır (Altınığne, 1999).

Ayrıca Türkiye'de gıdalarda kullanılmasına izin verilen (Eritrosin, Indigotin, Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R) ve kullanımı yasaklanan (Ponceau 3R, Ponceau SX, Brilliant Blue FCF, Amarant) gıda boyalarını ince tabaka

kromatografisiyle araştıran çalışmalar da bulunmaktadır (Yentür ve Karakaya, 1985).

Yentür ve Karakaya (1985) yaptıkları bir çalışmada 25 şeker örneğinin 11'inde (Ponceau 3R, Ponceau SX, Brillant Blue FCF, Amarant olmak üzere) kullanımı yasaklanmış boyalar; Gıda Tüzüğü'ne göre boya katılmasına izin verilmeyen dondurmalarda ise 29 örneğin 16'sında çeşitli sentetik boyaların (Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R, Ponceau SX) varlığını saptamışlardır.

Kajimoto vd. (1994) sentetik gıda boyalarının, soya yağıının oksidatif bozulması üzerindeki etkilerini araştırmışlar; Fast Green, İndigo Carmine ve Phloksin'in oksidatif bozulmayı hızlandırdığını belirlemişlerdir. Aynı araştırmada soya yağlarının oksidatif bozulmasının ve tokeferolün dekompozisyonunun, Phloksin kullanımı ve güneş ışığında depolama ile maksimum düzeye çıktığı görülmüştür. Ponceau 4R, Amarant, Tartrazine ve Sunset Yellow F.C.F kullanıldığında oksidatif bozulmaya rastlamamışlardır.

Jonnalgadda vd. (2004) sokakta satılan tüketime hazır gıdalarda tip, boyut ve kullanılan renkler üzerine yaptıkları araştırmada 545 numune incelemişlerdir. Bu numunelerin % 90'ında izin verilen boyalar, %8'inde kullanımı yasak olan boyalar ve %2'sinde izin verilen ve kullanımı yasak boyaların karışımları tespit edilmiştir. Ancak bu %90'lık dilimdeki numunelerin %27'sinde yerel yönetimce belirlenmiş oranlarda gıda boyası kullanıldığını, diğere %73'lük kısmında izin verilen oranları aştığını saptamışlardır. En çok kullanılan gıda boyası olarak tartrazin ve sunset yellowa rastlanmıştır.

İngiltere'de Southampton kentinde gıda katkı maddeleri hakkında, 3 yaşındaki çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada 277 çocuğun, 75'inde hiperaktivite, 79'unda alerji ve 36'sında hiperaktivite ve alerji birlikte bulunmuştur. Araştırma, çeşitli cips, şekerlemeler ve gazozlarda çok sık kullanılan Tartrazin (E102), Azorubin (E122), Sunset Yellow F.C.F (E110) ve Ponceau4R (E124) gibi renk verici maddelerin ve koruyucu bir madde olan sodyum benzoat'ın (E211) çocukların davranışları üzerindeki etkilerini saptamak için düzenlenmiştir. Araştırmada, çocukların diyetinden yapay renklendiriciler ve Sodyum Benzoat çıkarıldığında, çocuklardaki davranış bozuklarının düzeldiğı, bu maddeleri içeren içeceklerin verilmesiyle davranış bozukluklarının tekrar ortaya çıktığı belirlenmiştir (ANON,2002b).

DBPFC (double-blind placebo-controlled food challenge) klinik çalışmasında, angioedemalı veya kronik ürtikerli 43 çocuktan oluşan bir gruba gıda boyası içeren kapsül verilmiştir. Bu gruptaki 36 çocuktan 10'u sunset yellowa, 43 çocuktan 11'i tartrazine, 37 çocuktan 4'ü amarantha reaksiyon vermiştir. Ancak 12 çocuktan hiçbirisi carmosine reaksiyon vermemiştir. Oluşan reaksiyonlar arasında sıklıkla hırıltılı solunum görülmüştür (Supramaniam ve Warner, 1986).

Ürtikerli veya anjioedema'lı hastalara Allura Red AC, Amaranth, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R ve tartrazine hassasiyetleri rapor edilmiş, intoleranslı reaksiyonların gıda boyalarından mı yoksa challenge aracının (soya yağı) çapraz reaksiyonundan mı kaynaklandığına karar verilememiştir (Mikkelsen vd., 1978). Buna karşın Schultz-Ehrenburg ve Gilde (1987) kronik veya kronikleşmenin nüksettiği ürtikerli 90 hasta ile yaptıkları bir çalışmada vakaların %4'ünü intolerans olarak tanımlamışlar ve bu intoleranslığın gıda katkı maddelerinden (Benzoatlar, Sorbik Asit, Tartrazine ve Sunset Yellow) kaynaklandığı açıklamışlardır.

Yapılan bir başka çalışmada sıçanlara, 20-30 mg/kg dozlarda sunset yellow içeren diet verilmiş ve diare ile çekum (kör barsak) genişlemesi görülmüştür. Kan, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına etkisi gözlenmemiştir (Gaunt vd., 1967).

Erkek ve dişi sıçanlara 80 hafta süreyle 4-16 mg/kg sunset yellow içeren diet verilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Her iki grupta da genel "lyphoma"lar (lenf dokusunda gelişen tümör), reticulum cell neoplasm'lar (retikulum tümörleri) ve akciğer adenomları (akciğerde gelişen iyi huylu tümör) geliştiği gözlenmiştir (Yaman, 1996; Ekşi, 1996).

Poul vd. (2009) amaranth, sunset yellow ve tartrazine adlı gıda boyalarını farelere 200 ve 1000 mg/kg'lık dozda gavaj yoluyla vermişler ve genotoksik etkiyi araştırmışlar ve bu boyaların farelerde DNA hasarı meydana getirdiğini tespit etmişlerdir.

Sıçanlara intravenöz olarak sunset yellow enjekte edildikten sonra safrada 6 saat boyunca toplanan sıvı analizi yapılmıştır. Alınan analizler sonucunda enjekte edilen gıda renklendiricisi safra içinde toplanan sıvıyı % 22 (% 20-30) oranında boyadığı görülmüştür (Ryan ve Wright, 1961). Bir başka çalışmada 0,5 g /kg

sunset yellow ile beslenen tavşanın idrarında 48 saat sonra (% 2) sunset yellow metabolitleri tespit edilmiştir (Daniel, 1962).

Bir araştırmada oral yolla verilen sıçan başına 50 mg tek doz sunset yellowun % 3.6' sının gastrointestinal sistemde absorbe edildiği, 100 mg tek doz verildiğinde uygulanan dozun % 0.8'inin dışkıda bulunduğu belirlenmiştir (Radomski ve Mellinger, 1962).

Yetişkin olmayan 10 adet dişi sıçan grubuna, 3 gün boyunca deri altından, günde iki kez sunset yellowun (250 mg / kg vücut ağırlığı) sulu çözeltisi verildikten sonra herhangi bir östrojenik aktivite tespit edilmediği bildirilmektedir (Graham ve Allmark, 1959).

Sıçanlara 10 ay boyunca içme suyu içerisinde sunset yellow (% 2) çözelti olarak verilmiş ve karaciğerlerinde herhangi bir histopatolojik değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Manchon ve Lowy, 1964).

Yapılan bir çalışmada sıçanlar 90 gün boyunca %0,5 ,%1 , %2 ve %3'lük sunset yellow içeren besinlerle beslenmiş, maddenin büyüme veya gıda tüketimi üzerinde olumsuz etki yaratabileceği belirtilmiştir. Deney süresince % 3'lük besin verilenlerde hafif ishal, %2'lik besin verilenlerde ise ilk birkaç hafta hafif ishal görülmüştür. Deney grubunun hematolojik incelemelerinde, karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinde anormal herhangi bir sonuca rastlanmamıştır. Ayrıca yapılan otopside %2'lik besin verilende çekumda, %3'lük besin verilenlerde ise çekum ve testisde genişleme olduğu görülmüştür. Ancak sunset yellow kaynaklı hiçbir histolojik değişiklik olmadığı ifade edilmiştir (Gaunt vd., 1967).

98 gün boyunca 250, 500 ve 1000 mg / kg sunset yellow içeren besinlerle beslenen erkek ve dişi domuzlarda kilo, hematolojik endeks, idrar bileşimi, organ ağırlıkları, transaminaz, üre ve serum düzeyleri arasında hiçbir olumsuz değişikliğe rastlanmamış, otopsi veya dokuların mikroskopik incelemesinde de bir anormallik tespit edilmemiştir (Gaunt vd., 1969).

C₅₇ siyah ve C₃H olarak bilinen iki fare suşu, %1 ve %2'lik sunset yellow içeren besinlerle iki yıllık diyet uygulanarak beslenmiş ve deney sonucunda sunset yellowun tümör oluşumu üzerinde bir etkisi olmadığı kararına varılmıştır (FDA, 1964).

80 hafta boyunca (% 0.2, 0.4, 0.8 ve 1.6) sunset yellow içeren besinler verilen erkek ve dişi farelerde maddenin ölüm hızı, vücut ağırlığı artışı, organ ağırlıkları ve hematolojik bulguları etkilemediği saptanmış, histopatolojik bulguların sıklığı ve şiddetinin kontrol grubununkine benzer olduğu ve tümörlerin görülme sıklığında herhangi bir artış olmadığı rapor edilmiştir (Mason vd., 1974).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, kullanılacak dömlü tavuk yumurtaları T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden inkübasyonun 15. gününde olan 90 adet Legorn cinsi embriyolu tavuk yumurtası temin edilmiştir. Laboratuvara getirilen yumurtaların ağırlıkları tartıldıktan sonra kuluçka makinesine yerleştirilmiş ve ortama adapte olmaları için bir süre beklenmiştir. Daha sonra çalışma kontrol ve uygulama olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubu; inkübasyonun 15. gününde alınan SPF dömlü yumurtalardan 45 tanesi hiç açılmayan ve sunset yellow için çözücü olarak kullanılan distile su enjeksiyonu yapılan gruplar olarak ikiye ayrılmıştır. Distile su kontrol grubunda yumurtalar açıldıktan sonra 0,1 ml distile su G27 iğne ile enjekte edildikten sonra parafilmle kapatılmıştır. Daha sonra hiç açılmayan kontrol grubu ve distile kontrol grubu yumurtaları inkübasyona devam etmesi için kuluçka makinesine (37.5⁰C, % 60-80 nem) (Brinsea Octagon-40DX) yerleştirilmiştir.

Deney grupları için ayrılan gelişiminin 15. günündeki embriyolu tavuk yumurtalarına (45 adet) sunset yellow (Aldrich, CAS No: 2783-94-0) Türk Gıda Kodeksin' de (ANON, 2002a) önerilen doz olan 2.5 mg/kg olarak uygulanmıştır. Bu uygulama için önce yumurtalar tartılarak ortalama ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra sunset yellow çözeltisi 0.1 ml' de 2.5 mg/kg olacak şekilde distile su ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden 0.1 ml alınarak G27 iğne ile vitellusa enjekte edilmiştir. Maddenin uygulanmasından 6, 12 ve 24 saat sonra yumurtalar açılarak çıkarılan embriyolar serum fizyolojik (% 0,9'luk NaCl₂) ile vitellustan arındırılmıştır.

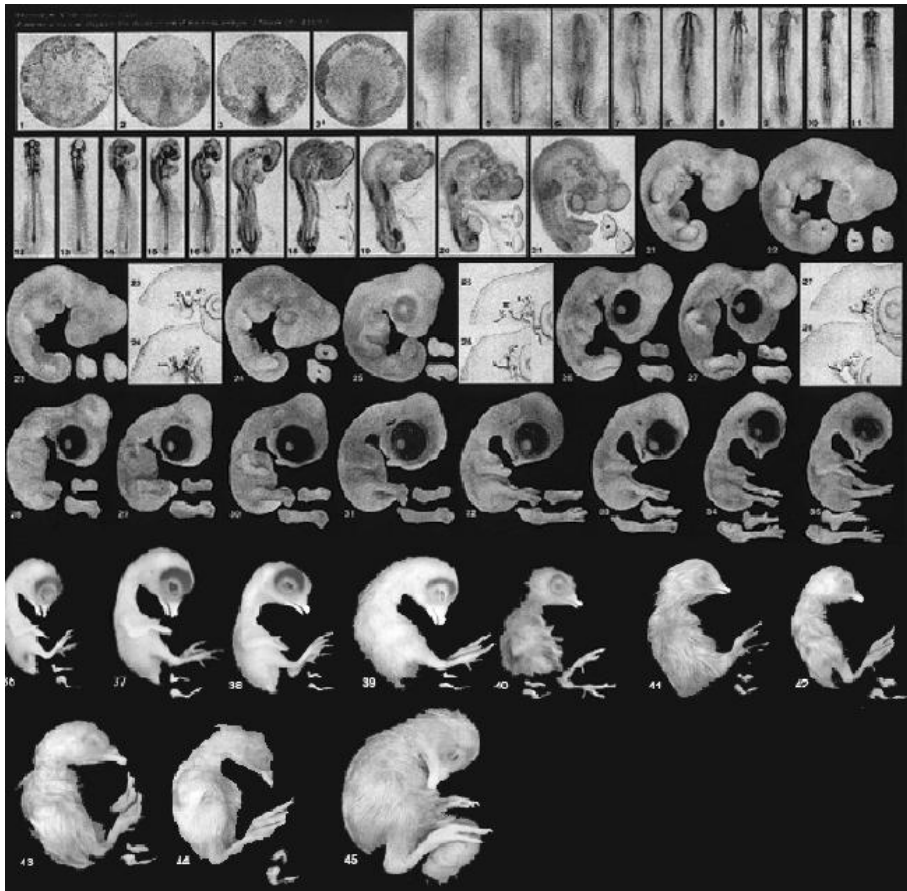
Histolojik preparasyon için embriyolardan alınan deri ve barsak örnekleri Sainte-Marie tespit çözeltisi ile +4⁰C'de 24 saat tespit edilmiştir. Tespiti yapılan dokular önce dehidre edilmek için dereceli alkol serilerinden geçirilmiş daha sonra ksilol ile şeffaflaştırılmıştır. Dokular bir gece 58⁰C' de sıvı parafinde bekletildikten sonra parafin bloklar elde etmek için kalıplara dökülmüştür. Histolojik incelemeler için tespit edilmiş dokulardan Rotary mikrotomda 5µ kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen- Eosin (Mayer's), Gomori trikrom, Metilen mavisi, Modifiye giemsa, Thionin ve Toluidin mavisi ile boyanmıştır (Bancroft ve Cook, 1994). Boyanan kesitler daimi preparat haline getirilmek için entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlardan deri ve barsak doku örnekleri mikroskopta (Olympus BX 51) incelenerek farklı büyütmelerde fotoğrafları (Olympus E-330 digital kamera) çekilmiş ve değerlendirilmiştir.

Tavuklarda kuluçka süresi 21 gün olup, Hamburger ve Hamilton (1951) skalasına (HH skalası) göre tavuk embriyosunun gelişim evreleri kuluçka günlerine göre aşağıdaki gibidir;

- Evre 1 (Sulkus Primitivus Öncesi Evre): 0-6. saatler
- Evre 2 (Başlangıç Sulkus Primitivus Evresi): 6-7. saatler
- Evre 3 (Ara Sulkus Primitivus Evresi): 12-13. saatler
- Evre 4 (Belirgin Sulkus Primitivus Evresi): 18-19. saatler
- Evre 5 (Baş Çıkıntısının Geliştiği Evre): 19-22. saatler
- Evre 6 (Baş Kıvrımının Oluştığı Evre): 23-25. saatler
- Evre 7 (Bir Somitli Evre): 23-26. saatler
- Evre 8 (Dört Somitli Evre): 26-29. saatler
- Evre 9 (Yedi Somitli Evre): 29-33. saatler
- Evre 10 (On Somitli Evre): 33-38. saatler
- Evre 11 (On üç Somitli Evre): 40-45. saatler
- Evre 12 (On altı Somitli Evre): 45-49. saatler
- Evre 13 (On dokuz Somitli Evre): 48-52. saatler
- Evre 14 (Yirmi iki Somitli Evre): 50-53. saatler
- Evre 15: 50-55. saatler
- Evre 16: 51-56. saatler
- Evre 17: 52-64. saatler
- Evre 18: 65-69. saatler
- Evre 19: 68-72. saatler
- Evre 20: 70-72. saatler

- Evre 21: Ortalama 3½ gün
Evre 22: 3 ½ gün
Evre 23: 3½-4. günler
Evre 24: 4. gün
Evre 25: 4½ gün
Evre 26: 4½-5. günler
Evre 27: 5. gün
Evre 28: 5½ gün
Evre 29: 6. gün
Evre 30: 6½ gün
Evre 31: 7. gün
Evre 32: 7½ gün
Evre 33: 7½-8. günler
Evre 34: 8. gün
Evre 35: 8. ve 9. günler
Evre 36: 10. gün
Evre 37: 11. gün
Evre 38: 12. gün
Evre 39: 13. gün
Evre 40: 14. gün
Evre 41: 15. gün *
Evre 42: 16. gün
Evre 43: 17. gün
Evre 44: 18. gün
Evre 45: 19-20. günler
Evre 46: 20-21. günler (Hamburger ve Hamilton, 1951)
-

*Çalışmada kullanılan evre.



Şekil 3.1. Hamburger ve Hamilton (1992)'a göre yeniden hazırlanmış embriyo safhaları.

4. BULGULAR

Çalışmada rutin histolojik yöntemlerle hazırlanıp boyanan 15 günlük tavuk embriyosu deri ve barsak dokusu histolojik preparatlarında mast hücre degranülasyonu incelenmiş, önemli olarak tespit edilen bulgular fotoğraflanmıştır.

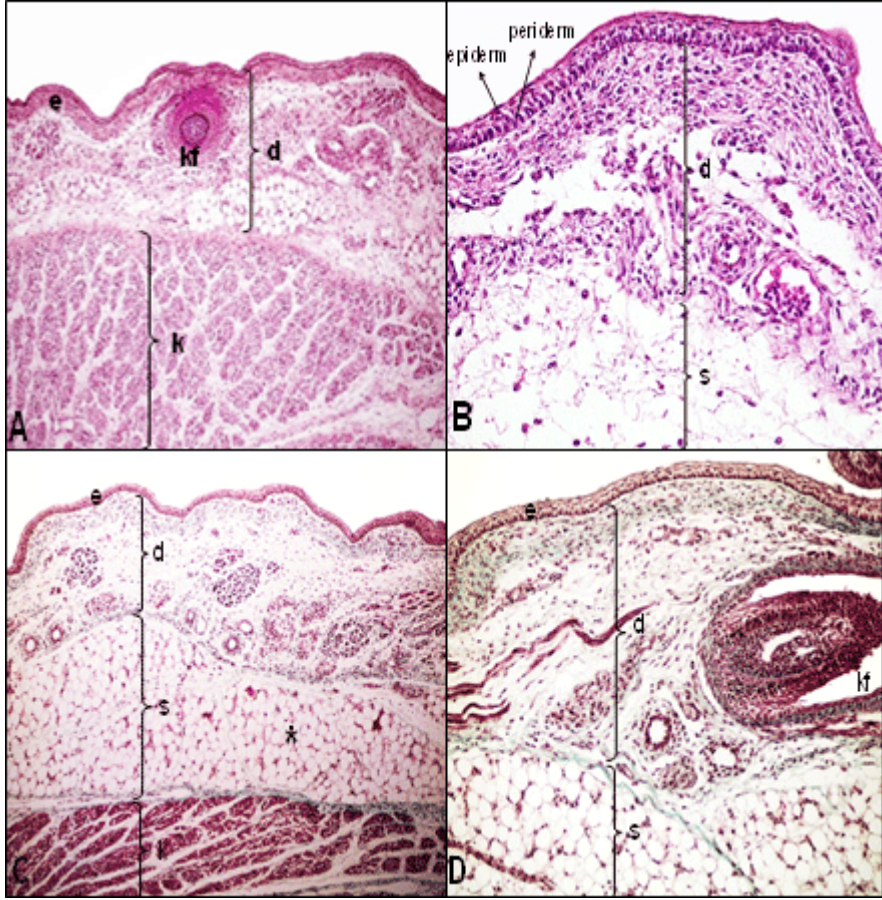
Yapılan incelemeler sonucunda, normal-kontrol ve distile su-kontrol grubu arasında histolojik açıdan farklılık bulunmamıştır. Bu nedenle kontrol grubu olarak normal-kontrol grubu temel alınmış ve bu doğrultuda histolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Deney gruplarında ise sunset yellow (SY) uygulamasının tavuk embriyosu deri ve barsak dokusunda bulunan mast hücrelerinde süreye bağlı olarak sayıca artışa ve degranülasyona neden olduğu tespit edilmiştir.

4.1. Deri

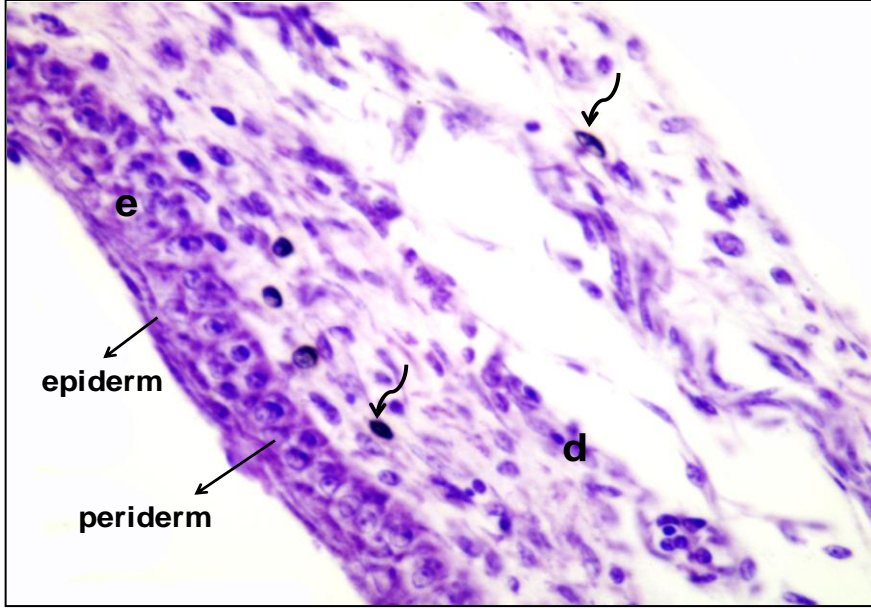
4.1.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu

15 günlük tavuk embriyo derisinin epidermis, dermis ve subkutis olmak üzere üç bölümden oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.1A-D). Epidermis tabanda yer alan kübik biçimli bazal hücre katmanı (periderm) ve bunun üzerinde yerleşmiş yassı biçimli hücre katmanından (epiderm) meydana gelmiştir (Şekil 4.1B, 2, 3). Dermis kan damarları, kıl folikülleri ve yağ dokusu içeren bağ dokusu özelliğindedir. Subkutis tabakası ise yağ dokudan zengin olup dermis ve dermis altında yer alan kas tabakası arasında yer almaktadır (Şekil 4.1. A, C, D).

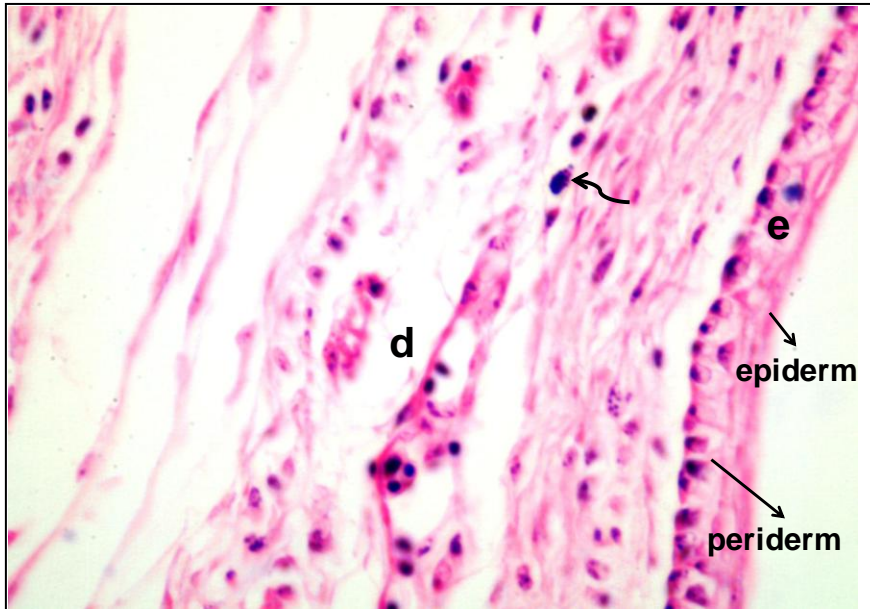
Kontrol ve distile kontrol gruplarına ait embriyolardan alınan deri kesitlerinde mast hücre morfolojisinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Gözlenebilen pek çok mast hücresinin sıkı paketlenmiş granüllere sahip olduğu ve degranülasyon göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4.2, 3).



Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu derinin genel görünümü. Epidermis (e), dermis (d), subkutis (s) kıl folikülü (kf), yağ hücreleri (*), kas (k). A-B: Hematoksilen-Eosin, A: 20X, B: 40X, C-D: Gomori trikrom, C: 20X, D:40X



Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu derisinde sıkı paketlenmiş, yoğun granüller içeren dermal mast hücreleri (↪). Epidermis (e), dermis (d). Metilen mavisi, 80X



Şekil 4.3. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu deri kesitinde dermal mast hücreleri (↪). Epidermis (e), dermis (d). Modifiye giemsa, 80X

4.1.2. Deney grubu

Sunset yellowa 6 saat maruz kalan gruba ait embriyoların deri örneklerinde epidermis altı bağ dokusunda mast hücrelerinin sayıca artış gösterdiği (Şekil 4.4-6, 8), pek çok mast hücrelerinin sıkı paketlenmiş ve yoğun boyanmış granüller içerdiği dikkati çekmiştir (Şekil 4.6-12, Çizelge 4.1). Bu grupta ileri düzeyde degranüle mast hücrelerine orta düzeyde rastlanmıştır (Şekil 4. 5, 6, 9, 10, Çizelge 4.1).

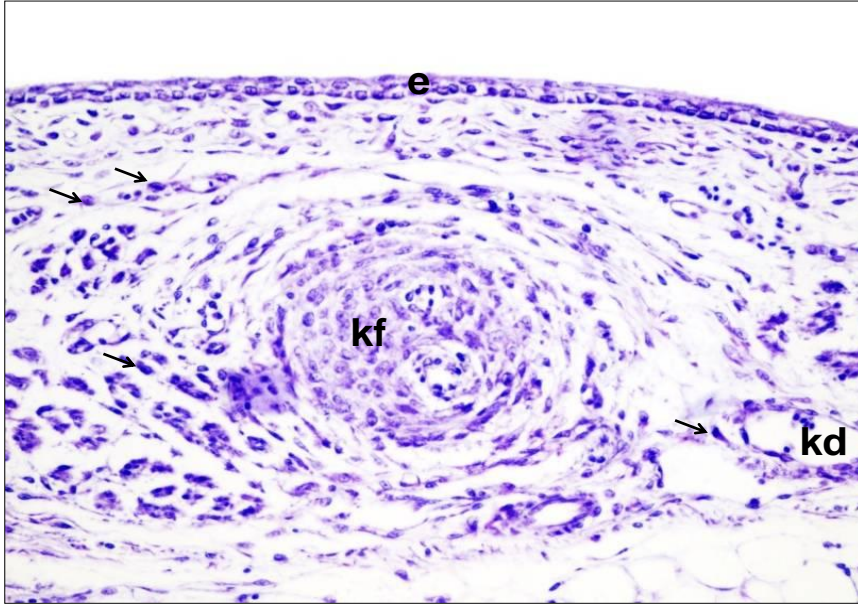
SY'a 12 saat maruz kalan gruba ait doku örneklerinde çok sayıda dermal mast hücrelerine rastlanmıştır (Şekil 4.13), çoğu mast hücrelerinde kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gözlenmiştir (Şekil 4.14-19, Çizelge 4.1). Kısmi degranüle mast hücreleri granüllerinin çözölmeye başladığı, gevşek ve kaba granüller oluşturduğu saptanmıştır (Şekil 4.9-20). İleri degranülasyon gösteren mast hücrelerinin ise daha az granül içerdiklerinden dolayı daha aydınlık sitoplazmaya sahip oldukları dikkati çekmiştir (Şekil 4.18-19, 21). Bu grupta sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücrelerine az rastlanmıştır (Şekil 4.14, Çizelge 4.1).

SY'a 24 saat maruz kalan grupta ise sayıca çok fazla olduğu gözlenen dermal mast hücrelerinde ileri düzeyde degranülasyon tespit edilmiştir (Şekil 4.22-27). Ayrıca bu grupta sıkı paketlenmiş granüle daha az, kısmi degranülasyona sahip mast hücrelerine ise orta düzeyde rastlanmıştır (Şekil 4.25, Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Dermal mast hücrelerinin süreye bağlı degranülasyon yoğunluğu

(+: daha az, ++: az, +++: orta, ++++: çok, +++++: çok fazla)

	6 saat	12 saat	24 saat
Sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücresi	++++	++	+
Kısmi düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi	++++	++++	++
İleri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi	++	++++	++++

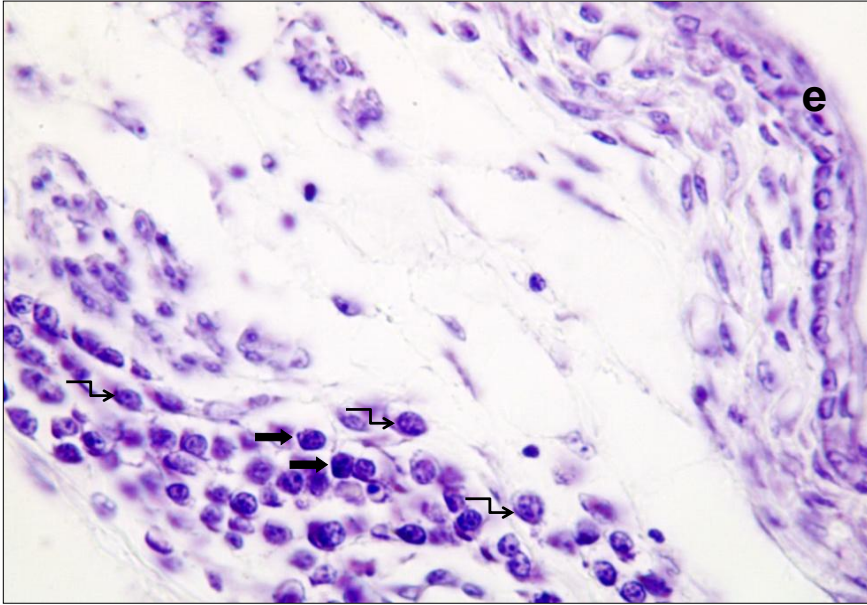


Şekil 4.4. 15 günlük 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesitinde kıl folikülü ve kan damarı etrafında yer alan çok sayıda mast hücresi görülmektedir (\blacktriangleright). Epidermis (e), kıl folikülü (kf), kan damarı (kd) . Metilen mavisi, 40X

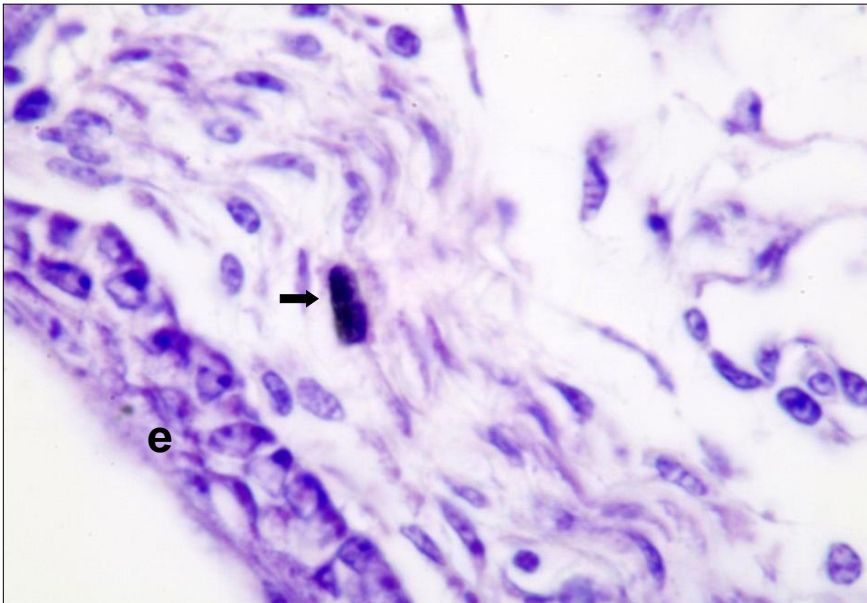


Şekil 4.5. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermisteki kısmı

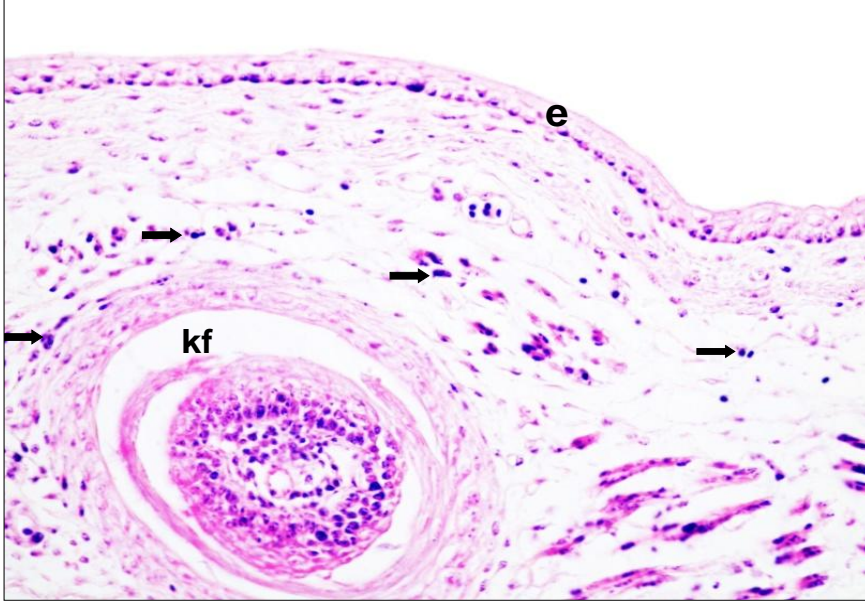
(\blacktriangleright) ve ileri (\blacktriangleleft) dermal mast hücreleri. Epidermis (e). Metilen mavisi, 100X



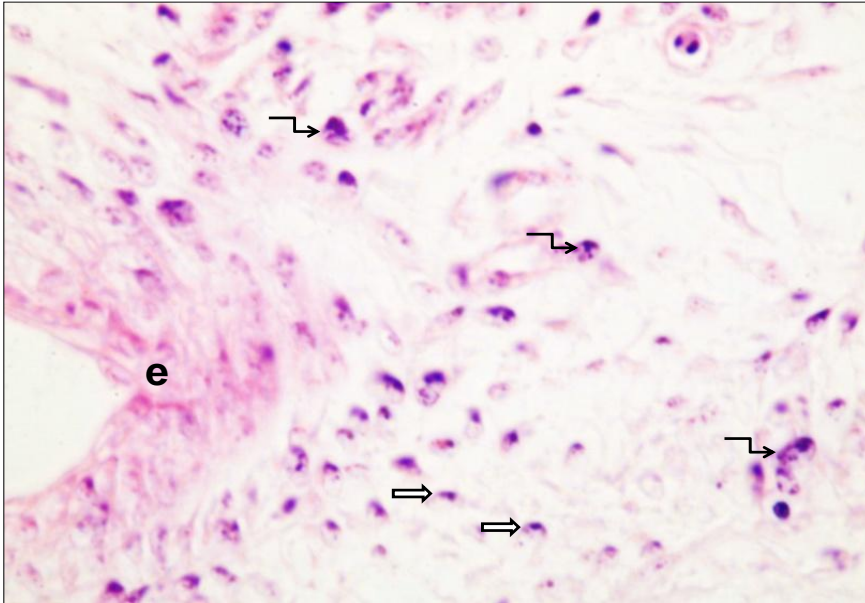
Şekil 4.6. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermiste sıkı paketlenmiş granül içeren (→) ve kısmi degranülasyon gösteren (↪) çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Epidermis (e). Metilen mavisi, 100X



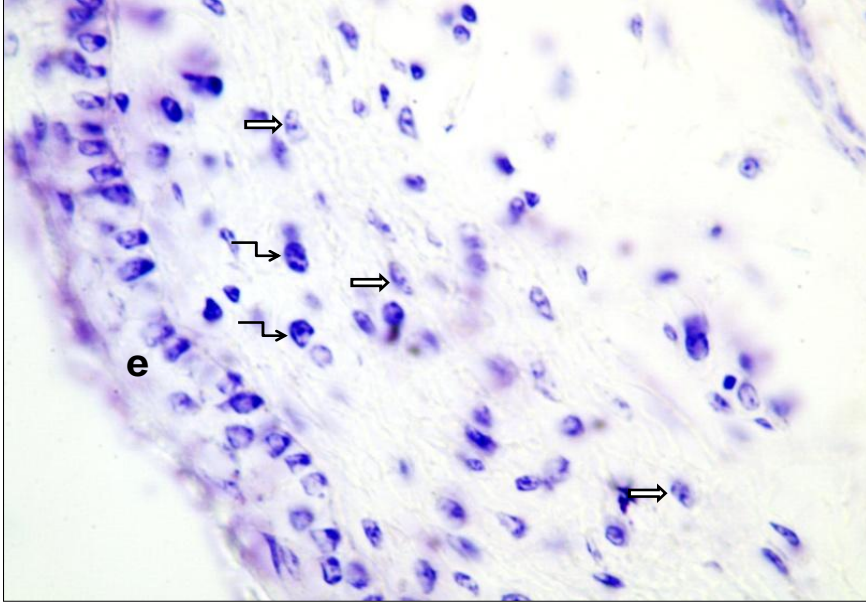
Şekil 4.7. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş granüllere sahip mast hücresi (→). Epidermis (e). Metilen mavisi, 160X



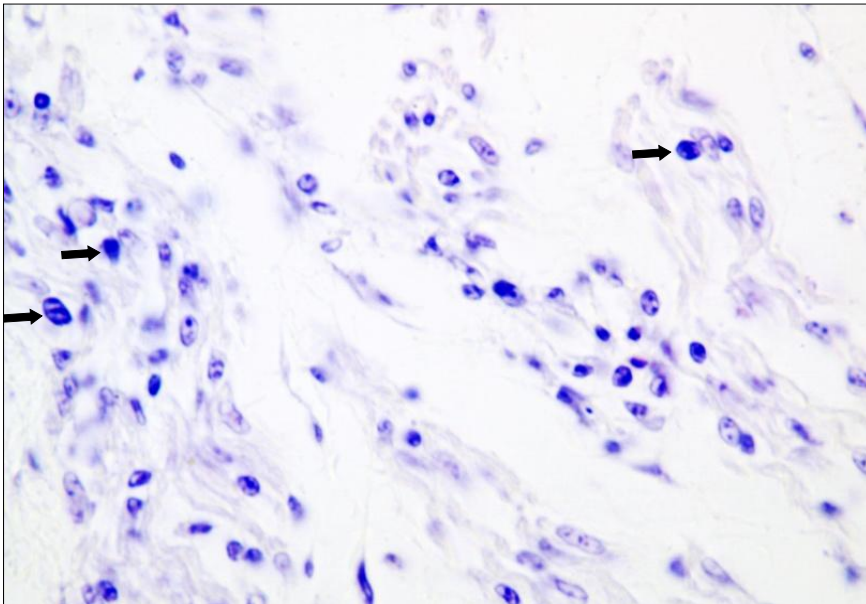
Şekil 4.8. 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesitinde kıl folikülü (kf) etrafında toplanmış sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücreleri (→). Epidermis(e). Modifiye giemsa, 40X



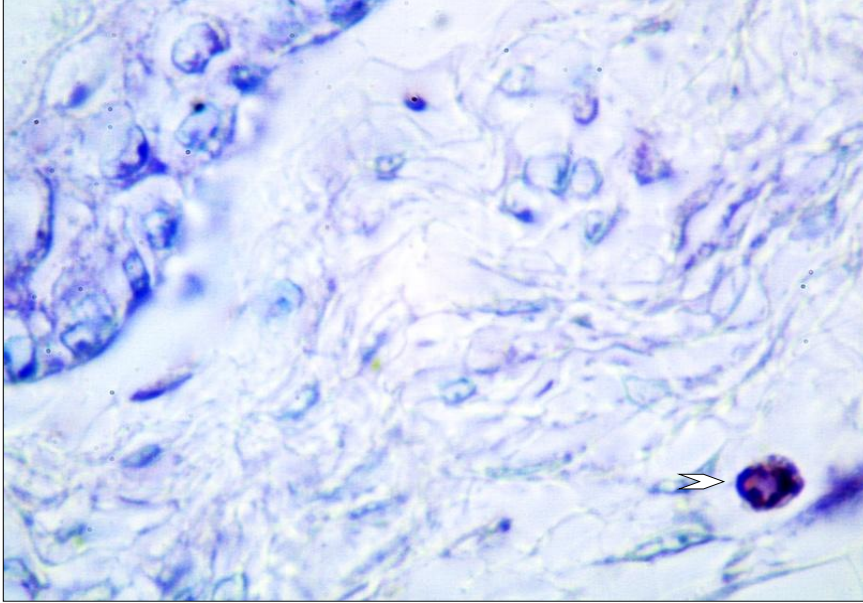
Şekil 4.9. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen kısmi (└→) ve ileri düzeyde degranülasyon (⇨). Epidermis (e). Modifiye giemsa, 100X



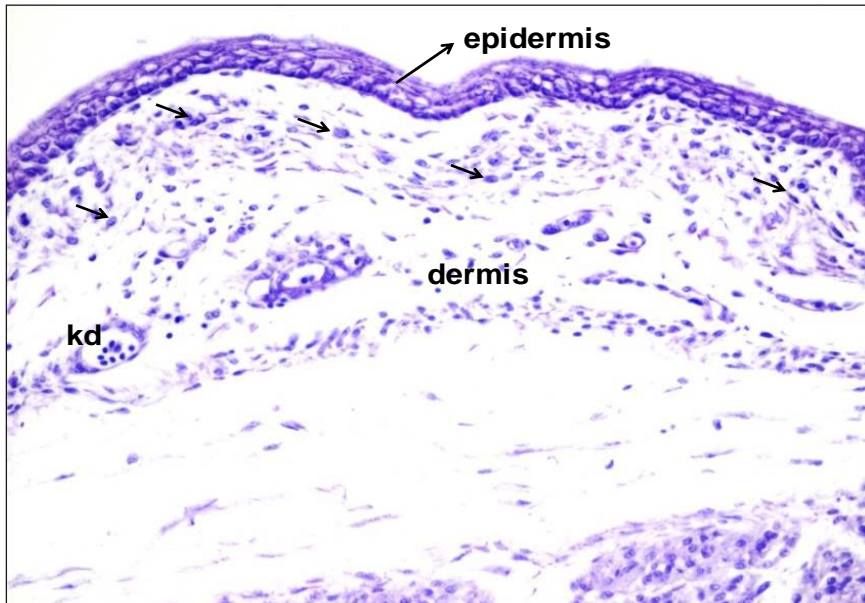
Şekil 4.10. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen kısmi (↗) ve ileri düzeyde degranülasyon (⇨). Epidermis(e). Thionin, 100X



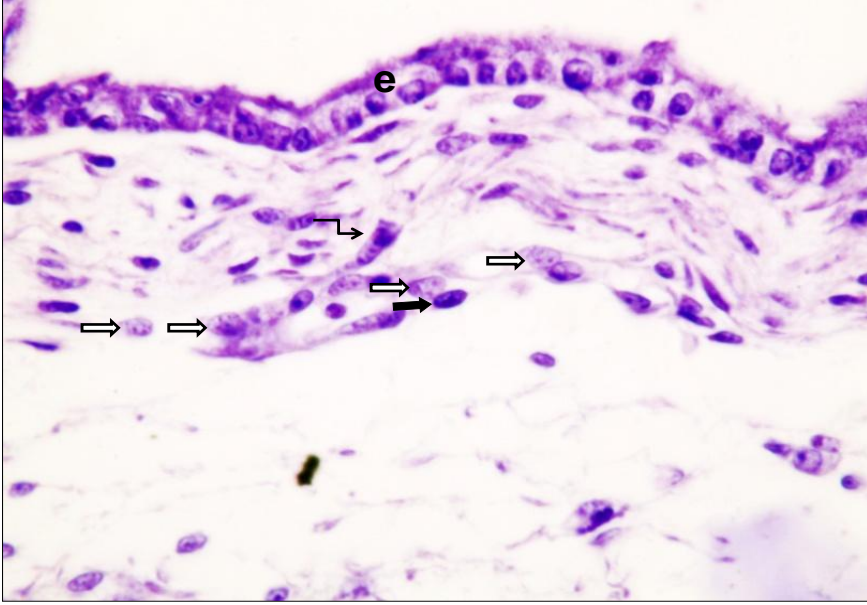
Şekil 4.11. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra dermal mast hücrelerinde meydana gelen degranülasyon. Çok sayıda sıkı paketlenmiş mast hücreleri (→). Thionin, 100X



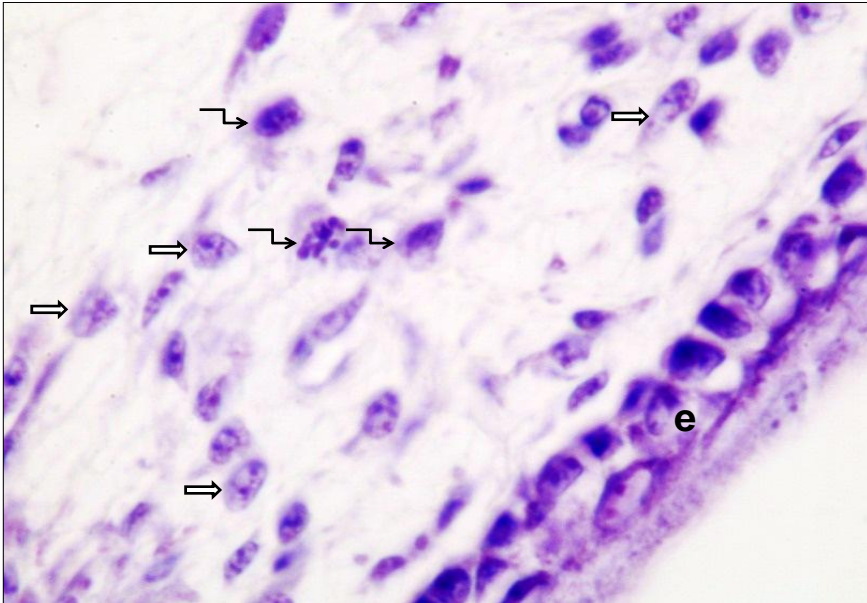
Şekil 4.12. SY'un enjeksiyonundan 6 saat sonra iri, kaba, metakromatik granüllere sahip mast hücresi (⇒). Thionin, 160X



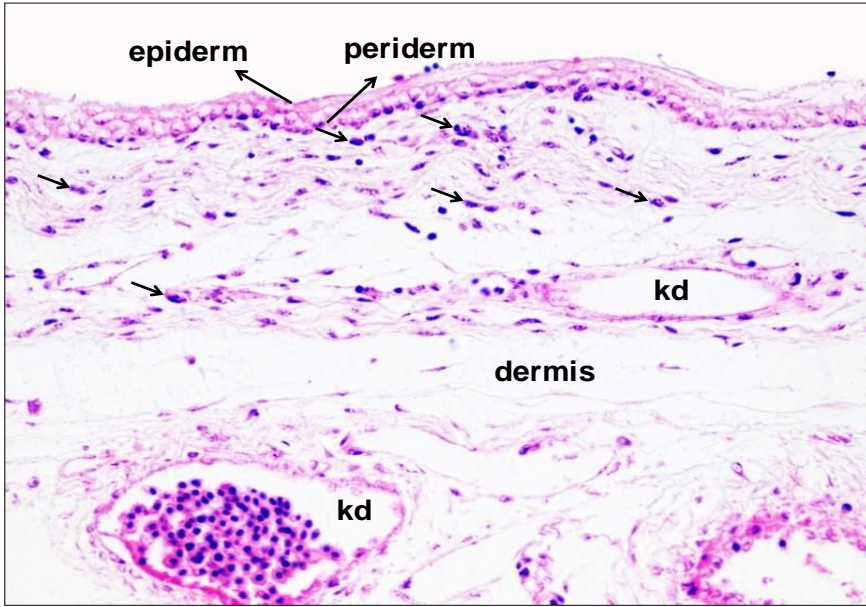
Şekil 4.13. 15 günlük 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu deri kesiti. Kan damarı etrafında yer alan çok sayıda mast hücreleri (↘). Kan damarı (kd). Metilen mavisi, 40X



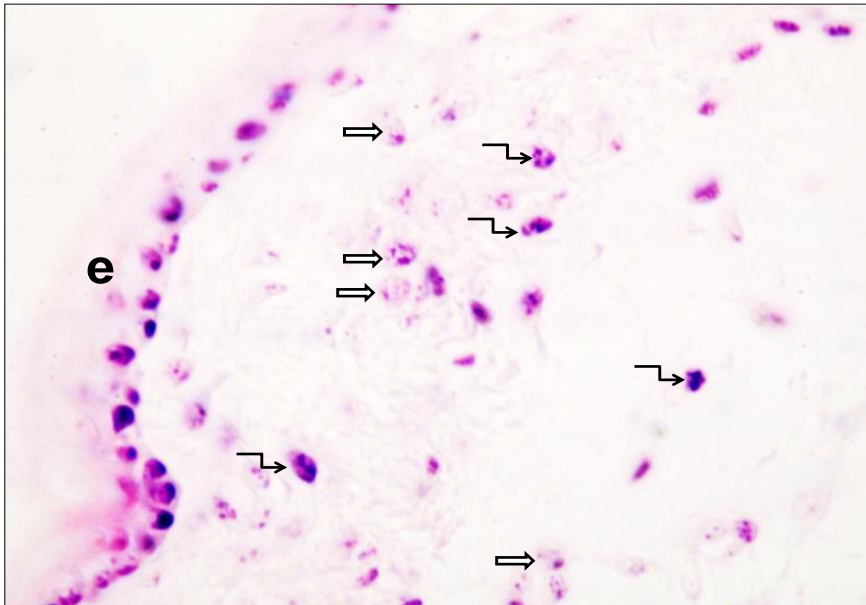
Şekil 4.14. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra dermal mast hücrelerinde kısmi (↵) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon. Sıkı paketlenmiş mast hücresi (⇩). Epidermis (e). Metilen mavisi, 100X



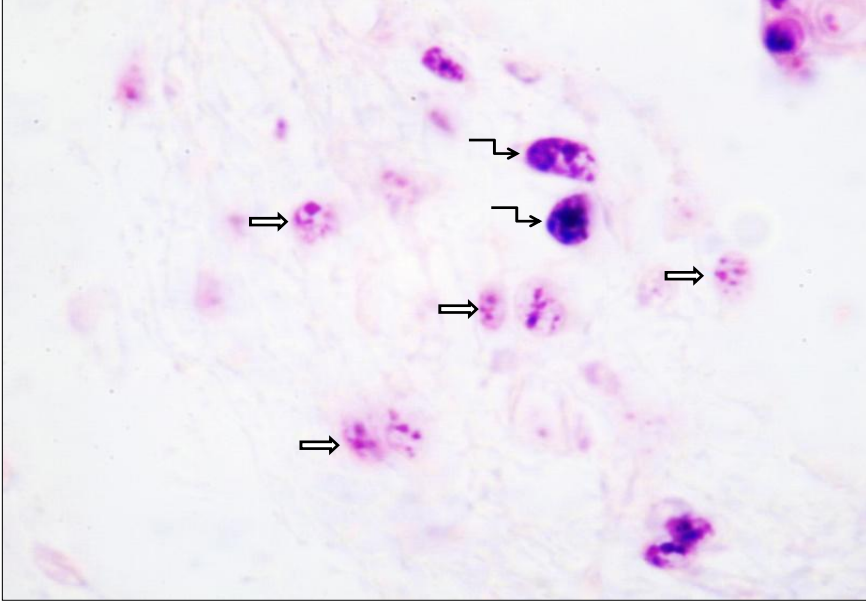
Şekil 4.15. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi (↵) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Epidermis (e). Metilen mavisi, 160X



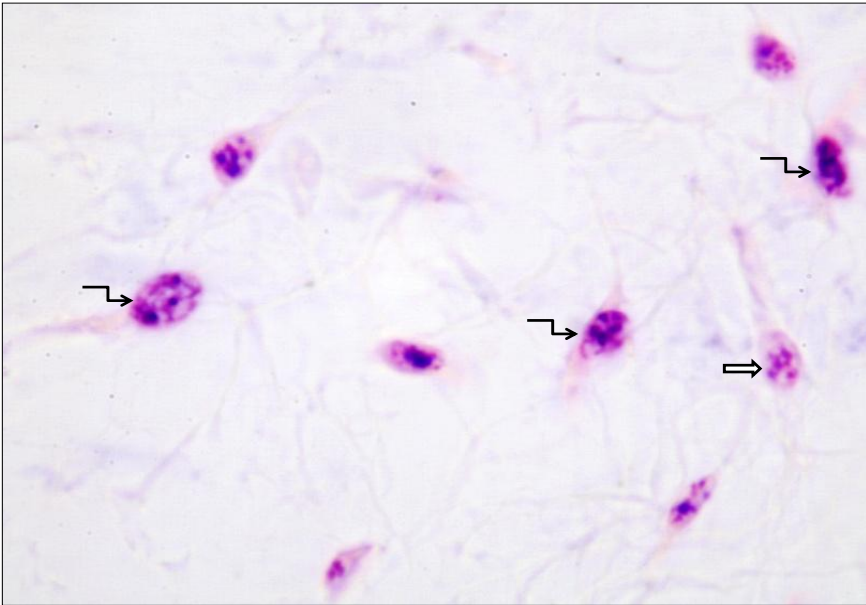
Şekil 4.16. 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu dokusu dermis tabakasında yer alan çok sayıda mast hücresi (↘) görülmektedir. Kan damarı (kd). Modifiye giemsa, 40X



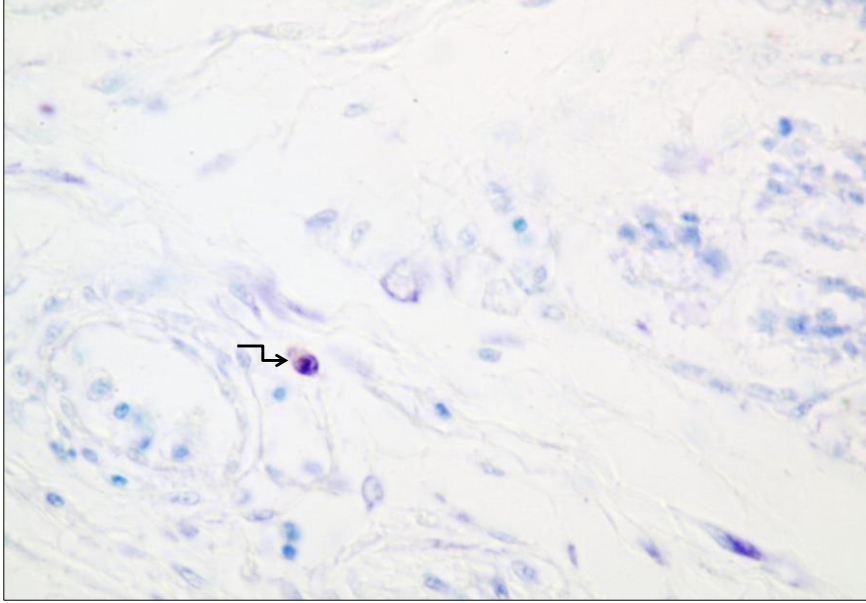
Şekil 4.17. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi (↘) ve ileri (⇐) düzeyde degranülasyon gösteren dermal mast hücreleri. Epidermis (e). Modifiye giemsa, 100X



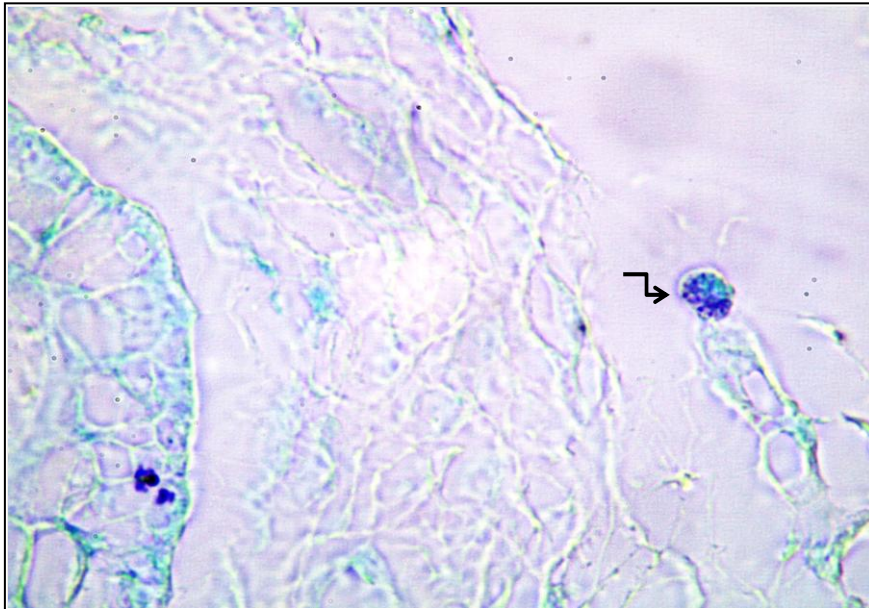
Şekil 4.18. Sunset yellowun enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi (↪) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren mast hücreleri. Modifiye giemsa, 160X



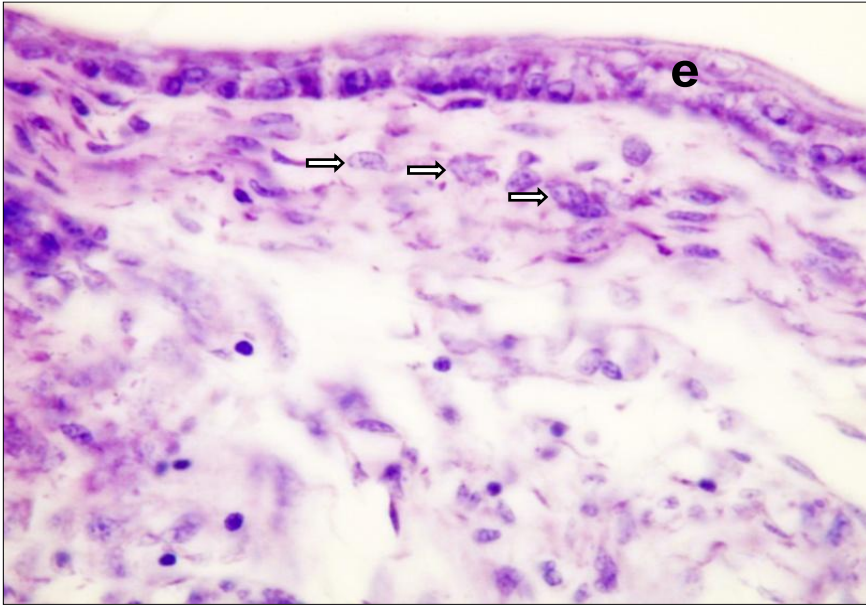
Şekil 4.19. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren mast hücreleri (↪). İleri düzeyde degranüle mast hücresi (⇨). Modifiye giemsa, 160X



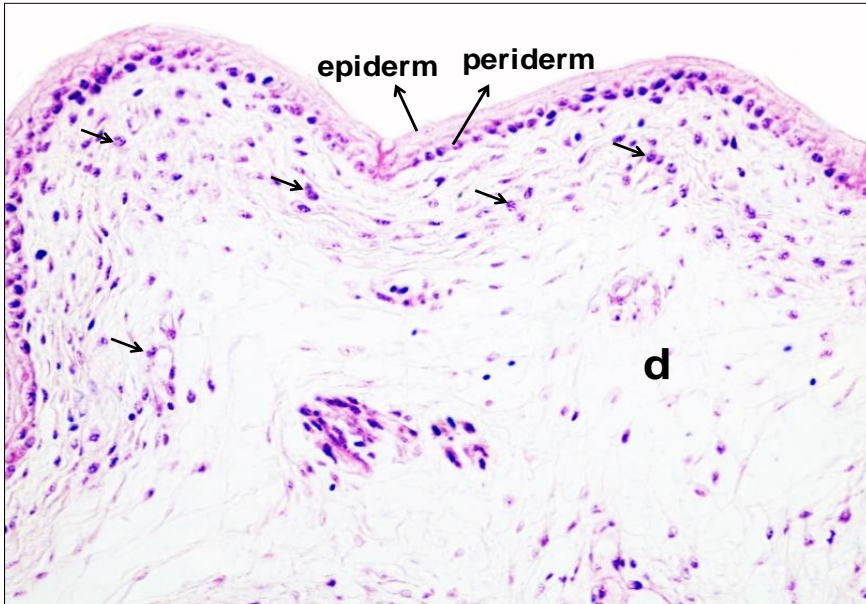
Şekil 4.20. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi (↪). Thionin, 100X



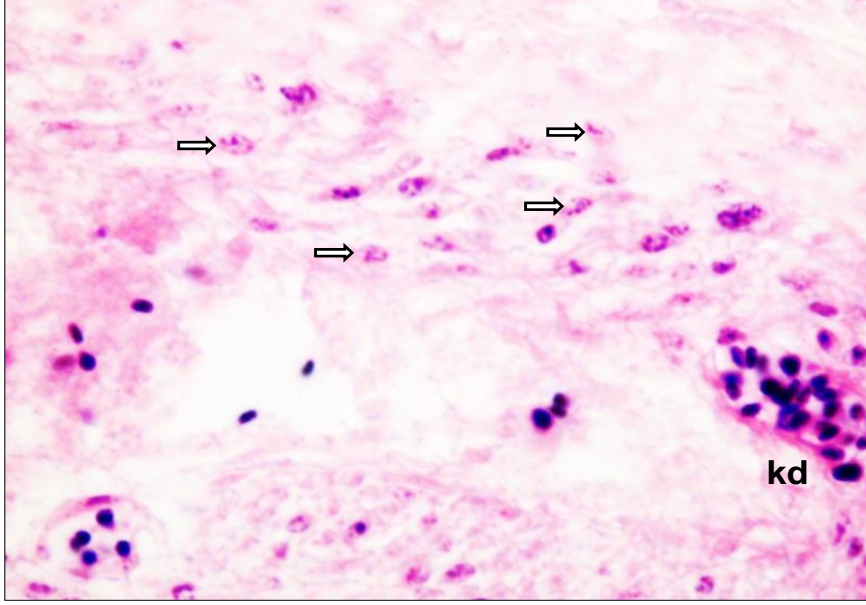
Şekil 4.21. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra iri, kaba ve gevşek granüllere sahip dermal mast hücresi (↪) izlenmektedir. Toluidin mavisi, 160X



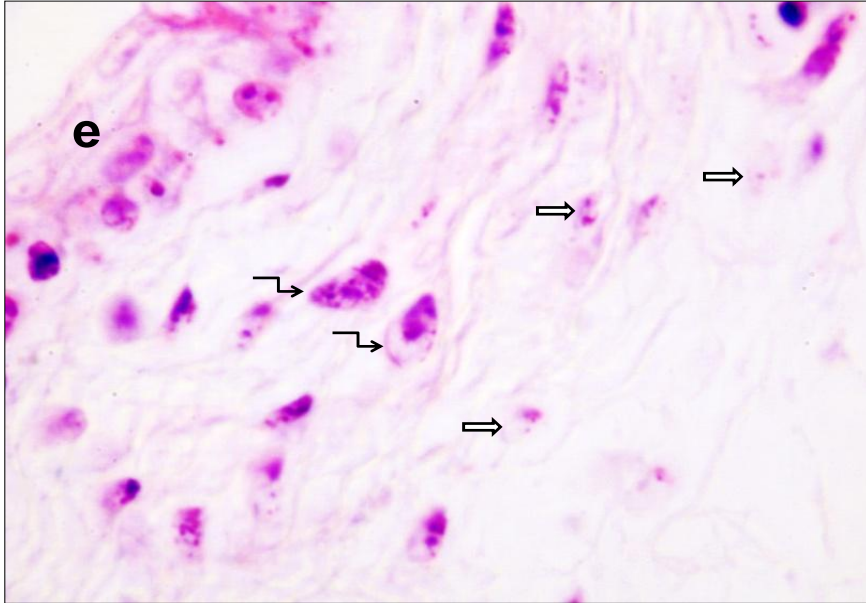
Şekil 4.22. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi (⇨). Epidermis (e). Metilen mavisi, 100X



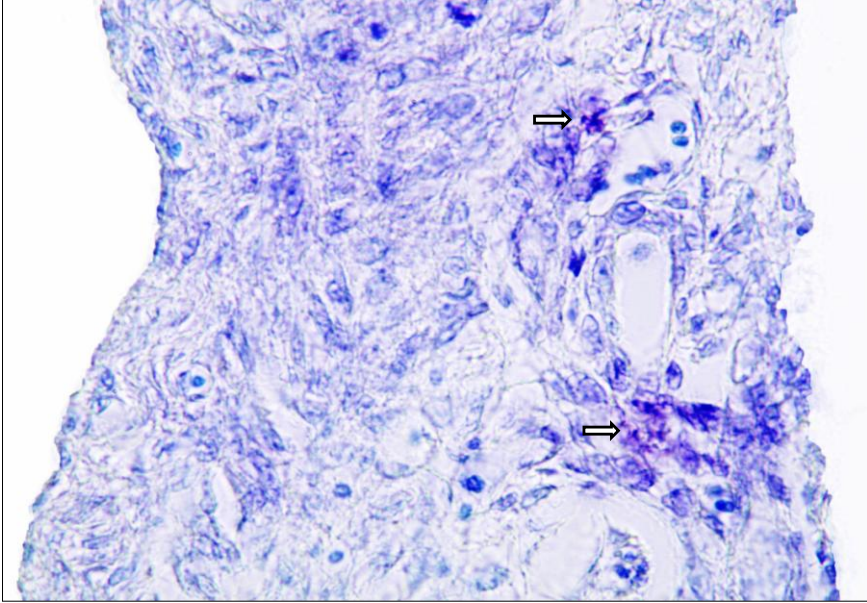
Şekil 4.23. SY' un enjeksiyonundan 24 saat sonra tavuk embriyosu deri kesiti genel görünüm. Dermiste yer alan çok sayıda mast hücresi (↘ Dermis (d). Modifiye giemsa, 40X



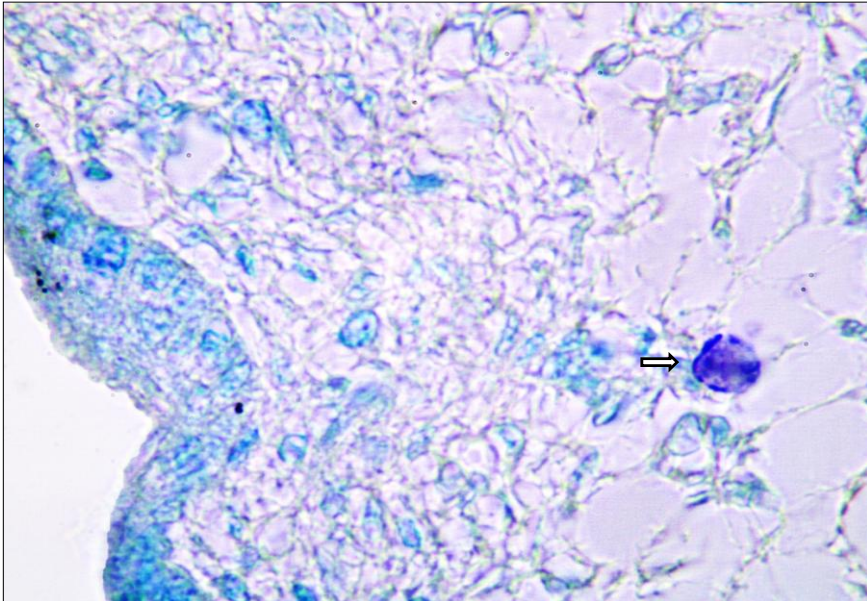
Şekil 4.24. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kan damarı etrafında yerleşim gösteren ileri düzeyde degranüle çok sayıda mast hücresi (⇒). Kan damarı (kd). Modifiye giemsa, 100X



Şekil 4.25. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi (↵) ve ileri (⇒) düzeyde degranüle mast hücreleri. Epidermis (e). Modifiye giemsa, 160X



Şekil 4.26. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücreleri (⇒). Thionin, 100X



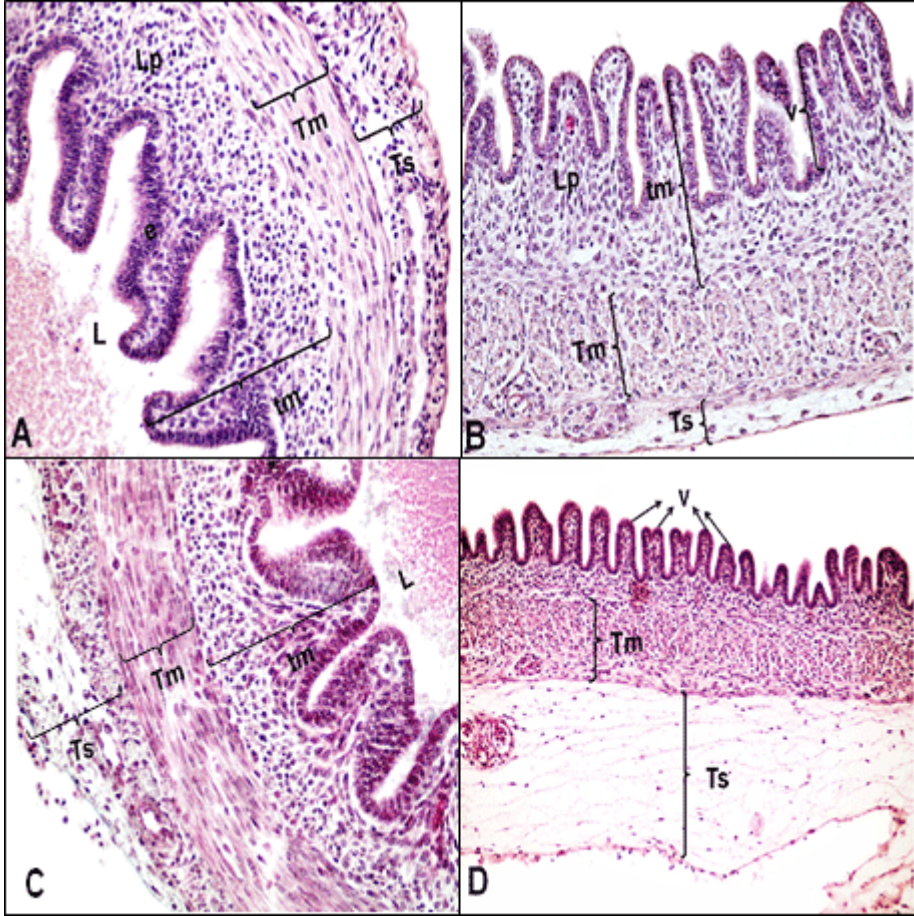
Şekil 4.27. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra dermal mast hücrelerinde ileri düzeyde degranülasyon (⇒). Toluidin mavisi, 200X

4.2. Barsak

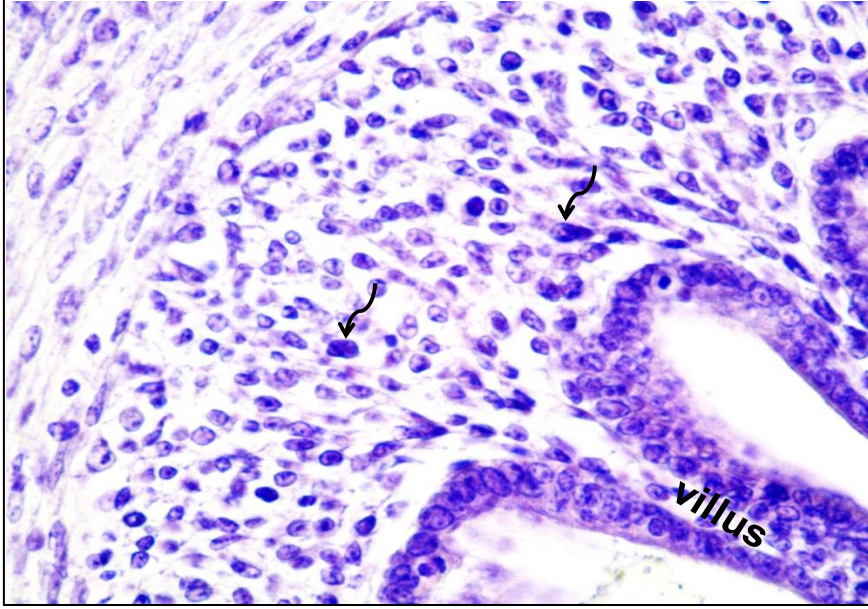
4.2.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu

Gelişimin 15. gününde tavuk embriyosu ince barsağının histolojik olarak, içten dışa doğru, üç tabakadan (tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza) oluştuğu görülmüştür (Şekil 4. 28 A-D). Tek katlı prizmatik epitel ve epitel altında yer alan bağ dokusu yapısındaki lamina propria olmak üzere iki kısımdan meydana gelen barsak mukozasının lümenine doğru farklı uzunluklarda ve parmak şeklinde villuslar oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.28 A-D). Kas tabakası belirgin olup, longitudinal seyirlidir (Şekil 4. 28 A-C). En dışta yassı epitel ve altında bağ dokusu lifleri içeren, ince gevşek bağ dokusundan oluşan seroza yer almıştır (Şekil 4. 28 A-C).

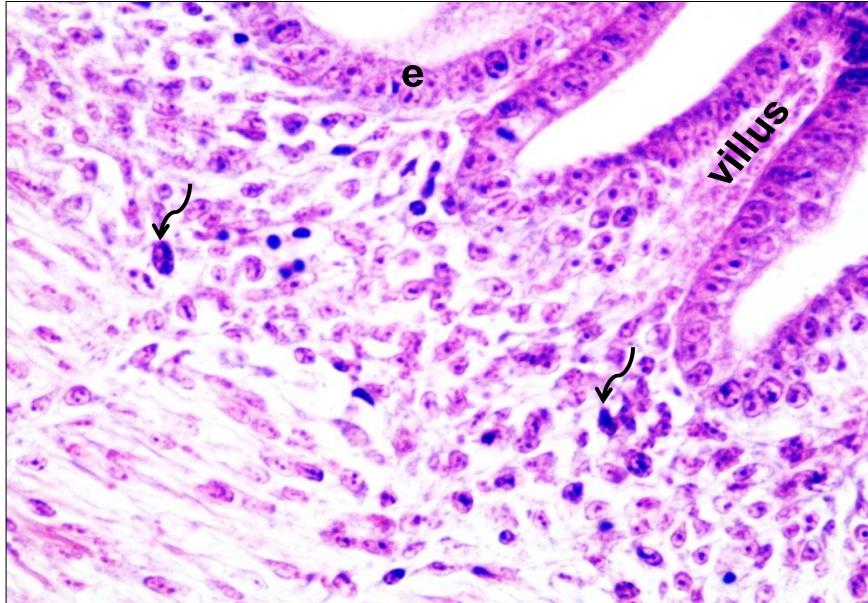
Kontrol ve distile kontrol gruplarına ait embriolarından alınan barsak kesitlerinde mast hücreleri gözlenmiştir. Gözlenebilen pek çok mast hücrelerinin sıkı paketlenmiş granüllere sahip olduğu ve degranülasyon göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4. 29, 30).



Şekil 4.28. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsağının genel görünümü. Lümen (L), villus (v), lamina propria (Lp), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts) . A-B: Hematoksilen-Eosin, A: 40X, B: 40X, C-D: Gomori trikrom, C: 20X, D:40X



Şekil 4.29. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak dokusunda mukozal mast (↘). Metilen mavisi, 80X



Şekil 4.30. Kontrol grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak dokusu mukozal mast (↘). Epitel (e). Modifiye giemsa, 80X

4.2.2. Deney grubu

Sunset yellowa 6 saat maruz kalan gruba ait embriyoların barsak dokusunda mast hücrelerinin sayıca artış gösterdiği belirlenmiştir. Pek çok mast hücresi sıkı paketlenmiş granüller içermektedir (Şekil 4.31-33). Bazılarının ise kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.34-38, Çizelge 4.2).

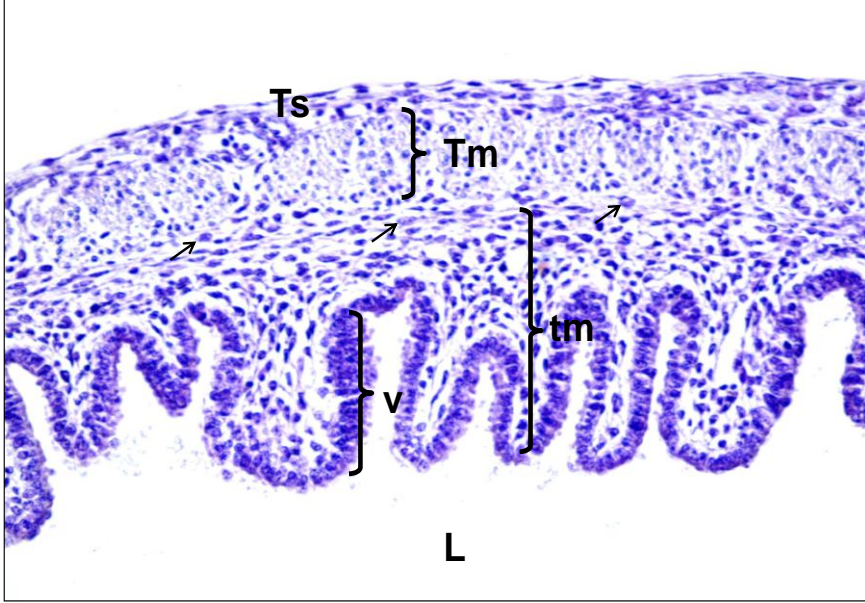
Sunset yellowa 12 saat maruz kalan barsak dokusuna ait örneklerin çoğu mukozal mast hücresinde (Şekil 4.42) kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gözlenmiştir (Şekil 4.39- 41, 43, 46, Çizelge 4.2). Sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücrelerine daha az rastlanmıştır (Şekil 4.44, Çizelge 4.2).

Sunset yellowa 24 saat maruz kalan grubun mukozal mast hücrelerinde (Şekil 4.45,47) genellikle ileri düzeyde degranülasyon tespit edilmiştir. (Şekil 4.46, 50, Çizelge 4.2). Ayrıca bu grupta ileri degranüle mast hücrelerine sıkı paketlenmiş granüle ve kısmi degranülasyona sahip mast hücrelerinden daha çok rastlanmıştır (Şekil 4.48, 49, 51, Çizelge 4.2)

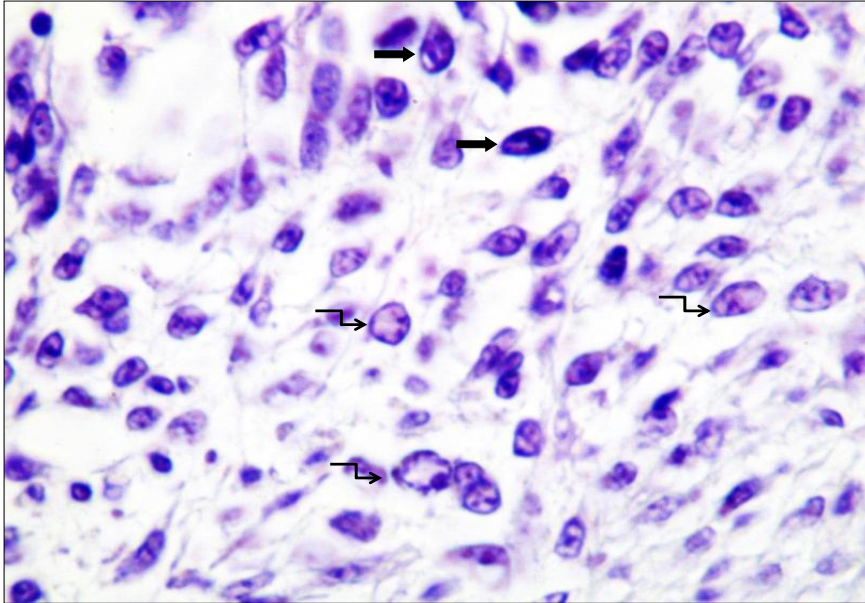
Çizelge 4.2. Mukozal mast hücrelerinin süreye bağlı degranülasyon yoğunluğu.

(+: daha az, ++: az ,+++ : orta,++++: çok,+++++: çok fazla).

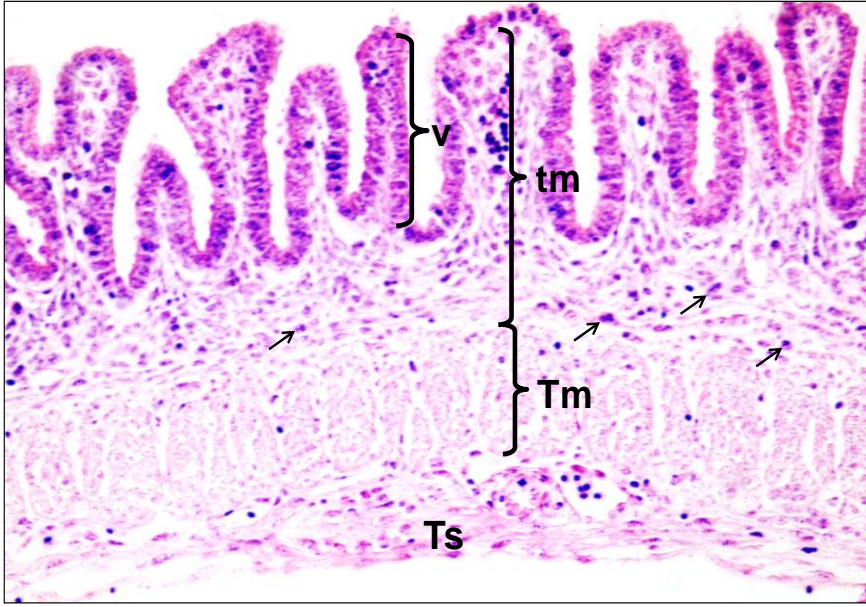
	6 saat	12 saat	24 saat
Sıkı paketlenmiş granül içeren mast hücresi	+++	+	+
Kısmi düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi	++++	++++	++++
İleri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücresi	+++	++++	++++



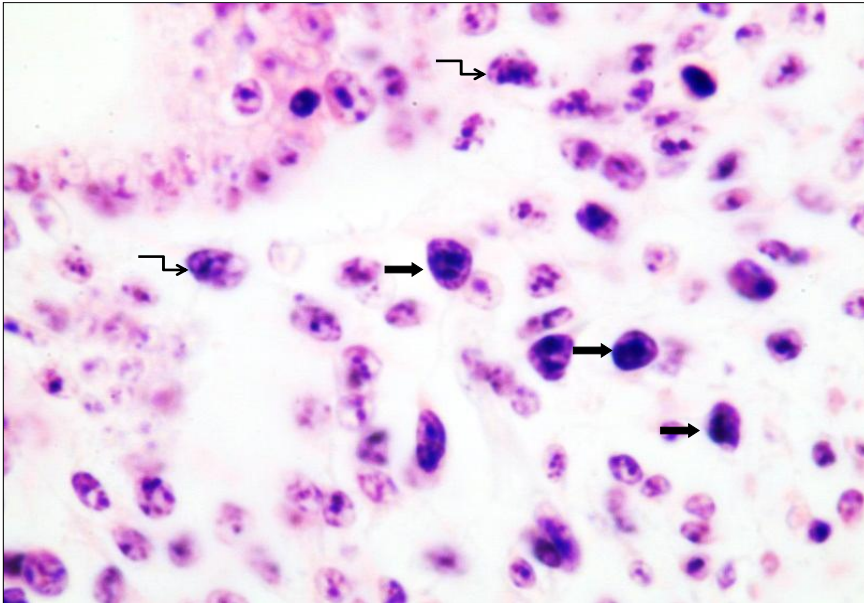
Şekil 4.31. 15 günlük 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti, Lümen (L), villus (v), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts). Metilen mavisi, 40X



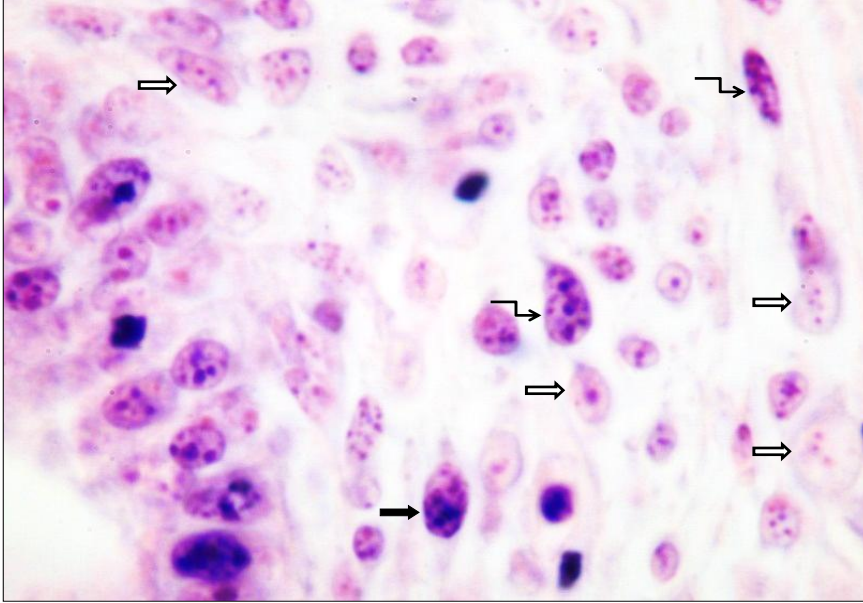
Şekil 4.32. SY' un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş granül içeren (→) ve kısmi degranülasyon gösteren (↪) çok sayıda mast hücresi. Metilen mavisi, 100X



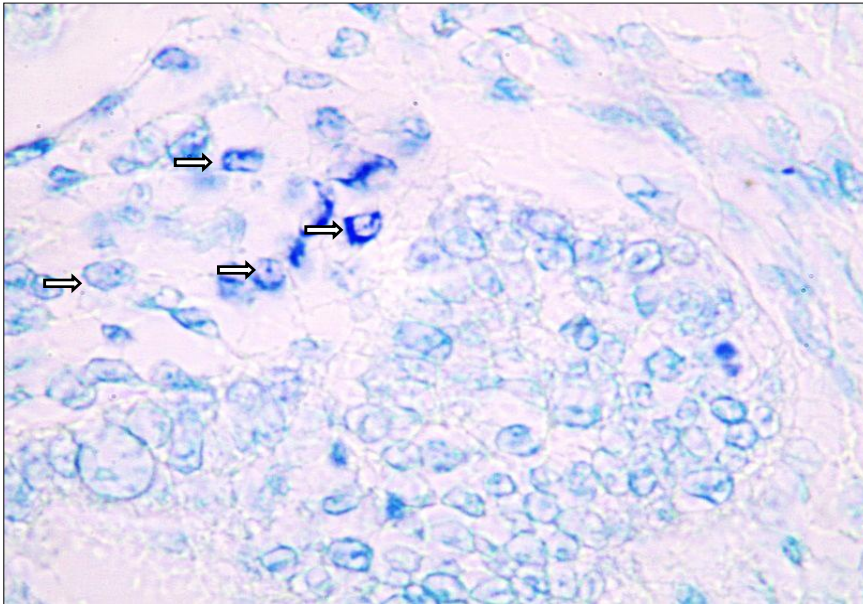
Şekil 4.33. 6 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti. Villus (v), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts). Modifiye giemsa, 40X



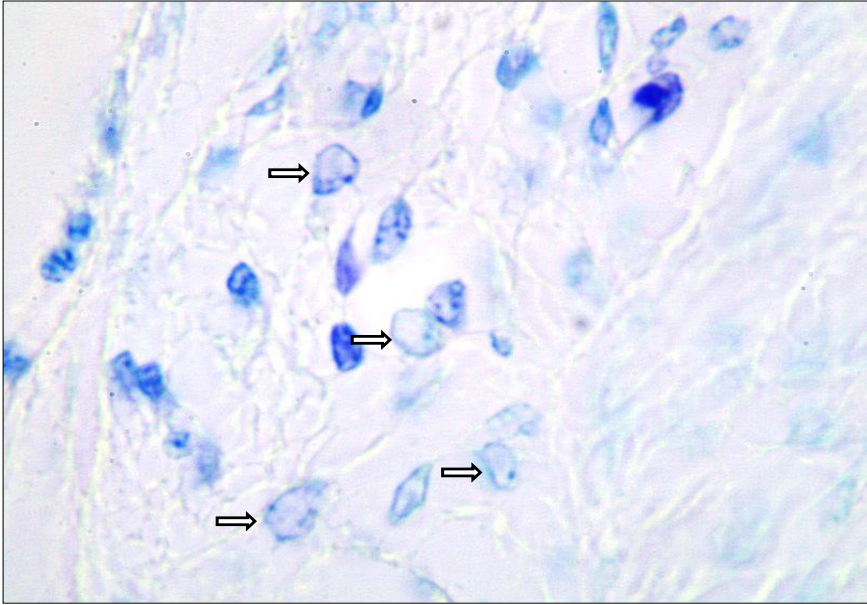
Şekil 4.34. SY' un enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş (→) ve kısmi degranülasyon gösteren (↪) mast hücresi. Modifiye giemsa, 100X



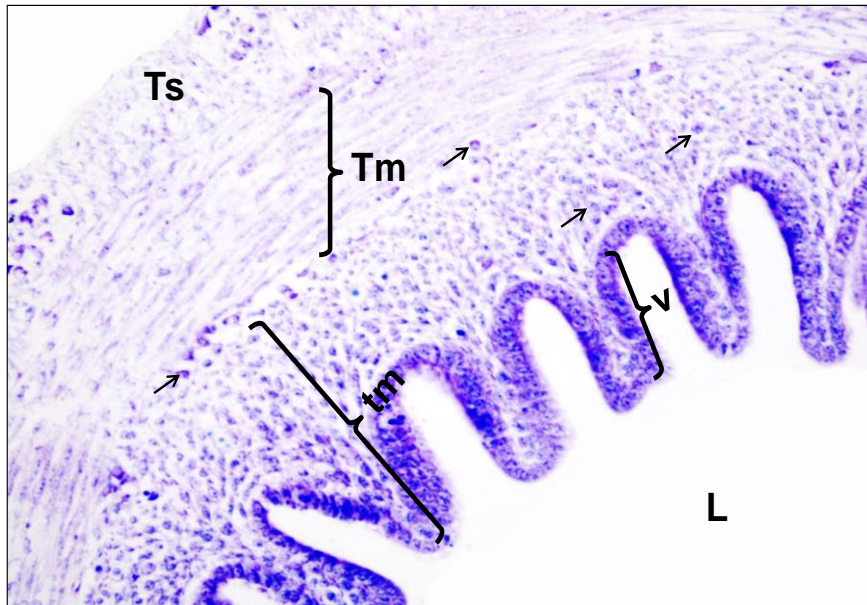
Şekil 4.35. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra sıkı paketlenmiş (→), kısmi degranülasyon gösteren (↪) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mukozal mast hücresi. Modifiye giemsa, 160X



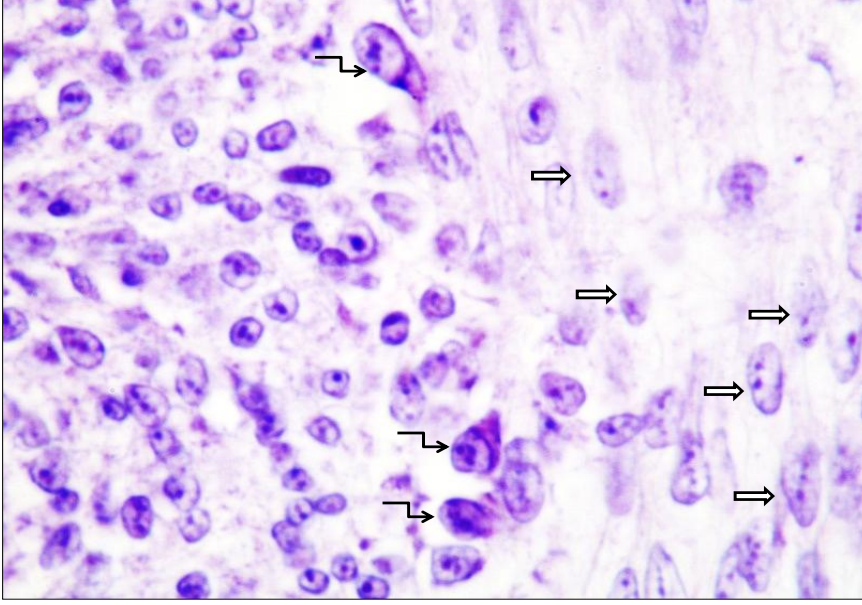
Şekil 4.36. Sunset yellowun enjeksiyonundan 6 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi (⇨). Toluidin mavisi, 100X



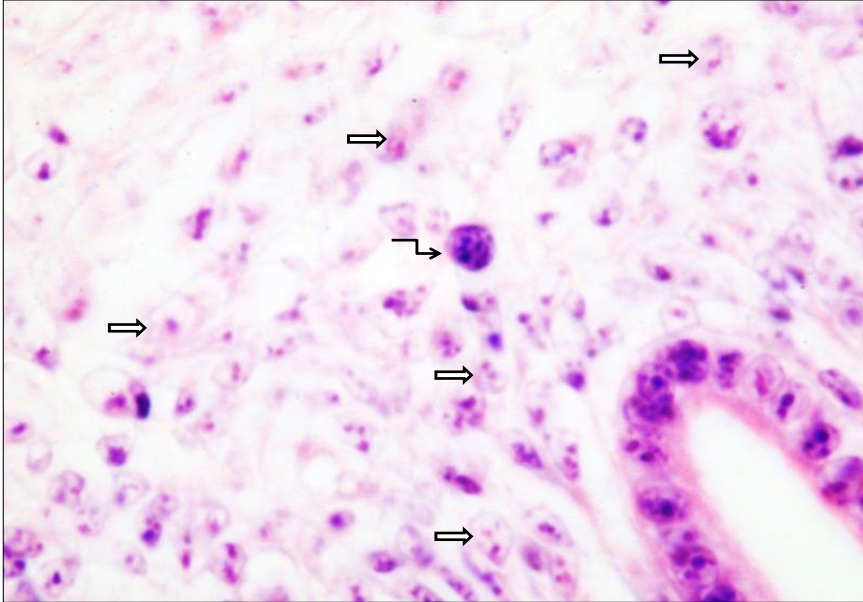
Şekil 4.37. SY' un enjeksiyonundan 6 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi (⇨). Toluidin mavisi, 160X



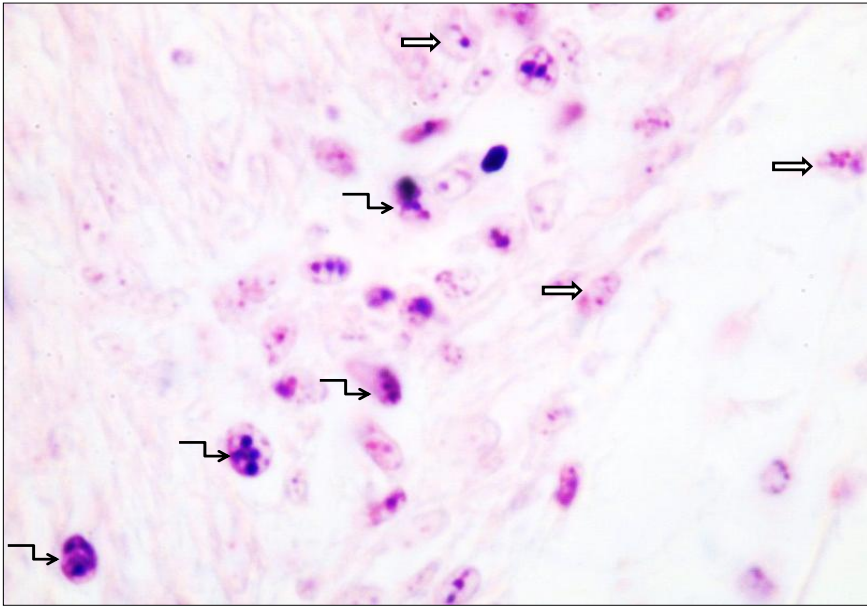
Şekil 4.38. 15 günlük 12 saatlik deney grubuna ait tavuk embriyosu barsak kesiti. Lümen (L), villus (v), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts). Metilen mavisi, 40X



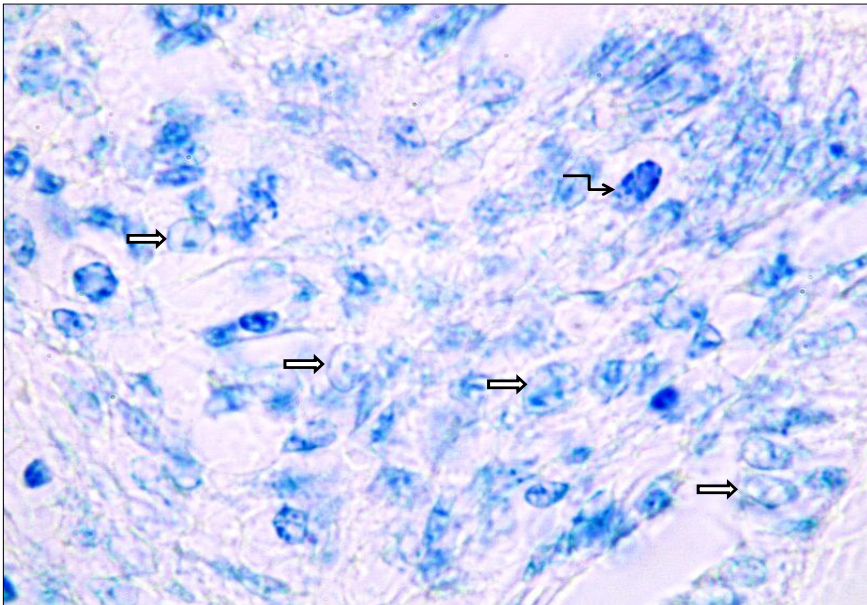
Şekil 4.39. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi (⇨) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi. Metilen mavisi, 100X



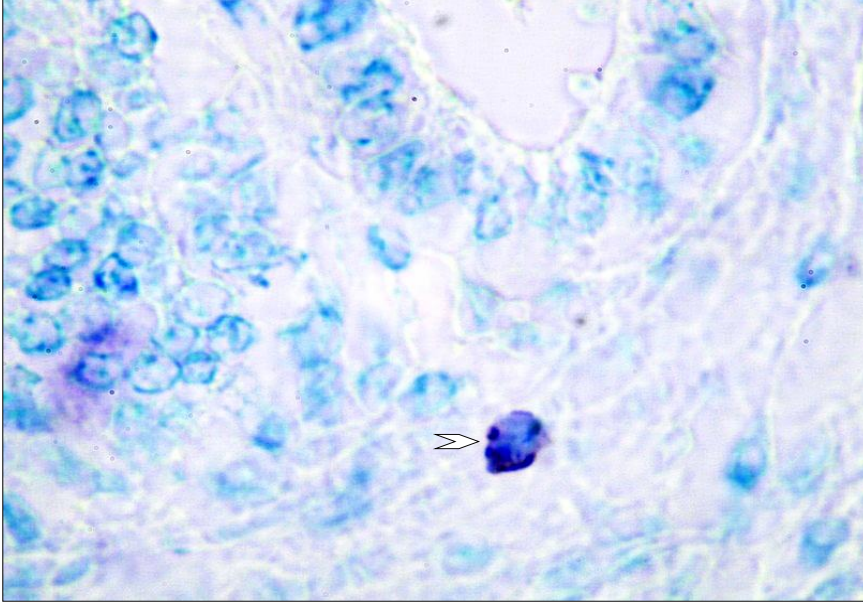
Şekil 4.40. SY' un enjeksiyonundan 12 saat sonra kısmi (⇨) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücreleri görülmektedir. Modifiye giemsa, 100X



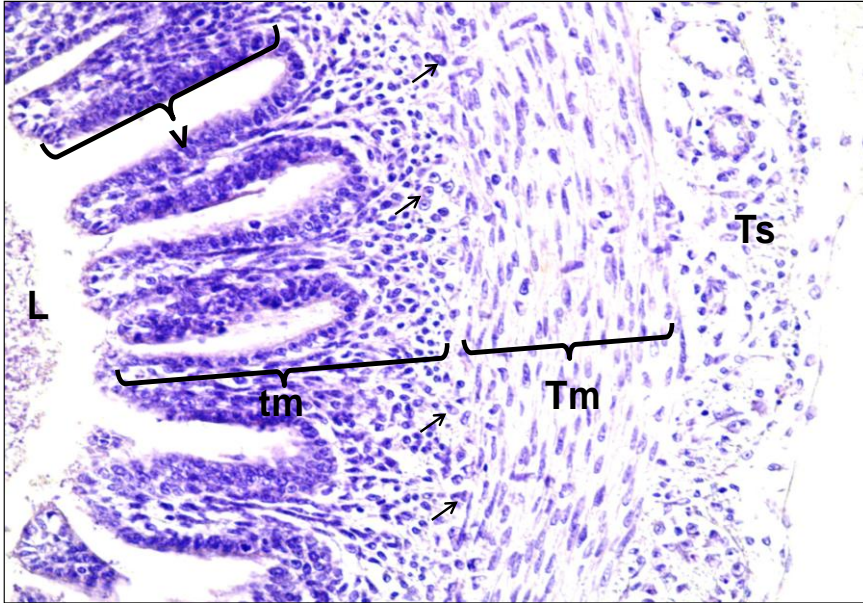
Şekil 4.41. Enjeksiyondan 12 saat sonra kısmi degranülasyon (└┐) ve ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mukozal mast hücreleri. Modifiye giemsa, 100X



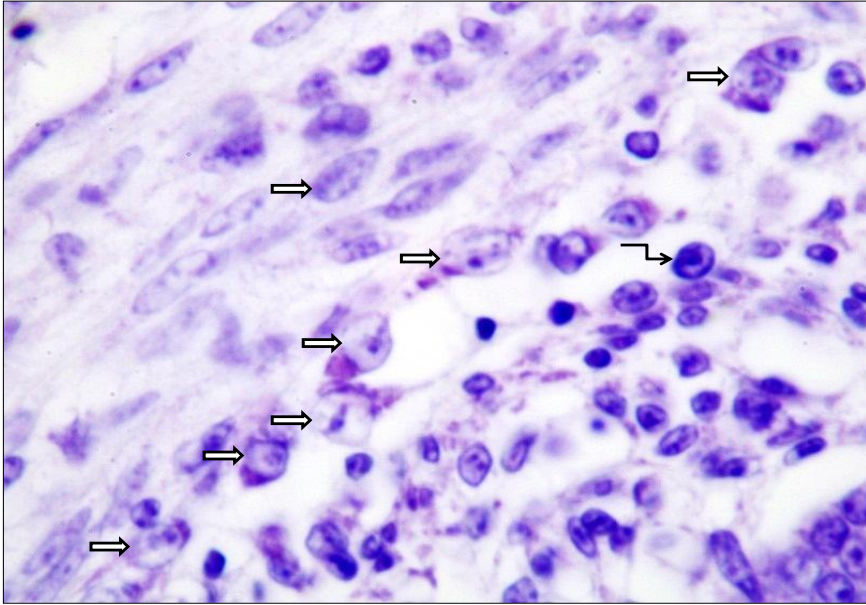
Şekil 4.42. SY'un enjeksiyonundan 12 saat sonra ileri (⇨) düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi izlenmektedir. Kısmi degranüle mast hücresi (└┐). Toluidin mavisi, 160X



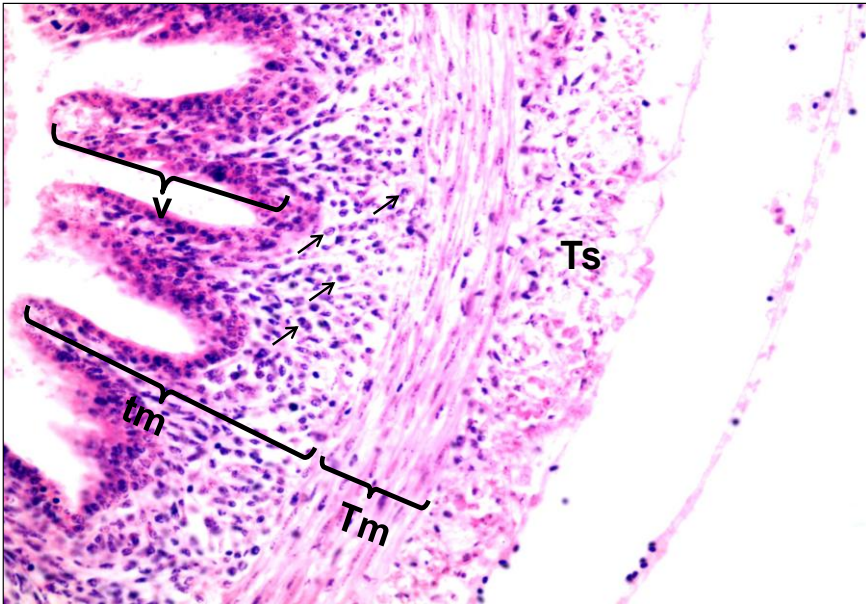
Şekil 4.43. Enjeksiyondan 12 saat sonra birkaç iri metakromatik granül içeren mukozal mast hücresi (≧).Toluidin mavisi, 200X



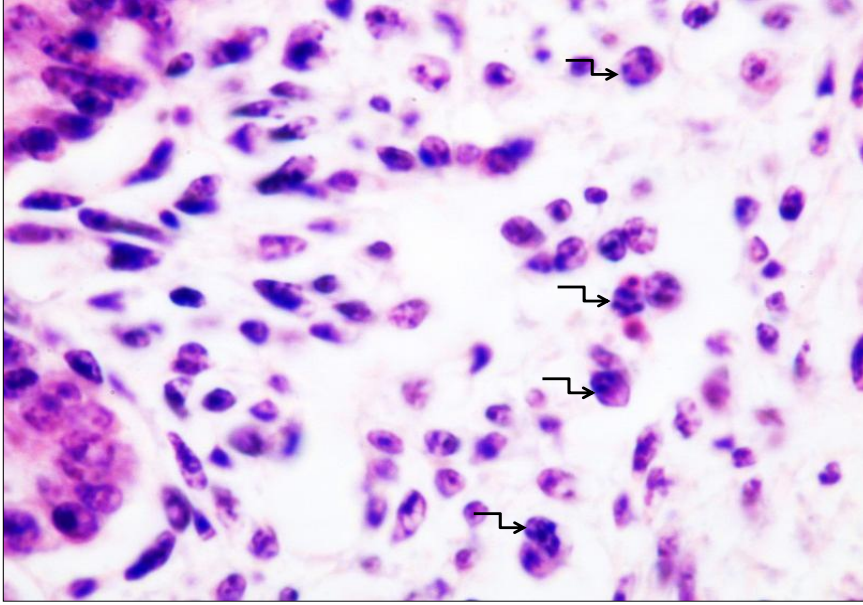
Şekil 4.44. 24 saatlik deney grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak kesiti. Lümen (L), villus (v), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts). Metilen mavisi, 40X



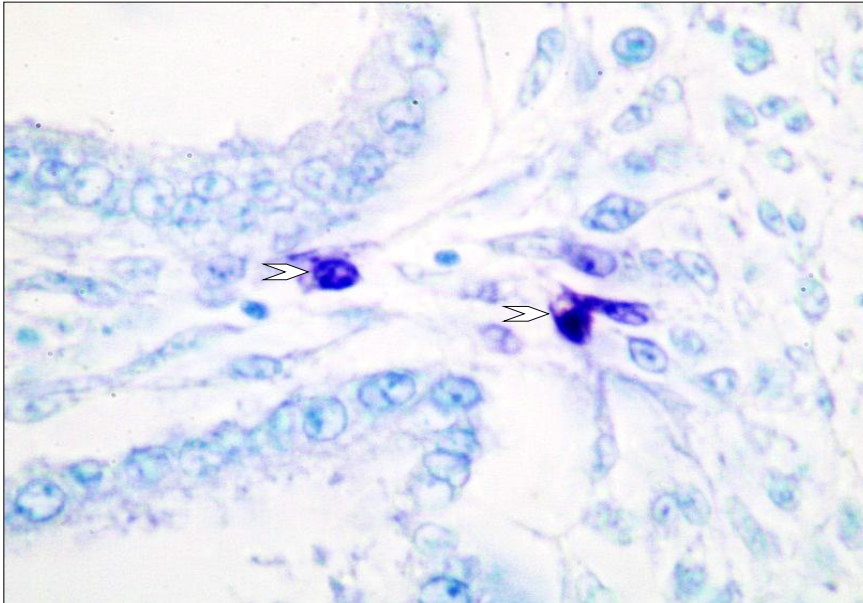
Şekil 4.45. SY' un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi (⇨) . Kısmi degranüle mast hücresi (⇨). Metilen mavisi, 160X



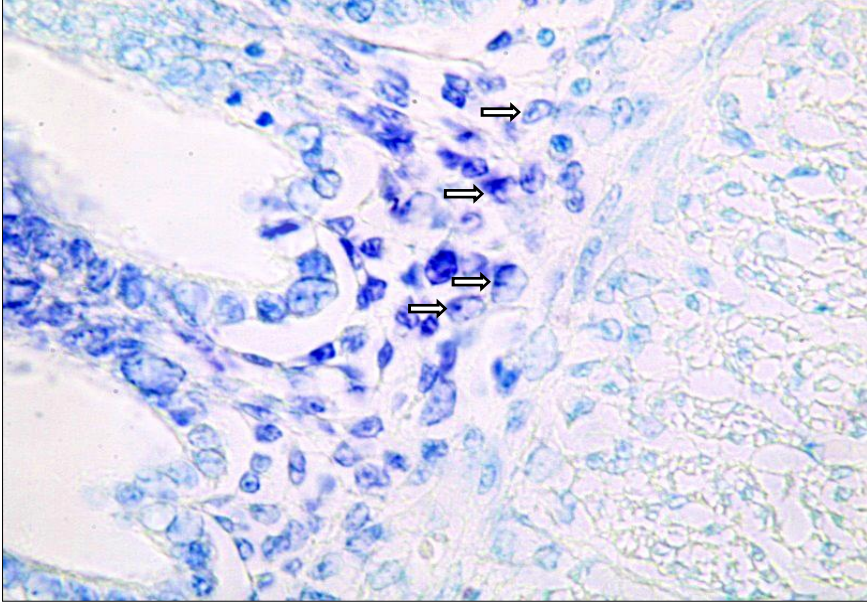
Şekil 4.46. 24 saatlik deney grubuna ait 15 günlük tavuk embriyosu barsak kesiti. Villus (v), tunika mukoza (tm), tunika muskularis (Tm), tunika seroza (Ts). Modifiye giemsa, 40X



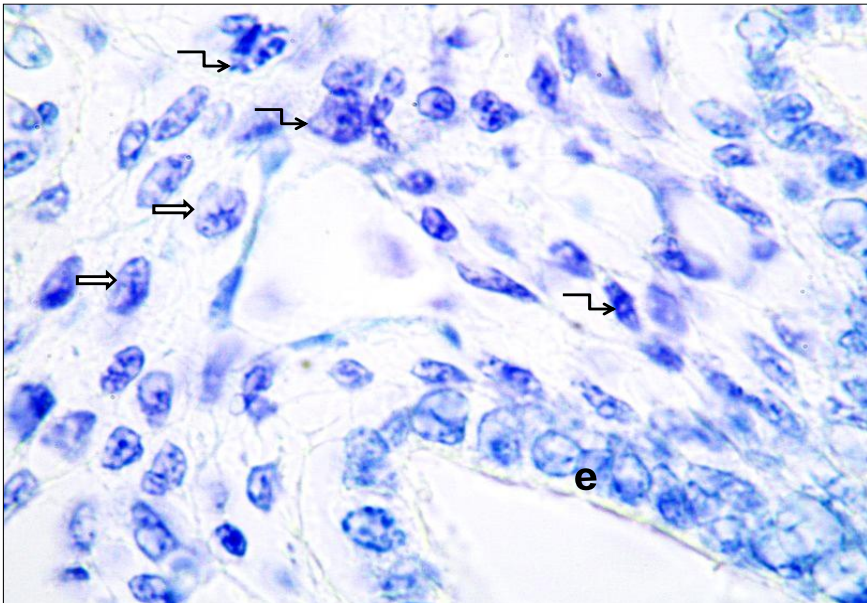
Şekil 4.47. SY' un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi degranülasyon gösteren (\rightarrow) çok sayıda mast hücresi görülmektedir. Modifiye giemsa, 100X



Şekil 4.48. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra metakromatik ve sıkı paketlenmiş granüllere sahip mast hücreleri (\Rightarrow). Thionin, 160X



Şekil 4.49. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon gösteren çok sayıda mast hücresi (⇨). Toluidin mavisi,100X



Şekil 4.50. SY'un enjeksiyonundan 24 saat sonra kısmi (⇨) ve ileri (⇨) degranülasyon gösteren mast hücreleri izlenmektedir. Epitel (e). Toluidin mavisi, 160X

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda katkı maddelerinin gıda endüstrisinde kullanılması, gelişen teknolojilerin getirdiği değişik üretim tekniklerinden ve buna bağlı olarak tüketici beğenisinin çeşitlilik kazanmasından doğmuştur. Böylece, günümüzde uygulanan üretim teknikleri sayesinde gıda sektöründe verim artışı, kayıpların minimize edilmesi, ürün kalitesinin artırılması ve standardizasyonu, ürünlerin dayanma sürelerinin artırılması ve değişik formüllü yeni gıdaların üretimi gibi uygulamalar gerçekleştirilebilmiştir. Bu çalışmalarda güdülen bütün amaç tüketicinin iyi, sağlıklı ve en ekonomik biçimde beslenmesinin yanı sıra, tekniğin gereği kullanılan gıda katkı maddelerinden kaynaklanabilecek riskleri de önlemektir (Saldamlı, 1985).

Zararlı ve yabancı kimyasal maddelerin etkilerinin canlı organizmalarda incelenmesi çeşitli şekillerde olabilir. Bunlar arasında yaygın olarak kullanılan testler; genotoksisite ve embriyotoksisite testleridir. Zararlı kimyasal maddelerin etkilerini ortaya çıkarmak için birçok karakteristik değişken incelenmektedir. Bunlar arasında yaygın olanlardan biri histopatolojik çalışmalardır.

Embriyotoksisite çalışmalarında tavuk embriyoları sıklıkla kullanılmaktadır. Erken embriyonik dönemdeki kanatlı embriyoları kullanılarak alkolün (Barutçuoğlu vd 2001; Aydemir ve Gürcü, 2011), ağır metallerin (Kaya, 1995), mikotoksinlerin (Cilievici vd 1980; Vesely vd 1982, Prelusky vd.,1987, Vesely ve Vesela, 1991, Çelik vd., 2000, Henry ve Wyatt, 2001), insektisitlerin (Özparlak, 2006), fungusitlerin (Maci ve Arias, 1987), kotinin (Dalgıç, 2009), herbisitlerin (Ahmed vd., 1988, Varnagy vd., 2002) ve diğer bazı bileşiklerin etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Memelilerle yapılmış olan çalışmalardan elde edilen bulguların Tavuk Yumurtası Testi (Hen's Eggs Test) HET'den (Kemper ve Luepke, 1986) ve Tavuk Embriyo Toksisite Belirleme Testi (Chicken Embryo Toxicity Screening Test) CHEST'ten (Jelinek, 1977) elde edilen bulgularla büyük ölçüde örtüştüğü saptanmıştır. Bunun yanında kuş embriyoları üzerine yapılan deneysel çalışmaların, memeli embriyolarına göre bazı avantajları bulunmaktadır. Yumurta içindeki kuş embriyolarına kolaylıkla ulaşılabilen ve rahatlıkla mikro cerrahi işlemler uygulanabilmektedir (Rawdon ve Andrew, 1999).

Test edilecek maddenin genotoksik, embriyotoksik ya da teratojenik mi olduğunun araştırılmasında maddenin dozu ve özellikleri (doğal, yapay formu) kadar enjeksiyon zamanı da oldukça önem taşımaktadır. Gıda katkı maddeleri ve pestisitlerin teratojenik etkilerinin incelenmesinde kuluçka öncesi dönem, ilaçların teratojenik aktivitesini araştırmak için ise kuluçkanın üçüncü ve dördüncü günleri tercih edilmektedir. Gıda katkı maddelerinin teratojenik etkileri saptanması için kuluçka başlangıcında hava kamarasına veya yumurta sarısına enjeksiyon yapılması önerilmektedir (Özcan, 1992).

Çeşitli çalışmalarda enjekte edilecek solüsyon hacmi 20-100 µl/yumurta olarak önerilmiş ve kullanılmıştır (Çelik vd., 2000; Özparlak, 2006). Bu literatür bilgileri doğrultusunda, çalışmamızda yumurta sarısına enjeksiyon yöntemi tercih edilmiş ve 0,1 ml/yumurta solüsyon hacmi kullanılmıştır.

Embriyotoksisite çalışmalarında kullanılan yumurta sayısı farklılık göstermektedir. Jelinek vd., (1985) tavuk yumurtası ile yaptıkları çalışmalarda her grup için 6-10 yumurta kullanırken, Kemper ve Luepke (1986) ile Prelusky vd., (1987) sonuçların güvenilirliği açısından her grup için en az 20 yumurta kullanılmasını önermişlerdir. Çalışmamızda da daha güvenilir ve sağlıklı sonuçlar elde edebilmek amacı ile kontrol ve deney grupları 30'ar adet yumurtadan oluşturulmuştur.

Gıda maddelerinin üretimi sırasında kullanılan boyalar, istenilen kalitenin elde edilmesini sağlayarak tüketimi arttırdığı için gıda endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Gıdalarda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan katkı maddeleri alerjik bünyeli insanlarda ürtiker, astım, rhinitis, angioedema ve anafaktik şok gibi rahatsızlıklara sebep olduğundan ya da bunun gibi rahatsızlıkları arttırdığından dolayı (Juhlin vd., 1972; Ros vd., 1976; Settipane vd., 1976; Stenius vd., 1976; Farr vd., 1979) herhangi bir gıda katkı maddesinin gıdalarda kullanılabilmesi için bu maddelerin gıda ile ilgili yasalarda onaylanmış olmasına, belirlenen miktarların üzerinde kullanılmamasına dikkat edilmelidir (Tripathi vd., 2007).

Çeşitli gıda katkı maddelerinin erişkin dokulardaki etkileriyle ilgili çok sayıda çalışma yayınlanmış olmasına rağmen özellikle gelişim üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı sayıdadır. Farklı konsantrasyonlardaki gıda boyalarının *Drosophila melanogaster*' de yaşama yüzdesi üzerine etkisi (Sarıkaya vd., 2010), tartrazinin fare dermal mast hücrelerinde etkisi (Kalender, 2000) bu çalışmalar arasındadır. Gıda boyalarının toksikolojik etkileri (Güneşli, 2000), gıda katkı

maddelerinden sodyum benzoat'ın fareler üzerine olan ontogenetik etkisi (Kamal ve Lashin, 1998) gibi araştırmalar yapılmış olan bazı çalışmalara örnektir.

Gıda boyları ve koruyucuları ile yapılan araştırmalar genellikle klinik, biyokimyasal ve fizyolojik çalışmalardır. Rahatsızlığın ilk başlatıcısı olan mast hücrelerindeki yapısal değişikliklerden ziyade organizmanın genel reaksiyonunu ele alan bu çalışmalara göre, gıdalarda ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan katkı maddeleri insanlarda allerjik reaksiyonlara neden olmakta yada bu rahatsızlıkları arttırmaktadır (Chafee vd., 1967; Juhlin vd. 1972; Juhlin ve Michaelsson 1973; Doeglas, 1975). Gıda katkı maddelerinin bağışıklık mekanizmasına etki edip etmediğini belirleyebilmek için, allerjik reaksiyonlarda önemli işlevi olan mast hücreleri üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır (Trautlein ve Mann, 1978; Kreindler vd., 1980; Supramaniam ve Warner, 1986; Kalender, 2000). Ancak yaptığımız literatür taramalarında sunset yellowun embriyo dokularındaki etkilerini histolojik yönden ele alan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim alışmamızda portakal suyu, jel şekerlemeler, tahıl, pasta, tatlı, çerez, dondurma ve konserve balık gibi gıdalarda renklendirici olarak kullanılan sunset yellowun embriyonik deri ve barsak dokusu mast hücrelerinde degranülasyona etkileri histolojik yönden araştırılmıştır.

Dokulardaki mast hücrelerini ve mast hücrelerinde görülen degranülasyonu tespit etmek amacıyla Toluidin mavisi, Azur A, Thionin, Alcian mavisi-Safranin O boyları gibi çeşitli histolojik boylar yaygın olarak kullanılmaktadır. Toluidin mavisi ve Thionin boyları ile mast hücreleri içerdikleri proteoglikanlar nedeniyle metakromatik olarak mor menekşe rengine boyamaktadırlar (Bancroft ve Cook, 1994; Kalender, 2000). Yapmış olduğumuz çalışmada sunset yellowa karşı mast hücrelerinde meydana gelen reaksiyonu ortaya koyabilmek amacıyla Hematoksilen- Eosin (Mayer's), Gomori trikrom, Metilen mavisi, Modifiye Giemsa, Thionin ve Toluidin mavisi boyları uygulanmıştır. H-E ve Gomori trikrom boyasını kullanmaktaki amacımız, deri ve barsak dokularının genel histolojik yapısını göstermektir. Yapılan alışmalarda Hematoksilen-Eosin boyası kullanılmış fakat bu boyanın mast hücrelerini tespit edemediği görülmüştür (Dahm ve Latimer, 2001; Tharp, 2003). Nitekim bu boylarla boyanmış kontrol ve deney gruplarımıza ait doku kesitlerinde mast hücreleri ayırt edilememiştir. Mast hücrelerini ve bu hücrelerdeki degranülasyonu ortaya koymak amacı ile uygulama yaptığımız boylar arasından Modifiye giemsa ve Metilen mavisi ile mast hücrelerindeki granüller daha belirgin bir şekilde boyanmıştır.

Mast hücrelerinin orijinleri, yerleşim yerleri, kullanılan tespit solüsyonuna verilen cevap, taşıdığı farklılıklar, fonksiyonel kriterler ve hücrelerin morfolojik özellikleri gibi unsurlar göz önüne alındığında mukozal (MMC) ve bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) olarak iki temel mast hücresi tipi olduğu bilinmektedir (Karaca ve Yörük, 2005). Bu iki farklı tip mast hücrelerinin karşılaştırmasını yapabilmek amacıyla çalışmamızda CTMC' e örnek olarak deri, MMC' e örnek olarak barsak dokusu tercih edilmiştir.

Deri organizmanın dış etkenlere açık bir organıdır. Derinin bariyer görevinde mast hücrelerinin yabancı uyarılara karşı savunma görevi ile birlikte doğal ve kazanılmış bağışıklıkta rol aldığı bildirilmiştir (Weller vd., 2006; Metz vd., 2008). Deride mast hücrelerinin yerleşimi türler arasında genel olarak benzerlik göstermektedir. Aştı vd., (2005) köpek, Roosje vd ., (2004) kedi, Yörük ve Özcan (1996) koyun derisinde mast hücrelerinin dermisin yüzeysel katmanında kan damarı, kıl follikülü, yağ ve ter bezlerinin çevresinde yerleştiğini bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da deri dokusundaki dermal mast hücrelerinin düzensiz sıkı bağ dokusu (dermis) içerisinde genellikle kıl follikülü ve kan damarı çevrelerine yerleşim gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 4.4, 8, 13, 16). Barsaktaki mast hücreleri de mukozal gevşek bağ dokusu içerisinde kan damarlarına yakın yerleşim göstermektedir. Mast hücrelerinin deride bu bölgelerde bulunmalarının nedeni, savunma mekanizmalarının dışında, kan akımında düzenleyici rol oynadığı ve damar geçirgenliğini artırarak ya da hücreler arası maddenin sıvı durumunu ayarlayarak epidermise ait hücrelerin ve lokalize oldukları bölgelerde bulunan diğer hücrelerin beslenmesini kolaylaştırmak olabilir. Erginlerde olduğu gibi fetal deride de mast hücrelerinin perivasküler yerleşimi dolaşım düzenlenmesi ile yakın ilişkisini göstermektedir. Gelişmekte olan folliküllerin çevresinde bulunması ise gerek bağ dokunun yapılanmasında gerekse çoğalan follikül hücrelerinin beslenmesinde rolü olduğunu düşündürmektedir.

Gastrointestinal sistemde, mukoza epitelinin içerisinde mast hücrelerinin nadir olarak bulunduğu, ancak mukozal alerji ve parazit istilaları sonucunda mast hücrelerinin veya prekürsörlerinin epitel içerisine göç edebildikleri belirtilmiştir (Enerback, 1987). Mast hücrelerinin en önemli fonksiyonlarından birinin bağışıklık sistemi hücrelerini enflamasyon ve enfeksiyon alanına toplaması olduğu bilinmektedir (Enerback vd., 1989; Erpek, 2004). Mast hücreleri çeşitli kimyasal uyarılarla karşılaştıkları zaman granüllerini hücreler arası alanlara boşaltmaktadırlar. Mast hücreleri enfeksiyöz ajanı tanır ve direk olarak

mikroorganizmalara bağlanır, degranüle olan mast hücresi patojenin türüne göre depo edilen ya da uyarı sonrası sentezlenen mediatörlerini salar (Abraham ve Malaviya, 1997).

Aksoy ve Çınar (2008) yaptıkları çalışmada prenatal ve postnatal dönemlerde *Gallus gallus domestica*'nın glandular midesindeki mast hücrelerinin dağılımını, yoğunluğunu ve histokimyasal karakterini araştırmak için; civcivin bezsel midesinden doku örnekleri almışlardır. Kesitlere uygulanan thionin ve AB/SO kombine boyama yöntemleri sonucunda, mast hücresinin çoğunlukla lamina propria'da yerleşim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Az sayıda mast hücrenin ise submukoza'da bileşik bezlerin arasında, seroza'da ve tunika muskularis'in kas demetleri arasındaki bağ doku içerisinde yerleşim gösterdiğini belirlemişlerdir. Buna ek olarak, lamina propria'daki mast hücrelerin, diğer bölgelerde yerleşim gösteren mast hücrelerine göre daha küçük ve değişken şekle sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bezel mide mukozasında, mast hücrelerine ilk kez inkübasyonun 12. gününde sadece lamina propria içersinde, 14. gününde submukoza, seroza ve tunika muskularis'in bağ dokusu içersinde de dağılım gösterdiğini gözlemişlerdir. Inkübasyonun 18. gününe kadar lamina propria, submukoza, seroza ve tunika muskularis'in bağ dokusu içersinde mast hücrelerinin yoğunluğunda önemli artış tespit etmişler ve inkübasyonun 19, 20 ve 21. günlerinde mast hücre popülasyonunun çok yoğun olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca mast hücrelerinin kemik iliğinde yapılıp periferik dokulara geçtiğini, bu dokularda olgunluğa ulaşmaları için belirli bir süre gerektiğini ifade etmişler ve mast hücrelerinin çoğunun organ epitelinin hemen altındaki bağ doku tabakasında (lamina propria) yerleşim göstermelerinin nedeninin bu hücrelerin organizmanın savunmasında rol oynadıklarının bir göstergesi olabileceğine karar vermişlerdir.

Çalışmamızda kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında; kontrol gruplarında mast hücrelerine az rastlanmakta iken deney gruplarında ise sayıca artış gözlenmiştir. Degranülasyon öncesi granülize olmuş bu mast hücre yoğunluğu, mast hücrelerinin sunset yellowu antijen olarak algıladığını ve aktivite göstererek histamin mediatörü yardımıyla immünolojik bir reaksiyon başlattığını düşündürmektedir. Kontrol ve distile kontrol gruplarına ait embriyolardan alınan deri ve barsak kesitlerinde mast hücre morfolojisinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Gözlenebilen pek çok mast hücresinin sıkı paketlenmiş granüllere sahip olduğu ve degranülasyon göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4.2,28). Sunset yellowa 6 saat boyunca maruz kalan deney gruplarında; pek çok mast

hücrelerinin sayıca artış gösterdiği ve sıkı paketlenmiş olup yoğun boyanmış granüller içerdiği gözlenmiştir (Şekil 4. 6, 7, 32). Bu grupta kısmi ve ileri düzeyde degranüle mast hücrelerine daha az rastlanmıştır. Sunset yellowa 12 saat maruz kalan deney gruplarına ait deri dokusu örneklerinde çok sayıda dermal, barsak dokusuna ait örneklerde ise mukozal mast hücrelerine rastlanmıştır. Çoğu mast hücrelerinde kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gerçekleştiği belirgin olarak gözlenmiştir (Şekil 4.17, 39, 41). Kısmi degranüle mast hücreleri granüllerinin çözölmeye başladığı, gevşek ve kaba granüller oluşturduğu görülmektedir. İleri degranülasyon gösteren mast hücrelerinin ise daha az granül içerdiklerinden dolayı daha aydınlık sitoplazmaya sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.18, 21). Sunset yellowa 24 saat maruz kalan deney gruplarındaki dokularda ise ileri düzeyde degranülasyon gösteren mast hücrelerinin sayıca fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22, 24, 46).

MMC' lerinin boyutlarının CTMC' lere göre daha küçük olduğu belirtilmektedir. MMC' lerinin heparin içermediği ve boyutlarının daha küçük olduğu; CTMC' lerin ise temel olarak heparin içerdikleri ve daha büyük oldukları söylenmektedir (Pearce, 1986; Kirpatrick vd., 1988; Marshall ve Bienenstock, 1990; Ribatti vd., 1992). Tekeli (2008) yaptığı çalışmada heparin ve histamini ayrı olarak tespit edebilen Alcian mavisi-Safranin O boyaları kullanarak deride heparin, mide fundusta ise histamin mediatörlerini yoğun olarak gözlediğini ve boyut olarak deride bulunan CTMC' lerin midedeki MMC' lere göre daha büyük olduklarını bildirmiştir. Çalışmamızda da deri ve barsakta incelenen mast hücrelerinin boyut olarak birbirinden farklı oldukları tespit edilmiştir. Ancak yukarıda sözü edilen çalışmaların aksine, bizim çalışmamızda boyut bakımından karşılaştırıldıklarında deride bulunan CTMC' lerin, barsaktaki MMC' lerine nazaran daha küçük boyutta oldukları görülmüştür (Şekil 4.5, 14, 34, 40, 41). Bu farklılık, incelediğimiz dokuların gelişimini henüz tamamlamamış embriyonik doku olmasından kaynaklanabilir.

Yaptığımız incelemeler sonucunda deri ve barsakta bulunan mast hücrelerinin morfolojik olarak da birbirlerinden farklı oldukları dikkati çekmiştir. Deride mekik şeklindeyken, barsakta daha oval/yuvarlak şekilde oldukları dikkati çekmiştir (Şekil 4.7, 14, 17, 36, 40, 41). Bu morfolojik farklılık, derideki mast hücrelerinin genellikle kas dokuya yakın ve sıkı bağ dokuda lokalize olmaları sonucu ortaya çıkmış olabileceğini akla getirmektedir.

Kalender'in (2000) yapmış olduğu çalışmada; dermal mast hücreleri üzerindeki degranülasyon etkisini gözleyebilmek amacıyla enjeksiyon yolu ile fareye gıda boyası tartrazin verilmiştir. Tartrazin deri altına enjeksiyonundan 1, 6, 12 ve 24 saat sonra degranülasyon etkisi elektron mikroskobu düzeyinde incelenmiştir. Tartrazin enjeksiyonundan 6 saat sonra oldukça fazla iç degranülasyon gözlediğini belirtmiştir. Enjeksiyondan 12 saat sonra mast hücrelerinde kısmi degranülasyon meydana geldiği halde 24 saat sonra belirgin bir degranülasyon tespit edilmediği ve mast hücrelerinin normal görünümüne benzer bir yapı kazandığı görülmüştür. Yapılan bu çalışma neticesinde en fazla degranülasyonun tartrazin deney hayvanlarına enjeksiyonundan 6 saat sonra olduğu söylenmiştir.

Bizim çalışmamızda da sunset yellowa 6 saat maruz bırakılan gruba ait embriyoların deri örneklerindeki epidermis altı bağ dokusunda mast hücrelerinin sayıca artış gösterdiği (Şekil 4.4-6), pek çok mast hücrelerinin sıkı paketlenmiş ve yoğun boyanmış granüller içerdiği dikkati çekmiştir (Şekil 4.6-12). SY'a 12 saat maruz kalan gruba ait doku örneklerinin çoğu mast hücrelerinde kısmi ve ileri düzeyde degranülasyon gözlenmiştir (Şekil 4.14-19). Kısmi degranüle mast hücreleri granüllerinin çözülmeye başladığı, gevşek ve kaba granüller oluşturduğu saptanmıştır (Şekil 4.9-20). İleri degranülasyon gösteren mast hücrelerinin ise daha az granül içerdiklerinden dolayı daha aydınlık sitoplazmaya sahip oldukları dikkati çekmiştir (Şekil 4.18-19, 21). SY'a 24 saat maruz kalan grupta ise çok sayıda gözlenen dermal mast hücrelerinin ileri düzeyde degranülasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.22-27). Barsak dokusu mast hücreleri incelendiğinde de SY enjeksiyonundan 6 saat sonra kısmi, 12 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon tespit edilmiştir. Enjeksiyondan 24 saat sonra ileri düzeyde degranülasyon devam etmektedir ve sıkı paketlenmiş granüller içeren mast hücre sayısı oldukça azdır. Bu bulgularımız Kalender (2000)'in çalışması ile benzerlik göstermekle birlikte enjeksiyonda 24 saat sonra ileri degranülasyonun görülmesi bakımından farklılık bulunmaktadır. Bu farklılık kullanılan maddeden dolayı olabileceği gibi deney hayvanına ve dokuya bağlı olabilir.

Sonuç olarak; sunset yellowun mast hücrelerinde bulunan mediatörleri harekete geçirdiği, bunun sonucu olarak mast hücrelerinde degranülasyona neden olduğu ve sunset yellowa maruz bırakılma süresine bağlı olarak degranülasyon derecesinde farklılık olduğu belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak gıda katkı maddeleri ile yapılan çeşitli canlılarda genotoksik, embriyotoksik ve histopatolojik etkilerini ele alan çalışmaların bu maddeler kullanılmadan önce gözden geçirilip, incelenme yapılması gerektiğini söyleyebiliriz. Bu ve benzeri çalışmalardan elde edilecek analizlere göre söz konusu maddenin gıda katkı maddesi olarak kullanılıp kullanılmayacağına, hangi dozda, ne şekilde alınmasının uygun olacağına karar verilmelidir.

Çalışmamızda embriyonik gelişimin 15. gününde uygulanan sunset yellowdan embriyoların olumsuz etkilendiği söylenebilir. Yapılan çalışmaya dayanarak, katkı maddesi olarak kullanılan ve allerjik reaksiyonlara yol açtığı ileri sürülen sunset yellowun, tavuk embriyolarında allerjik reaksiyonlarda rol oynayan mast hücrelerinde degranülasyona sebep olduğu tespit edilmiştir. Kesin sonuca ulaşılabilmesi için farklı araştırma yöntemleri ile daha kapsamlı bir şekilde sunset yellowun etkilerinin araştırılması, elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak gıdalarda renk maddesi olarak kullanımının kontrol altına alınması, yüksek dozlarda uzun süreli tüketilmemesi, özellikle gebelik döneminde kullanılmaması hatta besinlere ilave edilmesinin yasaklanması gerektiği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- Abraham, S.N., Malaviya, R., 1997. Mast cells in infection and immunity infection and immunity. 65:3501–3508
- Ahmed, A.A., Soliman, M.M., Khelifa, B.A.A., El-Sadek, S.E., Nounou, A.H., 1988. Embryocidal and teratogenic effects of paraquat on chick embryos and white rats. **Arch. Exper. Vet. Med.** 42: 848-853.
- Ahmed, S.S., Das, I.N., Biswal, G., 1968. Comparative histological study of the skin of fowl and duck. **The Indian Veterinary Journal.** 45: 725-732.
- Akay, M.T., 2001. Bağ Doku, Genel Histoloji, Palme Yayıncılık, Ankara, 78-115.
- Aktas, A., Dağlıoğlu, S., 2009. Examination of structural features of skin in sheep breeds fetuses with histological methods. **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.**, 15: 391-396.
- Aksoy, A., ınar, K., 2008, Prenatal ve postnatal dönemlerde *Gallus gallus domestica*'nın bezsel midesinde mast hücrelerinin ontogenisi, dağılımı ve histokimyasal karakterleri. **Y.Y.. Veteriner Fak. Dergisi**, 25-29.
- Altınığne, N., 1999. Bazı Şekerlemeler ve yapay toz içeceklerdeki diazo boyar madde olan sunset yellow FCF ile tartrazin miktar tayinlerinin voltametrik ve spektrofotometrik metod karŐılaŐtırması, **Gıda**, 24(2): 139-143.
- Altuğ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, s. 286, İzmir.
- Anderson, A.E., Nafstad, P.H.J., 1968. An electron microscopic investigation of the sensory organs in the hard palate region of the hen (*Gallus domesticus*). **Z. Zellforsch.** 91: 391-401.
- ANON, 2002a. Tarım ve KyifŐleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, (No:2002/55), Resmi Gazete, Erişim: www.food-info.net
- ANON, 2002b. Katkı maddeleri ve neden olan rahatsızlıklar. Erişim: <http://www.cosmoturk.com/detay.asp?ID=3788&Cat=ANNE>
- Apaydın, R., Bahadır, S., 1999. Dermatolojide Mast Hücreleri. **T Klin Dermatoloji**, 9:167-174.
- AŞtı, R.N., Kurtdede, A., Kurtdede, N., Ergün, E., Güzel, M., 2005. Mast cells in the dog skin: distribution, density, heterogeneity and influence of fixation techniques. **Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.** 52: 7-12.
- Atkins, F.M., Friedmen, M.M., Subra Rao, P.V., Metcalfe, D.D., 1985. Intreaction between mast cells, fibroblast and connective tissue components. **Int. Arch. Allergy appl. Imm.**, 77: 96-102.

- Aydemir, I., Gürcü, B., 2011. Histochemical determination of glycosaminoglycans (GAGs) in normal and ethanol-induced chick embryo during neural tube development. **African Journal of Biotechnology**, 10(53):10817-10824
- Baban, N., 1980. Protein Biyokimyası, Nazım Terzioğlu Matematik Araştırma Enstitüsü Baskı Atölyesi, İstanbul, 123-127.
- Bancroft, J.D., Stevens, A., 1990. Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York Third Ed. 167-638.
- Bancroft, J.D., Cook, H.C., 1994. Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone, pp. 457, London.
- Banks, W.J., 1968. Applied Veterinary Histology. 2nd. Ed Waverly Press Inc. Baltimore, London, Los Angeles, Sydney.
- Barutçuoğlu, M., Selçuki M., Vatansever S., Umur A. Ş., İnan, S., 2001. Erken dönem tavuk embriyonal tüp gelişiminde etanolün etkisi. **Türk Nöroşirüliji Dergisi** 11: 32 – 36.
- Becker, S.R.B., Shibley, I.A., 1998. Teratogenicity of ethanol in different chicken strains. **Alcohol Alcoholism**, 33 (5): 457-464.
- Befus, D., Goodarce, R., Dyck, N., Bienenstock, J., 1985. Mast cell heterogeneity in man. I. Histologic Studies of the Intestine, Inc. Arch. **Allergy appl. Imm.** 76. 232-236.
- Befus, A.D., Bienenstock, J., Denburg, J. A., 1986. Mast Cell Differentiation and Heterogeneity. Raven Pres., New York.
- Bilge, S., Bingöl, G., 1976. Bazı antibiyotiklerin ve sülfamitlerin tavuk embriyonu myoglobininin fizikokimyasal özellikleri Üzerine olan etkilerini İnceleme. **Mec. J. Fac. Pharm** 6:16-18.
- Brownsell, V.L., Griffith, C.J., Jones, E., 1992. Applied Science for Studies, Second Ed., 127, Longman Scientific & Technical, UK.
- Brunström, B., Broman, D., Naf, C., 1990. Embryotoxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in three domestic avian species, and of PAHs and coplanar Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in the common eider. **Environ. Pollut.** 67: 133-143.
- Canbilen, A., Önal, A., Cüce, H., Keklikoğlu, N., 1999. Değişik tespit solüsyonlarının insan kolon mast hücrelerine etkileri. **Genel Tıp Dergisi**, 9(1):15-8.
- Chafee, F.H., Settipane, G.A., 1967. Asthma caused by FD&C approved dyes. **J. Allergy**. 40: 65–72.
- Chen, W., Alley, M.R., Manktelow, B.W., Davey, P., 1990. Mast cells in the ovine respiratory tract: heterogeneity, morphology and density, **Int. Arch. Allergy appl. Imm.**, 93: 99-106.

- Chibber, G., Gilani, S.H., 1986. Acrolein and embryogenesis: An experimental study. **Environ. Res.** 39: 44-49.
- Church, M.K., Shute, J.K., Sampson A.P., 2003. Mast cell-derived mediators. **Section a Immunology Chapter**, 13: 186-209.
- Chouchkov, C., 1978. Cutaneous Receptors. p.1-62. springe Verlag. Berlin, Heidelberg, New York.
- Cilievici, O., Cordos, I., Ghidus, E., Moldovan, A., 1980. Thetoxicandteratogenic effect of Aflatoxin B1 on the chick embryo development. **Morphol. Embryol**, 26 (4): 309-314.
- Clauer, P. J., 2002. Embryonic development. Embryology in Classroom A Closer Look. Senior Extension Associate +H Youth and Poultry. In The Pennsylvania State University. <http://ulisse.cas.psu.edu/pa4h/Embryology%20in%20the%20ClasmEmbry%20Dev.pdf>.
- Cook, E.B., Stahl, J.L., Barney, N.P., Graziano, F.M., 2001. Ocular Mast Cells. **Clin. Rew. Allergy Immuno**, 20 (2): 243-268.
- Cook, R.H., Bird, F.H., 1973. Deudenal villous areaand epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. **Poult. Sci.**, 52: 2276-2280.
- Crivellato, E., Finato, N., Isola, M., Ribatti, D., Beltrami, C.A., 2003. Low mast cell density in the human duodenal mucosa from chronic inflammatory duodenal bowel disorders is associated with defective villous architecture. **Eur. J. Clin. Invest**, 33:601-610.
- Çakmakçı, S., Çelik, I., 2000. Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notu, 249 s., Erzurum.
- Çalışır Erden, Z., Çalışkan, D., 2003. Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. **Ankara Ecz. Fak. Derg.**, 32 (3): 207-206.
- Çelik, İ., Oğuz, H., Demet, Ö., Boydak, M., Dönmez, H.H., Sur, E. Nizamlioglu, F., 2000. Emryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* Nrrl 2999. **Brit. Poult. Sci.** 41 (4): 401-409
- Çelik, L., Açıkgöz, Z., 2006. Kanatlı hayvanlarda sindirim sisteminin gelişimi ve besleme ile sindirim sisteminin gelişimi arasındaki ilişki. **Hayvansal Üretim**, 47(2): 38-47.
- Çok, İ., 2010.Çocuk Beslenmesinde sıkça kullanılan katkı maddelerinin yarattığı sorunlar., 54. Türkiye **Milli Pediatri Kongresi, 1.Türk-Iran Pediatri Toplantısı, 9.Milli Çocuk Hemşireliği Kongresi**, (20-24 Ekim 2010), Antalya- Türkiye.
- Dahm, R.L., Latimer, K.S., 2001. Mast Cell Disease in Dogs and Cats. An Overview, College of Veterinary Medicine, The University of Georgia, Athens.

- Dalgıç, A., Armağan, E., Helvacıoğlu, F., Okay, Ö., Dağlıoğlu, E., Take, G., Ünlü, A., Belen, D., 2009. High dose cotinine may induce neural tube defects in a chick embryo model **Turkish Neurosurgery**, 19 (3): 224-229
- Daniel, J. W., 1962. The excretion and metabolism of edible colours. **Toxicol. appl. Pharmacol.** 4: 572-594.
- Demirel, A., 2007. Erken Dönem Tavuk Embriyosu Nöral Tüp Gelişimine Değişik Dozlarda Difenil Hidantoin'in Etkisi, Uzmanlık Tezi.
- Demirer, A., 1974. Şekerdeki boyaların ince tabaka kromatografisi ile tanımlanmaları üzerine araştırmalar. **A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi**, 21:145-147.
- Dibner, J.J., Richards, J.D., 2004. Digestive system: challenges and opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, 13:86-93.
- Doeglas, H.M.G., 1975. Reactions to aspirin and food additives in patients with chronic urticaria, including the physical urticarias. **Br J Dermatol.** 93: 135-144.
- Dvorak, A.M., McLeod, R.S., Onderdonk, A.B., Monanan-Early, R.A., Cullen, J.B., Antolioni, D.A., Morgan, E., Blair, J., Estralla, P., Cisneros, R.L., Cohen, Z., Silen, W., 1992. Human gut mucosal mast cells: ultrastructural observations and anatomic variation in mast cell-nerve associations in vivo. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, 98: 158-168.
- Ekşi, A., 1996. Ankara Piyasasından Sağlanan Pasta Süsleri ve Bazı Şekerlemelerde Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış), Ankara.
- Elovaara, E., Hemminki, K., Vainio, H., 1979. Effects of methylene chloride, trichloroethane, tetrachloroethylene and toluen on the development of chick embryos. **Toxicology** 12: 111-119.
- Enerback, L. 1966. Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: I. Effects Of Fixation, **Acta Path. Et Microbiol., Scandinv.**, 66: 289-302.
- Enerback, L. 1981. The gut mucosal mast cell. **Monorg. Allergy**, 17. 222-232.
- Enerback, L., 1987. Mucosal mast cells in the rat and in man. **Int Archs Allergy Appl Immun**, 62: 249-55.
- Enerback, L., Pipkorn, U., Aldenborg, F., Wingren, U., 1989. Mast cell heterogeneity in man: properties and function of human mucosal mast cells. **Eds: Galli, S.J. ve Austen, K.F.**, Mast Cell and Basophil Differentiation and Function in Health and Disease (Galli, S.J., Austen, K.F., Eds). Laven pres. Ltd. NewYork.
- Erpek, S., Otlu, A., 1995. Tavşan ağız mukozasında mast hücrelerinin dağılımı. **Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi.** 2 (3): 258-67

- Erpek, S., 2004. Mast hücreleri. **İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.** 11(2):109-120.
- FAO, 2001. Sunset Yellow. See: Available from: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph5/Additive-450.pdf>
- Farr, R.S., Spector, S.L., Wangaard, C.H., 1979. Evaluation of aspirin and tartrazine idiosyncrasy. **J Allergy Clin Immunol**, 64 (6): 667-668.
- FDA, 1964. Summary of toxicity data on colours: FD and C Yellow No. 6. Unpublished report from the U.S. Food and Drug Administration.
- Galli, S.J., 1990. New Insights into 'the riddle of mast cells' microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity, **Lab. Invest.** 62: 5-33.
- Galli, S.C., Tsai, M., Wershil, B.K., 1993. The c-kit Receptor, Stem Cell Factor and Mast Cells: What each is teaching us about the others. **American Journal of Pathology.**, 142: 965-974.
- Gaunt, I. F., Farmer M., Grasso P., Gangolli .D., 1967. Acute (rat and mouse) toxicity studies on sunset yellow FCF, Fd Cosmet. **Toxicol.** 5: 747-754.
- Gaunt, I. F., Colley, J., Creasey, M., Grasso, P., 1969. Short-term Toxicity study on Sunset Yellow FCF in the Miniature Pig, Fd Cosmet. **Toxicol.** 7: 9-16.
- Genç, M., 1999. Gıdalarda doğal renklendiricilerin avantajları. **Gıda**, 10: 26-27.
- Getty, R., 1975. Sisson and Grossman's The Anatomy of the domestic animals. 5th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto.
- Geyra, A., Uni, Z., Sklan, D., 2001. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. **Brit. J. Nutr.** 86: 53-61.
- Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Sağlık Kriterleri Tebliği, 2002. Erişim: <http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2002-28.html>
- Graham, R. C. Allmark, M. G., 1959. Screening of some food colours for estrogenic activity. **Toxicol. appl. Pharmacol.** 1:144-146.
- Gurish, M.F., Austen, K.F., 2001. The diverse roles of mast cells. **Journal of Experimental Medicine.** 194: 1-5.
- Guy-Grand, D., Dy, M., Luffav, G., 1986. Mucosal mast cells: origin, traffic and differentiation in mice and rats. **Ann Inst. Pasteur/Immunol.** 137 (D): 215-222.
- Gülmezoğlu, E., Ergüven, S. 1994. İmmünoloji, Ankara Hacettepe-Taş Kitapçılık, 214-219.
- Güneş, H., 1999. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. **Tr. J. of Biology.** 23: 283-292.

- Güneşli, A., 2000. Bazı Gıda Boyalarının Toksikolojik Etkileri Seminer, A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Hamburger, V., Hamilton, H.L., 1951. A series of normal stages in the development of chick embryo. **J. Morphol.** 88: 49-92.
- Hamilton, H.L., 1952. Lillie's Development of Chick. Henry Holt and Company. New York.
- Harem Koçak, M., 2005. Mast hücre proteazları ve biyolojik önemi, **Sağlık Bilimleri Derg.** 14 (1): 61-67.
- Harold, T.T., Bruyere, J., Steve, J., Kargas, A., Nishikawa, T., Takagi, Y., Gilbert, E.F., 1987. Alcohol induces cardiovascular malformations in the chick embryo. **Teratology**, 35: 95-103.
- Hassa, O., Aştı, R. N., 2003. Embriyoloji. Yorum Basın Yayın Ltd. Şti., Ankara.
- Henry, B. S., 1980. Colours- Alternatives to Synthetics. **Food Processing Industry.** 11:46-47
- Henry, M.H., Wyatt, R.D., 2001. The toxicity of fumonisin B1, B2 and B3, individually and in combination, in chicken embryos. **Poultry Sci.** 80 (4): 401- 407.
- Hinomatsu, Y., Toda, S., 2003. Mast cells and angiogenesis. **Microsc. Res. Tech.**, 60: 64-9.
- Hodges, R. D., 1974. The Histology Of The Fowl. 2. Digestive System. Academic Press. London, Newyork, San Francisco.
<http://www.homepage.uludag.edu.tr-25aralık2010>
<http://katkimaddeleri.blogspot.com>
- Huntley, J.F., 1992. Mast cells and basophils: a review of their heterogeneity and function. **J. Comp. Path.**, 107: 349-372.
- Ide, C., Munger, B. L., 1978. A cytologic study of Grandry corpuscle development in chicken toe skin. **J. Comp. Neurol.** 179: 301-324
- Jacobs, M.B., 1958. The Chemical Analysis of Foods and Food Products, Third Ed., 102, D.Van Nostrand Company-Inc., New Jersey.
- Jackson, M., Frame, F., Weller, R., McKenzie R.C., 1998. expression of nitric oxide syntes III (eNOS) mRNA by human skin cells: melanocytes but not keratinocytes express eNOS mRNA, **Arch. Dermatol. Res.**, 290: 350-352.
- JECFA, 2005. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. In: 63rd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, Switzerland. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, WHO Food Additives Series, No. 54. 2005

- Jelinek, R., 1977. The chick embryotoxicity screening test (CHEST). In: Methods in Prenatal Toxicology, G. Thieme, Stuttgart.
- Jelinek, R., Peterka, M., Rychter, Z., 1985. Chick embryotoxicity screening test-130 substances tested. **Indian J. Exp. Biol.** 23: 588-595.
- Jenkinson, D.M., Blackburn, P.S., 1968. The distribution of nerves, monoamine oxidase and cholinesterase in the skin of poultry. **Res. Vet. Sci.** 9: 429-434.
- Juhlin, L., Michaelsson, G., Zetterström, O., 1972. Urticaria and asthma induced by food and drug additives in patients with aspirin hypersensitivity. **J. Allergy Clin. Immunol.** 50 (2): 92-98.
- Juhlin, L., Michaëlsson, G., 1973. Urticaria induced by preservatives and dye additives in food and drugs. **Br J Dermatol.** 88: 525-532.
- Junquera, L.C., Carnerio, J., Kelley, R.O., 1998. Temel Histoloji, Barış Kitapçılık, 15, 307-319.
- Jonnalgadda, P.R., Rao, P., Bhat, R.V., Naidu, A.N., 2004. Type, extend and use of colours in ready-to-eat foods prepared in the nonindustrial sector – A case study from hyderabad, india. **International Journal of Food Science and Technology.** 39(2): 125-131.
- Kajimoto, G., Yamaguchi, M., Kasutani, S., Yoshida, H., Shibahara, A., 1994. Influence of synthetic food colorants on oxidative deterioration of oil. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology.** 41(11), 793-796.
- Kamal, S.M., Lashin N. A., 1998. The Effect of excessive dietary sodium benzoate on the odontogenic tissues of albino rat incisor, **Cairo Dent 6 I Journal, I I** (3):435-441.
- Kalender, S., 2000. Tartrazin fare dermal mast hücrelerinde etkisi. **Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi**, 57 (2): 65-70.
- Kalyoncu, A., Yurttagül, M., 1995. Ankara piyasasında satılan çeşitli dondurma, sekerleme ve pasta süslerine katılan sentetik gıda boyalarının kantitatif olarak araştırılması. **Beslenme ve Diyet Dergisi.** 24(2):278-279
- Karaali, A., Özçelik, B., 1993. Gıda katkısı olarak doğal ve sentetik boyalar. **Gıda**, 18 (6): 389-396.
- Karaca, T., Yörük, M., 2005. Mast hücre heterojenitesi. **YYÜ Vet. Fak. Derg.** 16 (2): 57-60.
- Karaoğlu, A., Demirbağ, E., Çınar, K., 2010. Bildircin (*Coturnix coturnix japonica*) Larinks, Trake ve Bronkus mukozalarındaki mast hücrelerinin dağılımı ve yoğunluğu. **MAKUFEBED**, 2: 58 -65.
- Kaya, S., Alabay, B., Baydan, E., Altunay, H., 1995. Ağır metallerin tavuk embriyolarında teratojenik etkileri: Arsenik, ve kurşun ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasının etkileri. **Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.** 42: 225-233.

- Kelek, S., Çınar, K., 2010 Prenatal Dönemin Bazı Evrelerinde Bildirgin (*Coturnix coturnix japonica*) Derisi Mast Hücrelerinin Dağılımı. **Mehmet Akif Ersoy Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Derg.**, 2: 111-119.
- Kemper, F.H., Luepke, N.P., 1986. Toxicity testing by the hen's egg test (Het). **Food Chemistry Toxicology**. 24: 647-648.
- Khera, K. S., Lyon, D. A., 1968. Chick and duck embryos in the evaluation of pesticide toxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 13:1-15.
- Kircpatrick, C.J., Jones C.J.P., Stoddort, R.W., 1988. Lectin histochemistry of mast cell: a light microscopical study, **Histochemical Journey**, 20:139-146.
- Koçak Harem, M., 2001. Solunum Yollarındaki Mast Hücreleri Üzerine Histolojik Çalışmalar. Ankara Üniv., Sağlık Bilim. Enst., Doktora Tezi, Ankara.
- Korhonen, A., Hemminki, K., Vainio, H., 1982. Embryotoxicity of industrial chemicals on the chicken embryo: Thiourea derivatives. **Acta Pharmacol. et Toxicol.**, 51: 38-44.
- Korhonen, A., Hemminki, K., Vainio, H., 1983. Embryotoxicity of industrial chemicals on the chicken embryo: Dithiocarbamates. **Teratogen. Carcin. Mut.**, 3 (2): 163-175.
- Kreindler, J., Slutsky, J., Haddad, Z.H., 1980. The effect of food colors and sodium benzoate on rat peritoneal mast cells. **Ann Allergy**, 44(2): 76-81.
- Krüger, P.G., 1984. Morphology of Normal and Secreting Mast Cells. **Acta Otolaryngol.** (stockh) suppl., 414: 118-123.
- Kurtdede, N., Ergün, L., Aştı, R. N., Ergün, E., 2000. Ankara keçilerinin alt solunum yolları mast hücreleri üzerinde histolojik çalışmalar. **Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.** 47:339-349.
- Kury, B.G., Craig, J.M., 1967. The effects of Mitomycin C on developing chick embryos. **J. Embryol. Exper. Morph.**, 17 (1): 229-237.
- Lee, T.D., Swieter, M., Bienenstock, J., Befus, A.D., 1985. Heterogeneity in mast cells populations. **Clin. Immunol. Rev.** 4 (2): 143-199.
- Lever, W.F., Schaumburg-Lever, G., 1990. Histopathology of the skin. 7th Ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company. pp. 62-64.
- Levi-Schaffer, F., Weg, V.B., 1997. Mast cell, eosinophils and fibrosis **Clin. Exp. Allergy**. 27 (1): 64-70.
- Lilja, C., 1983. A comparative study of growth and organ development in some species of birds. **Growth.**, 47: 317-339.
- Lucas, A.M., 1968. Lipoid secretion in the avian epidermis. **Anat. Rec.** 160: 386-387.
- Maci, R., Arias, E., 1987. Teratogenic effects of the fungicide maneb on chick embryos. **Ecotoxicol. Environ. Safe**, 13: 169-173.

- Macleod, J.D., Anderson, D.F., Baddeley, S.M., Holgate, S.T., McGill, J.I., Roche, VWR., 1997. Immunolocalization of cytokines to mast cells in normal and allergic conjunctiva, **Clin. Exp. Allergy**. 27(1): 1328-1334.
- Majerus, P.W., Broze, G.J., Mitetich, J.P., Tollefsen, D.M., 1990. Anticoagulant, thrombolytic and antiplatelet drugs. In, Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Eighth Edition (Ed. A.F.G., T.W.R., A.S.N., P.T.).pp. 1311-1331, Pergamon Press, New York.
- Manchon, P.H., Lowy, R., 1964. Effet pseudovitaminique du jaune soleil sur la croissance du rat. **Food Cosmet. Toxicol.** 2: 453-456.
- Marshall, J.S., Bienenstock, J., 1990. Mast cells, **Springer Seminars in Immunopathology**. 12: 191-202.
- Mason, P.L., Gaunt, I.F., Butterworth, K.R., Hardy, J., Kiss, I.S., Grasso, P., 1974. Longterm toxicity studies of carmoisine in mice. **Food Cosmet. Toxicol.**, 12: 601-607.
- Matoltsy, A. G., 1958. Keratinization of embryonic skin. **J. Invest. Dermatol.**, 31: 343-346.
- McCauley, S.D., Gilchrist, M., Befus, A.D., 2005. Nitric Oxide: A Major Determinant Of Mast Cells Phenotype and Function, Mem. Inst.
- McCurdy, J.D., Lin, T.J., Marchall, J.S., 2001. Toll-Like Receptor 4-Mediated activation of murine mast cells, **J. Leukoc. Biol.**, 70 (6): 977-984.
- Melman, S.A., 1987. Mast cells and their mediators. **Int. J. Dermatol.** 26 (2): 335-343.
- Metcalfe, D.D., Baram, D., Mekori, Y.A., 1997. Mast cells. **Physiological Reviews**. 77 (10): 1033-1079.
- Metz, M., Siebenhaar, F., Maurer, M., 2008. Mast cell function in innate skin immune system. **Immunobiology**. 213 (3-4): 251-260.
- Metzger, H., 1991. The high affinity receptor for ige on mast cells. **Clin. Exp. Allergy**, 21 (3): 169-179.
- Mikkelsen, H., Larsen, J.C., Tarding, F., 1978. **Archives of Toxicology**, Suppl. 1: 141.
- Mitsui, H., Furitsu, T., Dvorak, A.M., 1990. Development of Human Mast Cell From Umbilical Cord Blood Cells By Recombinant Human and Murine c-kit Ligand," **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 90, 753-759.
- Munger, B.L., 1966. The Ultrastructure of Herbst and Grandry corpuscles. **Anat. Rec.** 154: 392-394.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1998. Amino asitlerin özgül ürünlere çevrimi, Harper'ın Biyokimyası (Ed. Dikmen, N. ve Özgünen C.).pp. 348-359 Barış Kitapevi, İstanbul.

- Natstad, P.H.J., 1971. Comparative ultrasructural study on merkel cells and dermal basal cells in poultry (*Gallus domestica*). *Z. Zellforsch.* 116: 342-348.
- Nienartowicz, A., Lotowska, M.E.S., Cyrta, E.J. ve Lemancewicz, D., 2006. Mast cell in neoangiogenesis., **Med. Sci. Monit.**, 12: 53-56.
- Nir, İ., Şenköylü, N., 2000. Kanatlılar İçin Sindirimi Destekleyen Yem Katkı Maddeleri. Trakya Üniv. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Tekirdağ.
- Norrby, K., 1983. Intradermal Mast cell secretion causing cutaneous mitogenesis **Virchow S. Arch.** (Cell Pathol.) 42: 263-269.
- Norrby, K., 2002. Mast Cells and Angiogenesis **Apmis**, 110: 355 -371.
- Noy, Y., Sklan, D., 1998. Metabolic responses to early nutrition. **J. Appl. Poultry Res.** 7: 437-451.
- Özcan, M., 1992. Hidrokinon'un Gelişim Toksisitesinin Döllenmiş Tavuk Embriyosunda Analiz ve Değerlendirilmesi. G. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Özparlak, H., 2006. Yumurtaya Verilen Organik İnsektisit Fipronil'in Tavukların Embriyonik ve Kuluçka Sonu Erken Dönem Gelişim Üzerindeki Zararlı Etkilerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Konya.
- Özdemir, Ö., Savaşan, S., 2005. Gözardı edilmiş bir hücrenin dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji/immunoloji alanlarında tanımlanan yeni rolleri **Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Derg.** 48: 85-92.
- Padilla, L., Reinicke, K., Montesino, H., 1990. Histamine content and mast cells distribution in mouse uterus. **Celluler and Moleculer Biology.** 36 (1): 93-100.
- Parakkal, P.F., Matoltsy, A.G., 1963. An electron microscope study of developing chick skin. **J. Ultrastruct. Res.**, 23:403-416.
- Patten, B.M., 1971. Early Embryology of the Chick. Mc Graw-Hill Book Company. 284. Toronto.
- Pearce, F.L., 1986. On the heterogeneity of mast cells. **Pharmacology.**, 32:61-71.
- Pearse, F.I., Boulos P.B., Lau, H.Y.A., Liu, W.L., Tainsh, K.R., 1991. Functional heterogeneity of human mast cells. **Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.** 94: 239-40.
- Penissi, A.B., Rudolph, M.I., Piezzi, R.S., 2003. Role of mast cells in Gastrointestinal Mucosal Defense, **Biocell.**, 27 (2): 163-172.
- Poul, M., Jarry, G., Elhkim, M.O., Poul, J.M., 2009. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 47: 443-448.

- Prelusky, D.B., Hamilton, R.M.G., Foster, B.C., Trenholm, H.L., Thompson, B.K., 1987. Optimization of chick embryotoxicity bioassay for testing toxicity potential of fungal metabolites. **J. Assoc. Anal. Chem.**, 70 (6): 1049-1055.
- Prussin, C., Metcalfe, D.D., 2003. IgE, Mast Cells, Basophils and eosinophils **J. Allergy Clin. Immunol.** 111: 486-494.
- Puxeddu, I., Levi-Schaffer, F., 2002. Mast cells and tissue remodeling. **Rev. Fr. Allergol Immunol Clin.**, 42: 16-8.
- Radomski, J. K., Mellinger, T. J., 1962. The absorption rate and excretion in rats of the water-soluble azodyes FD & C Red No. 2, FD and C Red No. 4, FD and C Yellow No. 6, **J. Pharmacol.** 136-259
- Rawdon, B.B., Andrew, A., 1999. Gut endocrine cells in birds: an overview, with particular reference to the chemistry of gut peptides and the distribution, ontogeny, embryonic origin and differentiation of the endocrine cells. **Progr. Histochem. Cytochem.** 34(1): 1-84.
- Ribatti, D., Contino, R., Quondamatteo, F., Formica, V., Tursi, A., 1992. Mast cell population in the chick embryo lung and their response compound 48/80 and dexamethasone, **Anatomy and Embryology.**, 186: 241-244.
- Romanoff, A.L., 1997. Life in Twenty-one Days. Extension Bulletin, 205. <http://www.msstate.edu/dept/poultry/avianemb.html>.
- Roosje, P.J., Koeman, J.P., Thepen, T., Willemse, T., 2004. Mast cells and eosinophils in feline allergic dermatitis: A qualitative and quantitative analysis. **J. Comp. Pathol.** 131 (1): 61-69.
- Ros, A.M., Juhlin, L., Michaëlsson, G., 1976. A follow-up study of patients with recurrent urticaria and hypersensitivity to aspirin, benzoates and azo dyes. **Br. J. Dermatol.** 95: 19-24.
- Rossi, G.L., Olivieri, D., 1997. Does the Mast cell have a key role in asthma. **Chest.** 112: 523-529.
- Ryan, A. J., Wright, S. E., 1961. The excretion of some azodyes in rat bile. **J. Pharm. Pharmacol.** 13: 492.
- Saldamlı, I., 1985. Gıda Katkı Maddeleri ve İçeriyenler, 1-28, Ankara.
- Saldamlı, I., Uygun, U., 2004. Gıda Katkı Maddeleri ve Kanser. <http://www.un.org.tr/who/nutrition/gidakatkimadde.htm>
- Sarıkaya, R., Solak, K., 2003. Genotoxicity of benzoik asit studied in the *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test (SMART). **G.Ü, Gazi Eğitim Fakültesi Derg.** 23 (3): 19-32.
- Sarıkaya, R., Selvi, M., Akkaya, N., Acar, M., Erkoç, F., 2010. Farklı konsantrasyonlardaki gıda boyalarının *Drosophila melanogaster* (mwh x flr)'de yaşama yüzdesi üzerine etkisi. **SDÜ Fen Dergisi (E-Dergi).**, 5 (1): 38-46

- Saxod, R., 1972. Role du Nerf et du terroire cutene dans le developement des corpuscle di herbst et de grandry. **J. Embryol. Exp. Morph.**, 27: 277-300.
- Saxod, R., 1978. Ultrastructure of merkel corpuscles and so-called "transitional" cells in the white leghorn chicken. **Am. J. Anat.**, 151: 453-474.
- Schmauder-Choc, E.A., Chock, S.P., 1987. Mechanism of secretory granule exocytosis: can granule enlargement precede pore formation? **Histochemical Journal**. 19: 413-418.
- Schultz-Ehrenburg, U., Gilde, O., 1987. Results of studies in chronic urticaria with special reference to nutritional factors. **Z. Hautkr.** 62 (Suppl 1):88-95.
- Schwartz, L.B., 1994. Mast cells: Function and contents. **Current Opinion in Immunology**, 6: 91-97.
- Settipane, G.A., Chafee, F.H., Postman, I.M., 1976. Significance of tartrazin sensitivity in chronic urticaria of unknow etiology. **J Allergy Clin Immunol**. 57(6): 541-546.
- Sklan, D., 2001. Development of the digestive tract of poultry. **Wolds Poultry Sci. J.**, 57: 415-428.
- Slomin, C.B., Boone, R., 2004. The ocular allergic response, **A Pharmacotherapeutic Review. Formulary**, 39: 213-222.
- Smith, D.M., Grasty, R.C., Theodosiou, N.A., Tabin C.J., Nascone-Yoder, N.M., 2000. Evolutionary relationship between the amphibian, avian and mamalian stomach. **Evolution & Development.**, 2 (6): 348-359.
- Soylu, R., Kalkan, S.S., Duman, S., 1990. Mast hücreleri, **Optimal Tıp Dergisi.**, 3: 35-39.
- Steen, V.D., Medsger, T.A., Rodnan J.R., 1982. D-Penicillamine therapy in progressive systemic sclerosis (scleroderma): a retrospective analysis, **Ann. Intern. Med.** 97: 652- 659.
- Stenius, B.S.M., Lemola, M., 1976. Hypersensitivity to acetylsalicylic acid (ASA) and tartrazin in patients with asthma. **Clin Allergy**, 6: 119-129.
- Stevens, R. L., Austen, K. F., 1989. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells. **Immunol. Today** 10: 381-386.
- Supramaniam, G., Warner, J.O., 1986. Artificial food additive intolerance in patients with angio-oedema and urticaria. **Lancet**. 18: 907-909.
- Tavlı, L., Karaca, A.R., Erol, O., 1990. Abortus Olaylarında Mast Hücrelerinin Plasantadaki Durumu. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Tekeli, S., 2008. Bazı Bitki Ekstrelerinin Mast Hücreleri Üzerine Etkilerinin İn Vivo Araştırılması. Anadolu Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi.
- Tekelioğlu, M., 2002. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. (1.Baskı), Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp A.Ş. Yayımevi. 3: 53-54.

- Tharp, M.D., Kagey-Sobotka, A., Foy, C.C. 1987. Functional heterogeneity of human mast cells from different anatomic sites: in vitro responses to morphine sulfate **J. Allergy Clin. Immunol.** 79: 646-653.
- Tharp, M.D., 2003. Mast Cells and Their Mediators. **American Academy of Dermatology.**
- Theoharides, T.C., 1990. Mast Cells, The immune gate to the brain, **Life Sciences.** 46: 607-617.
- Topsoy, H., 1990. Bazı Şekerli Gıdalara Katılan Sentetik Boyaların Miktar Tayini. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Trautlein, J.J., Mann, J.W., 1978. Anaphylactic shock caused by yellow dye (FD and C no: 5, FD and C No: 6) in an enema. **Ann Allergy.** 41: 28-29.
- Trautman, A., Fiebiger, J., 1952. Fundamentals of the Histology of Domestic Animals. Translated and Revised by Habel, R E and Biberstein, E L Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York. 405-406.
- Tripathi, M., Khanna, S.K., Das, M., 2007. Surveillance on use of synthetic colors in eatables vis a vis Prevention of Food Adulteration Act of India. **Food Control,** 18: 211-219.
- Türkoğlu, M., Sarıca, M., 2004. Tavukçuluk Bilimi, Bey Ofset, s.336. Ankara.
- Ural, A., 1983. Gıdalarda renk ve kalite ilişkisi. **Gıda Dergisi,** 8(1):21-27.
- Unı, Z., Noy, Y., Sklan, D., 1996. Development parameters of the smallintestines in heavy and light strain chicks pre and post-hatch. **Brit. Poult. Sci.** 36:63-71.
- Uslu, S., Yörük, M., 2008. Hindilerde sindirim sisteminde mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi üzerine morfolojik ve histometrik araştırmalar. **Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi.** (2): 47-51 .
- Vardı, N., Cengiz, N., Otlu, A., 2000. Kronik alkol tüketiminin sıçanların ileum mast hücre popülasyonu üzerine etkileri. **Turgut Özal Dergisi,** 7(1): 63-66.
- Varnagy, L., Budai, P., Molnar, E., Susan, M., Fancsi, T., 2002. Toxicity and degradation of benfenin in chicken embryos. **Med. Rijk. Gent. Fak. Land. Toe. Biol. Wet.** 67 (2): 111-115.
- Verret, M.J., Scott, W.F., Reynaldo, E.F., Alterman, E.K., Thomas, C.A., 1980. Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 56: 265-273.
- Vesely, D., Vesela, D., Jelinek, R., 1982. Nineteen mycotoxins tested on chicken embryos. **Toxicol. Lett.** 13 (3-4): 239-245.
- Vesely, D., Vesela, D., 1991. The use of chick embryo for prediction of some embryotoxic effects of mycotoxins in mammals. **Vet. Med. Praha,** 36 (3): 175- 181.

- Vural, Ö, Yılmaz, O., Tavlı, L., 1991. Mast hücrelerinin iltahap ve tümörlerle olan ilişkileri. **Selçuk Üniv. Tıp Fak. Dergisi**. 7 (3). 307.
- Wasserman, S.L., 1990. Mast cell biology. **J. Allergy Clin. Immunol.** 86: 590-593.
- Weidinger, T., Pinto, J., Horvath, L., 2000. Effects of uncertainties in universal functions, roughness length, and displacement height on the calculation of surface layer fluxes. **Meteor. Zeitschrift**. 9:139-15
- Weller, K., Foitzik, K., Paus, R., Syska, W., Maurer, M., 2006. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. **FASEB J**, 20: 2366-2368.
- Wolters, P.J., Laig-Webster, M., Caughey, G.H., 2000. Dipeptyl peptidase 1 cleaves matrix-associated proteins and is expressed mainly by mast cells in normal dog airways. **Am. J. Resp. Cell. Mol.** 22:183-190.
- Yaman, M., 1996. Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yentür, G., Karakaya, A.E., 1985. Kullanımı yasaklanan aromatik azo yapısındaki gıda boyalarının bazı gıda maddelerinde araştırılması. **Gıda**, 10(6): 371-376.
- Yentür, G., 1998. Bazı gıda boyalarının toksisite yönünden değerlendirilmesi, **Farmasötik Bilimler Dergisi**, 13: 332-338.
- Yörük, M., Özcan, Z., 1996. Koyun ve keçi derisinde Mast hücreleri üzerinde morfolojik ve histometrik araştırmalar. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Derg.** 2 (1-2):47-55.
- Yurttagül, M., Ayaz, A., 2008. Katkı Maddeleri: Yanlışlar Ve Doğrular. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Beslenme ve Fiziksel Aktiviteler Daire Başkanlığı.
- Zhang, C., Fang, C., Liu, L., Xia, G. ve Qiao, H., 2002. Disrupting effects of polychlorinated biphenyls on gonadal development and reproductive functions in chickens. **J. Environ. Sci. Health A**. 37 (4): 509-519.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tülay Güler
Doğum Yeri ve Tarihi : Bulgaristan – 25.04.1985

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi – Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi – Biyoloji Bölümü
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Ulusal Bildiriler :

-KOCA, Y., KARAKAHYA, F., GÜLER, T., KARASÜLEYMANOĞLU, K. Ş., AKYILDIZ, M., “Histolojik Yönden *Hemidactylus turcicus*' un İnce Barsak Yapısı” 17. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, Ankara, 2010.

-KOCA, Y., GÜRCÜ, B., KARAKAHYA, F., GÜLER, T., “*Hemidactylus turcicus* (Linnaeus 1758) (Sauria: Gekkonidae) Parmaklarının Histomorfolojisi” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli, 2010

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : --

İLETİŞİM

E-posta Adresi : tulay85guler@gmail.com

Tarih :