

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BIY-YL-2011-0004**

**Tavuk Embriyonal Gelişimi Üzerine Gıda Katkı Maddesi
Sodyum Benzoat' ın Embriyotoksik Etkilerinin Histolojik
Yönden Belirlenmesi**

Feryal KARAKAHYA

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

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Feryal KARAKAHYA tarafından hazırlanan “Tavuk Embriyonal Gelişimi Üzerine Gıda Katkı Maddesi Sodyum Benzoat’ ın Embriyotoksik Etkilerinin Histolojik Yönden Belirlenmesi” başlıklı tez, 08.08.2011 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	:
Üye	:
Üye	:

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla (.....) tarihinde onaylanmıştır.

Ünvanı, Adı Soyadı
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

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.

08 / 08 / 2011

Feryal KARAKAHYA

ÖZET

Tavuk Embriyonal Gelişimi Üzerine Gıda Katkı Maddesi Sodyum Benzoat'ın Embriyotoksik Etkilerinin Histolojik Yönden Belirlenmesi

Feryal KARAKAHYA

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA
2011, 77 sayfa

Bu çalışmada gıdalarda koruyucu olarak kullanılan sodyum benzoat'ın (E211), farklı doz ve sürelerle maruz kalan, tavuk embriyosu karaciğer dokusuna olası embriyotoksik etkileri histolojik yönden değerlendirilmiştir. İnkübasyonun 5. gününde üç ayrı dozda sodyum benzoat vitellusa enjekte edilmiş, kontrol ve deney gruplarının bir kısmı 7. günde kalanlar ise 10. günde açılarak embriyolar çıkarılmıştır. Rutin histolojik yöntemlerle hazırlanıp boyanan tavuk embriyosu preparatları histopatolojik açıdan incelenmiş, önemli olarak tespit edilen bulgular fotoğraflanmıştır.

Yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucunda sodyum benzoat'ın doza ve süreye bağlı olarak embriyoların toplam ağırlıklarında anlamlı bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Mikroskop düzeyinde venlerin yapısında bozulma, konjesyon, ödem, sinuzoidlerde genişleme, hepatosit düzenlenmelerinde bozulma, şişme, vakuolizasyon, kromatin kondensasyonu, karyolisis, nükleusun şekil bozukluğu ve eksentrik yerleşimi, Nükleolar Organizasyon Bölgeleri'nde (NOR) ve mitotik bölünmede azalma, kromozomlarda yapışıklık, kalgın kromozomlar, nükleusta tomurcuklanma ve mikronükleus oluşumu gözlenmiştir.

Sodyum benzoat'ın, tavuk embriyolarında oluşturduğu gelişim geriliğine ve önemli metabolik fonksiyonları olan karaciğerdeki histolojik değişimlere dayanarak genotoksik ve embriyotoksik olduğu kararına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Sodyum benzoat, Tavuk Embriyosu, Karaciğer, Embriyotoksik, Histopatoloji.

ABSTRACT**Histological Determination of Embryotoxic Effects of Food Additive Sodium Benzoate on Chicken Embryonic Development**

Feryal KARAKAHYA

M. Sc. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA

2011, 77 pages

In this study, possible embryotoxic effects of sodium benzoate (E211), which is used as a food additive, on the liver tissue of chicken embryo, which were exposed to it in different doses and time were determined histologically. Three different doses of sodium benzoate were injected into yolk on the 5th day of the incubation. Some of the eggs of control and experimental groups were opened on the 7th day and others on the 10th day and embryos were taken out. The embryos were prepared according to routine histological procedure. Then, the paraffin blocks of the embryos were sectioned and stained. Preparations were examined histopathologically, findings determined as significant were photographed.

As a result of the statistical assessment, it was determined that sodium benzoate caused a significant decrease in the total weights of the embryos, depending on the dose and time. ($p < 0,001$). In microscope level, deterioration in the structure of the veins, congestion, oedema, enlargement in sinusoids, deterioration in hepatocellular regulations, swelling, vacuolization, chromatin condensation, karyolysis, eccentric locate and deformity of the nucleus, decrease in Nucleolar Organizer Regions (NOR) and mitotic division, chromosomes adhesion, lagging chromosome, budding nuclei, and micronucleus formation were observed.

It was decided that Sodium Benzoate is genotoxic and embryotoxic, based on the growth retardation in chicken embryos and histological changes in the liver which has extremely significant metabolic functions.

Key Words: Sodium benzoate, chicken embryo, liver, embryotoxic, histology.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde gerek bilimsel anlamda gerekse yaşamdaki tecrübeleriyle her konuda yanımda olan, tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimiyle beni yönlendiren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA'ya minnetlerimi sunarım. Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyiminden her zaman yararlandığım, görüşleriyle çalışmalarına katkıda bulunan hocam Doç. Dr. Serdar KOCA'ya teşekkür ederim.

Tez materyallerimin temini sırasında ilgi ve yardımları için başta Deney Hayvanları ve Epidemiyoloji Birim Şefi Veteriner Hekim Ziya Nejdet ERHAN olmak üzere T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü çalışanlarına ve istatistik analizlerimde yardımcı olan hocam Yrd. Doç. Dr. Timur KÖSE'ye (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı) teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimin tüm zorluklarını ve sevinçlerini paylaştığım, deneylerimde ve tezimin yazım aşamasında hiç bir yardımdan kaçınmayan, bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra manevi desteği ile de her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Uğur Emek UYSAL'a teşekkür ederim.

Evlatları olmaktan gurur ve onur duyduğum, hayatımın her anında olduğu gibi eğitimim süresince beni cesaretlendiren, maddi ve manevi destekleriyle en önemlisi sevgileriyle hep arkamda olan, babam Mehmet KARAKAHYA'ya, annem Zerrin KARAKAHYA'ya, babaannem Gülşen KARAKAHYA'ya ve tek sırdaşım, canım kardeşim Fulya KARAKAHYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi FEF-11022 kodlu projeye destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar birimine ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxv
1. GİRİŞ	1
1.1. Gıda Koruyucuları (E 200 - 299).....	3
1.1.1. Sodyum Benzoat (SB)	4
1.2. Tavuk Yumurtasının Yapısı.....	6
1.3. Tavuklarda Embriyonik Gelişim.....	8
1.4. Karaciğer Gelişimi	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. Sodyum Benzoat' a İki Gün Maruz Kalan Gruplar (Evre 31)	21
4.1.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu	21
4.1.2. Deney Grupları.....	25
4.2. Sodyum Benzoat' a Beş Gün Maruz Kalan Gruplar (Evre 36).....	37
4.2.1. Kontrol Grubu	37
4.2.2. Deney Grupları	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGELER DİZİNİ

■	Hepatik Kavite
→	Endotel Hücresi
▶	Glikojen Partikülü
△	Mitoz Geçiren Hücre
➔	Retikülerfibriller
●	Heoatosit Kümesi
○	Hepatosit Asinüsleri
⬡	Kalın Kromozom, Kondanse Kromatin, Anafaz Köprüsü, kromozomlarında yapışkanlık
□	Nor Bölgeleri Azalan Hepatosit
➤	Venlerde Dejenerasyon
➔	Endotelde Kopmalar
○	Piknotik Nükleus
➔	Sınırları belirgin olmayan nükleuslar
☁	Karyolisis
➔	Farklı Boyanmış Nükleoluslar
*	Şekilleri Bozulmuş ve Sitoplazmaları Dağılmış Hepatositler
☀	Nekrotik Bölge
△	Mitoz
⚡	Sitoplazmik Vokuolizasyon
⚡	Tomurcuklanma
➔	Vena Centralis Duvarında Kalınlaşma
◇	Mikronükleus Oluşumu
⚡	Sitoplazmik Dağılma
▲	Eksentrik Yerleşimli Nükleus
☆	Apoptotik Hepatosit

KISALTMALAR DİZİNİ

a	Atrium
AgNOR	Argirofilik NOR
ALT	Alaninaminotransferaz
AST	Aspartataminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
B	Böbrek
b	Barsak
BHA	Butillenmiş Hidroksiyanozil
BHT	Butillenmiş Hidroksitoluen
°C	Santigrat Derece
C ₆ H ₅ COOH	Benzoikasit
C ₇ H ₅ O ₂ Na	Sodyum benzoat
CAS	Chemical Abstracts Service
CHEST	Chicken Embryotoxicity Screening Test
CK	Kreatinkinaz
CO ₂	Karbon Dioksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
e	Eritrosit
ECF	Eosinophilic Chemotactic Factor
ER	Endoplazmik Retikulum
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
H	Hepatosit kümeleri
h	Asidofilik sitoplazmalı hepatositler
H-E	Hematoksilen Eosin
HET	Hen's Eggs Test
HH skalası	Hamburger ve Hamilton skalası
K	Kalp
k	Konjesyon
KC	Karaciğer
kg	Kilogram
LD ₂₅	Latel Doz, %25
LD ₅₀	Latel Doz, %50
LDH	Laktatdehidrogenaz
LH	Lüteinleştirilen Hormon

lt	Litre
M	Mide
μm	Mikro Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
MN	Mikronükleus
MÖ	Milattan Önce
n	Nükleus
NaCl ₂	Sodyum Klorür
NOR	Nucleolar Organizer Region
O ₂	Oksijen
Ö	Ödem
p	Probability
PAS	Periyodik Asit ve Schiff
pH	Power of Hydrogen
RM	Rotary mikrotom
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
S	Sinuzoid
SB	Sodyum benzoat
SD	Standart Deviation
SPF	Spesific Pathogen Free
Sv	Sinüs venosus
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
US FDA	United State Food and Drug Administration
x	Kordonlaşma
WHO	World Healt Organization
V	Ven - Vena centralis
va	Vücut Ağırlığı
vd.	Ve Diğerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sodyum benzoatın kimyasal formülü	4
Şekil 1.2. Tavuk Yumurtasının Kısımları	7
Şekil 3.1. Hamburger ve Hemilton (1972)'a göre yeniden hazırlanmış embriyo safhaları	18
Şekil 4.1. Embriyo ağırlıklarındaki azalmayı gösteren grafik	20
Şekil 4.2. Yumurtaların makroskopik fotoğrafları.....	21
Şekil 4.3. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu kesiti. Karaciğer, kalp, böbrek, hepatik kavite. H-E, X4.....	22
Şekil 4.4. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusu. Hepatosit kümeleri, sinuzoid, endotel hücresi. H-E, X40	23
Şekil 4.5. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusunda glikojen depolayan hepatositler Hepatosit kümeleri, sinuzoid, endotel hücresi, mitoz geçiren hücre. PAS, X100.....	23
Şekil 4.6. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyolara ait karaciğer hücrelerindeki glikojen partikülleri, nükleus. PAS, X100.....	24
Şekil 4.7. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusunda venlerin etrafında şekillenmeye başlamış retikülerfibriller ve NOR bölgeleri belirgin nükleusa sahip hepatositler. Retikulum, X100	24
Şekil 4.8. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu NOR bölgelerinden zengin nükleusa sahip hepatositler. Retikulum, X100.....	25
Şekil 4.9. 250 mg/kg Sodyum Benzoata maruz bırakılmış 7 günlük embriyo karaciğer dokusunda genişlemiş sinuzoidler hepatosit kümeleri, kordonlaşma ve eritrosit. HE, X10.....	26
Şekil 4.10. 250 mg/kg Sodyum Benzoata maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların karaciğerinde asinüs şeklinde düzenlenen hepatositler, sinuzoid ve endotel hücresi. HE, X100	27
Şekil 4.11. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların karaciğerinde kordonlaşma gösteren hepatositler ve sinuzoid. HE, X100.....	27
Şekil 4.12. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyolara ait karaciğer hepatositlerinin glikojen içermedikleri görülür. Hepatosit kordonları, sinuzoid. PAS, X100.....	28

Şekil 4.13. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların bölünen hepatositlerinde görülen kalgın kromozom, NOR bölgeleri azalan hepatosit. Retikulum, X100	28
Şekil 4.14. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların bölünmekte olan karaciğer hücrelerinde kromozomlarda yapışkanlık, NOR bölgeleri azalan hepatosit. Retikulum, X100.....	29
Şekil 4.15. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde kümeler oluşturmuş hepatositler, genişlemiş sinusoidler. H-E, X20.....	29
Şekil 4.16. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde venlerde dejenerasyon Vena centralis hepatosit asinüsleri, sinuzoid. H-E, X100	30
Şekil 4.17. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme ve kromatin kondensasyonu, sinuzoid, sitoplazması dağılmış eritrositler. H-E, X100	30
Şekil 4.18. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde hepatosit sınırlarında belirsizlik, şişme ve piknotik nükleus, endotelde kopma, hepatosit kordonları. H-E, X100	31
Şekil 4.19. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların sitoplazmik vakuolizasyona, kondanse kromatine ve piknotik nükleusa sahip hepatositleri. H-E, 100X.....	31
Şekil 4.20. 500 mg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolara ait karaciğer hücrelerinin glikojen içermedikleri görülmektedir. Sinuzoid, piknotik nükleuslu hepatosit. PAS, X100.....	32
Şekil 4.21. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda NOR bölgeleri azalan hepatositler ve bölünen hepatositlerde anafaz köprüsü. Retikulum, 100X	32
Şekil 4.22. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda NOR bölgeleri azalan hepatositler ile bölünen hepatositlerin kromozomlarında yapışkanlık. Retikulum, 100X	33
Şekil 4.23. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolara ait yoğun eritrosit içeren karaciğer veni, genişlemiş sinuzoidler ve hepatosit kümeleri görülmektedir. H-E, 20X	33

- Şekil 4.24. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerinde genişlemiş parankimal sinuzoidler, kordonlaşma, hücre kümeleri. H-E, 20X..... 34
- Şekil 4.25. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme, hepatositlerde karyolisis, sınırları belirgin olmayan nükleuslar, farklı boyanmış nükleoluslar izlenmektedir. Piknotik nükleuslu hücreler. H- E, 100X 34
- Şekil 4.26. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme ve piknotik nükleus, karyolisis. H-E, 100X..... 35
- Şekil 4.27. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda belirgin bir düzenlenme göstermeyen şekilleri bozulmuş ve sitoplazmaları dağılmış hepatositler H - E 100X 35
- Şekil 4.28. 1000 mg/kg SB'amaruz kalan 7 günlük embriyolara ait hepatositlerin glikojen içermedikleri görülmektedir. Hepatosit, sinuzoid, eritrosit. PAS, 100X 36
- Şekil 4.29. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer, Hepatosit, sinuzoid. Retikulum, 40X. 36
- Şekil 4.30. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer dokusunun retiküler fibrile sahip olmadıkları gözlenmektedir. NOR bölgeleri azalan hepatositler. Retikulum, 100X..... 37
- Şekil 4.31. Kontrol grubu 10 günlük embriyoların iki loplu karaciğer dokusu, böbrek, mide. H-E, X4 38
- Şekil 4.32. Kontrol grubu 10 günlük embriyoların karaciğerinde dendriform biçimli hepatosit kordonları, sinuzoid, Vena centralis. H-E, 20X 38
- Şekil 4.33. Kontrol grubu, 10 günlük tavuk embriyolarına ait karaciğer dokusunda bir çok hepatositin partikül şeklinde glikojen depoladıkları görülmektedir. Hepatosit kordonları, sinuzoid. PAS, X100..... 39
- Şekil 4.34. 10 günlük kontrol grubuna ait embriyoların karaciğer hücrelerinde depolanan glikojen partikülleri PAS, 40X 39
- Şekil 4.35. 10 günlük kontrol grubuna ait tavuk embriyosu karaciğer dokusunda venlerin etrafında retiküler fibriller, belirgin NOR bölgelerine sahip hepatositler. Retikulum, X100 40
- Şekil 4.36. Kontrol grubu 10 günlük tavuk embriyosu karaciğerinde ven ve sinüzoidal duvarda retiküler fibriller, karaciğer hücresinin çekirdeklerindeki NOR bölgeleri. Retikulum, X100 40

Şekil 4.37. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda karaciğerin, genel görünümü. Hepatik ven, hepatik kavite, böbrek, mide, barsak. H-E, X4	42
Şekil 4.38. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyo karaciğerinde nekrotik görünümlü periferik bölge, genişlemiş sinuzoid. H-E 20X	42
Şekil 4.39. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinde venin bozulan duvar yapısı, vena centralis, hepatosit kordonları. H-E, 40X	43
Şekil 4.40. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerindeki asidofilik sitoplazmalı hepatositler, mitoz. H-E, X100	43
Şekil 4.41. 250 mg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde vokuolizasyon, piknotik nükleus, karyolizis. H-E, 100X	44
Şekil 4.42. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde karyolizis, tomurcuklanma, nükleolusta farklı boyanma. H-E, 160X.....	44
Şekil 4.43. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda hepatositlerin glikojen içermedikleri görülmektedir. Hepatosit (H). PAS, 100X....	45
Şekil 4.44. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinde görülen birkaç refiküler fibril. Retikulum, 100X.....	45
Şekil 4.45. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda çekirdeklerinde NOR bölgeleri içermeyen karaciğer hücreleri. Retikulum, 100X.....	46
Şekil 4.46. 500 mg SB verilen 10günlük embriyoların karaciğerinin genel görünümü. Konjesyon ,sinuzoidlerde ve venlerde ödem görülmektedir. H-E, 4X.....	46
Şekil 4.47. 500 mg/kg SB verilen 10günlük embriyoların karaciğer dokusunda ödemli ve konjesyonlu venler. H-E, 20X	47
Şekil 4.48. 500 mg/kg SB verilen 10günlük embriyoların karaciğer dokusunda vena centralis duvarında kalınlaşma izlenmektedir. Sinuzoid, hepatosit kordonları. H-E, 40X.....	47
Şekil 4.49. 500 mg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatosit nükleuslarında şekil bozukluğu ve tomurcuklanma, mikronükleus oluşumu, nükleus sınırlarında belirsizlik görülmektedir. H-E, 100X	48

Şekil 4.50. 500 mg/kg SB verilen 10günlük embriyoların karaciğer hücrelerinin glikojen depolamadıkları gözlenmektedir. Hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon. PAS, X100.....	48
Şekil 4.51. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda retikülerfibril görülmemektedir. Hepatosit, sinusoid. Retikulum, 100X.....	49
Şekil 4.52. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda karaciğer hücreleri çekirdeklerinde NOR bölgeleri içermemektedir. Mitoz geçiren hepatosit. Retikulum, 100X.....	49
Şekil 4.53. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunun genel görünümü. Hepatik vande ödem ve konjesyon, kalp, atrium, sinüs venosus. H-E, 4X.....	50
Şekil 4.54. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda konjesyon ve genişlemiş sinuzoidlerde ödem izlenmektedir. HE, 20X.....	50
Şekil 4.55. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatosit kordonlaşmasında bozulma, hepatositlerde piknotik nükleus, sitoplazmik vakoulizasyon ve dağılma gözlenmektedir. H-E, X 100.....	51
Şekil 4.56. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde sitoplazmik vakoulizasyon ve eksentrik yerleşimli nükleus H-E, X100.....	51
Şekil 4.57. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatositlerde şişme, nükleuslarında kromatin kondensasyonu ve karyolisis. H-E, X100.....	52
Şekil 4.58. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatosit nükleuslarında karyolisis, eksentrik yerleşim ve eritrositlerde mikronükleus oluşumu görülmektedir. H-E, X100.....	52
Şekil 4.59. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda apoptotik hepatosit izlenmektedir. H-E, X100.....	53
Şekil 4.60. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinin glikojen içermedikleri görülmektedir. İleri derecede sitoplazmik vakuolizasyona sahip hepatositler. PAS, X100.....	53
Şekil 4.61. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusu retiküler fibril içermemektedir. Hepatosit, sinuzoid. Retikulum, X100.....	54

Şekil 4.62. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolara ait karaciğer dokusunda sınırları belirgin olmayan ve NOR bölgeleri içermeyen nükleuslara sahip hepatositler görülmektedir. Retikulum, X100.....54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Embriyoların ortalama ağırlıkları ve standart sapmaları.....	20
---	----

1.GİRİŞ

Sağlıklı bir hayat için vücudun enerji ve madde ihtiyacının karşılanması (vücudun gereksinimi olan besin öğelerinin alınıp vücutta kullanılması) olarak tanımlanan beslenme, anne karnından yaşamın sonlanmasına kadar geçen her süreçte yaşamımızın vazgeçilmezi olarak yer alan temel bir ihtiyaçtır (Anonim, 2004a; Dönmez vd., 2010). Beslenme bireysel olarak önemli olmasının yanında toplum sağlığının korunmasında, ülke ekonomisinde ve kalkınmada temel işlevlerden birisidir. Beslenme işlevini sağlayan maddeler besin elementleri, besin elementlerini içeren işlenmiş veya doğal haldeki hayvansal, bitkisel ve sentetik kökenli yenilebilir ve içilebilir karakterli maddeler de gıda olarak tanımlanmaktadır (Halaç, 2002).

Dünyadaki nüfusun gün geçtikçe artması, gelişen teknolojiye bağlı çevre kirliliği, ekonomik yetersizlik ve eğitimdeki eksiklik beslenme sorunlarını ortaya çıkarmakta ve gıda teminini zorlaştırmaktadır. Günümüz koşullarında sanayileşmenin ve teknolojik çalışmaların artması ve buna bağlı olarak yaşam standardının yükselmesi tüketicilerin doğal besinlerden hızla uzaklaşmasına böylece yıllar öncesinden süre gelen beslenme alışkanlıklarının tamamen değişmesine neden olmuştur. Gerek zaman darlığı gerekse pratik olduklarından tüketicilerin tercihleri doğal ve evde hazırlanan besinlerden hazır veya yarı hazır gıda maddelerine doğru kaymıştır (Altuğ, 2001; Halaç, 2002; Sarıkaya ve Solak, 2003).

Tüketicilerin isteklerine yanıt vermek üzere, hızla gelişen gıda endüstrisi sayesinde teknolojik şartlarda çok çeşitli gıda maddesi üretilmekte ve tüketicilere sunulmaktadır. Bu gıda maddelerinin üretimi sırasında ise pek çok kimyasal madde kullanılmaktadır. Besinlerin kimyasal maddeler eklenerek korunması eskiden beri süre gelen bir yöntemdir. Gıda katkı maddeleri ilk kez Mısır' da Milattan Önce (MÖ) 3500 yıllarında gıda boyalarının kullanılması ile başlar. Milattan Önce (MÖ) 3000 yıllarında et ürünlerini kürlenmede tuzdan yararlanıldığı MÖ 900 yıllarında ise tuz ve odun tütsüsünün gıda saklama yöntemleri olarak kullanıldıkları görülmektedir (Altuğ, 2001; Çalışır ve Çalışkan, 2003). Ortaçağda etlere koruyucu amaçla tuz ve tütsünün yanı sıra katılan nitratın etin rengini olumlu yönde değiştirmek ve botulizmi (*Clostridium botulinum* bakterisinin ürettiği toksik maddeden kaynaklanan besin zehirlenmesi (Cherington, 1998)) önlemek amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (Çalışır ve Çalışkan, 2003).

MÖ 50'lerde baharatlardan lezzet verici olarak yararlanılmış. On dokuzuncu yüzyılda hızlı kentleşmenin paralelinde katkı maddelerinin kullanımı, özellikle gıdaları bozulmalara karşı korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yaygınlaşmış olup günümüzde ise bu maddeler gelişen gıda teknolojisinin vazgeçilmez bir parçasını oluşturmuşlardır (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

Gıda katkı maddeleri Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nde tek başına gıda olarak tüketilmeyen, gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya imalat sırasında kalıntı ve türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin koku, tat, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amacıyla kullanılan maddeler olarak tanımlanmıştır (<http://www.kkgm.gov.tr>).

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 aynısı 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 Kodeksi'nde gıda katkı maddeleri olarak adlandırılan bu kimyasallar amaçlarına göre sınıflandırılmış ve belli günlük kullanım dozları belirtilmiştir (<http://www.kkgm.gov.tr>). Gıda katkı maddelerini sınıflandırılmasında katkı maddesinin eklendiği gıdadaki fonksiyonu göz önüne alınabilir ancak Türk Gıda Mevzuatı'nda Avrupa Birliği ülkelerinde olduğu gibi E kodları üzerinden pratik bir kodlama yöntemi kullanılarak sınıflandırılma yapılmıştır (<http://www.kkgm.gov.tr>; Anonim, 2004b).

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 (<http://www.turktox.org.tr/Gida/index.php?p=ekodlari>).

Gıda katkı maddelerinin 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; <http://www.kkgm.gov.tr>).

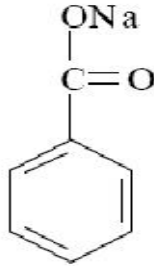
1.1. Gıda Koruyucuları (E 200- 299)

Koruyucular Türk Gıda Kodeksi'nde gıdaların mikroorganizmalarla bozulmalarını önleyerek raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler olarak tanımlanmış olup, antimikrobiyal ve antioksidanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. Antioksidanlar istenmeyen koku, aroma, tat değişikliklerini, enzimatik kararmayı veya oksidasyona bağlı renk kaybını ve yağlı besinlerde acımayı geciktirmek ve önlemek amacıyla gıdalara eklenen maddelerdir. Antimikrobiyaller ise besinleri bakteri, küf ve maya bozulmalarına karşı korumak, besinlerin raf ömrünü uzatmak, doğal renk ve aromayı korumak amacıyla kullanılan maddelerdir (Anonim, 2002; Küçüköner, 2006).

Gıda sektöründe tuz ve şekerler gibi doğal gıda koruyucular sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu maddelerin eklenmesi gıdaların tadını bozacağından belirli kullanım sınırlarının üstüne çıkılmaması gerekmektedir. Gıda endüstrisinde doğal gıda koruyucularına alternatif olarak benzoik asit ve tuzları, asetik asit ve asetatlar, propiyonik asit ve tuzları, nisin, sorbik asit ve tuzları, nitrit ve nitrat bileşikleri, kükürt dioksit ve çeşitli sülfidler gibi yapay antimikrobiyal maddeler yaygın olarak kullanılmaktadır (Küçüköner, 2006).

1.1.1. Sodyum Benzoat (SB)

Sodyum benzoat, E kodu E 210 olan benzoik asit'in (C_6H_5COOH) sodyum tuzudur. Benzoik asit genellikle meyvelerin çoğunda özellikle de kiraz ve kıvılcıkta bulunur. Meyvelere ek olarak, benzoatlar mantarlarda, tarçında, karanfilde ve bazı süt ürünlerinde (bakteriyel fermentasyon sonucu) doğal olarak bulunurlar (Altuğ, 2001; <http://www.ggd.org.tr/sss2.php?bolum=249#s786-30mart2011>). Ticari elde edilmek istenirse kimyasal olarak toluenden hazırlanır. Benzoik asidin sodyum tuzundan başka potasyum (E 212) ve kalsiyumdan (E 213) hazırlanmış tuzları da bulunmaktadır (<http://www.ggd.org.tr/sss2.php?bolum=249#s786-30mart2011>). Sodyum benzoatın kimyasal formülü $C_7H_5O_2Na$, CAS No. 532-32-1, molekül ağırlığı 144,11g/mol' dür. Erime noktası yaklaşık $300^{\circ}C$ 'dir. Suda iyi çözünür ($20^{\circ}C$ 'de 550-630g/lit). Suda çözünürlüğünün yanı sıra etanol, metanol ve etilen glikolde de çözünür. Yaklaşık % 50 oranında nem tutar. Litrede 10 gr sodyum benzoat çözeltisinin pH'sı yaklaşık 7,5'dir. Kuru sodyum benzoat sürtünmeyle elektriklenir (Maki ve Suzuki,1985; Stefanidou vd., 2003; Anonim, 2005).



Şekil 1.1. Sodyum benzoatın kimyasal formülü (Anonim, 2005)

Benzoik asit ve tuzları gıdalarda en yaygın olarak kullanılan koruyuculardır. Tuzların suda çözünürlükleri daha yüksek olduğundan, benzoik asit tuzları asit formuna göre daha fazla kullanılmaktadır. Sodyum benzoat ilk kez 1911' de yapay bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Stefanidou vd., 2003, Chen vd., 2009). Dünyada 1997'den beri pek çok üründe yaklaşık 55000-60000 ton sodyum benzoatın gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılmasına izin verilmesine rağmen sodyum benzoatın hem WHO tarafından hem de FAO tarafından çevre ve insan üzerine etkileri araştırılmaktadır (Anonim, 2005).

Benzoatlar kek, okolata, soslar, katı ve sıvı yağlar, margarin, mayonez, alkolsüz içecekler, meyve suları, meyve kokteylleri, çeşitli şuruplar, turşular, süt tozu, patates tozu ve kuru maya gibi bazı gıdaların işlenmesi sırasında gıda koruyucusu olarak kullanılır (Srour, 1998; Altuğ, 2001; Küçüköner, 2006).

Benzoik asit ve tuzları maya ve kflere karşı etkilidir. Bakteriler için kullanılması tavsiye edilmez nk pH 4,5 üzerinde etkileri azalır. Genellikle bakterilerin gelişimi bu pH'dan sonra yüksektir (Altuğ, 2001; Küçüköner, 2006). Sodyum benzoat 100-60000 mg/lt arasında değişen konsantrasyonlarında mantarların ve asidik ortamdaki bakteleri gelişmesini pH'a bağlı olarak inhibe eder (Anonim, 2005).

Sodyum benzoatın oral LD₅₀ değeri sıçanlar için 4100 (3720 - 4440) mg/kg va (vücut ağırlığı) (Smyth ve Carpenter, 1948), intravenöz LD₅₀ değeri 1714 ±124 mg/kg va (Hager vd., 1942), kediler ve köpekler için en düşük letal doz 2000 mg/kg va (Rost vd., 1913; Ellinger, 1923), kobaylar için intraperitoneal en düşük letal doz ise 1400 mg/kg va' dır (Ellinger, 1923). Bunun yanı sıra inkübasyonun 96. saatindeki tavuk embriyoları için 4,74 mg/yumurta olarak bildirilmiştir (Verrett vd.,1980).

Embriyonel gelişimin ilk ayına uyan ve kimyasalların, toksik maddelerin embriyonel gelişim üzerine etkilerinin incelendiği iyi bir model olan erken dönem tavuk embriyosu, kolay erişilebilirliği, ucuzluğu ve erken sonuç alınması, istenildiği zaman elde edilebilmesi ve ayrıca döllenmiş yumurtaların çalışmaya başlanmadan önce bir kaç hafta boyunca 10 – 14⁰C de saklanabilmesi gibi özellikleri ile tercih edilmektedir (Davey ve Tickle, 2007; Demirel, 2007; http://www.swarthmore.edu/NatSci/sgilber1/DB_lab/Chick/Chick_Observe.html).

Tavuk embriyolarıyla yapılan çok sayıda embriyotoksisite ve teratojenite çalışmaları bulunmaktadır. Erken embriyonik dönemdeki kanatlı embriyoları kullanarak alkolün (Baruuoğlu vd. 2001; Aydemir, 2006;), kotinin (Dalgıı vd., 2009), kafeinin (Albert, 2006), bazı ilaçların (Bilge ve Bingöl, 1976; Güney vd., 1999; Demirel, 2007), mikotoksinlerin (Cilieveci vd., 1980; Vesely vd., 1982; Prelusky vd., 1987; Vesely ve Vesela, 1991; elik vd., 2000; Henry ve Wyatt 2001; Sur, 2001), herbisitlerin (Ahmed vd., 1988; Varnagy vd., 2002; Matsushita, 2006), insektisitlerin (zparlak, 2006), fungusitlerin (Maci ve Arias 1987), ağır metallerin (Kaya vd., 1995), endüstriyel bileşiklerin (Elovaara vd., 1979;

Korhonen vd., 1982; Korhonen vd., 1983; Chibber ve Gilani 1986; Özcan 1992), su, aseton, alkol gibi çözücülerin (Mclaughlin vd., 1963) ve diğer bazı bileşiklerin (Harold vd., 1987; Brunström vd., 1990; Becker ve Shipley, 1998; Zhang vd., 2002; Molina vd., 2006; Oğuz vd., 2008) etkilerini araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır.

Tavuk yumurtalarında sodyum benzoatla yapılan embriyotoksisite çalışmaları sınırlı sayıda olup 1980 ve 1985 yıllarında yapılmıştır. Bu çalışmalarda inkubasyonun farklı zamanlarında farklı dozlarda (5mg/yumurta ve 0,1 mg/yumurta) yumurtaya enjekte edilen sodyum benzoatın embriyotoksik etkisinin olmadığı söylenmiştir (Verrett vd.,1980; Jelinek vd., 1985) .

1.2.Tavuk Yumurtasının Yapısı

Tavuk yumurtası, vitellus, albumin, kabuk altındaki zarlar ve kireç kabuktan oluşur (Hamilton 1952; Patten 1971; Türkoğlu ve Sarıca, 2004; Özparlak, 2006).

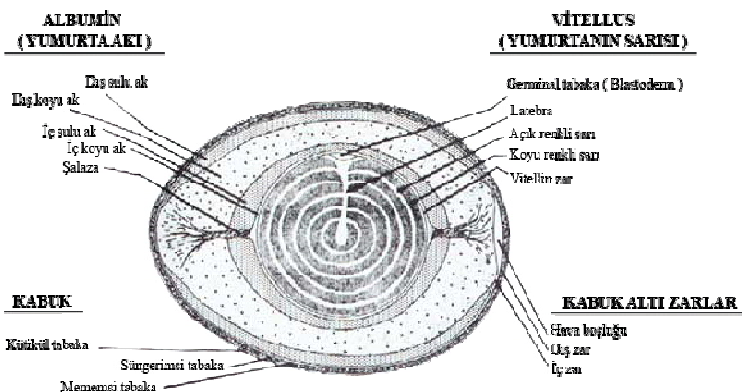
Yumurta kabuğu, yumurtayı dış etkilere karşı koruyan ve şeklini veren kısımdır. Yumurta ağırlığının % 10-12'sini oluşturur ve uterusu zarlar üzerine kireç birikmesi ile oluşur. Kireç kabuğun uterusu yapımı yaklaşık 20 saat sürer. Kireç kabuk, büyük ölçüde tavuğun besininden elde edilen kalsiyum tuzlarından oluşur. (Patten, 1971; Smith, 1997; Özparlak, 2006). Yapısının % 95'i inorganik maddelerden oluşan yaklaşık % 94'ü kalsiyum karbonattır. Az miktarda magnezyum karbonat, kalsiyum fosfat, organik maddeler ve fosfat bulunur. Kabuğun bileşiminde her genotipin kendine has kabuk rengini veren renk maddeleri vardır. Yumurta kabuğu iç ve dış kabuk olmak üzere iki tabakadan oluşur. İç kabuk süngerimsi bir yapıda olup üzerinde mememsi çıkıntılar vardır. Yumurta kabuğunun üzerinde çevre ile gaz ve nem alış-verişini sağlayan gözenekler (por) bulunur (Türkoğlu ve Sarıca 2004).

Kabuk Altı Zarları, isthimusta (yumurta kanalının bir bölümü) oluşur. Kabuğun hemen altında birbirine yapışık iki zar bulunur. İç kısımdaki zar (15-25µm) yumurta akımı sarmakta, dış zar (50-70µm) ise kabuğun iç kısmını kaplamaktadır. Glikoprotein yapıdaki zar gaz geçişini engellemezken bakterilerin içeri girmesine engel olurlar (Türkoğlu ve Sarıca 2004). Yumurta dışarı bırakıldığında 41⁰C'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 (Patten, 1971; Hamilton, 1952; Türkoğlu ve Sarıca, 2004; Özparlak, 2006).

Albumin (yumurta akı), yumurta ağırlığının % 58'ini oluşturur. Ovaryuma yakın ovidukt kısmında sentezlenir. Glikoprotein (ovomukoid, ovomusin gibi) ve protein (ovokon albumin, ovoglobulin gibi) yapısındadır. Albuminin içine şalaza denilen ve vitellusun iki yanından yumurtanın uzun uçlarında kabuk altı zarlara doğru uzanan bağlardan oluşan yapı vardır. Bu bağlar sayesinde vitellus merkezde tutulur. Şalaza dışında kalan kısımları homojen bir yapıdadır. Ancak vitellus yakınındaki albümin periferadaki albuminden daha yoğundur. Embrioyu mekanik ve kimyasal etkilerden koruyan albumin aynı zamanda embriyonun büyümesi sırasında kullanılmak üzere besin deposu görevi de yapar (Türkoğlu ve Sarıca; 2004; Özparlak, 2006).

Vitellus (yumurta sarısı), açık ve koyu renkli sarı tabakalardan oluşmuştur. Açık renkli sarı kuluçkada civciv oluşumunda, koyu renkli sarı ise embriyonun beslenmesinden sorumludur. Yumurta sarısında sarı madde, germinal disk, latebra (yumurta sarısının merkezinde yerleşmiş beyaz alan) ve vitellin zar bulunmaktadır. Sarının üzeri vitellin zar ile kaplıdır. Bu zar ince, kuvvetli ve renksiz bir zar olup vitellusun albumin içinde dağılmasını önlemektedir. Bu zarın hemen altında beyaz ve açık renkli görülen küçük nokta germinal disk (blastodisk) denilen yapıdır. Germinal disk dölşüz yumurtalarda düzensiz bulunurken döllü yumurtalarda düz, iri ve yuvarlaktır. Germinal disk sarının merkezine, embriyonun beslenmesinde işlev gören, latebra olarak adlandırılan bir kanalla bağlanır (Türkoğlu ve Sarıca 2004).



Şekil 1.2. Tavuk Yumurtasının Kısımları (Türkoğlu ve Sarıca 2004)

1.3. Tavuklarda Embriyonik Gelişim

Tavuklarda embriyo gelişmesi yumurtanın döllendikten sonra yumurtlamaya kadar devam eden, yumurtanın dış ortamda soğuma düzeyine göre minimuma inen ve şartlar uygun hale geldiğinde devam eden süreçtir. Çiftleşmeden hemen sonra sperm hücreleri infundibulumda hareket ederler ya da sperm tüplerinde depolanırlar. Ovulasyonla birlikte LH salgısının etkisiyle spermler yumurtayı döllenmek üzere 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 yumurtlandığı anda tamamlandığı düşünülmektedir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Kuluçka başladıktan sonra kalınlaşan hücre tabakası embriyonun kuyruk kısmında görünür hale gelmeye baslar. Bu primitif çizgi adını alır.

Tavuk embriyosu gelişimi 4 dönemde gerçekleşir ;

Birinci dönem, iç organların gelişmeye başladığı ve kalp atışının gerçekleştiği 1-5. günleridir. İlk günde primitif çizgi oluşur (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Embriyonun başı ayırt edilebilir, sindirim sisteminin öncüsü ön barsak şekillenir, kan adacıkları görülür ve nöral oluğu oluşturacak olan yarık oluşur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). 2. günde kalp gelişir ve atmaya başlar. Göz çukuru, kuyruk ve kulak yolu oluşmaya başlar (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Nöral oluk şekillenir. Baş bölgesi gelişir. Kulak gelişmeye başlar ve göz merceği oluşur. 3 günlük embriyoda faringeal bölgenin posterioründe vaginasyon ile laringo-trakeal oluk şekillenir. Daha sonra bu yapı trake olarak kaudale doğru büyür. Trake özofagus ile yaklaşık olarak paralel seyredir. 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 yaklaşır ve embriyo “C” şeklini alır. Kuluçkanın 4. günü sona ererken embriyo yaşamak için

ihtiyaç duyduğu tüm organlara sahiptir ve embriyonun tüm kısımları tanımlanabilir (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). Kalp atışlarının başladığı ve dolaşımın yeterli seviyeye ulaştığı zamana kadar olan 1-3. günler arasında embriyo gelişimi için 1. kritik dönem olarak kabul edilir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004).

İkinci dönem, dış organların gelişmeye başladığı 6-14. günleri kapsar. 6.günde embriyo normal şeklini alır, kanat ve bacak görülmeye başlar (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Kuluçkanın 7. gününde kanat ve ayak parmakları görünür hale gelir, kalp bütünüyle torasik boşluğu doldurur ve embriyo büyük ölçüde kuşa benzer (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). 8. günde tüy bölgeleri görülür. 9. günde embriyo tam civciv görünümünü kazanmıştır. 10. günde gaga sertleşir, bacaklarda pulcuklar ve ayak parmakları belirmeye başlar (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Kuluçkanın 10. gününden sonra tüyler görünür bir hale gelir (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). 11. günde bacak ve kanat hareketleri başlar, barsaklar görülür. 12. günde ana tüyler görülmeye başlar. 13. günde iskelet ve tırnaklar gelişmeye başlar. 14. günde embriyonun başı yumurtanın küt ucuna yönelir ve embriyo yumurtanın uzun eksenine paralel duruma gelir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004).

Üçüncü dönem, embriyonun büyüdüğü 15-20. günlerdir. 15-16. günlerde ayaktaki pullar ve tırnaklar sertleşir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). Albumin desteği 16. günde tükenir. Böylece vitellus besin için temel kaynak olur (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006). 17. günde embriyo çıkış pozisyonunu alır. 16-18. günlerde amniyon sıvısı ve amnion tamamen biter. 19. günde üst gagada civciv dişi denilen sert yapı meydana gelir. 20. günde allantoik solunum durur. Göbek kapanmaya başlar. Civciv başını solunum için hava boşluğuna sokar ve buradaki CO₂ ile karşılaştığında akciğer solunumu başlar. Civciv kabuğu delerek dış ortamdan O₂ girişini sağlayarak normal solunuma başlar. Embriyo gelişim döneminde bu dönem 2. kritik dönem olarak kabul edilir (Türkoğlu ve Sarıca, 2004).

Dördüncü dönem, civciv çıkışının gerçekleştiği 21. gündür (Türkoğlu ve Sarıca, 2004). 21. günün sonunda yumurta dişi ve boynun arkasındaki kasların yardımı ile yumurta kabuğu kırılır. Yumurtadan çıktıktan sonra civcivin göbek açıklığı kapanır ve daha sonra tamamen kurur. Civcivin yumurtadan çıkışından 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 sağlayabilir. Bu sayede yumurtadan çıkan civciv 72 saat boyunca beslenmeksizin yaşayabilir (Romanoff, 1997; Özparlak, 2006).

1.4. Karaciğer Gelişimi

Piliçte karaciğer gelişimi inkübasyonun yaklaşık 33. saatinde kardio-hepatik bölge olarak isimlendirilen alanda, midenin kaudali, barsağın ventralinde endodermal çıkıntı şeklinde başlar. Hepatik divertikül ya da karaciğer tomurcuğu da denen bu çıkıntı hızlı proliferasyon gösteren hücrelerden meydana gelir. Kalp tamamen mezodermal yapıdadır. Karaciğer ise endodermden oluşur. 14. safhada karaciğerin yapısına mesoderm de katılır. Endodermal yapı anterior (sol) ve posterior (sağ) olarak iki divertiküle bölünür ve barsak tabanı kapanırken karaciğer tomurcuğu, barsağın ventral duvarında uzamaya başlar. 4 günlük embriyoda bu çıkıntı dallanıp hücre kordonları oluşturur. Gelişmekte olan hücre kordonları gittikçe artar ve birbirleriyle kaynaşarak üç boyutlu bir ağ oluştururlar. Karaciğer hücreleri, perikard boşluğu ve vitellüs sapı arasındaki mezodermal plak (septum transversum) içine girmeye devam ederken, yaklaşık 18. evrede hepatik divertikül ile ön barsak arasındaki bağlantı daralarak safra kanallarını oluşturur (Bellairs ve Osmond, 2005).

Canlılarda embriyonik gelişim sırasında bazı iç ve dış faktörlerin organogenez üzerinde çeşitli etkileri olmaktadır. Bu etkiler genelde organların yapısı ve buna bağlı olarak fonksiyonlarında olumsuz yönde ortaya çıkmaktadır. Bu tip olumsuz etkiye neden olan maddelerden bazıları gıda katkı maddeleridir. Bu yüzden gıda katkı maddeleri kullanımında; insan sağlığına zararlı olmaması ve bunun yasalarla belirlenmiş olması, kullanım sebebinin teknolojik olarak zorunlu olması, izin verilen besinlerde ve izin verilen miktarlarda kullanılması ve besinin besin değerini azaltmaması dikkat edilmesi gereken önemli noktalardır (Yurttagül ve Ayaz, 2008). Kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddeleri sürekli olarak alındığında ya da belirtilen dozların dışında kullanıldıklarında toksik etkiler gösterebilmekte ve insan sağlığı açısından zarar verici olabilmektedir (Briggs, 1997; Sarıkaya ve Solak, 2003). Kullanılan gıda katkı maddeleri sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanılsalar dahi bir süre sonra vücutta birikerek insan sağlığını tehdit edebilecek miktarlara ulaşabileceği, dokularda hasar meydana getirebileceği, insan için mutajenik ve karsinojenik olabileceği göz ardı edilmemelidir (Sarıkaya ve Solak, 2003). Nitekim gıda katkı maddelerinin tüketimi arttıkça, bazı rahatsızlıklarla olan bağlantılara yönelik bulgular da ortaya çıkmıştır. Bunların içinde en sıkça görülenleri, öksürük, nefes darlığı, baş ağrısı,

alerjik kaşıntılar, gastrik rahatsızlıklar, ishal, hiperaktiflik (özellikle çocuklarda) ve aşırı duyarlılıktır (hypersensitivity) (Güneşli, 2000).

Yapılan literatür taramalarında sodyum benzoatın tavuk embriyolarındaki etkilerini histolojik yönden ele alan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında hazır - yarı hazır gıdalarda koruyucu olarak kullanılan sodyum benzoat uygulamasının piliç embriyolarının gelişimi ile fonksiyonel ilişkisinin araştırılması, karaciğer dokusu üzerine olası gelişim bozukluklarının histolojik olarak belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışma sodyum benzoatın gıdalarda koruyucu madde olarak güvenli bir şekilde kullanılıp kullanılmayacağına ışık tutmasının yanı sıra, özellikle gebelik dönemindeki tüketiciler tarafından katkı maddesi olarak sodyum benzoat kullanılan gıdaları daha bilinçli tüketmesi hususunda ön bilgiler sağlayacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gıda katkı maddeleri ile ilgili biyokimyasal, fizyolojik, genotoksik ve embriyolojik çalışmalar önceki yıllardan beri yapılmakta olup son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Benzoik asit ve türevleri de bunlar arasındadır. Bu yöndeki çalışmalara benzoik asitin *Drosophila* üzerindeki genotoksik etkileri (Sarıkaya ve Solak, 2003), sodyum benzoatın fareler üzerine ontogenetik etkisi (Kamal ve Lashin, 1998), sitrik asitin farelerde kreatinkinaz (CK), laktatdehidrogenaz (LDH), alaninamino transferaz (ALT) ve aspartatamino transferaz (AST) enzimlerinin serum düzeyleri ile karaciğer, böbrek ve dalak dokularına histopatolojik etkileri örnek olarak verilebilir (Aktaş vd., 2003).

Allium cepa kökünde beş farklı gıda koruyucusunun (sodyum benzoat, borik asit, sitrik asit, potasyum sitrat, sodyum sitrat) genotoksik etkisi araştırılmış ve C-mitoz, anafaz köprüleri, mikronukleus, kalgın kromozom, yapışkanlık, kırıklar ve eşit olmayan kromozom dağılımları gözlenmiştir (Türkoğlu, 2007). Njagi ve Gopalan (1982) tarafından yapılan çalışmada sodyum benzoatın *Vicia faba* kök hücrelerinde DNA sentezini engellediği, anafaz köprülerine ve kromozom kondensasyonuna neden olduğu, piknotik nükleus ve kromatin hasarı oluşumu yol açtığı gösterilmiştir.

Ishidate vd., (1984) çalışmalarında sodyum benzoat ile AMES testi (3 mg / plaka) yapmışlar ve sonuçların negatif olduğunu belirlemişlerdir. Çin hamsteri hücre kültürüne uygulanan farklı dozlardaki (139, 10, 2 mg / ml) sodyum benzoatın kromozom anormallikleri testinde pozitif sonuç verdiğini saptamışlardır (Ishidate ve Odashima, 1977; Ishidate vd., 1980; Ishidate vd., 1984) .

Yapılan çalışmalarla sodyum benzoatın farklı canlılarda çeşitli fizyolojik sistemleri olumsuz etkilediği görülmüştür. Kedilerde sodyum benzoat içeren gıda alımından 14 - 16 saat sonra saldırganlık, heperestezi ve ruhsal çöküntü, histopatolojik değerlendirmelerde ise karaciğer, böbrek ve akciğerlerde dejeneratif değişiklikler saptanmıştır (Bedford ve Clarke, 1972).

Sodyum benzoatın yüksek dozlarına maruz bırakılan sıçanların vücut ağırlığında, karaciğer ve akciğerdeki trombosit sayısında önemli bir azalma, ayrıca uyarılma, ataksi, konvülsiyon ve beyinde histopatolojik değişikliklerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Kreis vd., 1967). Farelerde yapılan histolojik çalışmalarda karaciğer

hücrelerinde aşırı nekrotik görünüm, şiddetli vakuolizasyon, karaciğer hücre displazisi gözlenmiştir (Sinha ve D'Souza, 2010).

Toth (1984) beş hafta boyunca fareleri oral yolla sodyum benzoata maruz bırakmış ve canlı ağırlıklarında önemli bir azalma olduğunu belirtmiştir. Fujitani (1993)'nin Toth (1984)'a benzer yaptığı çalışmada ise sıçanları on gün boyunca oral olarak farklı dozlarda sodyum benzoata maruz bırakmış ve depresif klinik bulgular gösteren erkek bireylerde kilo artışından söz etmiştir. Fujitani'nin (1993) çalışmasında biyokimyasal olarak kolesterol ve kolinesteraz enzimlerinde düşüş, albümin total protein ve gamma-glutamil transpeptidaz seviyesinde artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca böbrek ve karaciğer ağırlıklarında artış ile birlikte karaciğerin histolojik incelemelerinde portal ven etrafında eozinofilik odaklar, genişlemiş hepatositler görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada dişi bireylerde karaciğer ve böbrek ağırlıklarının arttığı, kolesterol ve fosfolipid seviyelerinde yükselmeler tespit edilmiştir. Histolojik değerlendirmelerde hepatositlerde eosinofili, genişleme vakuolizasyon ve nekroz gözlenmiştir.

İnsanlarda ise sodyum benzoatın oral, dermal ya da soluma yoluyla alınması ile ürtiker, astım, rinit veya anaflaktik şok geliştiği belirtilmiş, septomların düşük dozlara maruz kalırsa bile ortaya çıktığı bildirilmiştir (Maibach ve Johnson, 1975; Clemmensen ve Hjorth, 1982; Larmi vd., 1988; Anderson, 1996; Bindslev-Jensen, 1988; Coverly vd., 1998).

Sodyum benzoatın farklı canlılar ve tavuk yumurtalarında gelişim üzerine etkilerini inceleyen embriyotoksisite çalışmaları ise sınırlı sayıdadır. *Xenopus laevis* embriyolarında gelişimsel toksisite etkileri, kranyofasiyal kusurlar ve anormal barsak kıvrılmaları belirlenmiştir (Dawson vd., 1996).

Tsay vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada sodyum benzoata maruz bırakılan zebra balığı larvalarının motor aksonlarında ve nöromusküler bağlantılarında önemli hasarlar gözlenmiş, bunun sonucunda sodyum benzoatın nörotoksik olduğu ileri sürülmüştür.

Önceki yıllardaki Minor ve Becker (1971) tarafından sıçanlarla yapılan araştırmada günlük 1000 mg/kg sodyum benzoatın fetotoksik ve teratojenik etkileri olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte tavuklarda inkubasyonun farklı zamanlarında farklı dozlarda sodyum benzoatın embriyotoksik etkileri araştırılmış,

embriyotoksik ve teratojenik olmadığı bildirilmiştir (Verrett vd.,1980; Jelinek vd., 1985).

Tüm gebelik süresince farklı dozlarda (0-500-1000-2000-4000mg/kg va) sodyum benzoata maruz bırakılan gebe sıçanlarla yapılan çalışmada annede canlı ağırlık artışında, gıda tüketiminde, fetus ağırlığında azalma ve doğumdan kısa bir süre sonra yavrularda % 100 ölüm, iskelet sisteminde ve beyin, böbrek, göz gibi organlarda malformasyon ve anormallikler, % 1 fetusta çift taraflı gözsüzlük, % 2 piyelektazi (renal pelvis genişlemesi) gözleendiği belirtilmiştir (Onodera vd., 1978).

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 temin edilecek yaklaşık 200 adet Legorn cinsi embriyolu tavuk yumurtası kullanılmıştır.

Kuluçka süresi yirmi bir gün olan tavuklarda embriyoların gelişim evreleri Hamburger ve Hamilton (1992) skalasına (HH skalası) göre belirlenip, organların oluşumu bu skalaya göre değerlendirilmiştir. Buna göre tavuk embriyosunun kuluçka günlerine göre gelişme evreleri aşağıdaki gibidir (Hamburger ve Hamilton, 1992; Özparlak, 2006) (Şekil 3.1).

Çalışma kontrol ve uygulama olmak üzere iki gruba ayrılmıştır;

Kontrol grubu için inkübasyonun 5. gününde (Evre 27) alınan SPF dömlü yumurtalardan 80 tanesi açılmayan yumurtalar ve sodyum benzoat için çözücü olarak kullanılan distile su enjeksiyonu yapılan gruplar olarak iki ayrılmıştır. Distile su kontrol grubunda yumurtalar açıldıktan sonra 0,1 ml distile su G27 iğne ile enjekte edildikten sonra parafilmle kapatılarak inkübasyona devam etmesi için kuluçka makinesine (Brinsea Octagon) yerleştirilmiştir.

Uygulama grupları için inkübasyonun 5. gününde alınan 120 adet SPF dömlü yumurta ise sodyum benzoatın Türk Gıda Kodeksi'nde önerilen dozu olarak belirtilen 500-1000 mg/kg temel alınarak 250 mg/kg, 500 mg/kg ve 1000 mg/kg'lık çözeltilerin enjekte edileceği üç ayrı uygulama grubuna ayrılmış.

Deney grupları hazırlanması sırasında laboratuvara getirilen yumurtalar üç ayrı gruba ayrıldıktan sonra ağırlıkları ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Ortalamaları 60 g olan yumurtalar için distile su ile hazırlanmış ve yumurtaya enjekte edilecek olan 0,1 ml çözelti içinde uygulama miktarı kadar sodyum benzoat (Carloerba, Code: 366757) bulunan çözeltiler ayrı ayrı hazırlanmıştır. Enjeksiyon için steril edilen yumurtalara G27 iğne ile 0,1 ml sodyum benzoat çözeltisi enjekte edilmiştir. Enjeksiyon için açılan yumurta kabukları parafilmle kapatılarak inkübasyona bırakılmıştır.

Deney sonlandırılırken uygulama gruplarındaki embriyoların yarısı sodyum benzoata iki gün diğer yarısı ise beş gün maruz bırakılmıştır. Süresi dolan

embriyolar için yumurtalar açılarak canlı embriyolar serum fizyolojik (% 0,9'lük NaCl₂) ile vitellustan temizlenmiştir.

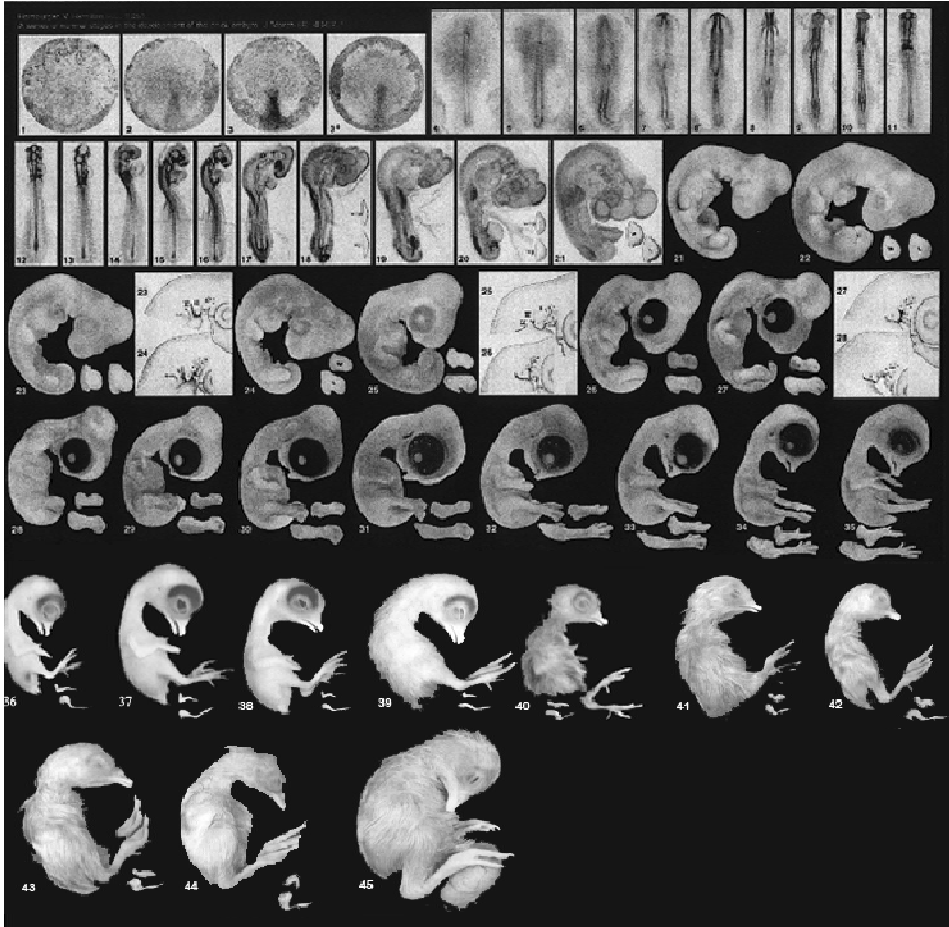
Histolojik preparasyon için embriyolar serum fizyolojiktan alındıktan sonra 7 günlükler (Evre 31) bütün olarak, 10 günlükler (Evre 36) ise baş ve üyeler ayrılarak Saint Marie solüsyonu ile +4 °C'de 24 saat tespit edilmiştir. Tespiti yapılan embriyolar önce dehidre edilmek için dereceli alkol serilerinden geçirilmiş daha sonra ksilol ile şeffaflaştırılmıştır. Bir gece 58 °C'de sıvı parafinde bekletildikten sonra doku blokları elde etmek için kalıplara dökülmüştür. Histolojik incelemeler için parafin bloklardan Rotary mikrotomda (Leica RM 2145) 5µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Embriyolarda histolojik inceleme amacı ile karaciğerin genel yapısı için Hematoksilen-Eosin (Mayer's) ve Gomoritrikrom, glikojen için Periyodik Asit ve Schiff (PAS), retiküler fibriller ve Nükleolar Organizasyon Bölgeleri (NOR) için Retikulum (Bio-Optica) ile boyanmıştır (Bancroft ve Cook, 1994).

Boyanan kesitler daimi preparat haline getirilmek için entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlardan karaciğer doku örnekleri mikroskopta (Olympus BX 51) incelenerek farklı büyütmelede fotoğrafları (Olympus E-330 digital kamera) çekilmiş ve değerlendirilmiştir.

- Evre 1 (SulkusPrimitivus Öncesi Evre): 0-6. saatler
- Evre 2 (BaslangıçSulkusPrimitivus Evresi): 6-7. saatler
- Evre 3 (Ara SulkusPrimitivus Evresi): 12-13. saatler
- Evre 4 (Belirgin SulkusPrimitivus Evresi): 18-19. saatler
- Evre 5 (Bas Çıkıntısının Gelistigi Evre): 19-22. saatler
- Evre 6 (Bas Kıvrımının Olustugu 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. gün¹
Evre 28: 5½ gün
Evre 29: 6. gün
Evre 30: 6½ gün
Evre 31: 7. gün¹
Evre 32: 7½ gün
Evre 33: 7½-8. günler
Evre 34: 8. gün
Evre 35: 8. ve 9. günler
Evre 36: 10. gün¹
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

¹ Çalışmada kullanılan evreler.



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

4. BULGULAR

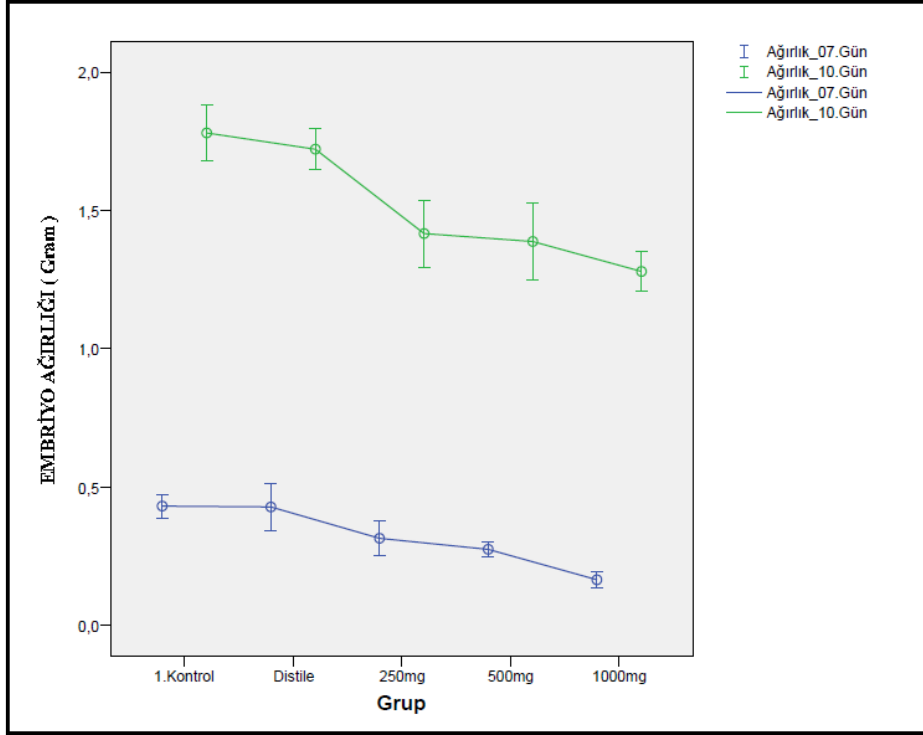
Çalışmada rutin histolojik yöntemlerle hazırlanıp boyanan tavuk embriyosu preparatları histopatolojik açıdan incelenmiş, önemli olarak tespit ettiğimiz bulgular fotoğraflanmıştır.

Yumurtaların makroskopik fotoğraflarından da görüleceği gibi, 7 günlük kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 10 günlük kontrol grubuna ait embriyolardaki damarlanmanın daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Ancak sodyum benzoata hem iki hem de beş gün maruz kalan gruplarda artan doza bağlı olarak damarlanmanın giderek azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.2).

SB'a 2 gün ve 5 gün maruz bırakılan embriyoların ortalama ağırlıkları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, madde uygulanan gruplarda artan madde miktarına bağlı olarak azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Şekil 4.1, Çizelge 4.1).

Histolojik incelemelerde, 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 histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır.

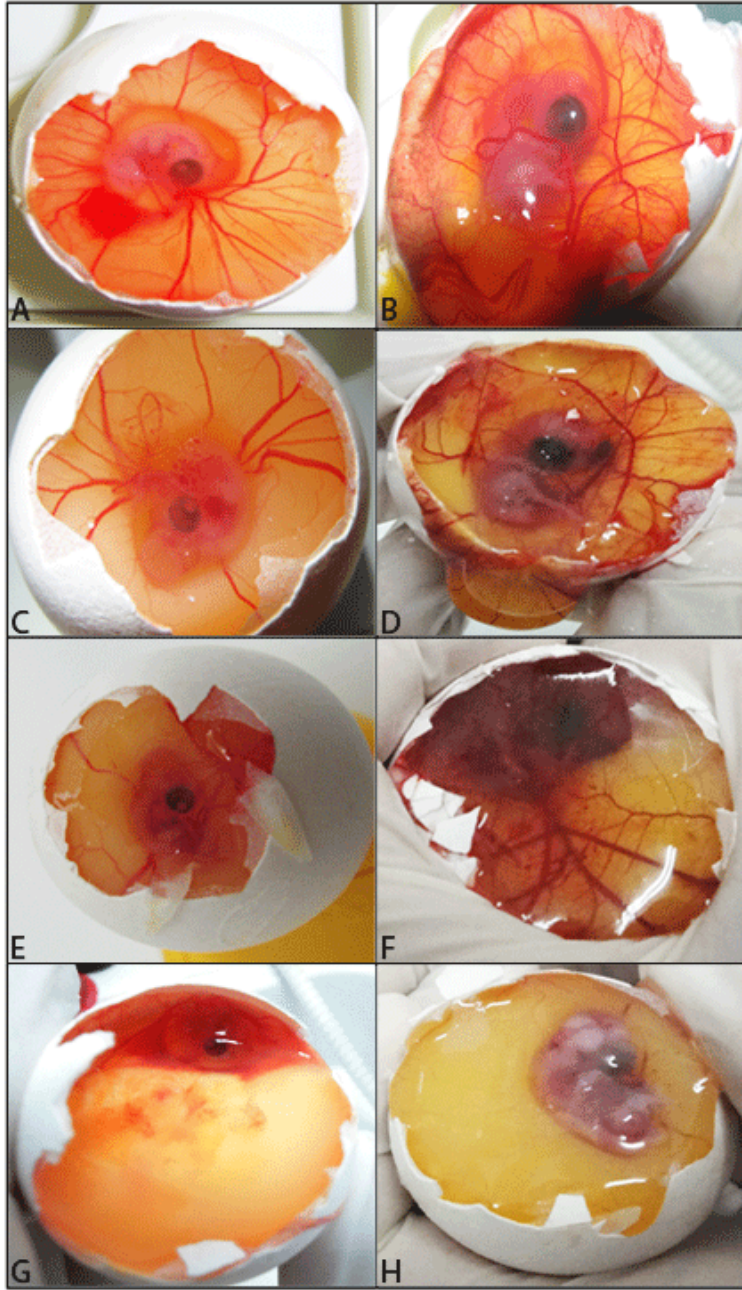
Yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda, sodyum benzoat uygulamasının tavuk embriyosu karaciğer dokusunda süre ve doza bağlı olan histopatolojik değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Embriyo ağırlıklarındaki azalmayı gösteren grafik

Çizelge 4.1. Embriyoların ortalama ağırlıkları ve standart sapmaları

	Grup	Örnek Sayısı	Ortalama ± SD
7 Günlük	Kontrol	10	0,43±0 ,05
	Distile Kontrol	10	0,42±0 ,11
	250 mg	10	0,31±0 ,08
	500 mg	10	0,27± 0,04
	1000 mg	10	0,16± 0,03
10 Günlük	Kontrol	10	1,78± 0,14
	Distile Kontrol	10	1,72± 0,10
	250 mg	10	1,41± 0,17
	500 mg	10	1,38± 0,19
	1000 mg	10	1,28± 0,09

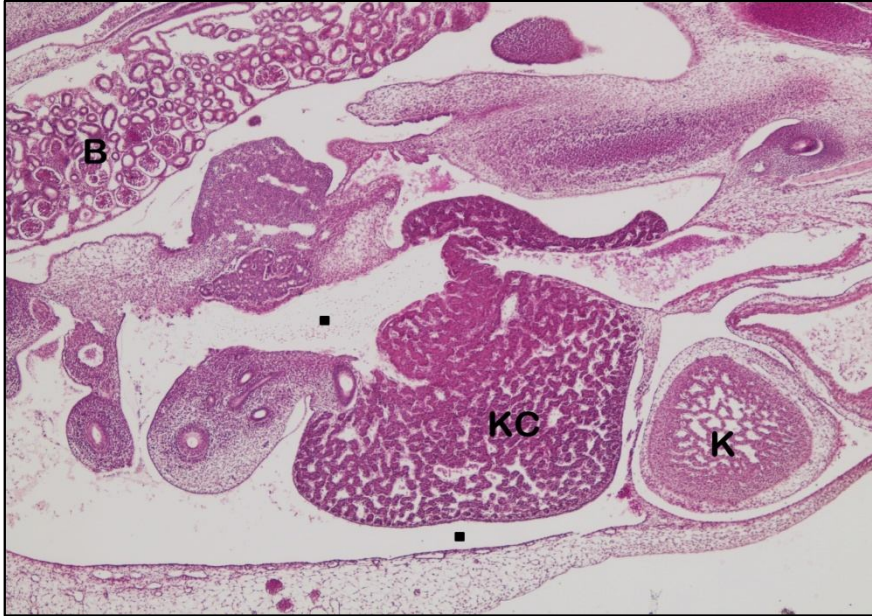


Şekil 4.2. Yumurtaların makroskobik fotoğrafları. A: 7 günlük kontrol, B: 10 günlük kontrol, C: 250 mg/kg 7günlük deney grubu, D: 250 mg/kg 10günlük deney grubu, E: 500 mg/kg 7günlük deney grubu, F: 500 mg/kg 10günlük deney grubu, G: 1000 mg/kg 7günlük deney grubu, H: 1000 mg/kg 10 günlük deney grubu

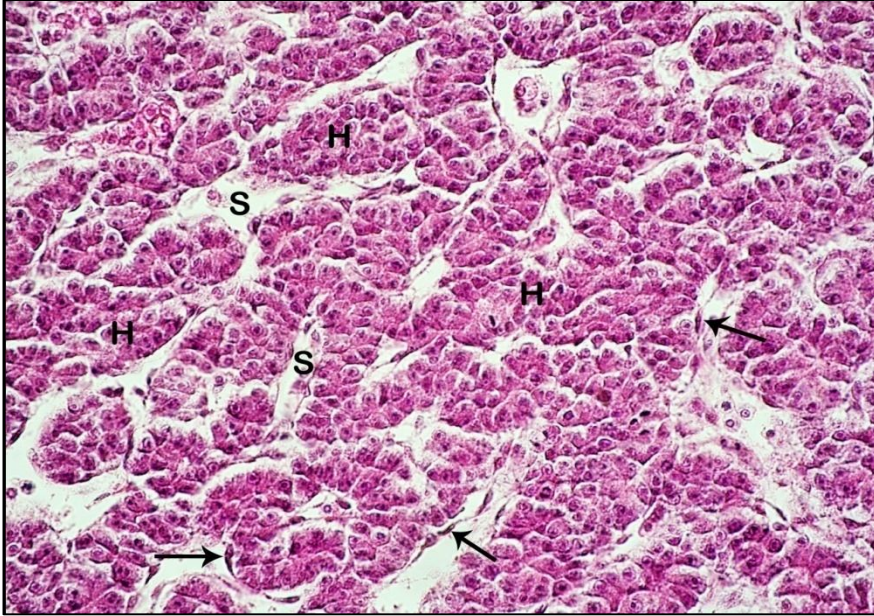
4.1. Sodyum Benzoata İki Gün Maruz Kalan Guruplar (Evre 31)

4.1.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grubu

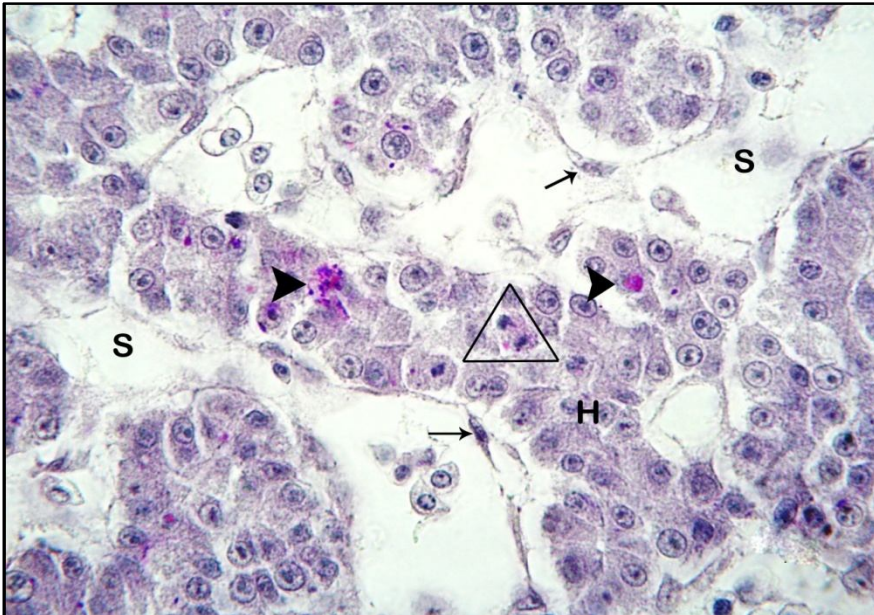
Gelişimin 7. gününde karaciğerin orta barsağın ventralinde, kardio-hepatik bölgede kalp ile yakın ilişkili olarak şekillendiği gözlenmiştir (Şekil 4.3). Sinusoidlerin lümeninde şekillenmiş kan hücrelerinin, duvarlarında ise endotel hücrelerinin yer aldığı izlenmiştir (Şekil 4.4). Sinusoidler arasında hücre kümeleri şeklinde düzenlenmiş hepatositler dendriform biçimde yayılarak karaciğer parankimasını oluşturmuştur (Şekil 4.5). Bu dönemde hepatositlerin kübik veya alçak prizmatik biçim kazandıkları ve bazılarının glikojen depoladıkları dikkati çekmiştir (Şekil 4.5,6). Yapılan retikulum boyamada, özellikle şekillenmeye başlamış venlerin etrafında daha yoğun olmak üzere, retiküler fibrillerin oluşmaya başladığı görülmüştür (Şekil 4.7,8). Nükleolar organizasyon bölgelerini (NOR) ortaya çıkaran aynı boyamada hepatosit çekirdeklerinde bu bölgelerin fazla olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.7,8). Ayrıca mitozun farklı evrelerinde oldukları belirlenen hepatositlere sıklıkla rastlanmıştır (Şekil 4.5).



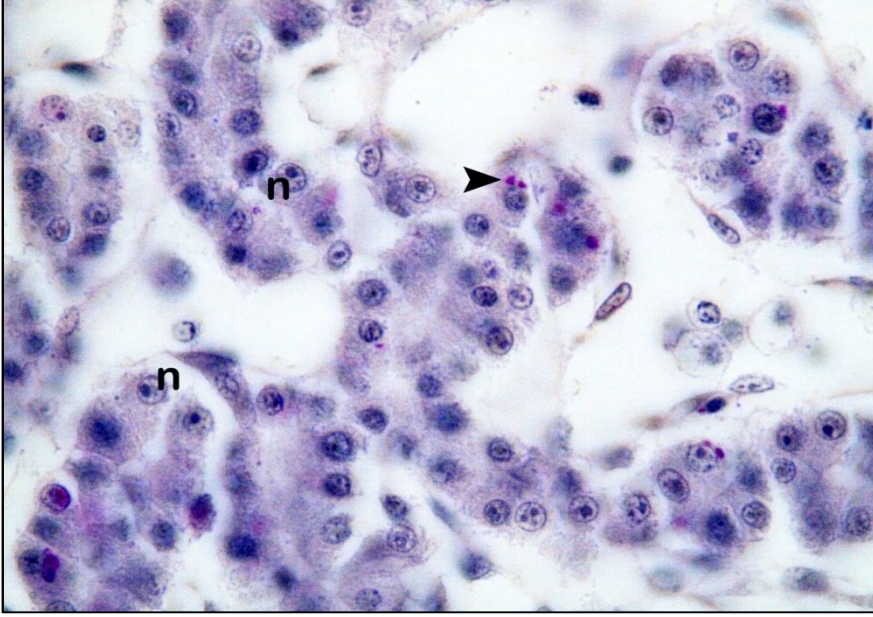
Şekil 4.3. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu kesiti. Karaciğer (KC), kalp (K), böbrek (B), hepatik kavite (■). H-E, X4



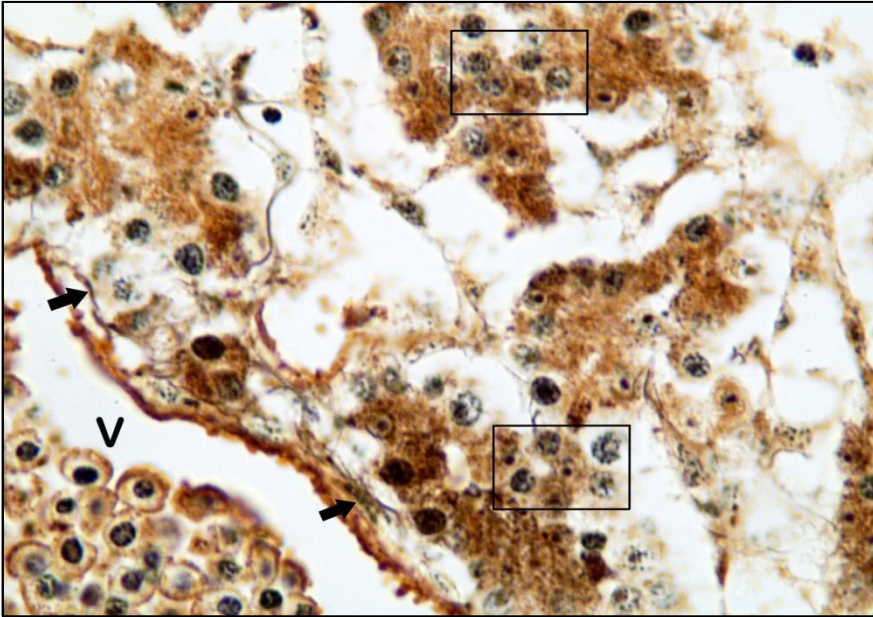
Şekil 4.4. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusu.
Hepatosit kümeleri (H), sinuzoid (S), endotel hücre (→).
H-E, X40



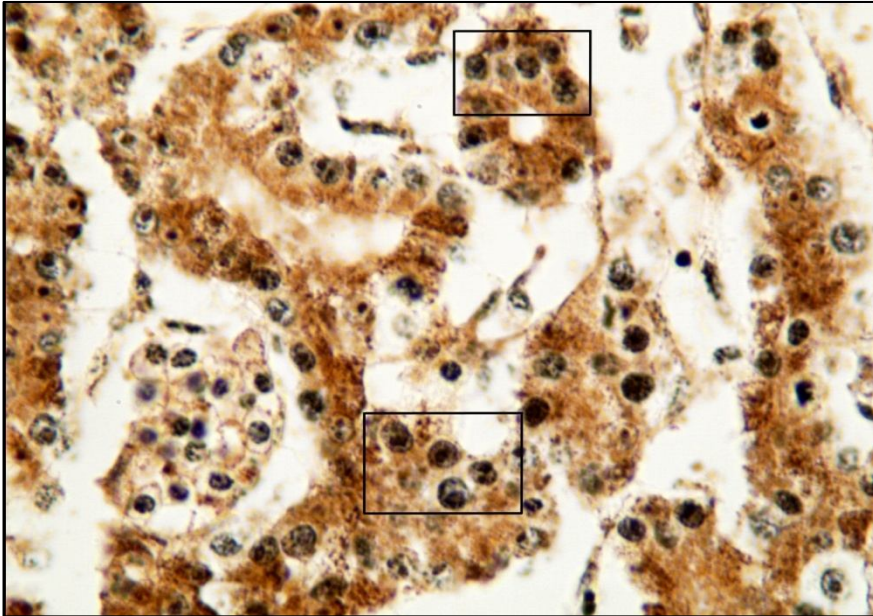
Şekil 4.5. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusunda
glikojen depolayan hepatositler (▶). Hepatosit kümeleri (H),
sinuzoid (S), endotel hücre (→), mitoz geçiren hücre (Δ).
PAS, X100



Şekil 4.6. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyolara ait karaciğer hücrelerindeki glikojen partikülleri (►), nükleus (n). PAS, X100



Şekil 4.7. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu karaciğer dokusunda venlerin (V) etrafında şekillenmeye başlamış retikülerfibriller (►), NOR bölgeleri belirgin nükleusa sahip hepatositler (□). Retikulum, X100



Şekil 4.8. Kontrol grubu, 7 günlük tavuk embriyosu NOR bölgelerinden zengin nükleusa sahip hepatositler (□). Retikulum, X100

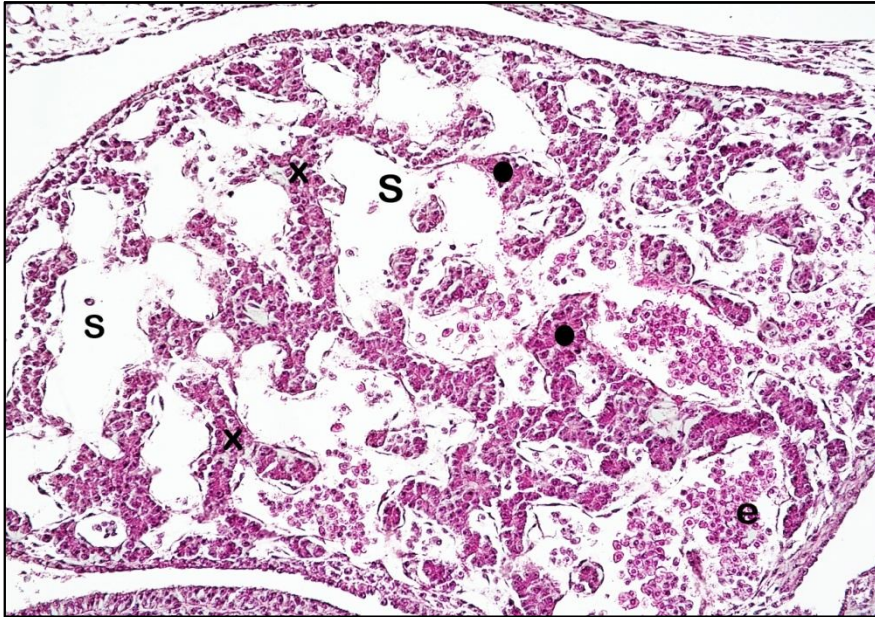
4.1.2. Deney Grupları

250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların histolojik kesitlerinde sinuzoidler oldukça geniştir ve duvarlarında kesintili endotel hücreleri yer almıştır. Çoğu sinuzoidte kan hücreleri görülmemiş, bazılarının ise kan hücrelerinden zengin olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.9). Karaciğerin periferinde hepatositlerin birkaç dağınık hücre topluluğu şeklinde yerleştiği, lobun daha merkezi kısımlarında ise daha çok hücreden oluşan hücre kümesi şeklinde düzenlendikleri belirlenmiştir (Şekil 4.9,10,11). Bu grupta karaciğer dokusunun hafif ödematöz sinuzoidlere sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.11). Yapılan PAS reaksiyonu ile hepatositlerde glikojen tespit edilememiştir (Şekil 4.12). Bölünen hepatosit sayısı fazla olmakla birlikte, çoğu bölünen hücrede kromozomlarda yapışkanlık ve kalgın kromozoma rastlanmıştır (Şekil 4.13,14). Yapılan retikulum boyamada retiküler fibriller de izlenmemiştir (Şekil 4.13,14).

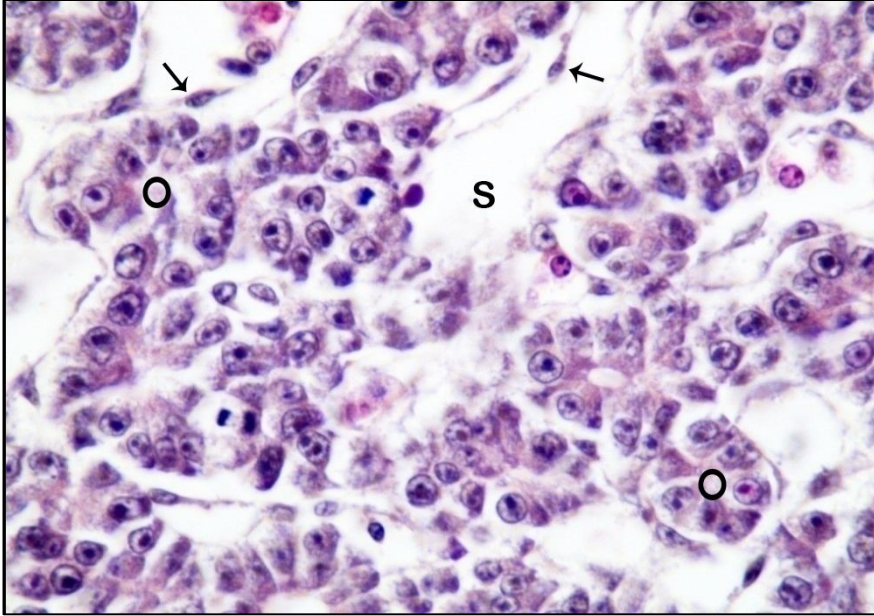
500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde sinuzoidlerin genişlediği ve endotelinde kopmalar meydana geldiği, bazı venlerin duvar yapısının bozulduğu ve kan hücrelerinde sitoplazmanın dağıldığı izlenmiştir (Şekil 4.15-18). Hepatositler bir yandan hücre kümesi şeklinde düzenlenirken, diğer

yandan kordonlaşma göstermektedir (Şekil 4.15,16). Bazı hepatositlerde piknotik nükleus ve sitoplazmada erime belirgindir (Şekil 4.16,19). Hepatositlerin glikojen depolamadıkları PAS reaksiyonu ile saptanmıştır (Şekil 4.20). Uygulanan gümüşleme tekniğinde hepatositlerde NOR bölgelerindeki azalma, bölünen hücrelerde yapışkanlık bunun yanı sıra anafaz köprüsü dikkat çekicidir (Şekil 4.21, 22).

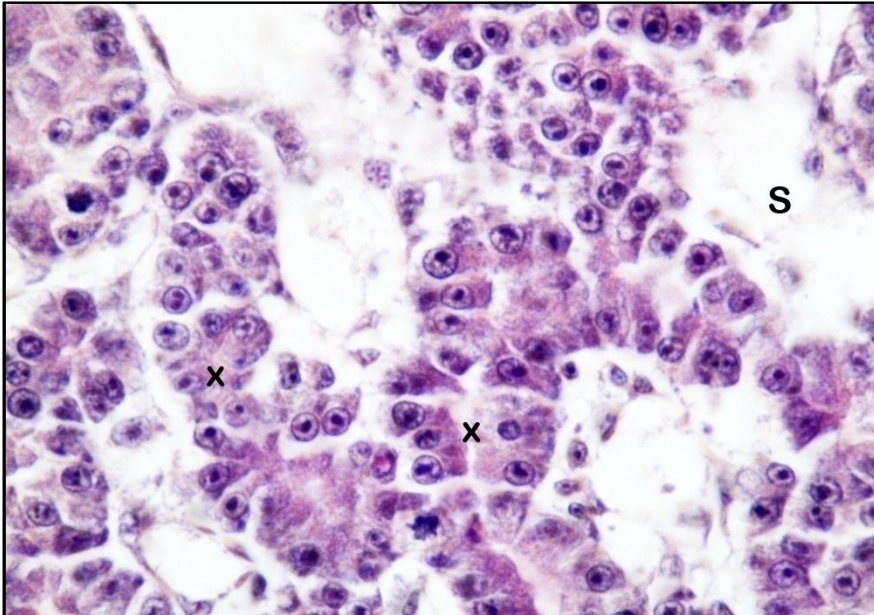
1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük bazı embriyoların histolojik kesitlerinde karaciğer ana damarının yoğun kan hücreleri içerdiği ancak bazı embriyolarda ise oldukça genişlemiş parankimal sinuzoidlerin kan hücrelerinden yoksun oldukları görülmüştür (Şekil 4.23,24). Parankimayı oluşturan hepatositler asinüs benzeri hücre kümeleri ve kordonlar şeklinde düzenlenmekle birlikte (Şekil 4.23), bazen belirgin bir düzen içerisinde olmadıkları izlenmiştir (Şekil 4.25-27). Bazı hepatositlerin sitoplazmalarında köpüğümsü görünüm ve dağılıma, nükleuslarında kromatin kondensasyonu ile karyolisis dikkat çekicidir (Şekil 4.25-28). Bu gruba ait karaciğer hücrelerinde glikojen belirlenmemiştir (Şekil 4.28). Ayrıca bölünen hücreler yok denecek kadar az sayıdadır ve pek çok hepatosit çekirdeğinde NOR bölgeleri görülememektedir (Şekil 4.29,30).



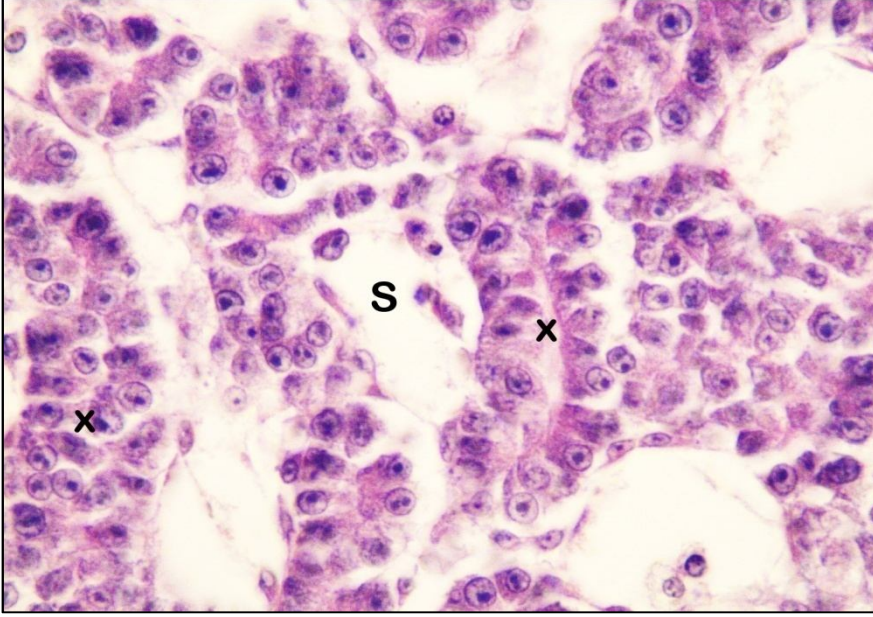
Şekil 4.9. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyo karaciğer dokusunda genişlemiş sinuzoidler (S),hepatositlerde kümeleri (●) ve kordonlaşma (x), eritrosit (e). HE, X10



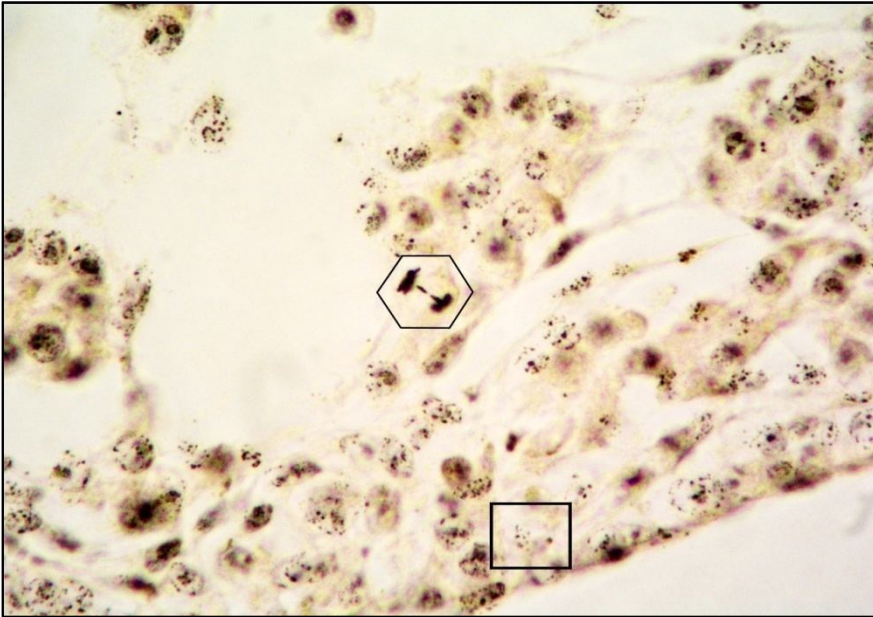
Şekil 4.10. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların karaciğerinde asinüs şeklinde düzenlenen hepatositler (O),sinuzoid (S), endotel hücresi (→). HE, X100



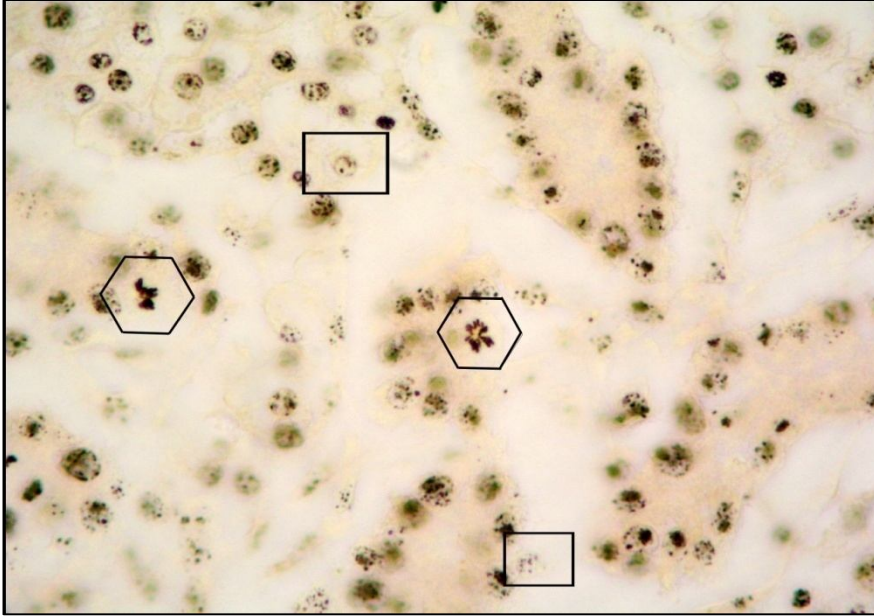
Şekil 4.11. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların karaciğerinde kordonlaşma gösteren hepatositler (x), sinuzoid (S). HE, X100



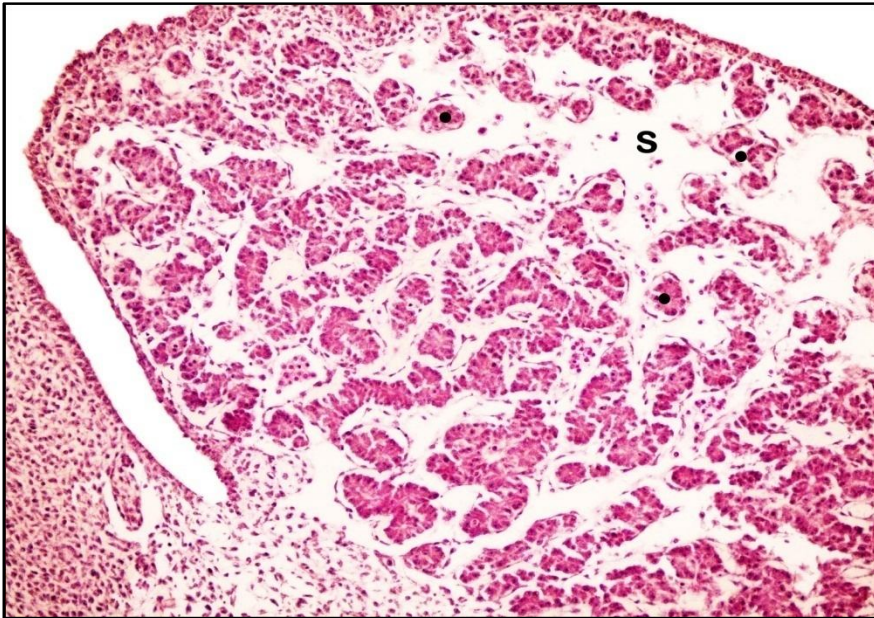
Şekil 4.12. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyolara ait karaciğer hepatositlerinin glikojen içermedikleri görülmektedir. Hepatosit kordonları (H), sinuzoid (S). PAS, X100



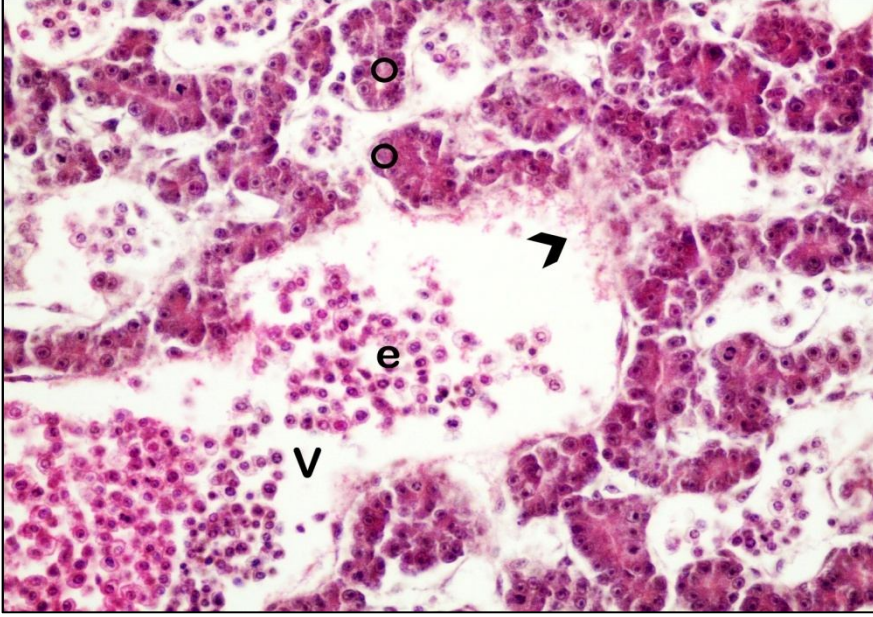
Şekil 4.13. 250 mg/kg SB'a maruz bırakılmış 7 günlük embriyoların bölünen hepatositlerinde görülen kalgın kromozom (◇), NOR bölgeleri azalan hepatosit (□). Retikulum, X100



Şekil 4.14. 250 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların bölünmekte olan karaciğer hücrelerinde kromozomlarda yapışkanlık (◇), NOR bölgeleri azalan hepatosit (□).Retikulum, X100



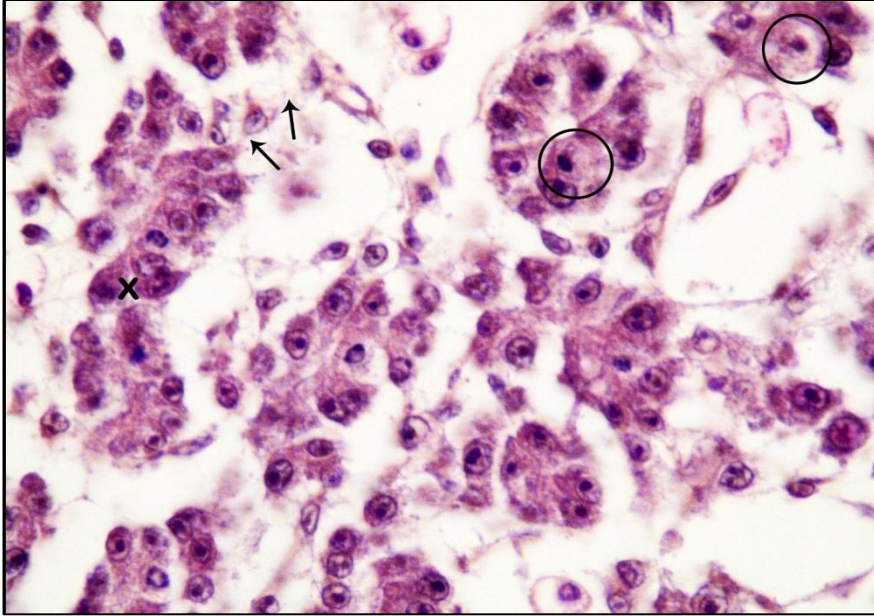
Şekil 4.15. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde kümeler oluşturmuş hepatositler (●). Genişlemiş sinusoidler (S). H-E, X20



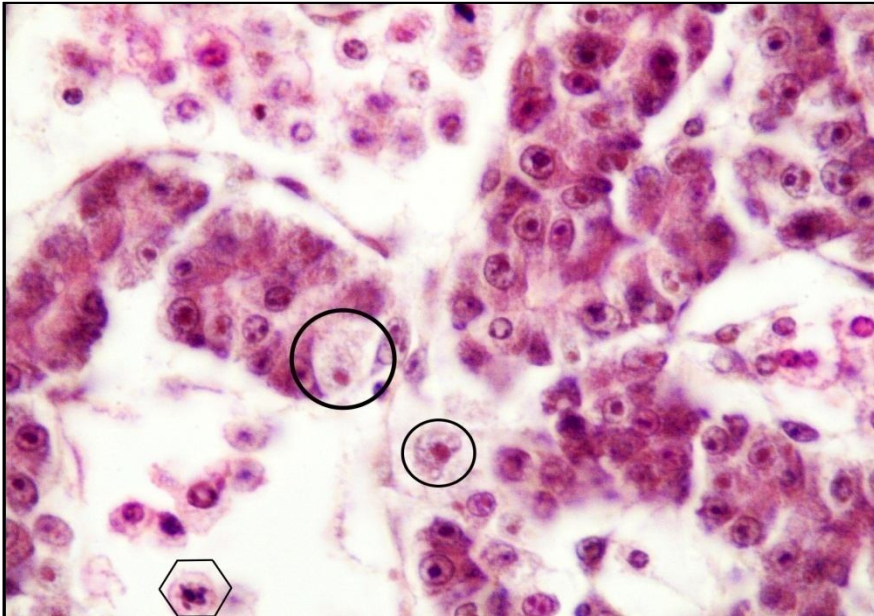
Şekil 4.16. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde venlerde dejenerasyon (➤), Vena centralis (V), hepatosit asinüsleri (O), sinuzoid (S), eritrosit (e). H-E, X100



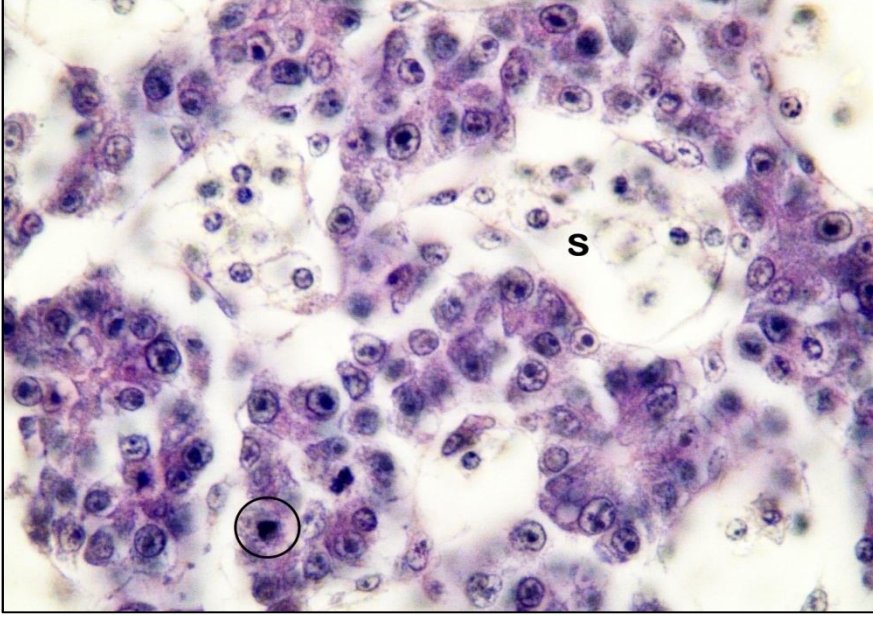
Şekil 4.17. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme ve kromatin kondensasyonu (◊). Sinuzoid (S), sitoplazması dağılmış eritrositler (e). H-E, X100



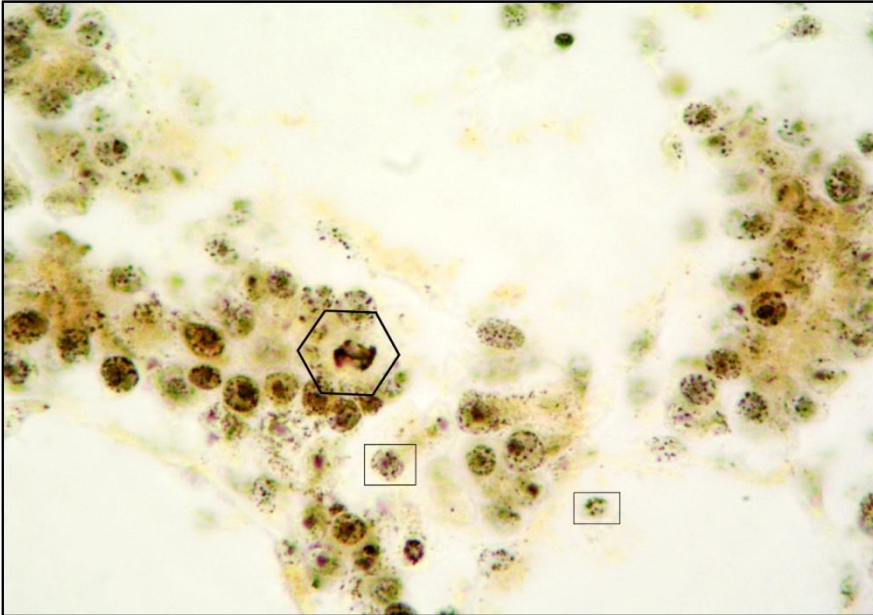
Şekil 4.18. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerlerinde hepatosit sınırlarında belirginsizlik, şişme ve piknotik nükleus (○), endotelde kopma (→), hepatosit kordonları (x). H-E, X100



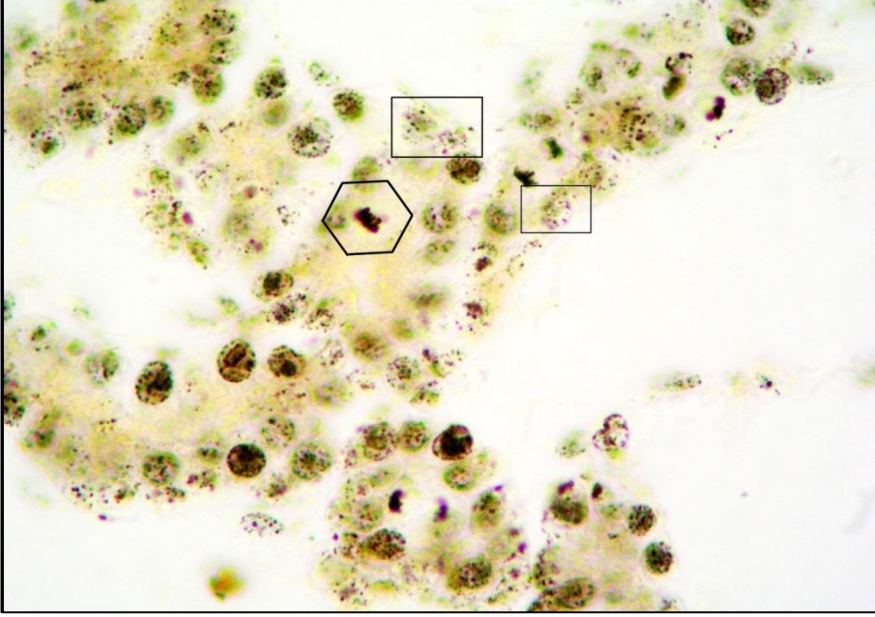
Şekil 4.19. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların sitoplazmik vakuolizasyona, kondanse kromatine (◇) ve piknotik nükleusa sahip hepatositleri. (○). H-E, 100X



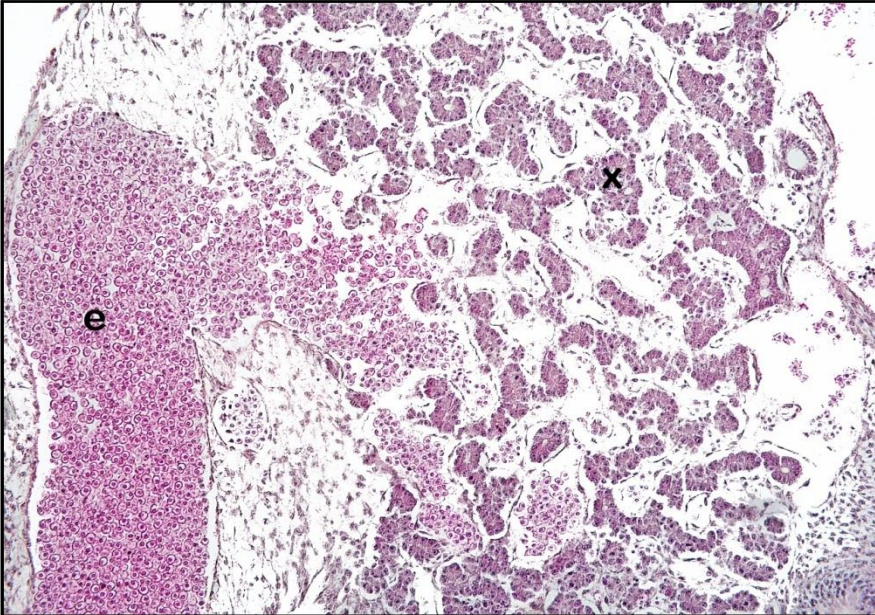
Şekil 4.20. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolara ait karaciğer hücrelerinin glikojen içermedikleri görülmektedir. Sinuzoid (S), piknotik nükleuslu hepatosit (O). PAS, X100



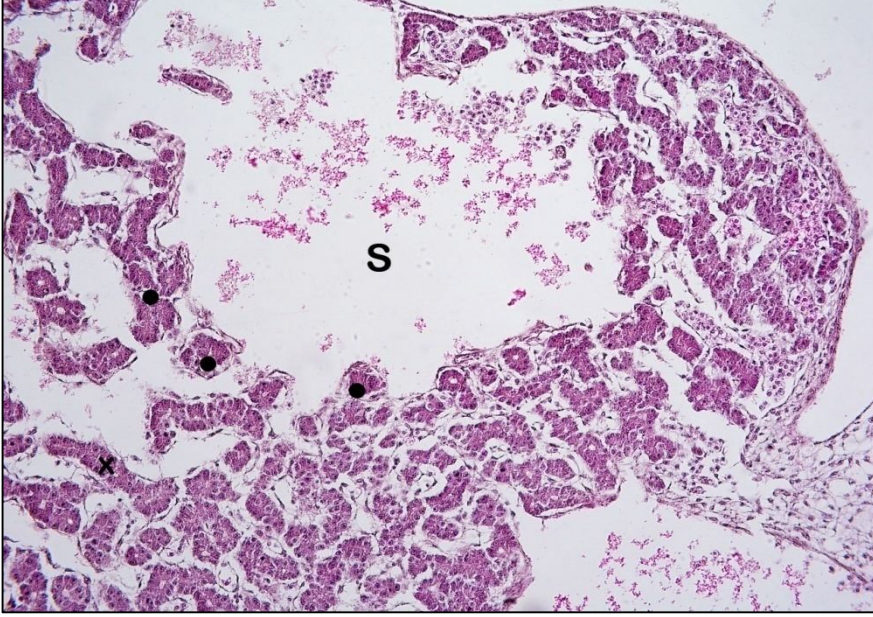
Şekil 4.21. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda NOR bölgeleri azalan hepatositler (□) ve bölünen hepatositlerde anafaz köprüsü (◇). Retikulum, 100X



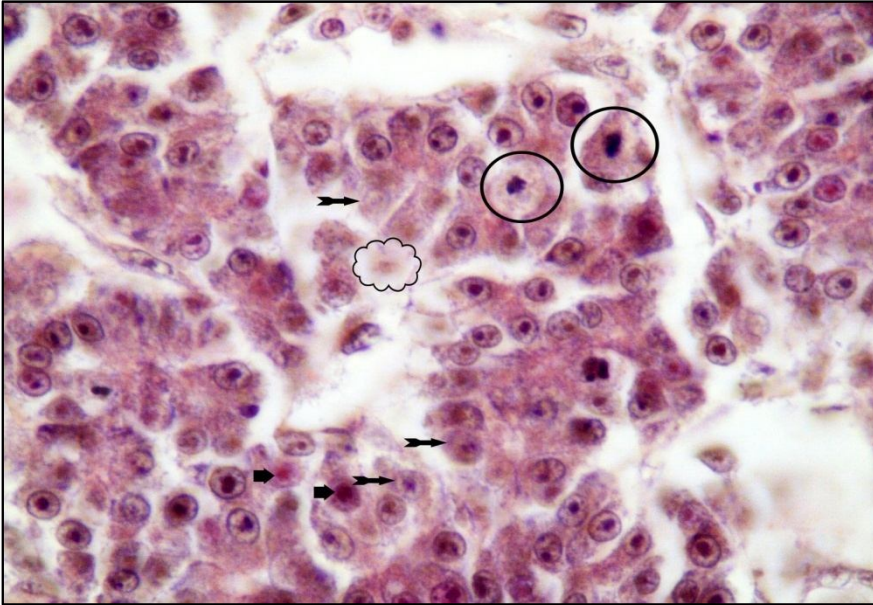
Şekil 4.22. 500 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda NOR bölgeleri azalan hepatositler (◻) ile bölünen hepatositlerin kromozomlarında yapışkanlık (◊). Retikulum, 100X



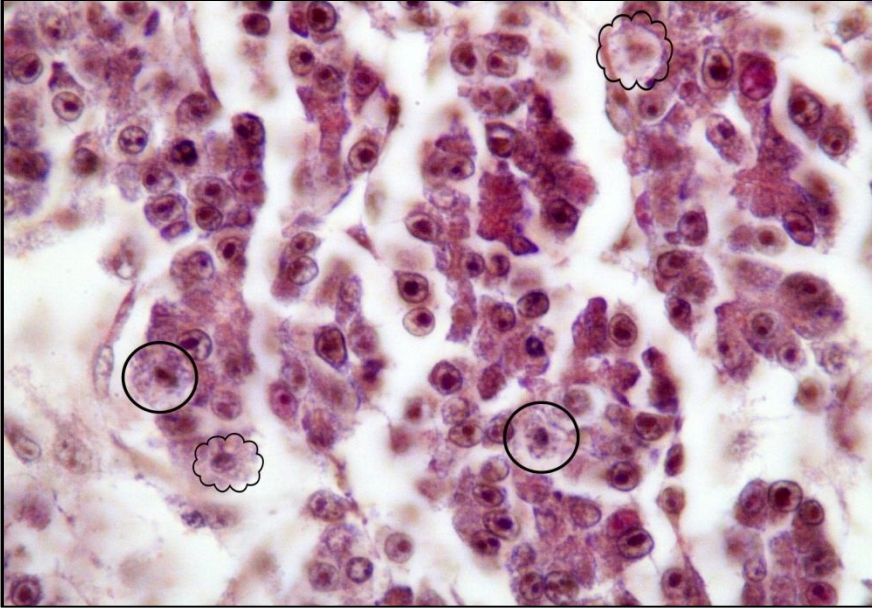
Şekil 4.23. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolara ait yoğun eritrosit (e) içeren karaciğer veni ve hepatosit kordonları (x) görülmektedir. H-E,20X



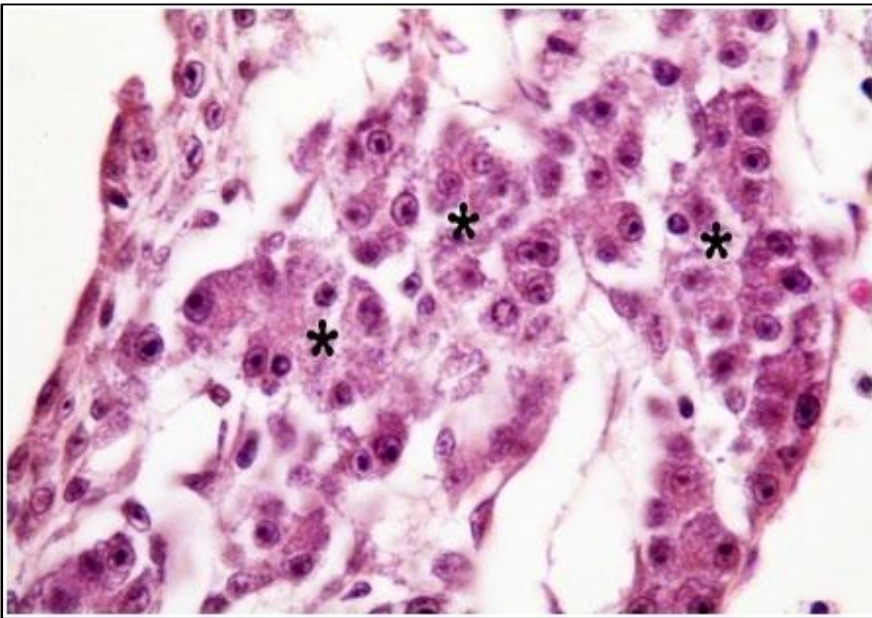
Şekil 4.24. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğerinde genişlemiş parankimal sinuzoidler (S), kordonlaşma (x), hücre kümeleri (●). H-E, 20X



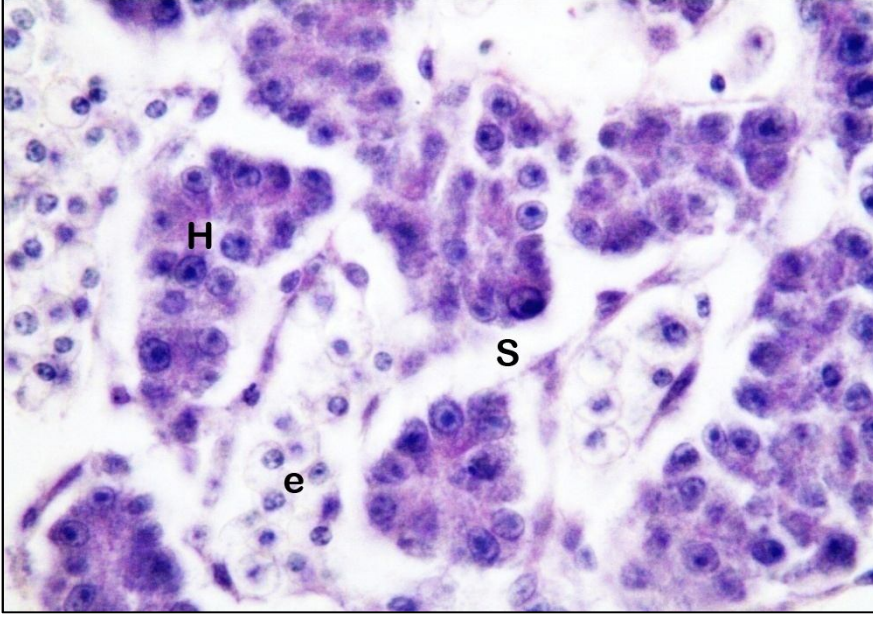
Şekil 4.25. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme, hepatositlerde karyolisis (○), sınırları belirgin olmayan nükleuslar (➡), farklı boyanmış nükleoluslar (➤) izlenmektedir. Piknotik nükleuslu hücreler (○). H-E, 100X



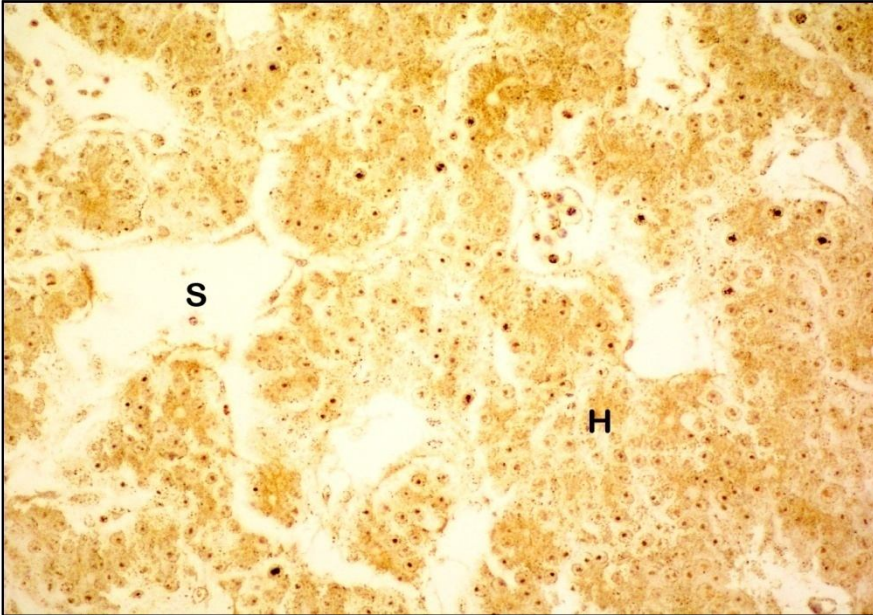
Şekil 4.26. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinde şişme ve piknotik nükleus (○) karyolisis (⊖). H-E, 100X



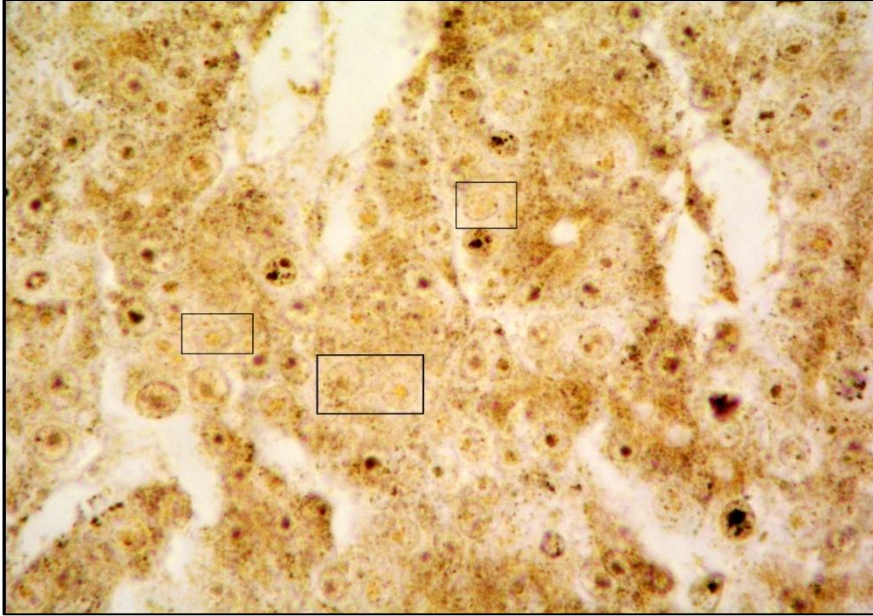
Şekil 4.27. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolarda belirgin bir düzenlenme göstermeyen şekilleri bozulmuş ve sitoplazmaları dağılmış hepatositler (*). H -E,100X



Şekil 4.28. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyolara ait hepatositlerin glikojen içermedikleri görülmektedir. Hepatosit (H), sinuzoid (S), eritrosit (e). PAS, 100X



Şekil 4.29. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer, Hepatosit (H), sinuzoid (S). Retikulum, 40X

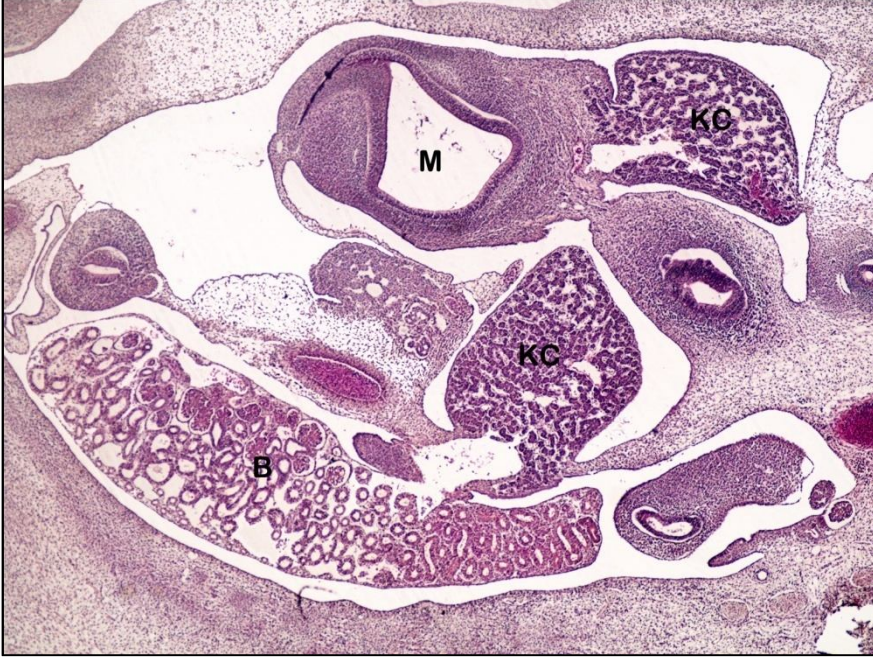


Şekil 4.30. 1000 mg/kg SB'a maruz kalan 7 günlük embriyoların karaciğer dokusunun retiküler fibrile sahip olmadıkları gözlenmektedir. NOR bölgeleri azalan hepatositler (□). Retikulum, 100X

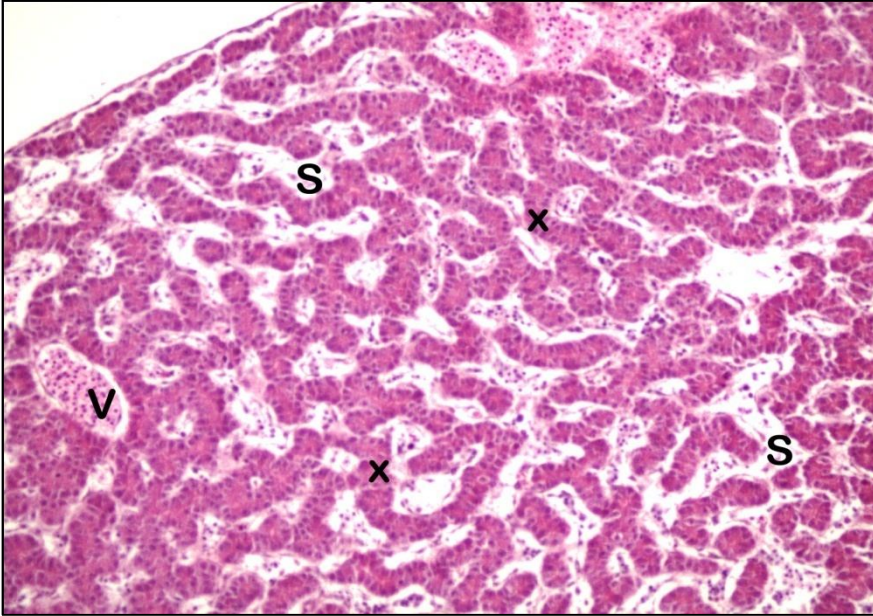
4.2 Sodyum Benzota Beş Gün Maruz Kalan Gruplar (Evre 36)

4.2.1. Kontrol ve Distile Kontrol Grupları

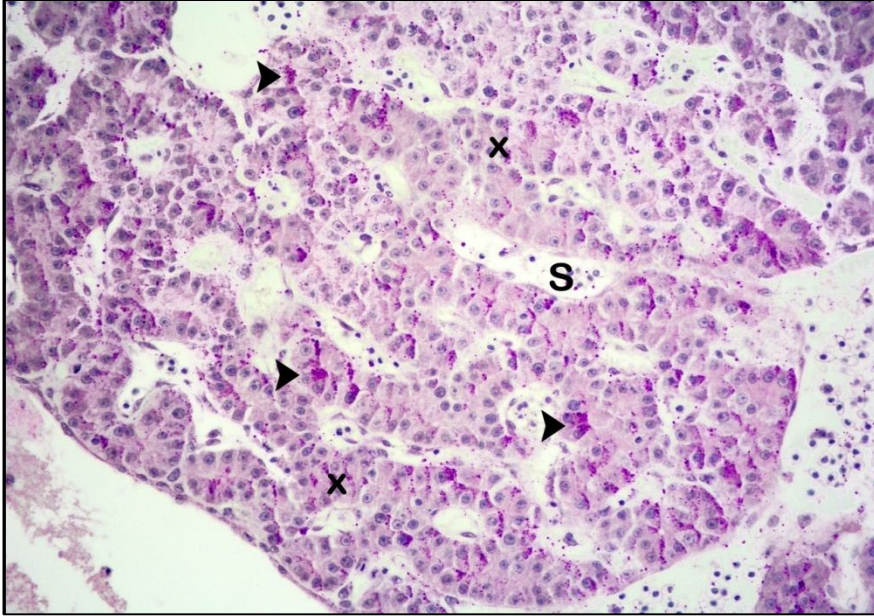
10 günlük kontrol grubu embriyolarının histolojik kesitlerinde hepatic kavite içerisinde yer alan karaciğerin iki loptan oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.31). Karaciğer parankiması bir iki hücre kalınlığında ve dendriform biçimde düzenlenmiş hepatosit kordonları ile bu kordonlar arasında birbirleriyle anastomozlaşan sinuzoidleri içermektedir. Lobül yapısının belirgin olmadığı görülen parankimada vena centralislerin farklı büyüklüklerde ve farklı uzaklıklarda yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 4.32). Hepatositler küboidal veya alçak prizmatik biçimde olup, genellikle vena centralis çevresinde yer alanlarda daha çok olmak üzere glikojen depolandığı dikkati çekmiştir (Şekil 4.33,34). Retikulum boyanmış karaciğer kesitlerinde vena centralis çevresinde ve sinüzoidal duvarda retiküler lif ağı izlenmiştir (Şekil 4.35,36). Aynı kesitlerde çoğu hepatosit çekirdeklerinde NOR bölgelerinin çok sayıda ve belirgin olduğu ayırt edilmiştir (Şekil 4. 35,36).



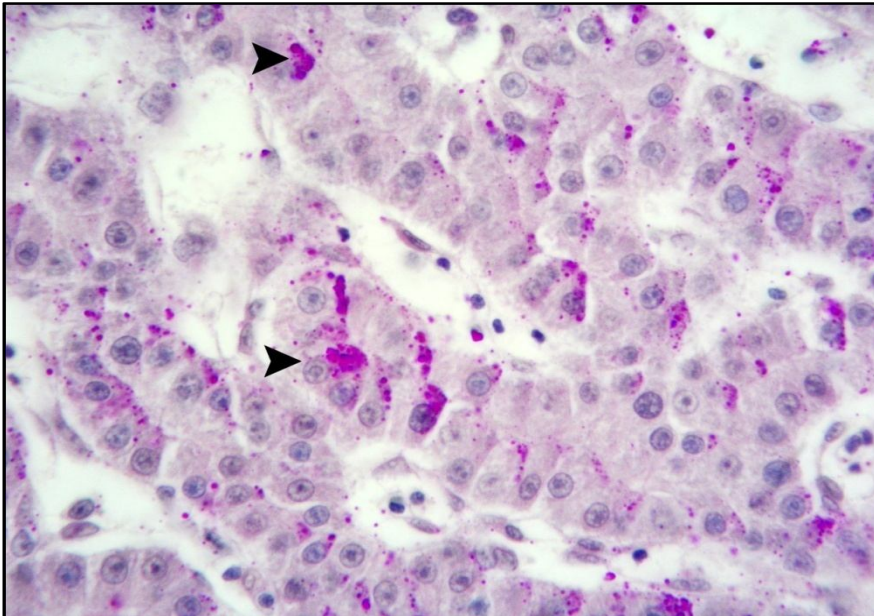
Şekil 4.31. Kontrol grubu 10 günlük embriyoların iki loplu karaciğer dokusu (KC), böbrek (B), mide (M). H-E, X4



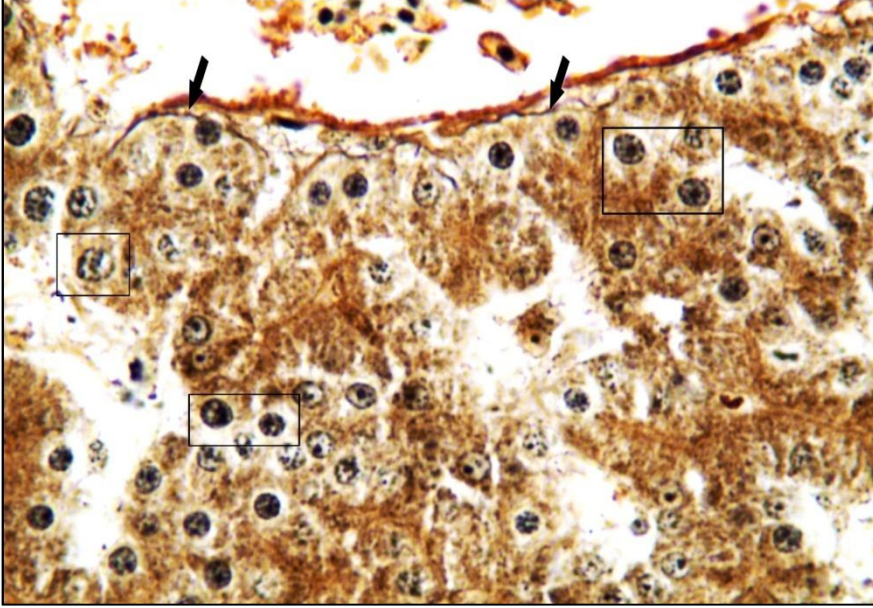
Şekil 4.32. Kontrol grubu 10 günlük embriyoların karaciğerinde dendriform biçimli hepatosit kordonları (x), sinuzoid (S), Vena centralis (V). H-E, 20X



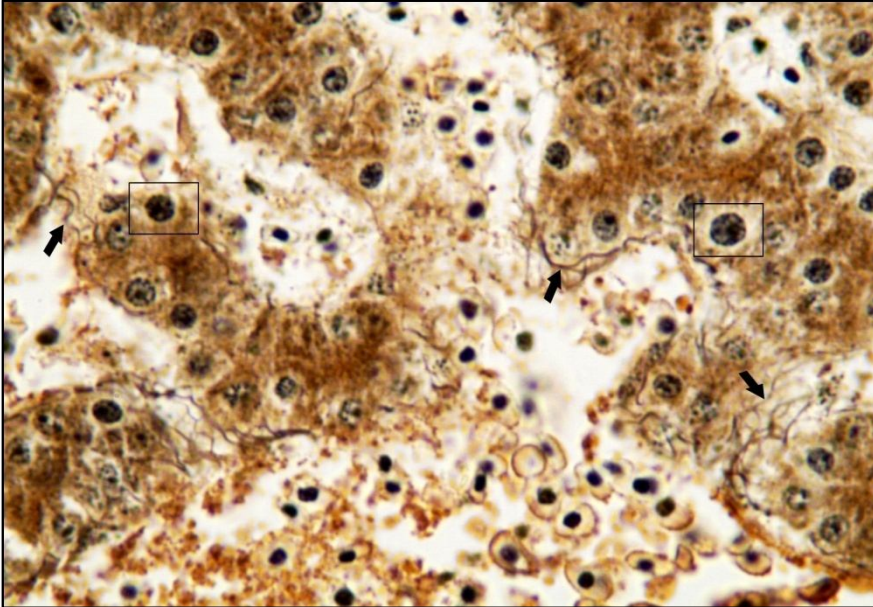
Şekil 4.33. Kontrol grubu, 10 günlük tavuk embriyolarına ait karaciğer dokusunda bir çok hepatositin partikül şeklinde glikojen (►) depoladıkları görülmektedir. Hepatosit kordonları (X), sinuzoid (S). PAS, X100



Şekil 4.34. 10 günlük kontrol grubuna ait embriyoların karaciğer hücrelerinde depolanan glikojen partikülleri (►). PAS, 40X



Şekil 4.35. 10 günlük kontrol grubuna ait tavuk embriyosu karaciğer dokusunda venlerin etrafında retiküler fibriller (➔), belirgin NOR bölgelerine sahip hepatositler (□). Retikulum, X100



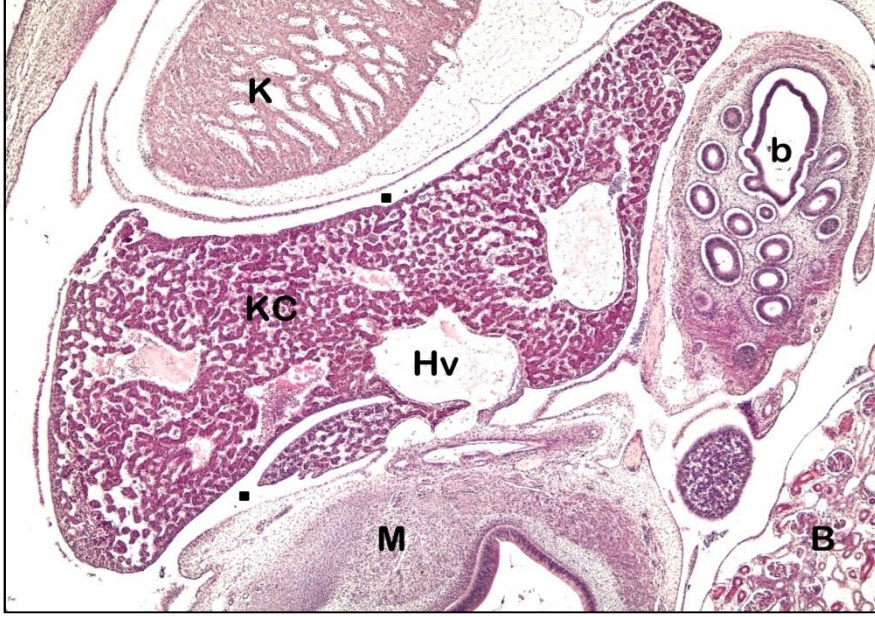
Şekil 4.36. Kontrol grubu 10 günlük tavuk embriyosu karaciğerinde ven ve sinüzoidal duvarda retiküler fibriller (➔), karaciğer hücresinin çekirdeklerindeki NOR bölgeleri (□). Retikulum, X100

4.2.2. Deney Grupları

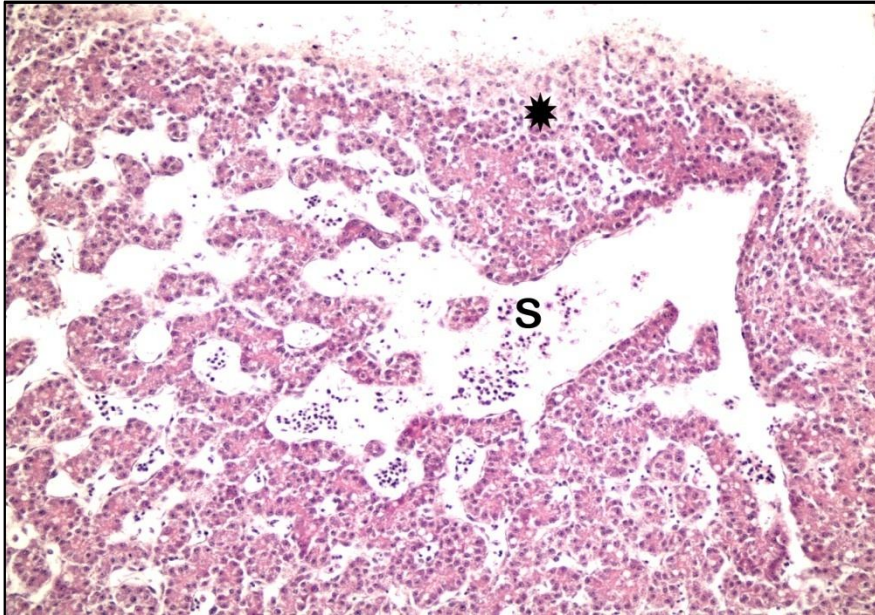
250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinin hepatik kavite içerisinde normal pozisyonunda geliştiği görülmektedir (Şekil 4.37). Bazı embriyoların karaciğer dokularında, özellikle karaciğer lobunun en periferindeki hepatosit dizilimlerinin bozulduğu ve bu bölgenin nekrotik görünüm kazandığı izlenmiştir (Şekil 4.38). Hepatositlerin kordonlar şeklinde düzenlendikleri, bu kordonlar arasında yer alan sinuzoidlerin genişlediği (Şekil 4.38), venlerin duvar yapısının bozulduğu görülmüştür (Şekil 4.39,40). Bazı venlerin çevresindeki hepatositlerin sitoplazması yoğun asidofilik karakter gösterirken (Şekil 4.40), birçok hepatosit sitoplazmasında ileri derecede vakuolizasyon, piknotik nükleus, karyolizis, nükleusta tomurcuklanma ve boyanmada farklılık belirlenmiştir (Şekil 4.41,42). Nadir de olsa mitoz geçiren hepatositler gözlenmiş (Şekil 4.40) ancak glikojen depolayan hepatositlere rastlanmamıştır (Şekil 4.43). Retikulum boyamada retiküler fibriller yok denecek kadar azdır ve birçok hepatosit çekirdeklerinde NOR bölgeleri içermemektedir (Şekil 4.44,45).

500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerlerinin histolojik kesitlerinde venlerin ve sinuzoidlerin kan hücreleri ile dolu olduğu (Şekil 4.46), bazı venlerde ödem, konjesyon ile ven duvarında kalınlaşma (Şekil 4.47,48) görülmüştür. Parankimayı oluşturan hepatositler bir iki hücre kalınlığında kordonlar oluşturmakla beraber çoğu alanda bu düzenlenmenin bozulduğu izlenmiştir (Şekil 4.49,50). Hepatositlerin sitoplazmalarında ileri düzeyde vakuolizasyon, nükleuslarında şekil bozukluğu ve tomurcuklanma, mikronükleus oluşumu ve nükleus sınırlarında belirsizlik dikkati çekmiştir (Şekil 4.49,50). Bu grupta da glikojen içeren hücreler hiç gözlenmezken (Şekil 4.50), retiküler fibrillere de rastlanmamıştır (Şekil 4.51,52). Az sayıda da olsa mitoz geçiren hepatositlere rastlanmıştır ancak pek çok hepatosit çekirdeğinde NOR bölgelerinin azaldığı, bazılarında ise hiç bulunmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.51,52).

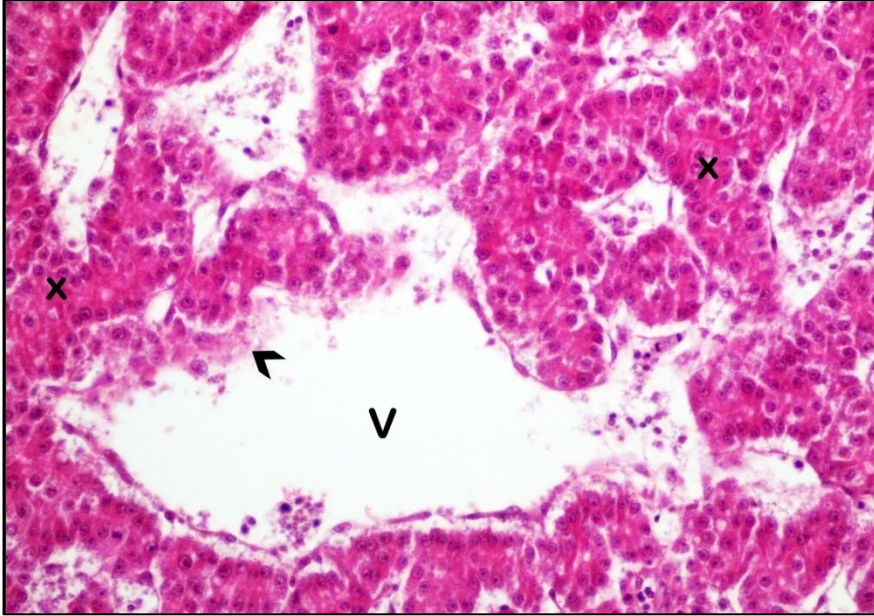
1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların kesitlerinde hepatik vende ödem ve konjesyona rastlanmıştır (Şekil 4.53,54). Hepatosit kordonlaşmasında bozulma, piknotik nükleus, eksentrik yerleşimli nükleus, sitoplazmada ileri derecede vakuolizasyon ve dağılma, bazı hepatositlerde şişme ve kromatin kondensasyonu, karyolizis ile eritrositlerde mikronükleus oluşumu sıklıkla gözlenen bulgulardandır (Şekil 4.55-58,60). Ayrıca bu grupta apoptotik karaciğer hücrelerine de rastlanmıştır (Şekil 4.59). Hepatositlerde depolanmış glikojen granülleri bu grupta da belirlenmemiştir (Şekil 4.60). Ayrıca retiküler fibrillere ve bölünen hücrelere rastlanmaması, çoğu hepatositin nükleus sınırlarının belirgin olmaması ve NOR bölgelerinin bulunmaması diğer önemli bulgulardandır (Şekil 4.61,62).



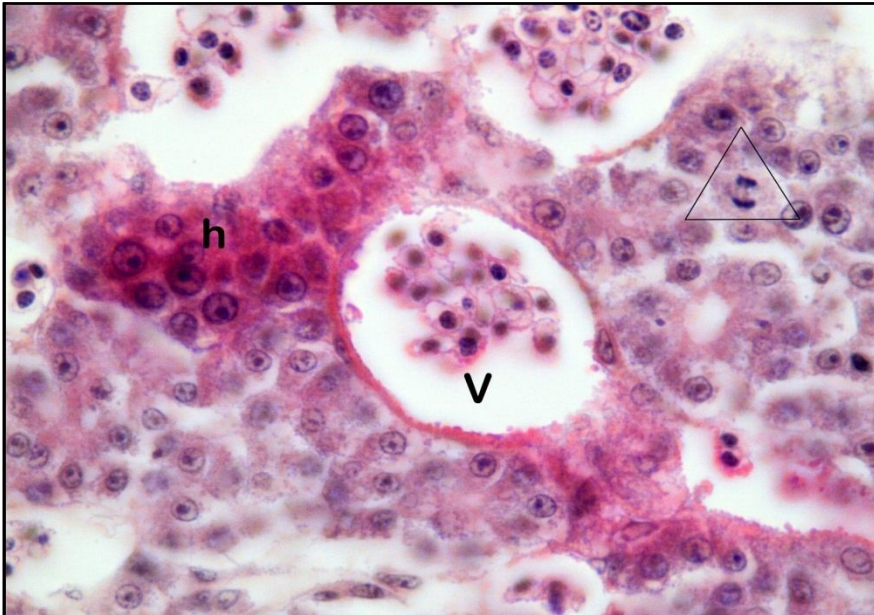
Şekil 4.37. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda karaciğerin (KC), genel görünümü. Hepatik ven (hv), hepatik kavite (▪), böbrek (B), kalp (K), mide (M), barsak (b). H-E, X4



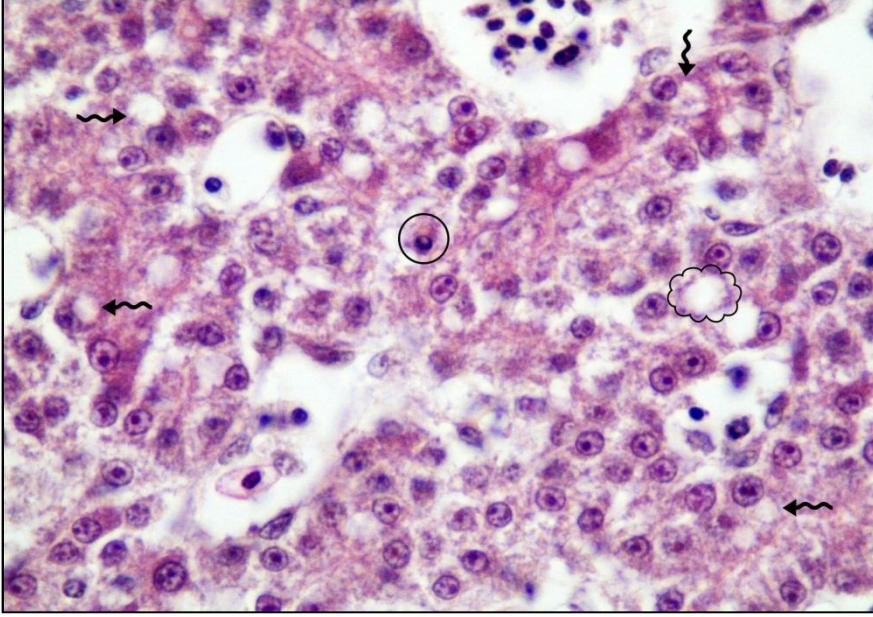
Şekil 4.38. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyo karaciğerinde nekrotik görümlü periferik bölge (★), Genişlemiş sinuzoid (S). H-E, 20X



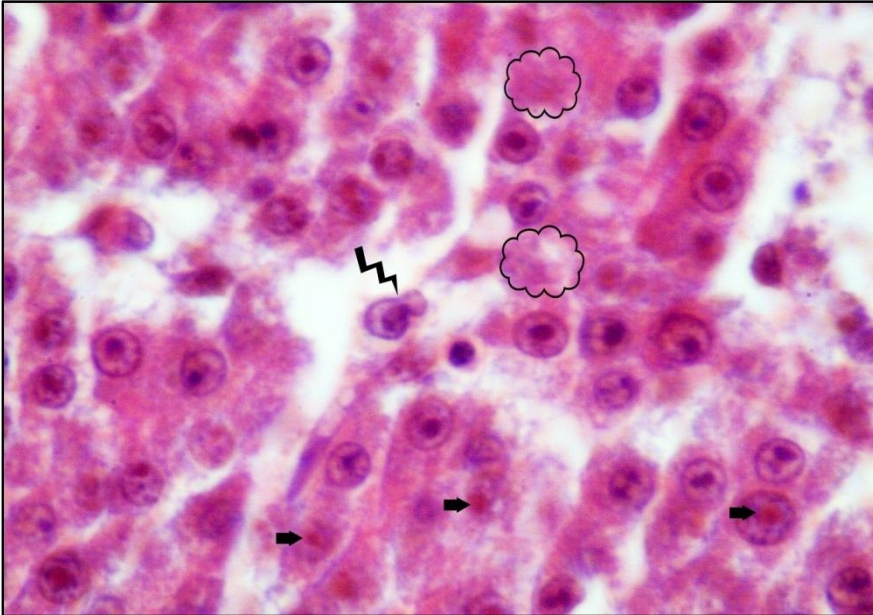
Şekil 4.39. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinde venin bozulan duvar yapısı (➤), vena centralis (V), hepatosit kordonları (x). H-E, 40X



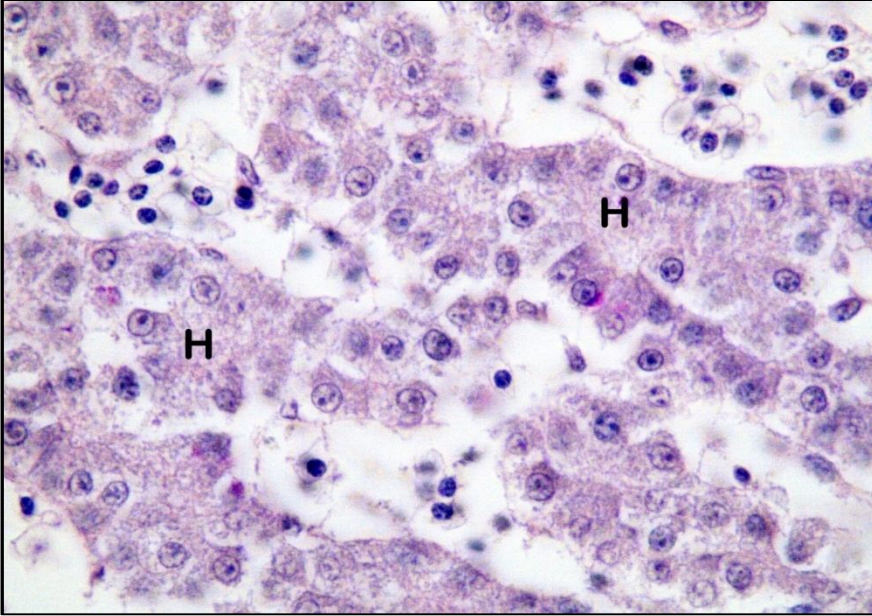
Şekil 4.40. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerindeki asidofilik sitoplazmalı hepatositler (h), vena centralis (V), mitoz (Δ). H-E, X100



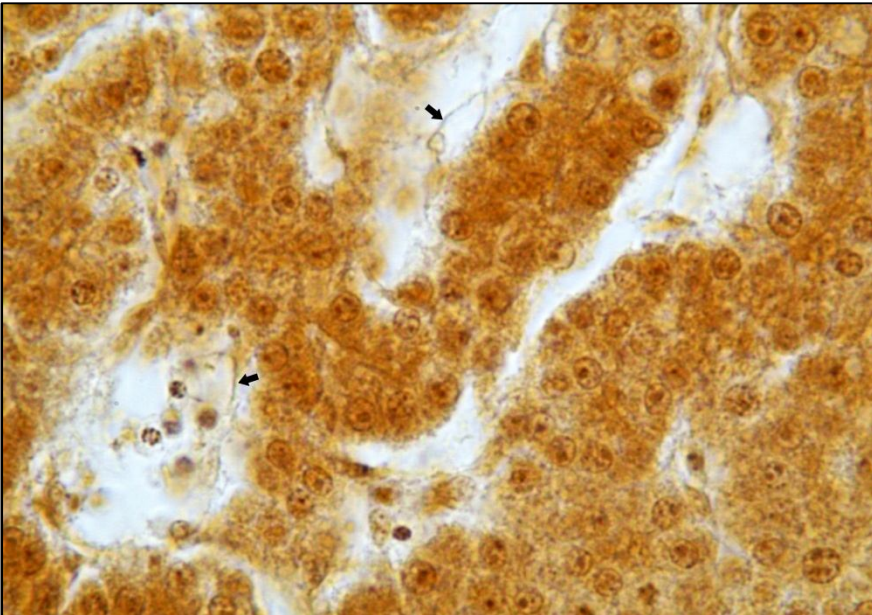
Şekil 4.41. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde vokuolizasyon (↔), piknotik nükleus (○), karyolizis (◌).H-E, 100X



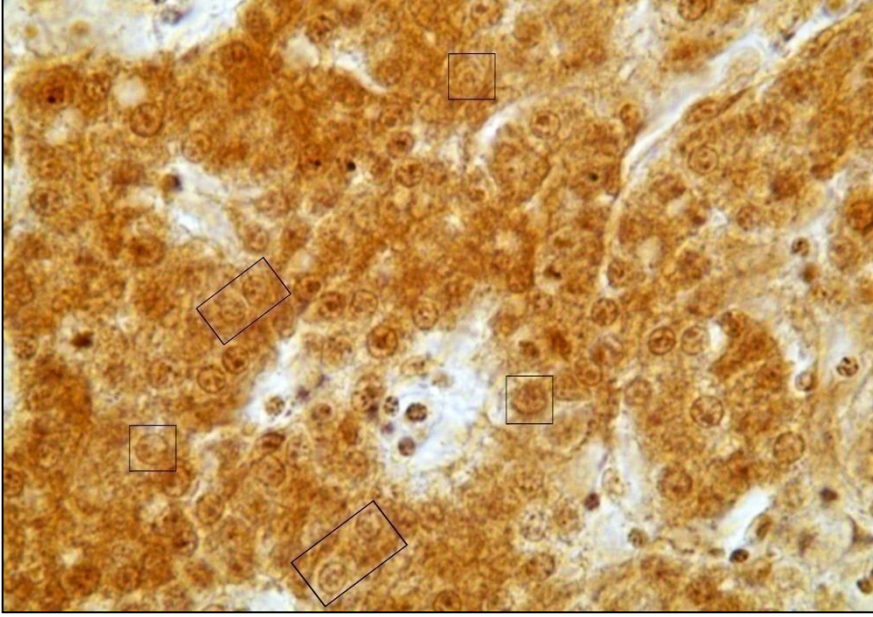
Şekil 4.42. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde karyolizis (○), tomurcuklanma (◌), nükleolusta farklı boyanma (■). H-E, 160X



Şekil 4.43. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda hepatositlerin glikojen içermedikleri görülmektedir. Hepatosit (H). PAS, 100X



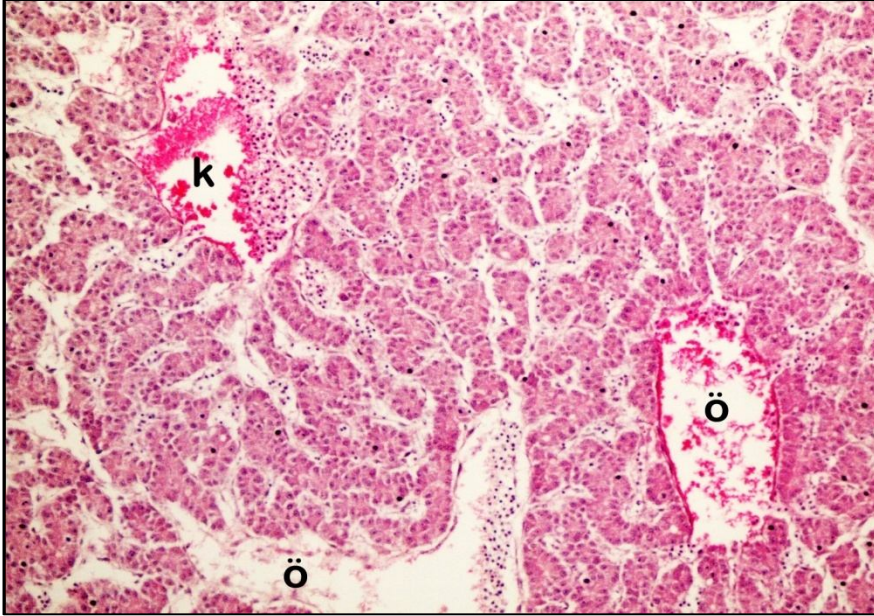
Şekil 4.44. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinde görülen birkaç refiküler fibril (→).Retikulum, 100X



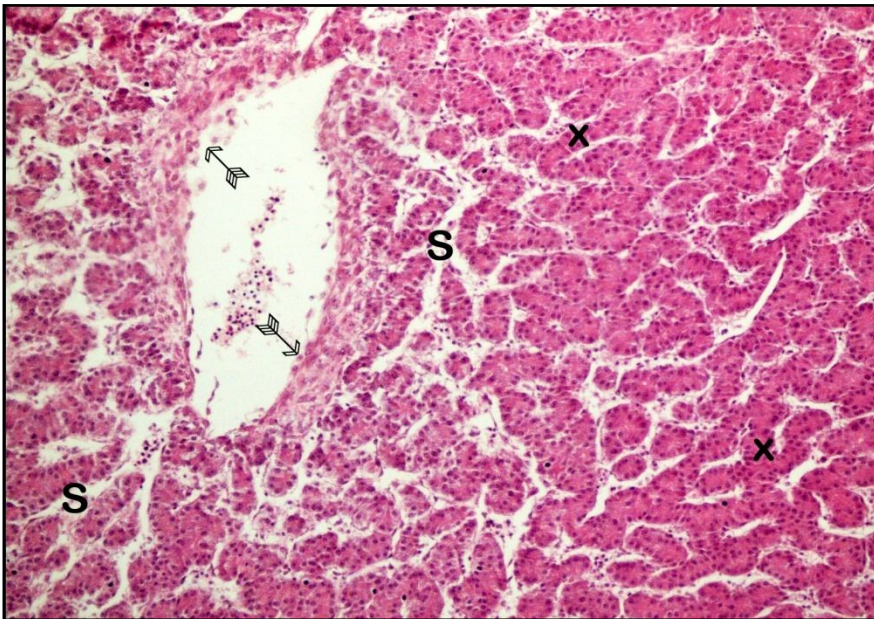
Şekil 4.45. 250 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda çekirdeklerinde NOR bölgeleri içermeyen karaciğer hücreleri (□). Retikulum, 100X



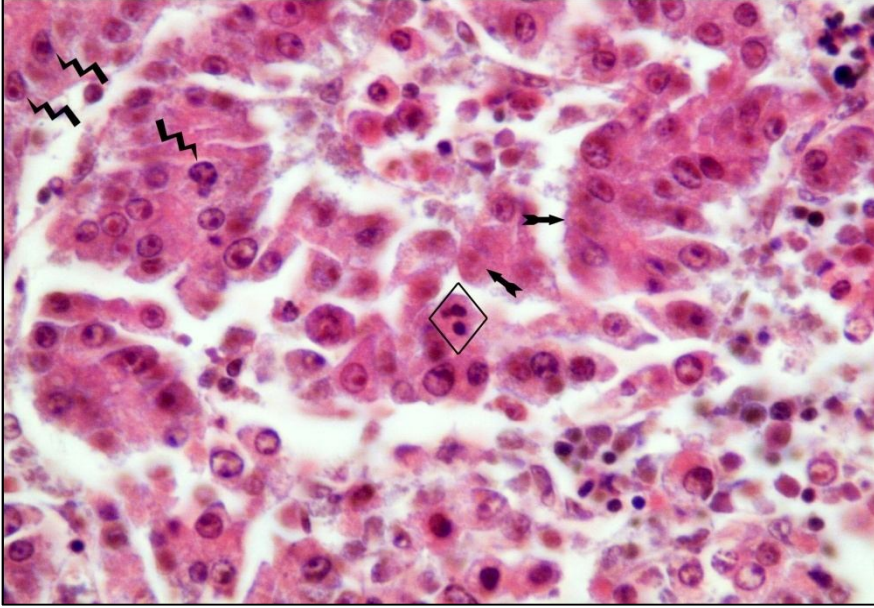
Şekil 4.46. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğerinin genel görünümü. Konjesyon (k), sinuzoidlerde ve venlerde ödem (ö) görülmektedir. H-E, 4X



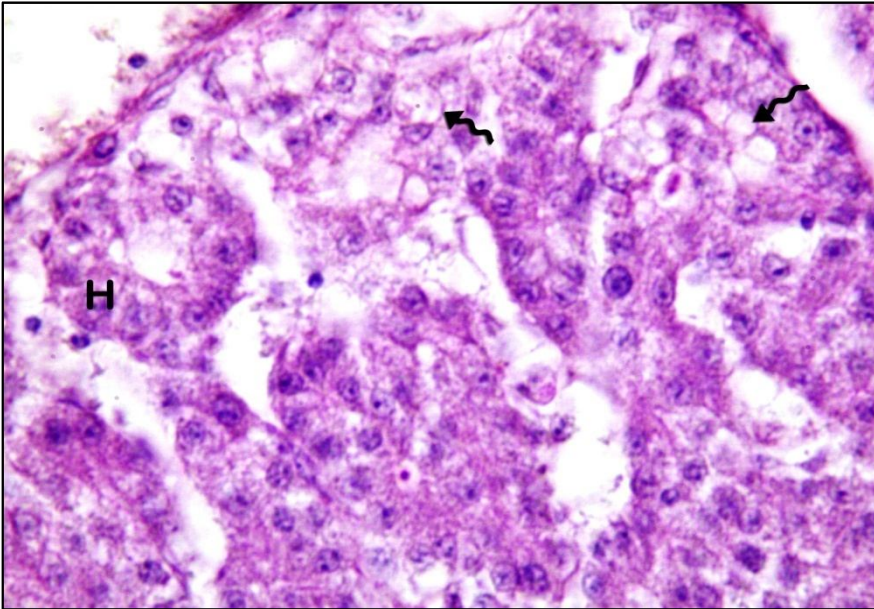
Şekil 4.47. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda ödemli (ö) ve konjesyonlu (k) venler. H-E, 20X



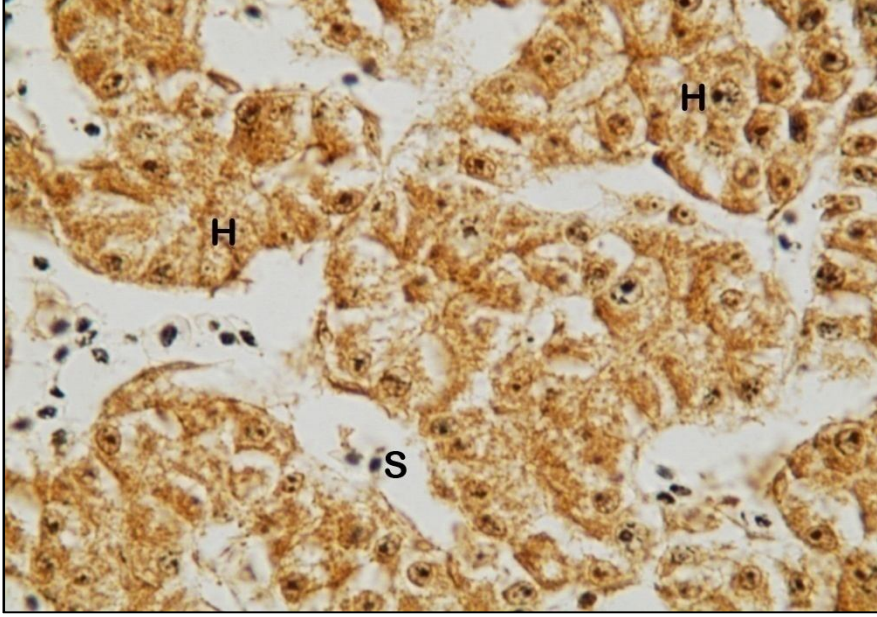
Şekil 4.48. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda vena centralis duvarında kalınlaşma (↔↔) izlenmektedir. Sinuzoid (S), hepatosit kordonları (x). H-E, 40X



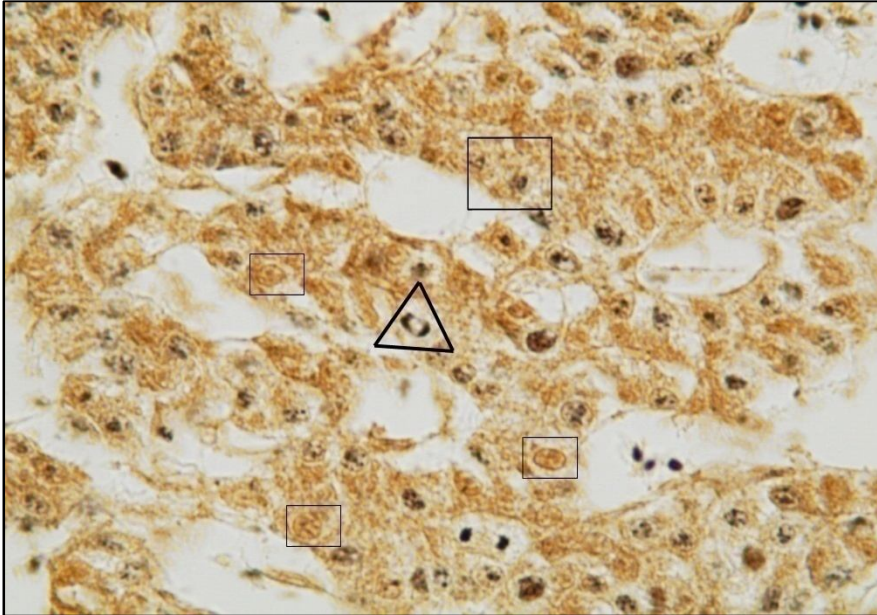
Şekil 4.49. 500 mg mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatosit nükleuslarında şekil bozukluğu ve tomurcuklanma (\sphericalangle), mikronükleus oluşumu (\diamond), nükleus sınırlarında belirsizlik (\blacktriangleright) görülmektedir. H-E, 100X



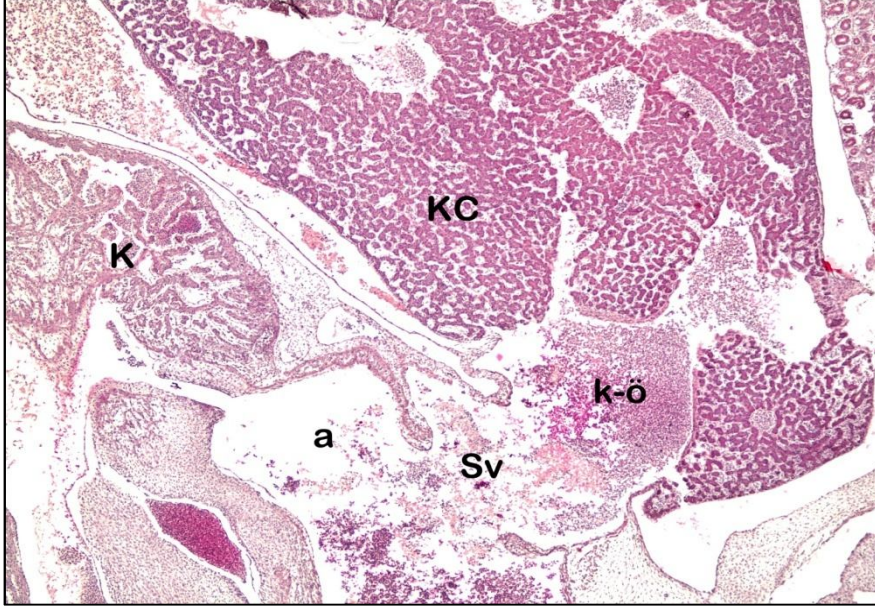
Şekil 4.50. 500 mg/kg SB verilen 10günlük embriyoların karaciğer hücrelerinin glikojen depolamadıkları gözlenmektedir. Hepatositlerde (H) sitoplazmik vakuolizasyon (\sphericalangle). PAS, X100



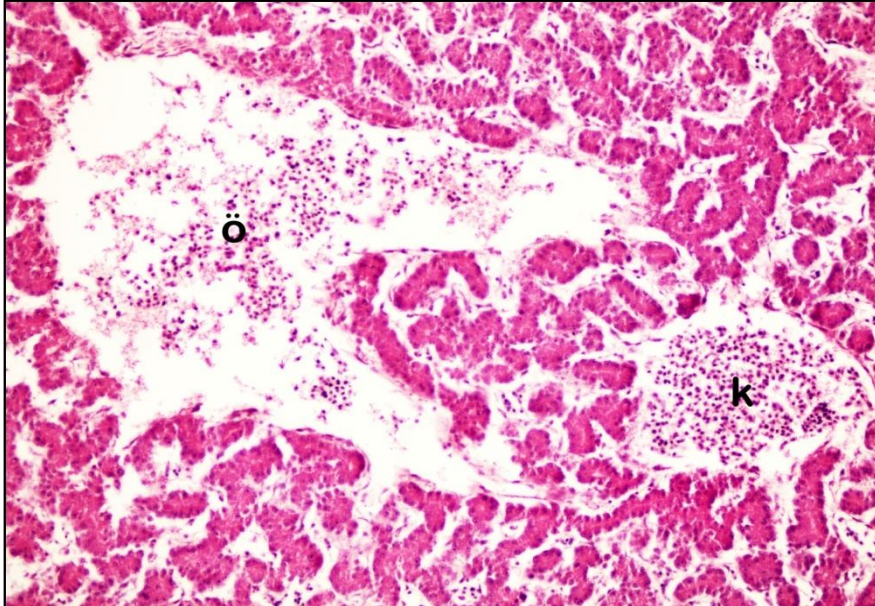
Şekil 4.51. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda retikülerfibril görülmemektedir. Hepatosit (H), sinusoid (S). Retikulum, 100X



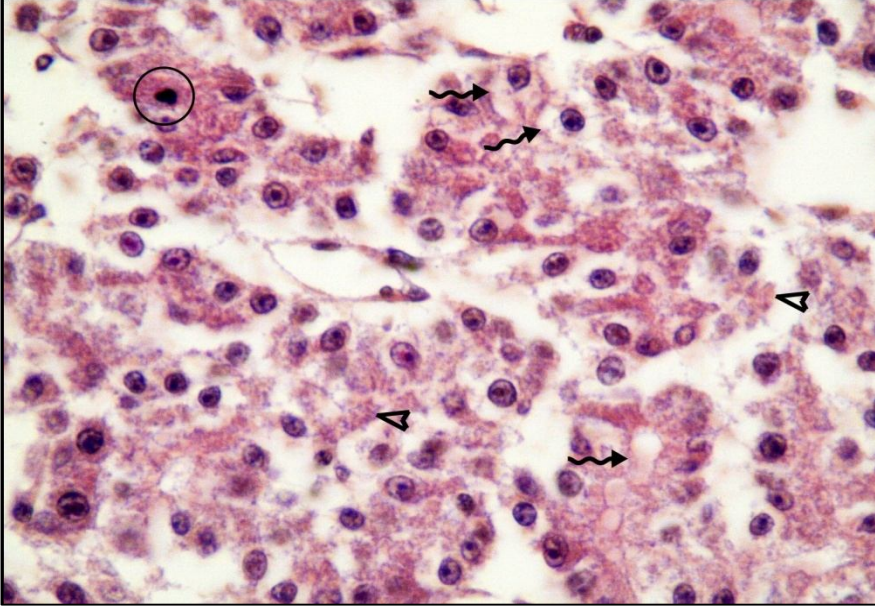
Şekil 4.52. 500 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolarda karaciğer hücreleri çekirdeklerinde NOR bölgeleri içermemektedir (□). Mitoz geçiren hepatosit (△). Retikulum, 100X



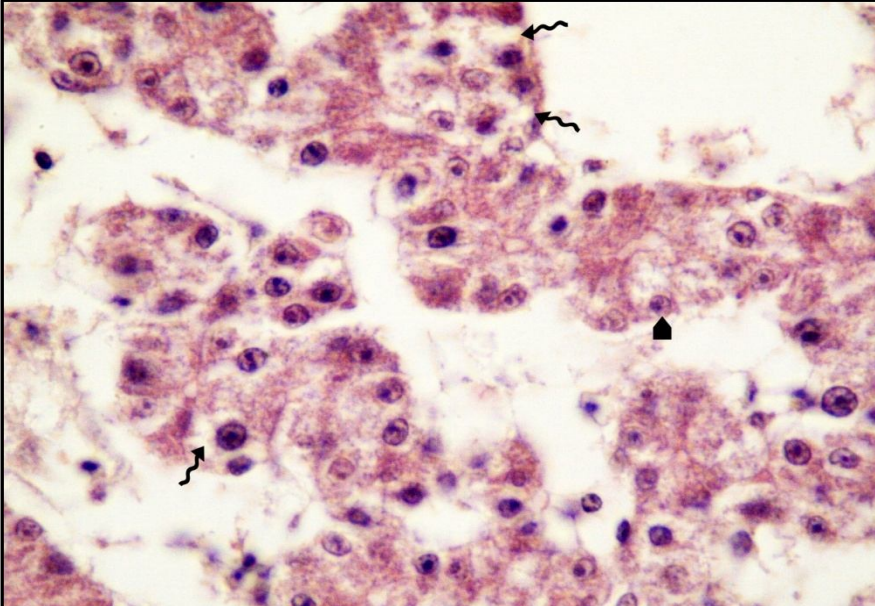
Şekil 4.53. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunun genel görünümü. Hepatik vende ödem ve konjesyon (k-ö), karaciğer (KC), kalp (K), atrium (a), sinüs venosus (Sv). H-E, 4X



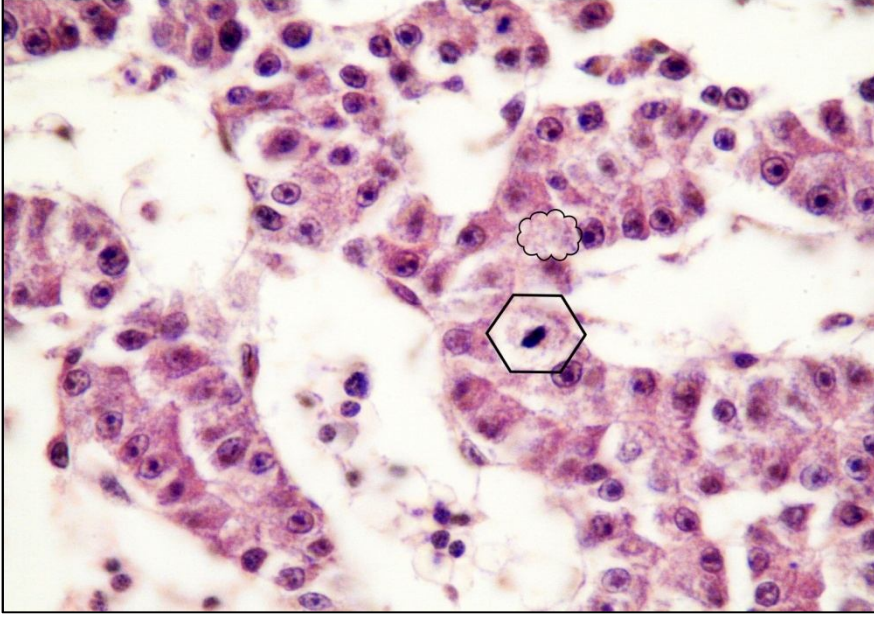
Şekil 4.54. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda konjesyon (k) ve genişlemiş sinuzoidlerde ödem (ö) izlenmektedir. HE, 20X



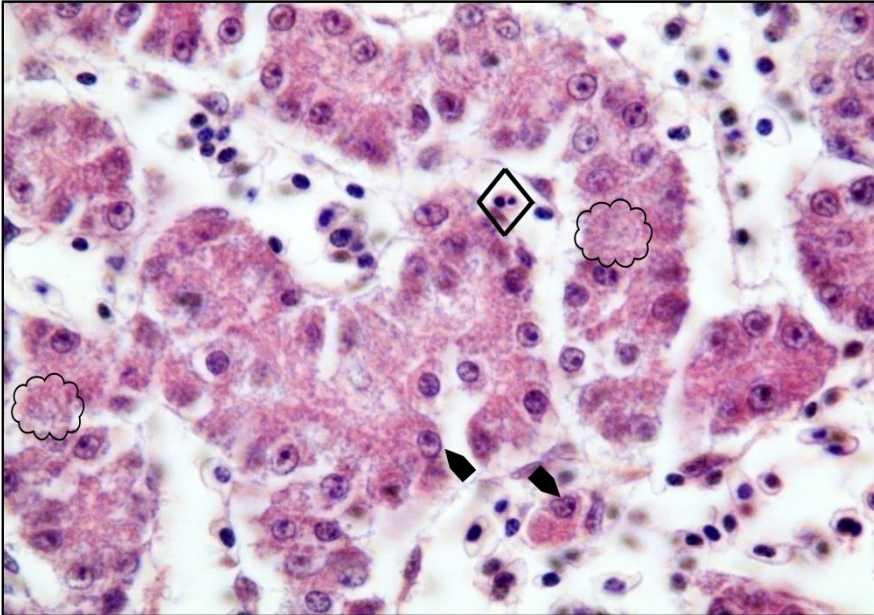
Şekil 4.55. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatosit kordonlaşmasında bozulma, hepatositlerde piknotik nükleus (O), sitoplazmik vakoulizasyon (↔) ve dağılma (▽) gözlenmektedir. H-E, X 100



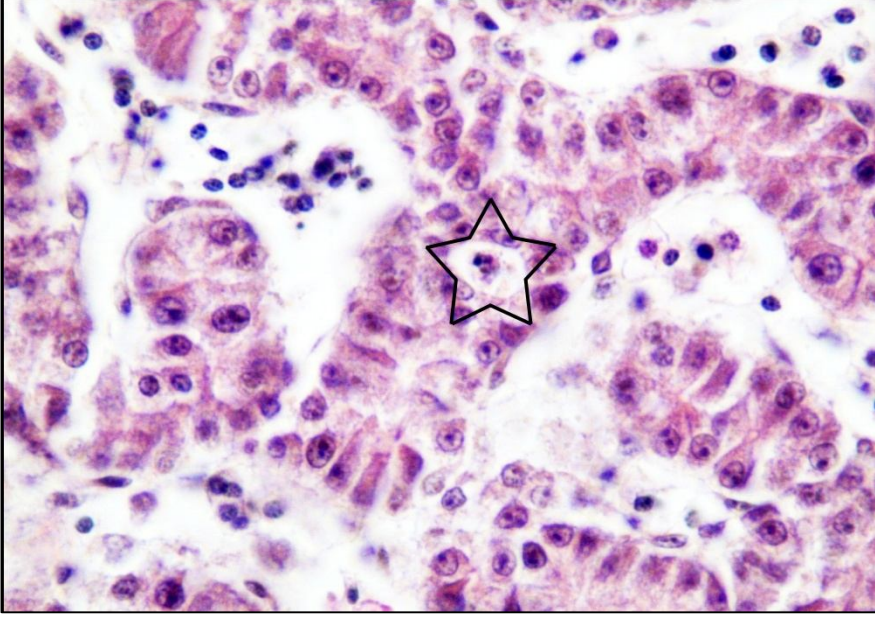
Şekil 4.56. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hepatositlerinde sitoplazmik vakoulizasyon (↔) ve eksentrik yerleşimli nükleus (▲). H-E, X100



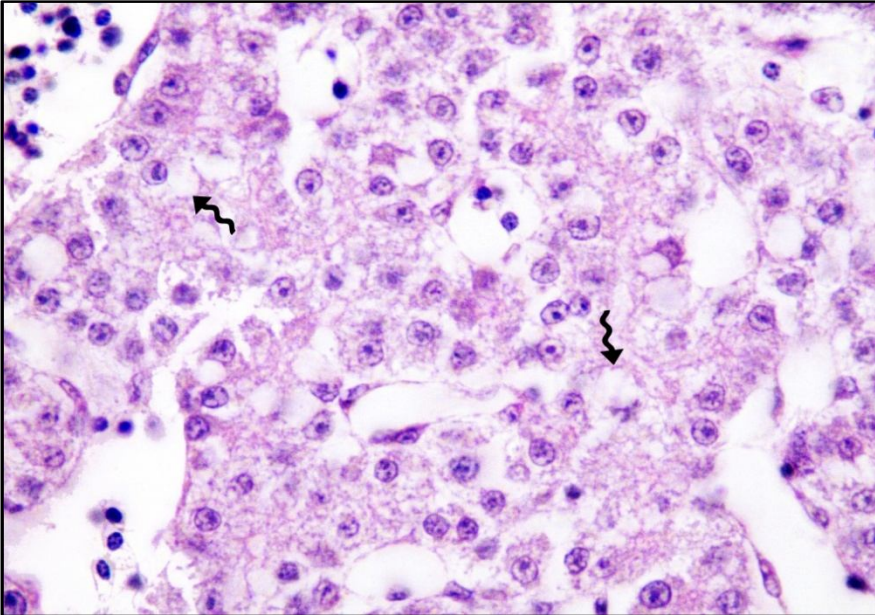
Şekil 4.57. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatositlerde şişme, nükleuslarında kromatin kondensasyonu (◻) ve karyolisis (⊖). H-E, X100



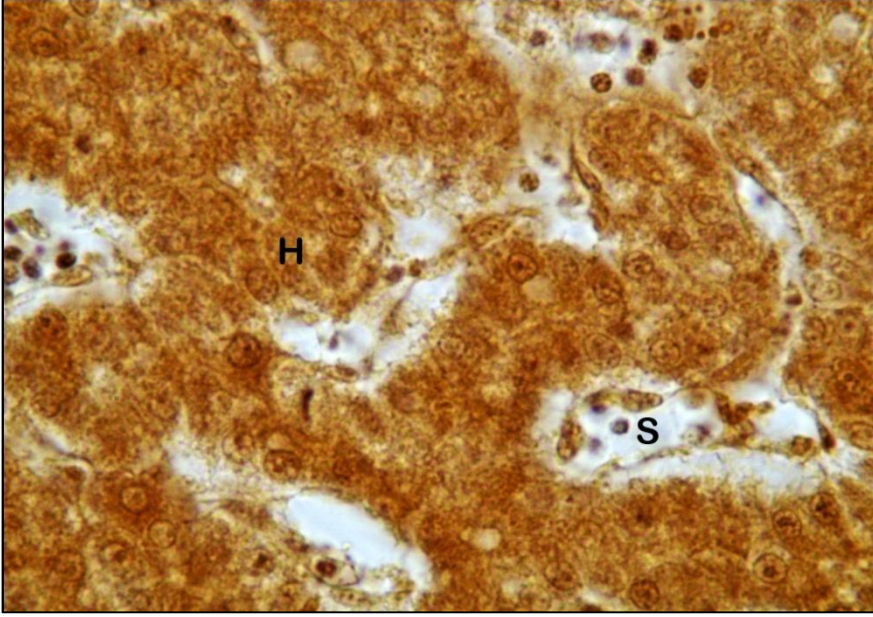
Şekil 4.58. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların hepatosit nükleuslarında karyolisis (⊖), eksentrik yerleşim (▲) ve eritrositlerde mikronükleus (◊) oluşumu görülmektedir. H-E, X100



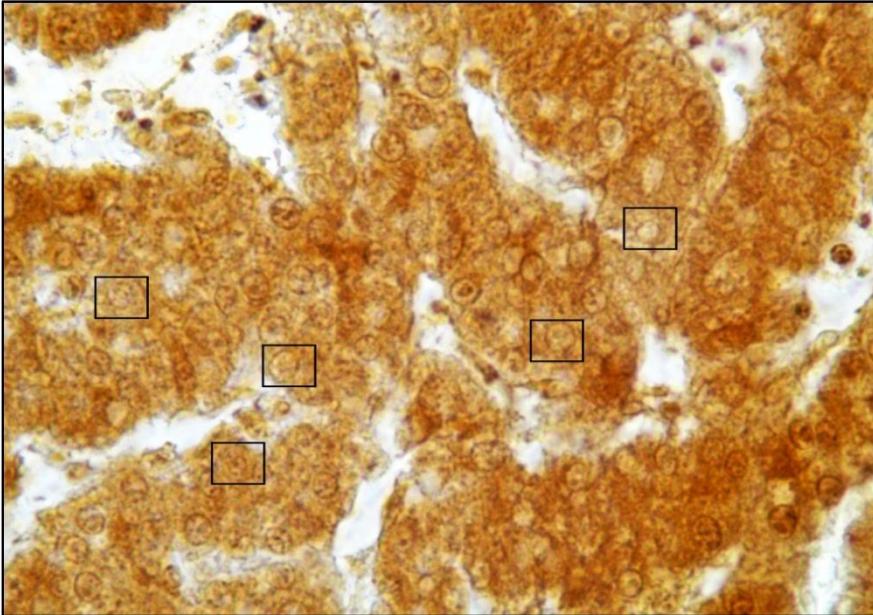
Şekil 4.59. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusunda apoptotik hepatosit (☆) izlenmektedir. H-E, X100



Şekil 4.60. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer hücrelerinin glikojen içermedikleri görülmekte, ileri derecede sitoplazmik vakuolizasyona (↪) sahip hepatositler izlenmektedir. PAS, X100



Şekil 4.61. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyoların karaciğer dokusu retiküler fibril içermemektedir. Hepatosit (H), sinuzoid (S). Retikulum, X100



Şekil 4.62. 1000 mg/kg SB verilen 10 günlük embriyolara ait karaciğer dokusunda sınırları belirgin olmayan ve NOR bölgeleri içermeyen (□) nükleuslara sahip hepatositler görülmektedir. Retikulum, X100

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Canlı organizma için yabancı ve zararlı kimyasal maddelerin (ksenobiyotik) etkileri çeşitli şekillerde incelenebilir. Bunlar arasında AMES, kısa süreli toksisite testi, genotoksisite ve embriyotoksisite testleri çok yaygın olarak kullanılır. Bu metodlardaki vücut ağırlığı, organ ağırlıkları, kan profili ve histopatolojik incelemeler gibi birçok parametre ksenobiyotiklerin etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla ele alınır.

Kanatlı embriyoları ilaçlar, ağır metaller, endüstriyel bileşikler, mikotoksinler pestisitler ve besin katkı maddeleri, teratojenik, mutajenik, genotoksik ve embriyotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan testlerde sıklıkla tercih edilmektedir. Tavuk Embriyo Toksisite Belirleme Testini (Chicken Embryo Toxicity Screening Test) CHEST (Jelinek, 1977) ve Tavuk Yumurtası Testi (Hen'sEggsTest) HET'den (Kemper ve Luepke, 1986) elde edilen sonuçların memelilerden elde edilen sonuçlarla büyük oranda uyumlu olduğu ifade edilmektedir (Kemper ve Luepke 1986; Vesely ve Vesela 1991; Özcan 1992; Jelinek ve Marhan 1994; Davies ve Freeman 1995).

Araştırmacılar, test edilecek maddenin genotoksik, embriyotoksik ya da teratojenik mi olduğunun araştırılmasında maddenin dozu ve özellikleri (doğal, yapay formu) kadar enjeksiyon zamanı ve şeklinin de oldukça önemli olduğunu vurgulamaktadırlar. Eğer bir maddenin embriyotoksik etkileri belirlenmek isteniyorsa çok erken dönemde, test edilen maddenin karaciğerde metabolize edilmesi sonucu oluşacak metabolitlerinin etkilerinin belirlenmesi düşünülüyorsa geç dönemde enjeksiyon yapılmasının daha uygun olacağı söylenmektedir (Jelinek vd., 1985; Prelusky vd., 1987). Gıda katkı maddelerinin teratojenik etkileri belirlenmek isteniyorsa kuluçka başlangıcında hava kamarasına veya yumurta sarısına enjeksiyon yapılması önerilmektedir (Özcan, 1992).

Vücuda alınan kimyasal maddelerin etkisiz hale getirilmesinde önemli işleve sahip olan karaciğerde birçok maddenin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonu özel mekanizmalarla gerçekleştirilir. Ancak bu mekanizmalarda oluşabilecek yetersizlik hücrelerin ve organın bozulmasına, ileriki aşamalarda ölümüne yol açabilir. Tavuk embriyosunda karaciğer farklılaşması embriyonik dönemin 4. gününde meydana gelmekte ve bu günden itibaren fonksiyonel bir organ olarak karaciğerde detoksifikasyon mekanizmaları çalışmaya başlamaktadır (Hamilton

vd. 1983). Promutajenler ile yapılan bir genotoksisite çalışmasında enjeksiyon kuluçkanın 8. gününde yapılmış ve memeli embriyosunun aksine kanatlılarda karaciğerin erken farklılaşmasına bağlı olarak, kanatlı embriyosunun gelişiminin erken evrelerinde de, yoğun bir metabolik aktivasyon bulunduğu bildirilmiştir (Wolf ve Leupke, 1997). Çalışmamızda sodyum benzoatın kanatlı embriyolarında karaciğer gelişimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla kuluçkanın 5. günü enjeksiyon zamanı olarak belirlenmiş ve metabolik aktivitenin yüksek olduğu günleri içine alan 7.-10. günlerde de embriyolardan doku örnekleri alınmıştır.

Bir maddenin embriyotoksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılacak olan çalışmalarda test edilecek maddenin farklı dozlarının (en az üç farklı doz) denenmesi gerektiğini belirten ve uygulayan çalışmalar bulunmaktadır (Brown vd.,1986; Çelik vd., 2000). Bu çalışmada da sodyum benzoatın üç farklı dozu, sonuçların güvenilirliği açısından kontrol ve deney gruplarında her grup için 20 embriyo kullanılmıştır.

Bebeklikten yaşlılığa kadar tüm insanların karşı karşıya kaldıkları kimyasal maddelerin başında hazır gıdaların raf ömürlerini uzatmak amacıyla kullanılan besin koruyucular gelmektedir. Bu nedenle, son yıllarda besin koruyucuların toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yoğunluk kazanmış ve bu çalışmaların sonucunda bazı besin koruyucuların canlılar için toksik etkili olabileceği açıklanmıştır (Fujitani, 1993; Safer ve Nughamish, 1999; Sasaki vd.,2002 ; Meng ve Nie, 2005; Aktaş vd., 2008). Ancak besin koruyucularından sodyum benzoatın embriyonal gelişim üzerine etkilerini inceleyen histopatolojik çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda, ülkemizde ve dünyada, margarin, zeytin ezmesi, alkolsüz içecekler, reçel, jöle, bisküvi, gofret, kek kremaları, soslar ve ketçapların yanı sıra kozmetik ve insan/veteriner ilaçlarında koruyucu madde olarak kullanılan sodyum benzoatın, gelişime model olarak düşündüğümüz, tavuk embriyoları karaciğer dokularına olası etkileri araştırılmıştır.

Gıda katkı maddelerinin canlı sistemlerdeki etkileri üzerine yapılan çalışmaların birçoğu genotoksisite çalışmalarıdır. Örneğin; gıdalarda antimikrobiyal katkı maddesi olarak sıklıkla kullanılan sodyum sorbat ve potasyum sorbatın in vitro genotoksik etkileri, insan periferik lenfositlerinde, kromozomal anormallik ve kardeş kromatid değişimini negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı, primer DNA hasarını indüklediği belirlenmiş ve bu maddelerin klastojenik ve mutajenik etkilerinin olduğu kararına varılmıştır (Mamur, 2009).

Yılmaz vd. (2008a), besinlerde antioksidan katkı maddesi olarak kullanılan sitrik asitin genotoksik etkilerini *Allium sativum* kök ucu hücrelerinde araştırmışlar, mitotik indekste kontrole göre bir azalma ile C-mitoz, köprü oluşumu, yapışıklık ve kalgın kromozomlar gibi anormalliklere sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Yiyecek ve içecek endüstrisinde koruyucu olarak kullanılan sodyum metabisülfid ile sıçanlarda yapılan araştırmada kromozom aberasyonunu indüklediği bu nedenle genotoksik risk oluşturabileceğini söylenerek insan besinine ilave edilmesinin yasaklanması gerektiği öne sürülmüştür (Kayraldız, 2005).

İntraperitoneal olarak 3 ile 24 saat boyunca uygulamış 39 farklı gıda katkı maddesinin 8 farklı fare organı üzerinde genotoksisitelerini comet test tekniğiyle araştıran Sasaki vd. (2002) bazı katkı maddelerinin mide, kolon ve idrar kesesi hücrelerinde DNA hasarını doza bağlı olarak artırdıklarını, bazı katkı maddelerinin ise düşük konsantrasyonlarda bile (10-100 mg/kg) gastrointestinal organlarda DNA hasarına yol açtıklarını ortaya koymuşlardır. Aynı araştırmacılar üç fungusit (bifenil, sodyum o-fenilfenol ve thiabendazol), iki antioksidan (BHA, BHT), ve dört tatlandırıcı (sodyum siklomat, sakkarin, sodyum sakarin, sükraloz) katkı maddelerinin tümünün gastrointestinal organlarda DNA hasarını artırdıkları tespit etmişlerdir.

Ishidate vd., (1984) 190'ı sentetik, 52'si doğal kaynaklı 242 tane gıda katkı maddesinin genotoksik etkilerini, AMES ve *in vitro* kromozomal anormallik (Çin Hamsteri fibroblast hücrelerinde) testleriyle araştırmışlar, çalışılan katkı maddelerinden 3 tanesinin (beetred, erythorbic asit, klorin dioksit) sadece AMES testinde, 43 tanesinin sadece Çin Hamsteri fibroblast hücrelerine uygulanan kromozomal anormalliği testinde, 11 tanesini ise (cinnamik aldehit, ECF, L-sistein mono hidroklorit, hidrojen peroksit, potasyum bromat, sodyum klorit, sodyum hipoklorit, sodyum nitrit, kakao pigmenti ve karamel, kalsiyum hipoklorit) her iki test sisteminde de pozitif etkili olduklarını belirlemişlerdir.

Chen vd. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada sodyum benzoatın artan dozlarında gelişen zebra balıklarının canlı kalma oranının azaldığı, fertilizasyondan 3 gün sonra, doza bağımlı olarak, embriyoların ventral diensefalondaki nöronlarda tirosinhidroksilaz ve dopamin transporter ekspresyonunun kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı,

fertilizasyondan 6 gün sonra ise lokomotor aktivitede belirgin bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Fare ve sıçanlarla yapılan çalışmalarda benzoik asitin kusurlu oluşumlara neden olduğu, sodyum benzoatın üreme ve gelişme üzerine toksik etki oluşturmadığı, genotoksidite çalışmalarının büyük bir çoğunluğu ile kanserojenite çalışmalarında negatif sonuç verdiği bildirilmektedir (Nair, 2001).

Sodyum benzoat için farklı türlerle gerçekleştirilmiş birkaç teratojenite çalışması bulunmaktadır. Gebelik dönemindeki sıçan, fare, hamster ya da tavşanlara oral yoldan günlük verilen sodyum benzoatın (300 mg/kg/ vücut ağırlığı) yavruların gelişimini olumsuz etkilemediği gözlenmiştir (Anonim, 1972b). Bunun yanı sıra, sıçanlara gebeliğin farklı sürelerinde farklı dozlarda intraperitoneal verilen sodyum benzoatın fetal canlı ağırlığında ve anne karnındaki canlılık oranında azalmaya neden olduğunu belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Minor ve Backer, 1971). Aynı zamanda, o çalışmada sıçanlara günlük 1000 mg/kg/vücut ağırlığı dozda uygulanan sodyum benzoatın fetotoksik ve teratojenik etkilerinden, oral ve intraperitoneal uygulamalar arasındaki farmakokinetik farklılıkların daha fazla hassasiyetin nedeni olabileceğinden söz edilmektedir.

Oral olarak alınan sodyum benzoatın sindirim sisteminde hızlı bir şekilde emildiği, insanlarda ve deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Anonim, 1972a; 1972b). İnsanlarda alındıktan sonra 1-2 saat içinde plazma konsantrasyonunda en yüksek düzeye ulaştığı bilinmektedir (Kubota ve Ishizaki, 1991). Sodyum benzoat dermal ya da oral yolla alındıktan sonra karaciğerde metabolize olmaktadır (Feillet ve Leonard, 1998). Gastrointestinal sistemde hızla absorbe edilen benzoik asit ve benzoatlar, karaciğerde glisin varlığında hippürik asit yapımını sağlar. Glisin yokluğunda ise glukuronik asite metabolize olur (Xue vd., 2004). Sodyum benzoatın metabolize ürünlerinin DNA üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan çalışmada tek doz olarak verilen sodyum benzoatın karaciğerde birinci günde yüksek oranda DNA hasarına neden olduğu daha sonraki aşamalarda ise hasarın daha yavaş devam ettiği bunun da ilk başta hippürik asit oluşumunun hızlı olduğu ve etkinin de bu yüzden fazla olduğu belirtilmiştir (Xue vd, 2004).

Bir besin koruyucu olan sitrik asidin LD₂₅ (480 mg/kg.va.) dozu farelere intraperitoneal yolla uygulandıktan 10 gün sonra vücut ağırlıklarında kontrol

grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenmesine rağmen ($p < 0,001$), organ ağırlıklarında (karaciğer: $p > 0,05$, böbrek: $p > 0,05$, dalak: $p > 0,05$) anlamlı olmayan bir artış gözlenmiştir (Aktaç vd, 2003). Yapılan bazı çalışmalarda sodyum benzoatın vücut ve organ ağırlıkları üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. B6C3F1 fareleri ve F344 sıçanlarında vücut ağırlığında değişiklik görülmediği (Fujitani, 1993), Kaboğlu ve Aktaç'ın çalışmasında (2002), farelerde sodyum benzoatın doza bağlı olarak vücut ağırlığını azalttığı, bir başka çalışmada ise hayvanların vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlendiği bildirilmiştir (Bakar, 2008). Bakar (2008) tarafından, önceki çalışmalardan farklı olarak, hayvanların vücut ağırlığındaki artışın uygulanan doz ve uygulama süresine bağlı olabileceği vurgulanmıştır.

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarına ait embriyoların ağırlıkları tartılmış, SB'a 2 gün ve 5 gün maruz bırakılan embriyoların ortalama ağırlıkları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, madde uygulanan gruplarda artan madde miktarına bağlı olarak embriyoların ağırlıkları anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,001$). Bu azalma her embriyonun kendi gelişim sürecine bağlı olabileceği gibi, büyük ihtimalle SB etkisiyle vitellin damarların yapısındaki bozulmaya bağlı olarak embriyoların yeterli beslenememesinden kaynaklanabilir.

Çok seyrek görülmesine rağmen, küçük damarlarda nekrozla seyreden, lökoklastik vaskülit (damar iltihabı) hastalığının sodyum benzoat alımı sonrasında ortaya çıktığı bildirilmektedir (Çalışır ve Çalışkan, 2003). Çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sodyum benzoata iki gün maruz kalan embriyoların, yumurta açıldıktan sonraki makroskobik görünümünden (Şekil 4.1), özellikle en düşük dozdan (250mg/kg) itibaren (en çok 1000 mg/kg dozda) vitellin damarlanmanın azaldığı dikkati çekmiştir. Sodyum benzoata 5 gün maruz kalan grupta, düşük dozlarda nispeten daha az olmakla birlikte, özellikle yüksek dozda (1000mg/kg) damarlanmanın ciddi derecede azaldığı belirlenmiştir. Vitellin damarlanmadaki bu azalmanın embriyonal dönemde organogenesi olumsuz etkilemesi kaçınılmazdır. Nitekim histolojik kesitlerde karaciğer dokusunda venlerin yapısında bozulma, konjesyon, ödem, sinuzoidlerde genişleme gibi bulgulara sıklıkla rastlanmıştır.

Sodyum benzoatın kısa süreli oral alımına bağlı olarak serum protein seviyelerini değiştirdiği, özellikle periportal alandaki hepatositlerde camsı sitoplazmanın oluştuğu bildirilmiştir (Fujitani, 1993). Elektron mikroskobu incelemelerde, hem

sitrik asit hem de sodyum benzoat grubunun karaciğer ve böbrek dokularında dejenerasyon ve nekrotik değişiklikler gözlenmiş, karaciğerde hepatosit membranlarındaki hasar, mitokondrilerdeki krista kaybı, nükleus zarındaki parçalanmalar en yoğun gözlenen değişiklikler olarak kaydedilmiştir (Bakar, 2008). Aynı araştırmacı sodyum benzoat ve sitrik asitin etkisi açısından kıyaslandığında, sodyum benzoatın daha fazla dejeneratif etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

180 gün süreyle 155mg/kg/gün oral yolla verilen sodyum benzoatın fare karaciğer hücrelerinde vakuolizasyon, kromatin materyalinde bozulma gibi oluşumlara yol açtığı, nükleus membranında çözülme, nükleolusun periferde yerleşimi gözlenmiştir. Ayrıca hepatositlerde displaziye rastlanmış ve bu hücrelerin normal hücrelerden ez az iki kat daha büyük oldukları, büyük ve çok koyu boyanmış nükleus içerdikleri, bazılarının ise nükleussuz oldukları tespit edilmiştir (Sinha ve D'Souza, 2010). Aynı araştırmacılar bu tip değişimlerin hepatoselüler yapı ve organellerin aktivitesinde de değişikliğe neden olacağına dikkati çekmişler ve hepatoselüler organel aktivitesinde değişikliği hepatoselüler adaptif yanıt olarak tanımlamışlardır.

Çalışmamızda sodyum benzoatın, yüksek dozda daha çok olmak üzere bazı hepatositlerde şişmeye, vakuolizasyona, kromatin kondensasyonuna, nükleusun şekil bozukluğuna ve eksentrik yerleşimine neden olduğu saptanmıştır. Vakuolar dejenerasyon hücrelerin zarar görmüş materyallerini toplamak için oluşturduğu bir değişiklik olarak düşünülebilirse de hepatositlerde görülen sitoplazmik vakuolizasyon muhtemelen sodyum benzoat etkisi ile lipidlerin yapısının değişmesi, yağ metabolizmasının bozulması, karbohidrat metabolizmasının olumsuz etkilenmesi sonucu glukoneogenezin tıkanması, hücre hasarı sonucu protein gruplarının dağılması ve serbest radikal üretimi sonucu olabilir.

Çekirdek ve çekirdek materyalinin anormal yoğunlaşması, metabolik aktivitenin azalmasına, bazı durumlarda düzensiz çekirdek zarı oluşumuna ve sitosole çekirdek materyalinin geçmesine, çekirdek porları sayısındaki azalmanın ise nükleustan sitosole veya sitosolden nükleusa makromolekül transportunda azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir (Lahijani vd., 2009). Bu çalışmada sodyum benzoatın neden olduğu nüklear düzeydeki anormallikler çekirdek materyalinin sitosole geçmesine, hücrede aktivasyon azalmasına neden olmuştur diyebiliriz.

Birçok bileşik hücrenin önemli organellerinden endoplazmik retikulum (ER) faaliyetlerinde artışa yol açmaktadır. Bu artış, bozulmuş membran katabolizması ile ilgili olarak ER'un ek üretiminden kaynaklanmaktadır. Nedeni ne olursa olsun bu artışın, artışa sebep olan kimyasalın hidrolizi için hidrosilasyon enzimlerini ve spesifik bağışıklık savunma sistemini karşılamak için yüksek oranda protein sentezini işaret ettiği ve hücrenin patolojik durumunu gösterdiği ifade edilmiştir (De Robberties ve De Robberties, 1980). Bazı kimyasalların (sodyum benzoat, neopybuthrin) farelerin ve balıkların karaciğer hücrelerinde mitokondri sayısında artışa neden olduğu, bu durumun toksisitenin üstesinden gelmek amacıyla hücrenin enerji gereksiniminin artmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (El-Elaimy vd., 1993; Sinha ve D'Souza 2010).

Sodyum benzoata maruz kalan gruplarda doza bağlı olarak hepatositlerde sitoplazmik dejeneratif görüntüler hücrelerde organel düzeyinde hasarı akla getirmektedir. Özellikle nükleus, ribozom ve ER gibi biyosentez olaylarında önemli işlev gören organellerdeki yapısal bozuklukların protein, karbohidrat ve lipid mekanizmalarının da bozulmasına neden olması kaçınılmazdır. Diğer hücrelerde olduğu gibi hepatositlerde enerji üretiminde rolü olan mitokondrilerde şişme, yoğunlaşma, krista kayıpları ve membran permeabilitesinde değişim gibi hasarlar organelin homeostazının ve hücrel oksidatif süreçlerin bozulmasının nedeni olabilir. Nitekim 31. evre kontrol grubuna göre 36. evreye ait kontrol grubu karaciğer hücrelerinde daha fazla olduğu gözlenen glikojen ve retiküler fibrillere, sodyum benzoata hem iki hem de beş gün maruz kalan gruplarda en düşük dozlarda (250mg/kg) bile rastlanmamış olması hepatositlerde glikojenez gibi biyosentez faaliyetlerin bozulmasının göstergesi olarak görülebilir. Ancak, ışık mikroskop incelemeleri ile organellerin yapısı hakkında sınırlı bilgi edinilebildiğinden, bu konuda daha kesin yargıya ulaşmak için hücrenin ince yapısı hakkında detaylı bilgi sağlayan elektron mikroskop düzeyinde incelemelerin yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Besin katkı maddesi olarak yaygın kullanılan sodyum benzoatla yapılmış çalışmalar genelde genotoksik olup (Sarıkaya ve Solak 2003; Türkoğlu, 2007), genotoksitate testlerinde farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Sodyum benzoat AMES testinde negatif (Ishidate vd., 1984), Çin hamsteri hücre kültüründe pozitif sonuç vermiştir (Ishidate ve Odashima, 1977; Ishidate vd 1980; Ishidate vd. 1984) .

Zengin vd. (2011) yaptıkları çalışmada sodyum benzoat ve potasyum benzoatın mitotik indeksi düşürdüğü, mikronükleus (MN) frekansını arttırdığı, sodyum benzoatın önemli derecede DNA hasarını arttırmasına rağmen potasyum benzoatın DNA hasarında önemli bir artışa neden olmadığını ortaya koymuşlardır. Sasaki vd. (2002) sodyum benzoatın (2000 mg/kg) fare organlarında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir DNA hasarına neden olmadığını bildirmelerine karşın gıda katkı maddeleriyle yapılan genotoksik çalışmalar sonucunda bizim çalışmamıza benzer mikronükleus, kalgın kromozom, anafaz köprüsü gibi bulgular ortaya konmuştur (Sarıkaya ve Solak 2003; Türkoğlu, 2007; Mpountoukas vd., 2008; Yılmaz vd., 2009).

Mikronükleus (MN) testi hem klastogeniteyi (kromozom kırılması) hem de anogeniteyi (anöploidiye sebep olan) belirler ve genomdaki değişikliği yansıtır. Sodyum benzoat ve potasyum benzoatın doza bağımlı olarak MN sıklığını arttırdığı yapılan genotoksisite çalışmalarıyla belirlenmiştir (Inoue vd., 1997; Albertini vd., 2000). Yapılan başka bir çalışmada sodyum benzoat ve potasyum benzoatın mitotik indeksi azalttığı bildirilmiştir (Zengin vd. 2011). Mitotik indeksteki bu azalmanın, enerji üretim merkezinin baskılanması ve ATP seviyesinin azalması, G₂'nin bloke edilerek hücrenin mitoza girmesinin engellenmesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Jain ve Sorbhoy, 1988; Hidalgo vd., 1989; Yılmaz vd., 2008b).

Nükleolus (çekirdekçik), nükleus (çekirdek) içinde rRNA sentezinden ve hücre proliferasyonunun kontrolünden sorumlu bölgeler olup, ökaryotik hücrelerin ribozom üreten merkezleridir. Aynı zamanda sitoplazmik yapıların farklılaşmasının düzenlenmesinde de rol oynar. Çekirdekçiğin durumuna bakılarak, kromatin organizasyonu ve transkripsiyonu arasındaki ilişkilerin açıklanabileceği bilinmektedir (Darnell vd., 1986).

Akrosentrik kromozomların kısa kollarında yer alan Nucleolar Organizer Regions (NORs), ribozomal RNA için kodlayıcı genler içeren DNA segmentleridir (Ferguson ve Handmaker, 1961; Darnell vd., 1986). NOR da bulunan genler tarafından kodlanan argirofil NOR ile ilgili proteinler (RNA polimerazI, B23protein, C23protein veya nucleolin), argirofilik NOR (AgNOR) boyama tekniği uygulanarak ışık mikroskop düzeyinde çekirdekte küçük siyah noktalar şeklinde gözlenebileceği söylenmektedir (Ploton vd., 1986). Nitekim gümüş

boyası ile boyanarak belirlenebilen NOR bölgelerinin (AgNOR) pek çok tümör tipi için önemli tanısal değer taşıdığına dair çalışmalar yapılmış (Crocker, 1990), birçok lezyonda ortalama AgNOR oranlarının proliferasyon aktivitesinin belirlenmesinde oldukça değerli bir yöntem olduğu düşünülmüştür (Sakr vd., 1993). Her nükleustaki AgNOR sayısının hücrenin proliferasyon aktivitesi ile ilişkili olduğu kanıtlanmış (Egan ve Crocker, 1992), AgNOR sayısının çeşitli malignitelerde sitopatolojik tanıda önemli olabileceği de vurgulanmıştır (Giri vd., 1989; Chern vd., 1997; Lee vd., 1997).

Bu çalışmada besin katkı maddesi olarak kullanılan sodyum benzoatın doza bağlı olarak, gelişim dönemindeki tavuk karaciğer hücrelerinde NOR bölgelerinde ve mitotik bölünmede azalmaya, kromozomlarda yapışıklığa, kalgın kromozomlara, nükleusta tomurcuklanma ve mikronükleus oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Karaciğer hücrelerinde görülen mitotik bölünmedeki azalmanın nedeninin, diğer araştırmacıların (Hidalgo vd., 1989; Yılmaz vd., 2008b) belirttiği gibi, doğrudan iğ ipliklerinin üretimi ve düzenlenmesi ile ilgili enzimler ile DNA prekürsörlerinin sentezi için gerekli DNA polimeraz gibi belirli hücre siklusu enzimlerinin inhibisyonu sonucu olabileceğini düşündürmüştür. Mikronükleus, mitoz bölünmenin anafaz ve telofazı sırasında kardeş çekirdeklere gidemeyen asentrik fragmentler ve kalgın kromozomlar sonucu oluşmaktadır. Çeşitli kimyasalların kromozomlarda hasarlara neden olduğu ve iğ ipliklerinin oluşumunu engelleyerek mikronükleusa sebep oldukları birçok çalışma ile belirlenmiştir (Luca vd., 1987; Munzer vd., 1990; Meng ve Zhang, 1992). Çalışmamızda gıda koruyucusu olarak kullanılan sodyum benzoat da kimyasal bir maddedir. Bu maddenin embriyonal karaciğer hücrelerinde oluşturduğu kalgın kromozomların sonucu olarak MN oluşumuna yol açtığını ve bundan dolayı da genotoksik etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Gıda katkı maddeleri kullanılmadan önce bunların değişik şekillerde hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri ile çeşitli canlılarda genotoksik, embriyotoksik ve histopatolojik etkilerini ele alan çalışmalarının da mutlaka yapılması gerekir. Bu çalışmalardan elde edilecek sonuçlara göre söz konusu maddenin gıda katkı maddesi olarak kullanılıp kullanılmayacağına, hangi dozda, ne şekilde alınmasının uygun olacağına karar verilmelidir.

Çalışmada embriyonik gelişim süresince uygulanmış sodyum benzoatın ne kadarının yavruya geçerek onu etkilediği bilinmemesine rağmen, elde edilen

sonuçlara göre yavrunun etkilenebileceği düzeye sodyum benzoata maruz kaldığı ve bundan olumsuz etkilendiği söylenbilir. Bu alışma sonucunda gıdalarda koruma amacıyla kullanılan sodyum benzoat tavuk embriyolarında gelişim geriliğine ve önemli metabolik fonksiyonları olan karaciğerde histolojik değişimlere neden olmuştur. Dolayısıyla bu çalışma sonucunda sodyum benzoatın canlılar için embriyotoksik risk oluşturma ihtimalinin yüksek olduğunu söyleyebiliriz. Yapılan diğer araştırmaların sonuçları da bu bulguları destekler yöndedir. Kesin sonuca ulaşılabilmesi için farklı araştırma yöntemleri ile daha kapsamlı bir şekilde sodyum benzoatın etkilerinin araştırılması gerekse de katkı maddesi olarak kullanımının kontrol altına alınması, yüksek dozlarda uzun süreli tüketilmemesi, özellikle gebelik döneminde kullanılmaması hatta insan besinine ilave edilmesinin yasaklanması gerektiği görüşünde yiz.

KAYNAKLAR

- Ahmed, A.A., Soliman, M.M., Khelifa, B.A.A., El-Sadek, S.E. and Nounou, A.H. 1988. Embryocidal and teratogenic effects of paraquat on chick embryos and white rats. **Arch. Exper. Vet. Med.** 42: 848-853.
- Aktaç, T., Kaboğlu, E., Bakar, A., Karakaş, H., 2003. The short-term effects of single toxic dose of citric acid in mice. **Journal of Cell and Molecular Biology** 2: 19-23
- Aktaç, T., Kaboğlu, Ç. A., Kızılay, G., Bakar, E. 2008. The Short Term Effect Of Single Toxic Dose Of Citric Acid On The Mouse Tissues: Histopathological Study. **Fresenius Environmental Bulletin.** 17(3): 311-315.
- Albert M. 2006. The effects of caffeine on the four day old chick embryonic heart rate. **Journal of Chicken Embryology**
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norpha, H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A., 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. **Mutat. Res.** 463 (2): 72-111.
- Altuğ, T. 2001. Gıda Katkı Maddeleri. **Meta Basım**, s. 286, İzmir.
- Anderson, J. A. (1996). Allergic reactions to food. **Critical reviews in food sciences and nutrition.** 36: 519-538.
- Anonim, 1972a. GRAS (Generally Recognized As Safe) food ingredients: benzoic acid and sodium benzoate. Washington, DC, US Food and Drug Administration.
- Anonim, 1972b. Teratologic evaluation of FDA 71-37 (sodium benzoate). East Orange, NJ, US Food and Drug Administration, Food and Drug Research Laboratory.
- Anonim, 2005. Benzoic Acid And Sodium Benzoate, Concise International Chemical Assessment Document 26. Geneva.
- Anonim, 2002/28 Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Saflık Kriterleri Tebliği.
- Anonim, 2004a. Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Ankara.

- Anonim 2004b. Türk Gıda Mevzuatı. Gıdaların üretimi, tüketimi ve denetlenmesine dair kanun hükmünde kararnamenin değiştirilerek kabulü hakkında kanun. Kanun no: 5179
- Aydemir, I. 2006. Normal ve Alkol İle Uyarılmış Piliç Embriyosu Nöral Tüp Gelişiminde Glikozaminoglikanların (GAG) Histokimyasal Olarak Belirlenmesi. Celal Bayar Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi. Manisa.
- Bakar, E., 2008 Besin Koruyucuların Sıçan Dokularında Sialik Asit Düzeyleri Ve Membran Glikozaminoglikanları Üzerine Etkileri. Trakya Üniversitesi. Edirne. Doktora Tezi.
- Bancroft, J.D., Cook, H.C. 1994. Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone, p. 457, London.
- 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 – 3.
- Becker, S.R.B. and Shibley, I.A. 1998. Teratogenicity of ethanol in different chicken strains. **Alcohol Alcoholism**. 33 (5) : 457-464.
- Bedford, B. and Clarke, M.A. 1972. Suspected benzoic acid poisoning in the cat. **The Veterinary Record**. 88: 599-601
- Bellairs, R. and Osmond, M. 2005 The Atlas of ChickDevelopment, **Academic Press**, s.476. San Diego.
- Bilge, S., Bingöl, G. 1976. Bazı Antibiyotiklerin ve Sülfamitlerin Tavuk Embriyonu Myoglobininin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Olan Etkilerini İnceleme. **Mec. J. Fac. Pharm** 6-18
- Bindslev-Jensen, C.(1998). ABC of allergies. Food allergy. **British medical Journal**. 316: 1299-1302
- Briggs, D.R. 1997. Food Additivis. Foodand Nutrition. **Allen&Unwin Pty Ltd**. s. 624. Australia
- Brown, L.P., Flint, O.P., Orton, T.C. and Gibson, G.G. 1986. Chemical teratogenesis: Testing methods and the role of metabolism. **Drug Metab. Rev.** 17 (3-4): 221-260.
- Brunström, B., Broman, D. and Naf, C. 1990. Embryotoxicity of PolycyclicAromatic Hydrocarbons (PAHs) in three domestic avian species, and of PAHs and coplanar Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in the common eider. **Environ. Pollut.** 67: 133-143.

- Chen, Q., Huang, N., Huang, J., Chen, S., Fan, J., Li, C. ve Xie, F. 2009. Sodium Benzoate Exposure Down regulates the Expression of Tyrosine Hydroxylase and Dopamine Transporter in Dopaminergic Neurons in Developing Zebrafish. **Birth Defects Research (Part B)** 86:85–91.
- Chern JH, Lee YC, Yang MH, Chang SC, Perng RP. 1997. Usefulness of argyrophilic nucleolar organiser regions score to differentiate suspicious malignancy in pulmonary cytology. **Chest**; 111: 1591-6. Cherington, M., 1998. Clinical Spectrum Of Botulism, **Muscle & Nerve**, 701-710
- Chibber, G. and Gilani, S.H. 1986. Acrolein and embryogenesis: An experimental study. **Environ. Res.** 39: 44-49.
- Cilieviçi, O., Cordos, I., Ghidus, E., Moldovan, A. 1980. The toxic and teratogenic effect of Aflatoxin B1 on the chick embryo development. **Morphol. Embryol.** 26 (4): 309-314.
- Clemmensen, O. and Hjorth, N. (1982). Perioral Contact Urticaria from sorbic and benzoic acid in salad dressings. **Contact dermatitis.** 8: 1-6.
- Coverly, J., Peters, L., Whittle, E. and Basketter, D. A. (1998). Susceptibility to skin stinging, non-immunologic contact urticaria and acute skin irritation; is there a relationship. **Contact dermatitis.** 38: 90-95.
- Crocker J. Nucleolar Organizer Regions. 1990. **Current Top Pathology.** 91-149.
- Çalışır Erden, Z. Ve Çalışkan, D. 2003. Gıda Katkı Maddeleri Ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. **Ankara Ecz. Fak. Derg.**, 32 (3): 207-206.
- Çelik, İ., Oguz, H., Demet, Ö., Boydak, M., Dönmez, H.H., Sur, E. And Nizamlioglu, F. 2000. Emryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* Nrrl 2999. **Brit. Poult. Sci.** 41 (4): 401-409.
- ÇOK İ, Çocuk beslenmesinde sıkça kullanılan katkı maddelerinin yarattığı sorunlar., **54. Türkiye Milli Pediatri Kongresi**, (20-24 Ekim 2010), Antalya.
- Dalgıcı, 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
- Darnell, J., Lodish, H., Baltimore, D. 1986. Molecular Cell Biology. **Scientific American Books.** New York, , S. 269-369
- Davey, M.G. and Tickle, C. 2007. The Chicken As A Model For Embryonic Development. **Cytogenet Genome Res.** 117: 231–239.

- Davies, W.J. and Freeman, S.J. 1995. Chick embryotoxicity screening test (CHEST I and II). In: Methods in Molecular Biology. *In Vitro* Toxicity Testing Protocols. **Humana Press Inc.**, Totowa, NJ, 43: 307- 310.
- Dawson, D. A., Schultz, T. W. and Hunter, R. S. 1996. Developmental toxicity of carboxylic acids to *Xenopus* embryos: A quantitative structure activity relationship and computer-automated structure evaluation. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*. 16: 109-124.
- Demirel, A., 2007. Erken Dönem Tavuk Embriyosu Nöral Tüp Gelişimine Değişik Dozlarda Difenil Hidantoin'in Etkisi. T.C.S.B. İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İzmir. Uzmanlık Tezi.
- De Robberties, E.D.P., and De Robberties, E.M.F., 1980. Cell and Molecular biology. **INFO-MED**. Int. Ed.
- Dönmez, M., Cankurtaran, M., Diken, F., Günendi, P. 2010. Gıda Beslenmesi Ve Kanser İlişkisi. Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu. Düzce.
- Egan MJ, Crocker J. 1992. Nucleolar organizer regions in pathology. **Br J Cancer**. 65: 1-7.
- El-Elaimy, I.A., Sakr, S.A., El-Sadeny, M.M., and Gabr, S.A. 1993. Electron microscopic study of the liver of *Tilapia* exposed to neopybuthrin. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**. 50: 682-688.
- Ellinger, A. 1923 Aromatische Säuren at: Handbuch der experimentellen Pharmakologie. **Springer Publishing**. 976. Berlin
- Elovaara, E., Hemminki, K. and Vainio, H. 1979. Effects of methylene chloride, trichloroethane, tetrachloroethylene and toluen on the development of chick embryos. **Toxicology** 12: 111-119.
- Feillet, F. ve Leonard, J.V. 1998. Alternative pathway therapy for urea cycle disorders. **Journal of inherited metabolic disease, Suppl**. 21(1):101–111.
- Ferguson-Smith, M.A., Handmaker, S.D. 1961. Observations on the satellited human chromosomes. **Lancet**. 1: 638-640
- Fujitani, T. 1993 Short-term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. **Toxicology Letters**, 69, 171-179.
- Giri, D.D., Nottingham, J.F., Lawry, J., Dundas, S.A., Underwood, J.C.E. 1989. Silver Binding Nucleolar Organiser Regions (AgNORs) In Benign And Malignant Breast Lesions: Correlations With Ploidy And Growth Phase By Dna Flow Cytometry. **J. Pathol.**, 157-307.

- Güneşli, A. 2000. “Bazı Gıda Boyalarının Toksikolojik Etkileri” Seminer, A.Ü.Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı. Ankara.
- Güney, Ö., Selçuki, M., Ünlü, A., Bağdatoğlu C. 1999. The Effect Of Diazepam On The Development Of Neural Tube Defects İnearly Chick Embryos. **Turkish Neurosurgery**. 9: 44 – 47
- Hager, G.P., Chapman, C.W. and Starkey, E.B. 1942 The toxicity of benzoic acid for white rats. **Journal of the American Pharmacology Ass.**, 31: 253-255
- Halaç, E. 2002. Gıda Kalitesi Ve Gıda Mevzuatı İle İlgili Temel Kavramlar Işığında Türk Ve AB Gıda Mevzuatının Karşılaştırılması. **Akdeniz İ.İ.B.F. Dergisi**, 4: 107-131
- Hamburger, V. and Hamilton, H.L. 1992. A series of normal stages in the development of chickembryo. **Developmental Dynamics**. 195: 231-272.
- Hamilton, H.L. 1952. Lillie’s Development of Chick. **Henry Holt and Company**. s. 624. New York
- Hamilton, J.W., Denisont M.S. and Bloom S.E. 1983. Development of basal and induced aryl hydrocarbon(benzo[a]pyrene) hydroxylase activity in the chicken embryo in ovo. **Proc. NatL Acad. Sci**. 80: 3372-3376.
- Harold, T.T., Bruyere, J., Steve, J., Kargas, A., Nishikawa, T., Takagi, Y. And Gilbert, E.F. 1987. Alcohol induces cardiovascular malformations in the chick embryo. **Teratology** 35: 95-103.
- Henry, M.H and 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.
- Hidalgo, A., Gonzales-Reyes, J.A., Navas, P., Garcia-Herdugo, G., 1989. Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham. **Cytobios**, 57: 7-14.
- <http://www.ggd.org.tr/sss2.php?bolum=249#s786-30mart2011>
- http://www.swarthmore.edu/NatSci/sgilber1/DB_lab/Chick/Chick_Observe.html
- <http://www.msstate.edu/dept/poultry/avianemb.html>
- <http://www.kkgm.gov.tr>
- <http://www.turktox.org.tr/Gida/index.php?p=ekodlari>

- Inoue, A., Yokomori, K., Tanabe, H., Mizusawa, H., Sofuni, T., Hayashi, Y., Tsuchida, Y., Shimatake, H., 1997. Extensive genetic heterogeneity in the neuroblastoma cell line NB(TU)1. **International Journal of Cancer** 72:1070–1077.
- Ishidate, Jr., M. and Odashima, S. 1977. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro - A screening for chemical carcinogens. **Mutation Research**, 48, 337-354
- Ishidate, M., Sofuni, T. And Yoshikawa K. 1980. Chromosome aberration tests with chinese hamster cells in vitro with and without metabolic activation a comparative study on mutagens and carcinogens. **Arch. Toxicol. suppl.**, 4:41-44
- Ishidate, Jr., M., Sofuni, T., Yoshikawa, K., Hayashi, M., Nohmi, T., Sawada, M. and Matsuoka, A.1984. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. **Fd. Chem. Toxic.**, 22 (8) 623-636.
- Jain, A.K., and sorbhoy, R.K., 1988. Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides. III. Concluding remarks. **Cytologia** 53: 427–436.
- Jelinek, R. (1977) The chick embryotoxicity screening test (CHEST). In: Methods in Prenatal Toxicology, **G. Thieme**, Stuttgart.
- Jelinek, R., Peterka, M. and Rychter, Z. 1985. Chick Embryotoxicity Screening Test- 130 Substances Tested. **Indian J. Exp. Biol.** 23: 588-595.
- Jelinek, R. and Marhan, O. 1994. Validation of chick embryotoxicity screening test (CHEST). A comparative study. **Funct. Dev. Morphol.** 4 (4): 317-323.
- Kaboğlu, A. ve Aktaç, T.A. 2002. Study of the effects of the sodium benzoate on the mouse liver. **Biologia Bratislava.** 57(3): 373-380.
- Kamal, S. M. ve Lashin, A. N. 1998. The Effect Of Excessive Dietary Sodium Benzoate On The Odontogenic Tissues Of Albino Rat Incisor. **Cairo Dental Journal**, 14 (3): 435 -441.
- Kayraldız, A. 2005 Sodyum Metabisülfit'in Sıçan Kemik İliği Hücrelerinde In Vivo Genotoksik Etkileri, Çukurova Üniversitesi, Adana, Doktora Tezi.
- Kaya, S., Alabay, B., Baydan, E. ve Altunay, H. 1995. Ağır metallerin tavuk embriyolarında teratojenik etkileri: Arsenik, ve kursun ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasının etkileri. **Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.** 42: 225-233.
- Kemper, F.H. and Luepke, N.P. 1986. Toxicity Testing By The Hen's Egg Test (Het). **Food Chemistry Toxicology**, 24: 647–648.

- Kubota, K. and Ishizaki, T. 1991 Dose-dependent Pharmacokinetics of Benzoic Acid Following Oral Administration of Sodium Benzoate to Humans. **European journal of Clinical Pharmacology**. 41(4):363–368.
- Korhonen, A., Hemminki, K. and Vainio, H. 1982. Embryotoxicity of Industrial Chemicals on the Chicken Embryo: Thiourea Derivatives. **Acta Pharmacol. et. Toxicol.** 51: 38-44.
- Korhonen, A., Hemminki, K. and Vainio, H. 1983. Embryotoxicity of Industrial Chemicals on the Chicken Embryo: Dithiocarbamates. **Teratogen. Carcin. Mut.** 3 (2): 163-175.
- Kreis, H., Frese, K. und Wilmes, G. 1967. Physiologische Und Morphologische Veränderungen An Ratten Nach Peroraler Verabreichung Von Benzoesäure. **Fd. Cosmet. Toxicol.**, 5:505-511 Küçüköner, E. 2006. Ingredient Functions In New Food Product Development. **Gıda**. 31(3):175-181.
- Lahijani, H.A.K., Rahimpour-Bonab, H., Tavakoli, V., Hosseindoost, M. 2009. Evidence for late Holocene highstands in Central Guilan **Quaternary International** 197: 55–71.
- Larmi, E., Lahti, A. and Hannuksela, M. 1988. Effects of Sorbitan-Sesquioleate on nonimmunologic immediate contact reactions to benzoic acid. **Contact dermatitis**. 19: 368371.
- Lee JS, Lee MS, Park CS, Juhng SW. 1997. Diagnostic value of p53 protein and flow cytometric DNA analysis in the study of serous effusions. **Acta Cytol.** 41: 1719-25.
- Luca, D. Luca, V. Cotor, F. Raileanu, L. 1987. Invivo and in vitro cytogenetic damage induced by sodium nitrite. **Mutat. Res.** 189: 333–339.
- Maci, R. and Arias, E. 1987. Teratogenic effects of the fungicide maneb on chick embryos. **Ecotoxicol. Environ. Safe.** 13: 169-173.
- Maibach, H. I. and Johnson, H. L. (1975). Contact Urticaria Syndrome. **Archives of dermatology**. 111: 726-730.
- Maki, T. ve Suzuki, Y. 1985. Benzoic acid and derivatives. **Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry**. A3: 555–568.
- Mamur, S., 2009 Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Sodyum Sorbat Ve Potasyum Sorbat'ın İnsan Periferik Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri, Gazi Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.

- Matsushita, S., Yamashita, J., Iwasawa, T., Tomita, T. and Ikeda, M. 2006. Effects of In Ovo Exposure to Imazalil and Atrazine on Sexual Differentiation in Chick Gonads. **Poultry Science** 85:1641–1647
- Mclaughlin, J., Marliac, JR., JP., Verrett, JM., Mutchler, MK., Fitzhugh, G. 1963. The Injection of Chemicals in to the Yolk Sac of Fertile Eggs prior to Incubation as a Toxicity Test. **Toxicology And Applied Pharmacology** 5: 760-771.
- Meng, Z. Zhang, L. 1992. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite, **Mutat. Res.** 298 : 63–69.
- Meng, Z., And Nie, A. 2005. Effects Of Sodium Metabisulfide On Potassium Currents In Acutely Isolated Ca1 Pyramidal Neuron Of Rat Hippocampus. **Food Chem. Toxicol.** 44: 225-232.
- Minor, J.L. and Becker, A. 1971. A comparison of the teratogenic properties of sodium salicylate, sodium benzoate and phenol. **Toxicology and Applied Pharmacology** 19: 373.
- Mpountoukas, P., Vantarakis, A., Sivridis, E., Lialiaris, T., 2008. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. **Food Chem. Toxicol.** 46 (7): 2390-2393.
- Molina, E.D., Balander, R., Fitzgerald, S.D., Giesy, J. P., Kannan, K., Mitchell, R. and Bursian, S.J. 2006. Effects Of Air Cell Injection Of Perfluorooctane Sulfonate Before Incubation On Development Of The White Leghorn Chicken (*Gallus Domesticus*) Embryo. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 25(1): 227–232.
- Munzer, R., Guigas, C., Renner, H.W. 1990. Re-examination of potassium sorbate and sodium sorbate for possible genotoxic potential. **Food Chem. Toxicol.** 28 : 397–401.
- Nair, B., 2001. Final report on the safety assessment of benzyl alcohol, benzoic acid and sodium benzoate. **Int. J. Toxicol.** 3:23-50.
- Njagi, G.D.E., Gopalan, H.N.B., 1982. Cytogenetic effects of the food preservatives-sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems. **Mutat. Res.** 102: 213–219.
- Oğuz, E.O., Yüksel, H., Enli, H., Enli, Y., Zorbozan ,O., Zuhail Can, Z., Turgut, G. 2008. Aluminyum Sülfat'ın “Ross” Cinsi Term Besi Civcivi Karaciğerinde Yarattığı Toksik Ve İnflamatuar Hasar. **Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası**, 1:61.

- Onodera, H., Ogiu, T., Matsuoka, C., Furuta, K., Takeuchi, M., Oono, Y., Kubota, T., Miyahara, M., Maekawa, A. ve Odashima, S. 1978. Studies on effects of sodium benzoate on fetuses and offspring of Wistar rats. **Eis. Shik. Hok.**, 96: 47-54.
- Özcan, M. 1992. Hidrokinon'un gelişim toksisitesinin döllenen tavuk embriyosunda analiz ve değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi, 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, Doktora Tezi. Konya.
- Patten, B.M. 1971. Early Embryology of the Chick. McGraw-Hill Book Company. s.284. Toronto.
- Platon, D., Meneger, M., Jeannesson, P., Himber, G., Pigeont, A.J.J. 1986. Improvement in staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. **Histochem.** 5 (18) : 5-14.
- Prelusky, D.B., Hamilton, R.M.G., Foster, B.C., Trenholm, H.L. and Thompson, B.K. 1987. Optimization of chick embryotoxicity bioassay for testing toxicity potential of fungal metabolites. **J. Assoc. Anal. Chem.** 70 (6): 1049-1055.
- Romanoff, A.L. 1997. Life in Twenty-one Days. **Extention Bulletin**, 205. <http://www.msstate.edu/dept/poultry/avianemb.htm>
- Rost, E., Franz, F. und Weitzel, A. 1913 Zur Kenntnis der Wirkungen der Benzoesäure und ihres Natriumsalzes auf den tierischen Organismus; Arbeit aus dem kaiserlichen. **Reichs ges undheitsamt.** U5, 425-479
- Safer, A.M. ve Nughamish, A.J. 1999. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive butylated hydroxytoluene (BHT) in rats: An electron microscopical study. **Histol Histopathol.** 14: 391-406
- Sakr, W.A., Sarkar, F.H., Sreepathi, P., Drozdowicz, S., Crissman, J.D. 1993. Measurement of cellular proliferation in human prostate by AgNOR, PCNA, and SPF. **Prostate** 22: 147-154
- Sarıkaya, R. ve Solak, K. 2003. Genotoxicity of Benzoik Asit Studued in the Drosophila melanogaster Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). **Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi**, 23 (3): 19-32.

- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi K., Tsuda, S. 2002. The Comet Assay With 8 Mouse Organs: Result With 39 Currently Used Food Additives. **Mutat. Res.** 519: 1003 - 119.
- Sinha, R. ve D'Souza, D. 2010. Liver Cell Damage Caused Due to Sodium Benzoate Toxicity in Mice. **International Journal of Biotechnology and Biochemistry** 6 (4) : 549–554
- Smith, T.W. 1997. Avian reproductive system. <http://www.msstate.edu/dept/poultry/avianemb.htm>
- Smyth, H.F. ve Carpenter, C.P. 1948 Further experience with the range finding test in the industrial toxicology laboratory. **J. Ind. Hyg.** 30:63-68
- Srour, R. 1998. Benzoic acid and derivatives. Srour R, ed. **Aromatic intermediates and derivatives**. Paris, A.IV.1– A.IV.17.
- Stefanidou, M., Aleviopoulos, G., Chatziioannou, A., Koutselinis, A. 2003. Assessing food additive toxicity using a cell model. **Vet Hum Toxicol** 45:103–105.
- Sur, E. 2001. Yumurtaya verilen Aflatoksin B1 (AFB1)'in tavukların lenfoid organlarının embriyonal gelişimi üzerindeki etkilerinin enzim histokimyasal yöntemlerle araştırılması. Selçuk Üniversitesi. Doktora Tezi. Konya.
- Toth B. 1984. Lack of tumorigenicity of sodium benzoate in mice. **Fundam. Appl. Toxicol.** 4: 494-496
- Tsay, HJ, Wang YH, Chen WL, Huang MY, Chen YH. 2007. Treatment with sodium benzoate leads to malformation of zebra fish larvae. **Neurotoxicol Teratol** 29:562-569.
- Türkoğlu, M. ve Sarıca, M., 2004. Tavukçuluk Bilimi, Bey Ofset, s.336. Ankara.
- Türkoğlu, Ş. 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mutation Res.** 626: 4-14.
- Wolf, T. and Luepke, N.P. 1997. Formation of micronuclei in incubated hen's eggs as a measure of genotoxicity. **Mutat. Res. Gen. Tox. En.** 394: 163-175.
- Varnagy, L., Budai, P., Molnar, E., Susan, M. and Fancsi, T. 2002. Toxicity and degradation of benfenin in chicken embryos. **Med. Rijk. Gent. Fak. Land. Toe. Biol. Wet.** 67 (2): 111-115.

- Verrett, M.J., Scott, W.F., Reynaldo, E.F., Alterman, E.K. and Thomas, C.A. 1980 Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 56: 265- 273
- Vesely, D., Vesela, D. and Jelinek, R. 1982. Nineteen mycotoxins tested on chicken embryos. **Toxicol. Lett.** 13 (3-4): 239-245.
- Vesely, D. ve 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.
- Vogt, T. 1999. Sodium Benzoate Induced Acute Leukocytoclastic Vasculitis with Unusual Clinical Appearance. **Archive of Dermatology**. 5: 135, 726-727.
- Xue, B., Wang, H.F., Xu, L.H., Sun, H.F., Liu, Y.F., Peng, S.X., Liu, K.X., Guo Z.Y. 2004 **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B** 223–224,765–769
- Yurttagül, M. ve Ayaz, A. 2008. Katkı Maddeleri: Yanlışlar Ve Doğrular. **T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları Beslenme Bilgi Serisi** 1: 605-623.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., 2008a. Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on *Allium* chromosomes, **Fresen. Environ. Bulletin** 17 (8a): 1029-1037
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Aksoy, H., 2008b. Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes. **Cytotechnology**. 56 (2): 137-144
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., 2009. The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. **Cytotechnology**. 60: 55–61.
- Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H. 2011 The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. **Food and Chemical Toxicology**. 49:763–769.
- Zhang, C., Fang, C., Liu, L., Xia, G. and 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 : Feryal KARAKAHYA
Doğum Yeri ve Tarihi : İzmir – 07.01.1985

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi – Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi – Biyoloji Bölümü
Bildirdiği Yabancı Diller : İngilizce, Almanca

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Ulusal Bildiriler :

-KARAKAHYA, F., KOCA, Y., “*Mertensiella luschani* (Steindachner, 1891)' nin İnce Barsak Yapısı: Histolojik Bir Çalışma.” 15. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, Gaziantep, 2008.

-KOCA, Y., KARAKAHYA, F., “Metronidazol’ün *Onchorhynchus mykiss* (Salmonidae: *Onchorhynchus*) Solungaçlarında Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler” 15. ULUSAL SU ÜRÜNLERİ SEMPOZYUMU , RİZE , 2009.

-KOCA, Y., KARAKAHYA, F., “*Carassius gibelio*’ un (Cypriniformes: Cyprinidae) (Bloch, 1782) Bazı Dokularının Histolojik Yapısı Üzerine İnceleme” Ulusal Su Günleri Sempozyumu , ELAZIĞ , 2009.

-KOCA, Y., KARAKAHYA, F., GÜRCÜ, B., “Metronidazol’e Maruz Kalmış *Onchorhynchus mykiss* (Salmonidae: *Onchorhynchus*) Karaciğer Dokusunun Histolojik Yönlü İncelenmesi” IX. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Nevşehir, 2009.

-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., KARAKAHYA, F., “Histolojik Yönden *Mertensiella luschani* (Steindachner, 1891)’ nin Dili” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli, 2010
- KARAKAHYA, F., KOCA, Y., ”*Triturus karelinii* (Strauch 1870) (Urodela: Salamandridae)’nin Mide-Barsak Dokusu Üzerine Histolojik ve Histometrik İncelemeler” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli, 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 : feryalkarakahya@hotmail.com
Tarih : 11.07.2011