

BENZENİN FARELERDE (Mus musculus) YAPMIŞ
OLDUĞU HEMAPATOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Mediha Orhan

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ahmet Özata /

Eylül 1988

Mediha Orhan'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı
" BENZENİN FARELERDE (Mus musculus) YAPMIŞ OLDUĞU HEMAPATO-
LOJİK VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR " başlıklı bu çalışma, jü-
rimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca
değerlendirilerek kabul edilmiştir.

.12./10./1988

Üye : Prof. Dr. Yalçın SAHİN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZATA

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ardeus GÜRER

Y. Sahin
A. Ozata
A. Guerer

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun - 9 AGUSTOS 1988
gün ve ...1.87/4... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Rüstem Kaya
Enstitü Müdürü
Prof. Dr. RÜSTEM KAYA

ÖZET

Günlük yaşamımızda hastalıklara neden olan faktörlerin başında kimyasal maddelerin yüksek oranlarda bulunması dikkat çekicidir. Teknolojinin artışı ile birlikte çağımızda insanların aşırı tüketim gereksinimleri sonucu piyasaya sürülen ürünlerin yeterince denetime tabi tutulmamaları yüzünden her yıl çok sayıda insan kanser riski altına girmektedir. Bu riskin oluşumunda da üretimde en çok kullanılan benzenin rolü vardır. Çünkü bugünün ucuzluk ve kolaylık getiren modern ürünlerinin çoğunun başlangıç maddesi benzendir. Bu nedenle çalışmamızın konusunu benzenin yaptığı toksik etkinin araştırılması oluşturmıştır.

Bu amaçla üç ay süreyle erkek ve dişi farelere (Albino Mus musculus) oral yolla benzen verilmiştir. Başta kemik iliği olmak üzere kan, karaciğer ve dalak dokuları incelemeye alınmış, hemogloblin değerleri bakımından karşılaştırılmıştır.

Bulgularımız sonucunda erkek fare kemik iliği myelositer seri kan hücrelerinde azalma ve immatür megakaryositlerde artma, periferik kan eritrositlerinde akantositozis, karaciğerde nekroza kadar gidebilen ileri derecede dejenerasyon, dalak eritrositlerinde artış ve hemogloblin değerinde düşme gözlenmiştir.

Dişilerde ise erkeklerden farklı olarak mitotik figürlerde artma, dalak eritrositlerinde ise azalma tespit edilmiştir.

SUMMARY

Recently it is noticed that, one of the main cause of our daily life diseases is the occurrence of high concentrations of chemicals. The risk of carcinogenicity is increasing almost every year due to increasing marketing of uncontrolled products which are also increasing because of over-consuming demands. Benzene has an important role in this risk of carcinogenicity that is widely used in manufacture of many substances has being one of the prime compound of their source. The aim of our study is to investigate the toxic effects of benzene.

Benzene is administered orally to both male and female mice (albino *Mus musculus*) for a period of three months. Liver, blood, spleen and mainly bone-marrow is investigated and their haemoglobin values are compared.

Finally decrease in the bone-marrow cells, increase in immature megakaryocytes, spiny protrusions of erythrocytes, at periphery degenerative hepatic necrosis, increase of erythrocytes of spleen and decrease of the haemoglobin levels is observed in male mice.

In addition of these, increase of mitotic figures and decrease of erythrocytes of spleen is observed in female mice.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında her türlü yardımlarını gördüğüm başta danışman hocam sayın Yrd.Doç.Dr. Ahmet Özata olmak üzere, Bölüm Başkanımız sayın Prof.Dr. Yalçın Şahin'e ve Histoloji Öğretim Üyelerinden sayın Yrd. Doç.Dr. Firdevs Gürer'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Araştırmanın Tanımı ve Amacı	1
1.2. Kaynak Bilgisi	1
1.2.1. Organik Çözücülerin Kullanım Yer- leri	4
1.2.2. Organik Çözücülerin Fizyolojik Et- kileri	4
1.2.3. Benzenin Kimyasal Yapısı	5
1.2.4. Benzen Metabolizma ve Toksisitesi	7
2. MATERYAL VE METOD	12
2.1. Kullanılan Toksik Madde	12
2.2. Farelere Benzen Uygulaması	12
2.3. Hemapatolojik İncelemeler İçin Kemik İli- ği ve Kan Preparatlarının Hazırlanması ..	13
2.4. Histopatolojik İncelemeler İçin Karaciğer ve Dalak Preparatlarının Hazırlanması ...	14
2.5. Kanda Hemoglobin Konsantrasyonu Tayini ..	16
3. BULGULAR	17
3.1. Kontrol Grubuna Ait Erkek Farelerdeki Bul- gular	17
3.2. Kontrol Grubuna Ait Dişi Farelerdeki Bul- gular	20
3.3. Oral Yolla LD ₅₀ Benzen Uygulaması Yapılmış Erkek Farelere Ait Bulgular	22
3.3.1. Kemik İliğine Ait Bulgular	22
3.3.2. Perifer Kan Dokusuna Ait Bulgular	24
3.3.3. Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular ..	24
3.3.4. Dalak Dokusuna Ait Bulgular	28

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.4.	Oral Yolla LD ₅₀ Benzen Uygulaması Yapılmış Dişi Farelere Ait Bulgular	29
3.4.1.	Kemik İliğine Ait Bulgular	29
3.4.2.	Perifer Kan Dokusuna Ait Bulgular	30
3.4.3.	Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular ..	30
3.4.4.	Dalak Dokusuna Ait Bulgular	32
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	33
	KAYNAKLAR DİZİNİ	37

1. GİRİŞ

1.1. Araştırmanın Tanımı ve Amacı

Zamanımızda insanoğlunun kullanımına sunulmuş 4 milyondan fazla kimyasal madde bulunmaktadır. Bu sayı her hafta eklenen 6.000 yeni kimyasalla artmaktadır. Günümüzde bunlardan genel kullanımda olanların sayısının 65.000 dolaylarında olduğu sanılmaktadır. Sayıları milyonları bulan bu kimyasalların çok azının (20.000 civarı) kanserojenik potansiyelleri hakkında bilgimiz vardır (Bağcı,1985).

Bu yüzden çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz bilinmeyen, sayıları milyonları bulan sentetik ve doğal maddelerin kanserojenik etkilerinin belirlenmesi sağlığımız açısından önem taşımaktadır. Uzun yıllar öncelerine dayanan kanserle ilgili çalışmalarda belirli meslek gruplarında çalışan işçilerde, genellikle aynı tip kanserin görülmesi, araştırmacıları bu yönde çalışmalara itmiştir.

1.2. Kaynak Bilgisi

Kimyasal kanserojenlerin kansere neden olduğu bilimsel olarak 1761'de Hill tarafından gözlenmiştir. 1775'de Potter baca temizleyicilerinde deri kanserinin sık görüldüğünü rapor etmiştir. 1874'de Von Volkman, 1876'da Bell parafin ve petrol yağı ile çalışan baca temizleyicilerinde deri kanserinin, bütün Avrupa'dakinden daha fazla olduğunu açıklamışlardır (Busch, 1974).

Benzer şekilde 19. yüzyıldan beri yapılan çalışmalar, kimyasal kanserojenlerin özellikle yağ, boya, katranın baca işçilerinde kansere neden olduğunu veya kanser

oluşumunu hızlandırdığını ortaya koymuştur (Busch, 1974).

İnsanda aktif olanları da içeren kimyasal kanserojenler öncelikle çeşit çeşit yapıda, çeşitli türler ve dokularda seçici-etkili sentetik veya doğal olarak oluşan organik ve inorganik bileşikleri içerir (Ames et al., 1975).

Kanserojen maddelerin büyük çoğunluğunu içine alan organik çözücüler fonksiyonel gruplarına göre şu şekilde sınıflandırılır :

1- Doymuş Hidrokarbonlar : Diğer gruplara göre oldukça zararsızdırlar. Örneğin, metan, etan, propan, hekzan, vb.

2- Doymamış Hidrokarbonlar : Etilenden itibaren heptilen dahil anestezi özellikleri vardır. Asetilen de bu gruba girmektedir.

3- Siklik (halkalı) Hidrokarbonlar : Aromatik hidrokarbonlara göre daha az toksiktirler. Bu grup başlıca etkilerini merkezi sinir sistemi üzerine gösterir. Örneğin, siklohekzan, benzin

4- Aromatik Hidrokarbonlar : Doymuş hidrokarbonlara göre çok daha toksiktirler. Genel olarak kan zehirleri grubuna girerler. Benzen en toksik olanıdır. Toluen ve ksilen daha az zararlıdır.

5- Klorlu Hidrokarbonlar : Çözücüler içinde en zehirli-leridirler. Karaciğer ve metabolik zehir olarak etki gösterirler. Örneğin, DDT, heptaklor, endosülfan

6- Alkoller : Metilalkol dışındaki diğer alkoller düşük toksik çözücüler grubuna girerler.

7- Glikoller ve Alkol-eterler : Başlıca karaciğer ve böbrek zehiri olarak önem taşırlar.

8- Aldehit ve Ketonlar : Aldehitler başlıca tahripkâr olmaları ile önem kazanırlar. Özellikle formaldehit buharı kuvvetli toksik etki gösterir.

9- Eterler : Yüksek konsantrasyonda tehlikeli olurlar.

10- Asitler : Özellikle ciltle temasta yanık ve çeşitli deri hastalıklarına yol açarlar. Asit buharlarının solunum yoluyla alınması, mukoz membranlarda etkin olabilir.

11- Esterler : Esterlerin fizyolojik etkileri hafif anestezik ve tahriş (irritan) etkili etilasetat ile, çok toksik etkili metil sülfat ve formikasit esterleri arasında değişir.

Molekül ağırlıkları ile birlikte esterlerin toksisitesi artar. Ancak uçuculuklarının azalması nedeniyle tehlike azalır.

12- Anilin ve Kömür Katranı Türevleri : Genellikle kan zehiridirler. Diğer organik çözücülerden daha çok toksiktirler (Vural, 1984).

Tüm bu organik çözücüler gerek günlük yaşamımızda, gerekse endüstride birçok işyerinde yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. Organik çözücülerden benzin(alifatik hidrokarbon karışımı), benzen(aromatik hidrokarbon) ve türevleri, alkoller, esterler ve ketonlar çok eskiden beri bilinen çözücülerdir. I. Dünya Savaşının gereksinimi; nitroselüloz, selüloz asetat, sentetik reçine ve plastik üretimi ile birlikte organik çözücülerin geliştirilmesi

ve miktarlarının arttırılması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır (Vural, 1984).

1.2.1. Organik Çözücülerin Kullanım Yerleri

Çözücülerin endüstride başlıca ;

- a) Çözücü (kauçuk, plastik maddeler, vernik, boya gibi maddelerin eritilmesinde),
- b) Ekstraksiyon maddesi (kemik, deri, yün ve balık gibi lipit içeren maddelerden katı ve sıvı yağların ekstrakte edilmelerinde),
- c) Yapıştırıcı olarak (ayakkabı ve çizme endüstrisi),
- d) Antifriz maddesi (otomobillerde),
- e) Temizleyici olarak (tekstil, halı, metal boya ve çeşitli endüstri dallarında),
- f) Kimyasal yapılarına bağlı olarak özel kullanma yerleri olmak üzere çeşitli uygulama alanları vardır.

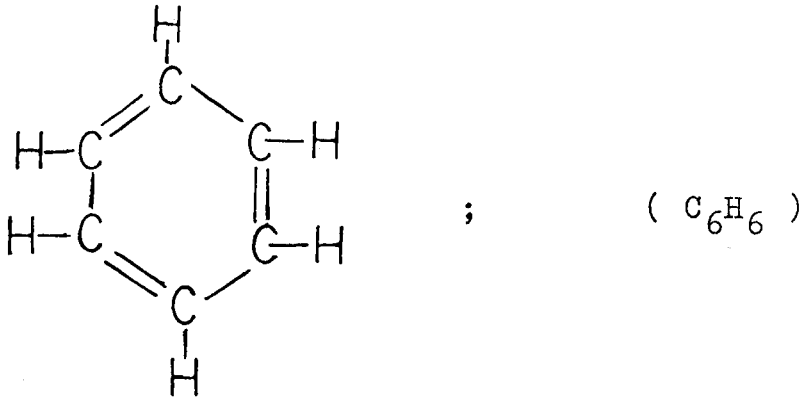
1.2.2. Organik Çözücülerin Fizyolojik Etkileri

Organik çözücülere en çok solunum yoluyla maruz kalmaktadır. Uçucu bileşikler olduğu için çoğunun normal oda sıcaklığında basıncı yüksektir. Özellikle işyerlerinde, çözücülerin havadaki buharlarına sürekli olarak maruz kalmayla alınmaları sistemik toksisiteye neden olabilir. Genel olarak yağları çözen, yağda çözünen her madde fizyolojik bakımdan aktiftir ve bu nedenle iyi bir çözücü, belirli koşullarda toksik özelliğe sahiptir. Uçucu çözücüler organizmaya, başlıca solunum yoluyla girdikleri gibi deri ve oral yol ile de önemli derecede absorbe olabilmeler.

Solunum yoluyla alınan çözücülere en duyarlı sistem Merkezi Sinir Sistemidir. Merkezi Sinir Sisteminin lipit bakımından zengin olması nedeniyle, kan dolaşımı absorbe olan çözücüler çok kısa sürede kalp ve Merkezi Sinir Sisteminde toplanırlar. Buna bağlı olarak ta solunum, kan ve sinir sisteminde bozukluklar meydana gelir. Birkaçı dışında, bütün uçucu çözücüler belirli süre içinde, belirli miktarda solunum yoluyla organizmaya girdiklerinde sağlığa zararlıdırlar (Vural, 1984).

Bu çalışmada organik çözücülerin başında gelen ve çağımızda çok kullanılması nedeniyle yakın çevremizde ve endüstride toksisite açısından önemli olan benzen kullanılmıştır.

1.2.3. Benzenin Kimyasal Yapısı



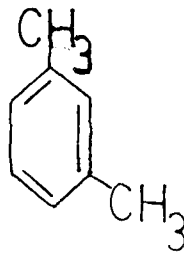
Şekil 1- Benzenin açık ve kapalı formülleri

Bilindiği gibi benzen kendine has kokusu olan, renksiz, uçucu, 6 C atomunun oluşturduğu halkasal yapı ile karakterizedir.

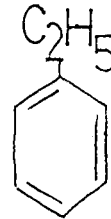
Benzen ve benzen homologları aromatik hidrokarbonlar adı verilen kimyasal grubun ilk serisini oluşturlar. En basit aromatik bileşik ise benzendir. Benzenin alifatik zincirlerle işleme tabi tutulması ile benzen homologları elde edilir. Endüstriyel kullanım açısından en önemli benzen homologları toluen (metilbenzen), ksilen (dimetilbenzen), etilbenzen, izopropilbenzen ve vinilbenzendir.



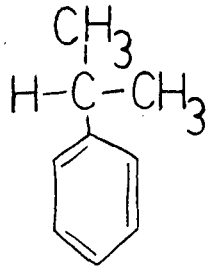
Toluen



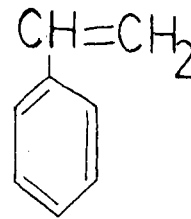
m-Ksilen



Etilbenzen



İzopropilbenzen



Vinilbenzen

Şekil 2- Benzen homologlarının açık formülleri

Diğer benzen metabolitleri ise styren, fenol, cumene, sikloheksan, maleik anhidrit, nitrobenzen, dodesilbenzen, vb. Benzen dünyada en çok kullanılan kimyasal maddeler arasında ikinci sırada yer alır.

Benzen ve metabolitleri ; plastikler, boyalar, tarım kimyasal maddeleri, deterjanlar, ilaçlar (kloramfenikol), lastik, naylon, reçineler, poliüretan köpükleri, sıvı ve katı yağların ekstraksiyonunda, metal aletlerin yağlanma-

sı ve temizlenmesinde, matbaacılık ve fotogravür işlerinde, ucuz olduğu için kaçak olarak kuru temizlemede ve akaryakıtta oktan sayısını arttırmak için kullanılmaktadır.

Kısaca bugünün ucuzluk ve kolaylık getiren modern ürünlerinin çoğunun başlangıç maddesi benzendir. Benzen ya taş kömüründen kok kömürü üretilirken bir yan ürün olarak elde edilir ya da petrolden katalitik yolla üretilir (Aksoy, 1970).

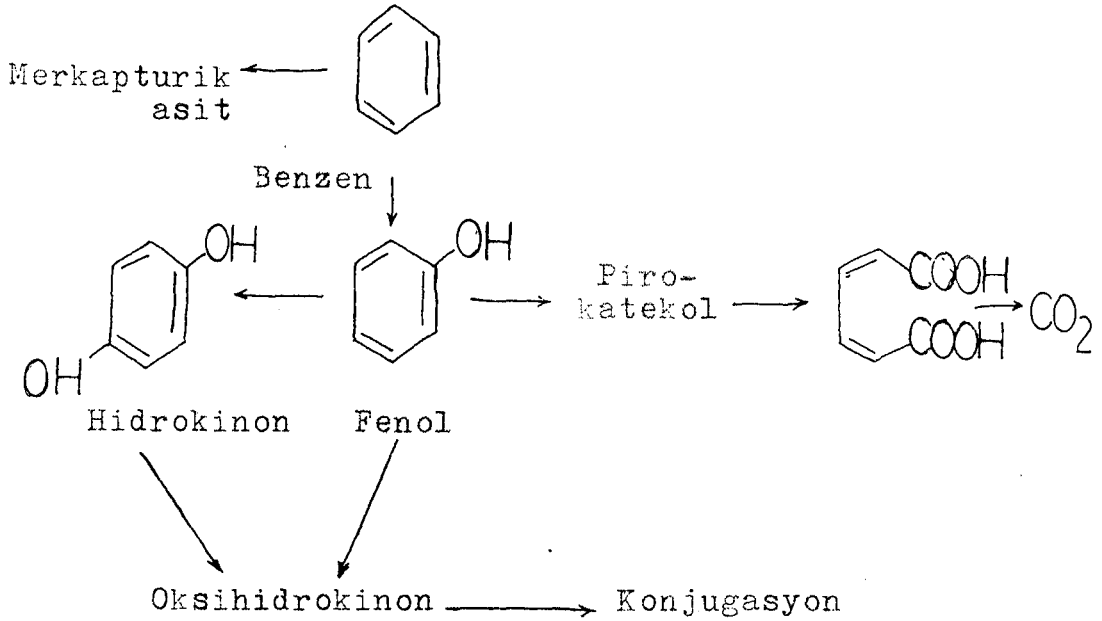
1.2.4. Benzen Metabolizma ve Toksisitesi

Benzen iyi bir eritici olduğu kadar, hemen bulunduğu ortama buharlaşarak karışır. Bu yüzden açık bir ortamda bulunan benzen hızla çevrenin havasına girer. İşte bu özelliğinden dolayı benzene bağlı sağlık sorunları görülmeye başlar.

Benzen organizmaya başlıca solunum yoluyla girer. Buharın havadan ağır olması absorbsiyon miktarını artırır. Deri yoluyla absorbsiyonu sistemik zehirlenmeye neden olacak kadar önemli değildir. Sindirim yoluyla zehirlenmelere ancak kaza sonucu rastlanır. Benzen absorbe olduktan sonra başlıca yağlı dokularda, eritrositlerde, kalp ve iskelet kasında birikir.

Solunum havasındaki benzen ile kandaki benzen konsantrasyonu kısa zamanda dengeye ulaşmasına karşın, dokulardaki dengeye ancak birkaç gün etkilenme sonucunda ulaşır. Absorbe olan benzenin bir kısmı ise değişmeden akciğer ve böbreklerle atılır. Önemli bir kısmı ise karaciğerde polar fenolik bileşiklere dönüşerek sülfat veya glukuronik

konjugatları şeklinde atılmaktadır. Az miktarda benzen merkapturik asit şeklinde atılmakla beraber ana metabo- ti fenoldür. Fenol daha ileri oksidasyonla dihidroksi- benzen (katekol) ve trihidroksibenzene (hidroksihidroki- non) metabolize olur. Ayrıca benzen trans-trans mukonik asite dönüşür (Parke and Ioannides, 1984).



Şekil 3- Benzenin Biyotransformasyon Şeması

Benzen toksisitesinde ; benzen ve metabolitlerinin etkisini araştıran birçok çalışmalar yapılmıştır. Piro- katekol ve hidrokinon mitotik zehirler olup, kemik iliği üzerinde etkileri vardır. Benzenin hücre için zehirli bir madde olan fenole okside olması, bunun da tekrar ok-

sidasyon ile mitozu inhibe edici benzokateşin ve hidrokinona çevrilmesi ve bunların da ancak glukuronik asit veya sülfat ile konjuge olarak idrarla atılması, organizmada çok önemli bozuklukluluklara yolaçar (Aksoy, 1975).

Benzen toplandığı kemik iliğinde hematopoietik sistemi şiddetli bir şekilde etkileyerek, kemik iliği hücrelerinin ilerlemiş dejenerasyonuna ve sonuçta aplastik anemiye, hatta lösemiye neden olmaktadır. Buna mRNA sentezini bloke ederek başlayıp, DNA ve RNA sentezini inhibe etmesiyle hemositoplast hücrelerinin genetik yapısını değiştirerek yolaçar (Aksoy, 1975; Moeschlin and Speck, 1967; Bilgin, 1979; Speck et al., 1966; Erdoğan, 1973; Aksoy, 1973).

Radyoaktif işaretlenmiş demir ile yapılan araştırmalar benzenin kemik iliğinde eritrosit oluşumunu ilk basamakta inhibe ettiğini göstermektedir. Lökositlerde azalma ilk safhada dikkati çeker ve hafif derecede anemi görülür. Zehirlenme ilerlediğinde, yani uzun süreli benzen alınması ise lökositlerin mutasyonuna neden olarak lösemi meydana getirebilir. Hemogloblin düzeyi düşerek nukleuslu eritrosit ve bazofil granülasyonlu eritrositler oluşur. Benzen metabolitleri de aynı şekilde doza bağımlı olarak kan yapımı üzerinde oldukça fazla toksik etki yaparlar (Vural, 1984; Loge, 1965).

Benzen metabolizması kan zehirlenmesinin göstergesi açısından bir hayli önem taşımaktadır. Benzeni metabolize eden enzimlerin inhibisyonu veya benzen metabolizmasının indüksiyonu, benzene bağlı gelişen toksisitede bir azalmaya yolaçar. Bu da benzene maruz kalma ile gelişen

hastalıklar için bir ara metabolitin sorumlu olduğunu düşündürür (Galdo and Wierda, 1984).

Tunek (1981) ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalar göstermiştir ki, bir organda benzen toksisitesinin artması, aynı organdaki benzen metabolitlerinin artması ile paralellik arzeder.

Ayrıca Merimoto ve Wolff (1980) adlı araştırmacılar kardeş kromatit değişimini indüklemeye konusunda, birçok benzen metabolitinin benzenden çok daha fazla etkin olduğunu göstermişlerdir.

Benzen metabolitleri fenol, hidrokinin ve katekol içerir. Hidrokinin ve katekol daha fazla okside olarak benzoemikinin ve benzokinin oluşturabilirler. En şiddetli toksik etkiye hangi benzen metabolitinin neden olduğu bugün için bilinmemektedir. Fakat hidrokinin ve katekolun kemik iliğinde konsantre olduğu ve bu metabolitlerin daha ileri metabolize olarak kan yapıcı hücreleri etkilediği bildirilmiştir (Galdo and Wierda, 1984).

Wierda (1982) ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda dört kişilik fare gruplarına hidrokinon ve katekolu günde iki defa, 75 mg/kg olmak üzere 7 saat ara ile birbirini takibeden 3 günde intraperitoneal olarak verdiğinde kemik iliğinde çoğalan hücrelerin önemli derecede azaldığını göstermişlerdir.

Bugün tıpta insan sağlığı için kullanılan birçok dezenfektan ilacın, uyuz ve tifo tedavisinde kullanılan ilaçların, çeşitli insektisitlerin ve en önemlisi de geniş bir kullanım alanı olan kloramfenikolün terki binde de

benzen halkası bulunmaktadır. Bu durum benzenin neden olduğu ciddi hastalıkların önemini bir kat daha arttırmaktadır. Gerçekten de basit bir soğuk algınlığından kurtulmak amacı ile kloramfenikolu kullanan bir kişinin, ilacın kemik iliğine etkisi sonucu aplastik anemi hatta lösemi olması hiç te gözardı edilemez (Gürer ve Bilgin, 1985).

Kloramfenikolun kemik iliğinde ve perifer kanda meydana getirdiği ölümle sonuçlanan yan etkileri araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Krishnave, 1981).

Bilgin (1979a) ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda intraperitoneal yolla değişik doz ve sürelerde deney hayvanlarına kloramfenikol vererek periferik kan ve kemik iliğindeki yan etkileri incelemişlerdir. Sonuçta periferik kandaki hücrelerde vakuolizasyonlar, eritrositlerde akantositosis, kemik iliğinde ise eritrosit ve lökosit oluşturan hücrelerde vakuolizasyonlar, çekirdekte parçalanmalar tespit etmişlerdir.

Kloramfenikolun ilk toksik etkisinin mRNA sentezini bloke etmesiyle başladığı, DNA ve RNA sentezini inhibe ederek çeşitli kan hücrelerinin gelişmesini durdurduğu, genetik yapıyı değiştirip kemik iliği hücrelerinde vakuolizasyonlar yaptığı bilinmektedir (Saleh, 1980).

Fakat yine de benzenin yapmış olduğu toksik etkisinin tüm mekanizması bugün için bilinmemekle birlikte benzen direkt yağ oranı yüksek dokularda etkili olduğundan biz kemik iliğini ve buna bağlı olarak ta perifer kanı, kan yapım ve yıkım organları olan karaciğer ve dalağı inceledik.

2. MATERİYAL ve METOD

Çalışmamızda kullanılan fareler (albino *Mus musculus*) Anadolu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir. Laboratuvar koşullarına iyi uyum sağlaması, kısa sürede fazla nesil vermesi, üretiminin ucuz ve kolay olması ve uygulanan toksik maddelere karşı kolaylıkla reaksiyon vermesi açısından deney hayvanı olarak kullanılmıştır.

Fareler laboratuvarında Eskişehir Yem Sanayisinin ürettiği kapsül yemlerle beslenmişlerdir. Yem % 23 ham protein, % 3 ham yağ, %7,5 ham selüloz, %10 ham kül ve % 13 su içermektedir.

Deneylerimizde 12 aylık ve ortalama ağırlığı birbirine çok yakın olan 30 adet erkek ve 30 adet dişi fare kullanılmıştır. Deneye alınan toplam 60 hayvan arasındaki çiftleşmeyi engellemek amacıyla erkek ve dişi fareler ayrı kafeslere konmuştur. Erkek ve dişi fareler için ayrılan aynı sayıdaki kontrol grupları ise normal yaşamlarına bırakılmıştır.

2.1. Kullanılan Toksik Madde

Aromatik bir çözücü olan benzen saf halde farelere verilmiştir.

2.2. Farelere Benzen Uygulanması

Benzen farelere subakut toksisite yöntemine göre (Vural, 1984) oral yolla tayin edilen LD₅₀ dozu (7 ppm/lt) kul-

lanılmıştır (Geneva, 1968).

Hesaplanan LD₅₀ dozu günde 24 saat, haftada 5 gün ve toplam 3 ay olmak üzere içme sularına katılarak verilmiştir. Uygulama 1 lt. suya 7 ppm. benzen katılarak yapılmış ve suları hergün değiştirilmiştir.

2.3. Hemapatolojik İncelemeler İçin Kemik İliği ve Kan Preparatlarının Hazırlanması

Kemik İliği : Çalışmamızda deney hayvanları bir müddet kloroform ile anesteziye tabi tutulup hemen dekapite edilmişlerdir (Suzuki and Racey, 1978; Carter and Goldman, 1983). Bu işlemde önce deney farelerinin ayakları, kalça ile birleştiği bölgeden kesilerek vücuttan ayrılmış ve ayağı örten deri parçası soyularak femur açığa çıkarılmıştır. Femurun uç kısımları kesilerek ince uçlu bir makas yardımıyla kemik boylamasına ikiye ayrılmıştır. Böylece açığa çıkan kemik iliği üzerindeki doku kazınarak lama yayılmış ve froti yapılmıştır. Daha sonra preparat metil alkolde 5-6 dakika tespit edilip, 40 dakika kadar da Giemsa ile boyanmıştır.

Bu işlemlerden sonra hazır hale gelen preparatlar incelemeye alınmışlardır.

Kan : Dekapite edilen fareler laboratuvarında strapor üzerine yatırılarak pens ve makas yardımıyla karınları açılarak iç organları dışarı çıkarılmıştır. Yine makas ile kalbin aort damarı kesilerek akan kan hemen lama alınıp yayılarak 2-3 dakika kurutulmuştur. Daha sonra % 70 lik etanolde 5 dakika fikse edilmiştir. Fiksedenden sonra havada ku-

rutulmuş olan preparatlar Giemsa ile 30 dakika boyanarak damıtık suda sarsmadan yıkanmışlardır.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar daha sonra incelemeye alınmışlardır.

2.4. Histopatolojik İncelemeler İçin Karaciğer ve Dalak Preparatlarının Hazırlanması

Öldürülen farelerin karaciğer ve dalaklarındaki histopatolojik değişimleri incelemek için, hayvanların karın ve göğüs kısımları açılıp bu bölgelerden biyopsi materyalleri alınmış ve biyopsi materyalleri keskin bir jiletle 1 cm. lik parçalar halinde kesilmiştir. Kesilen parçaların kimyasal bileşimleri ve morfolojik yapılarını bozmamak için yani tespit işlemi için % 10 luk formol solusyonunda 18 saat süreyle bekletilmiştir. Tespit işleminden sonra doku parçası % 70 lik etil alkolde 2 saat, % 80 lik etil alkolde 1 saat, % 95 lik etil alkolde iki kez değiştirmek suretiyle 1 saat, absolu alkolde yine 3 defa değiştirilerek 1 saat olmak üzere alkol serilerinden geçirilmiştir.

Dehidratasyon işleminden sonra doku parçalarının parafinin yerine girecek bir çözücüyle doyurulması için 1 saat ksilende bekletilmiştir. Saydamlaşan doku bundan sonra ksilen + parafin karışımına konarak 45 dakika bekletilmiştir. Parafinin dokunun bütün hücrelerarası boşluklarına ve hücreler içine geçmesi ve dokunun kesilmeye uygun biçimde sertleşmesini sağlamak amacıyla doku parçaları 58-60°C' de erimiş parafine gömülerek bloklanmıştır.

Hazırlanmış parafin bloklar mikrotomda 5-7 mikron kalınlığında kesilerek, kesitler lam üzerine damlatılan yapıştırıcılar ile birlikte ısıtma tablosunda dokunun açılması sağlanmıştır. Daha sonra dokunun lama iyice yapışması ve parafinin uzaklaştırılması için 55-60°C'deki etüve konarak parafini erimiş olan doku böylece boyanmaya hazır hale gelmiştir.

Parafinden kurtarılmış doku kesitlerini boyamak için "Hematoksilen-Eozin Metodu" kullanılmıştır (Reuber, 1970). Bu işlemde ilk önce preparatlar her defasında 5 dakika olmak üzere ksilenden geçirilmiştir. Ksilenin uzaklaştırılması ve doku suyunun çekilmesi içinde, azalan alkol serilerinden geçirilmiştir. Bunlar sırasıyla absölü alkolde iki kez 3-5 dakika, % 95 lik alkolde 2-3 dakika, % 70 lik alkolde 2-3 dakikadır. Preparatlar daha sonra 2 dakika çeşme suyundan geçirilmiştir. Çeşme suyunda yıkama işlemi tamamlandıktan sonra preparatlar 10-15 dakika hematoksilende boyanmış ve tekrar akar sudan geçirilerek 4 dakika kadar eozinle zıt boyama yapılmıştır. 1 dakika eozinin fazlası gidene kadar akar suda yıkanmıştır. Kesitlerin suyunu almak için % 70 lik alkolde 30 saniye, % 95 lik alkolde 30 saniye, absölü alkolde 2 dakika olmak üzere alkol serilerinden geçirilmiştir. Daha sonra alkolü uzaklaştırmak ve parlaklaştırmak için ksilen serilerinden geçirilmiştir.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar Nikon marka ışık mikroskobunda incelemeye alınarak fotoğrafları çekilmiştir.

2.5. Kanda Hemoglobin Konsantrasyonu Tayini

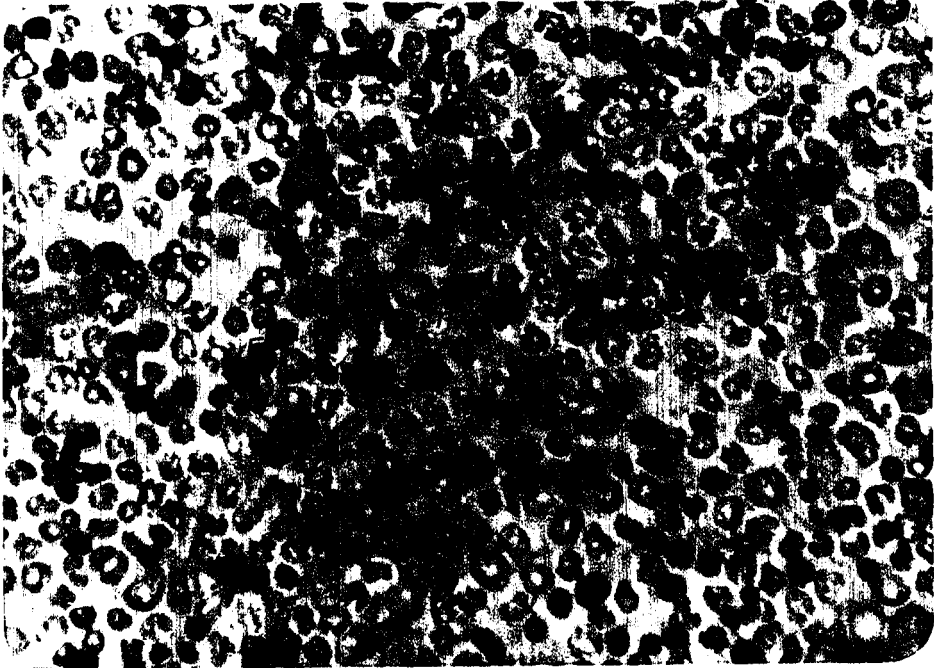
Kolorimetrik yönteme göre, sahli hemometresindeki tüpün yüzde değerlerinin 10 çizgisine kadar 1/10 N'lik HCl   zeltisi konmuŗtur. Kesilen arterden akan kan pipetin 20 mm³ l k çizgisine kadar emilmiŗtir. Pipetin ucu filtre kağıdı ile temizlenerek dereceli tüpteki asitte daldırılmıŗ ve üstten hafifçe üflenerek kan asitin içine akıtılmıŗtır. Pipetteki kanı tamamıyla çıkarmak için hafifçe birkaç defa, asit-kan karıŗımından pipetin 20 çizgisine kadar çekilip ve yine tüpün içine bırakılmıŗtır. Bundan sonra tüpe damlalıkla damla damla su koyup karıŗtırılıp, standart çubukla çözeltinin rengi karıŗılaŗtırılmıŗtır. İki renk birbirine eŗit olunca, çözeltinin meniski hizasına d ŗen ‰ cinsinden hemoglobin miktarı okunmuŗtur (Terzioğlu , 1982).

3. BULGULAR

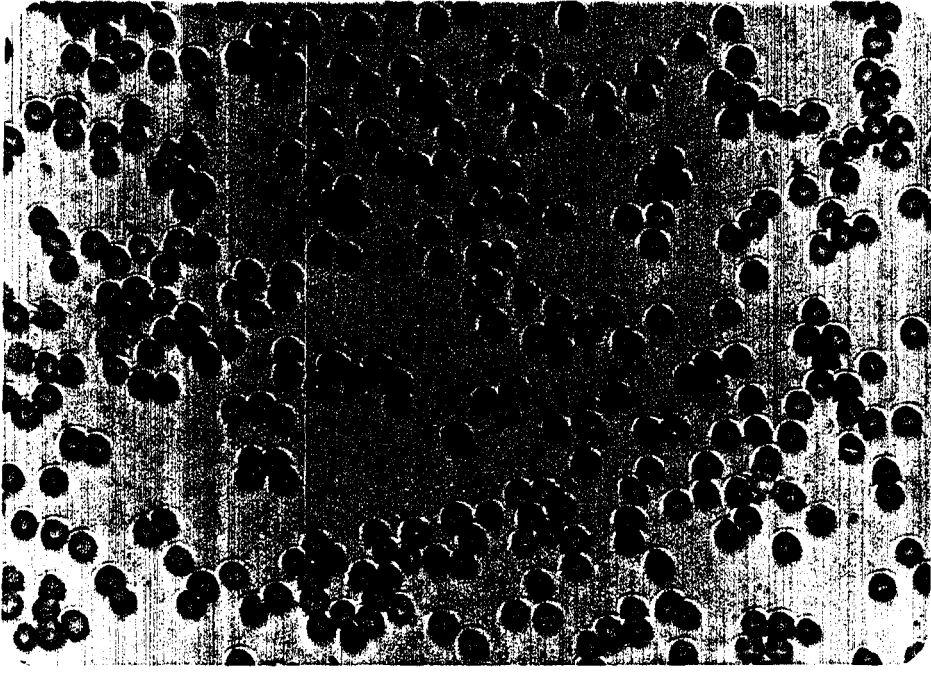
3 ay süreyle LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek ve dişi farelere ait hemapatolojik ve histopatolojik bulgular, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak fotoğraflarla verilmiştir.

3.1. Kontrol Grubuna Ait Erkek Farelerdeki Bulgular

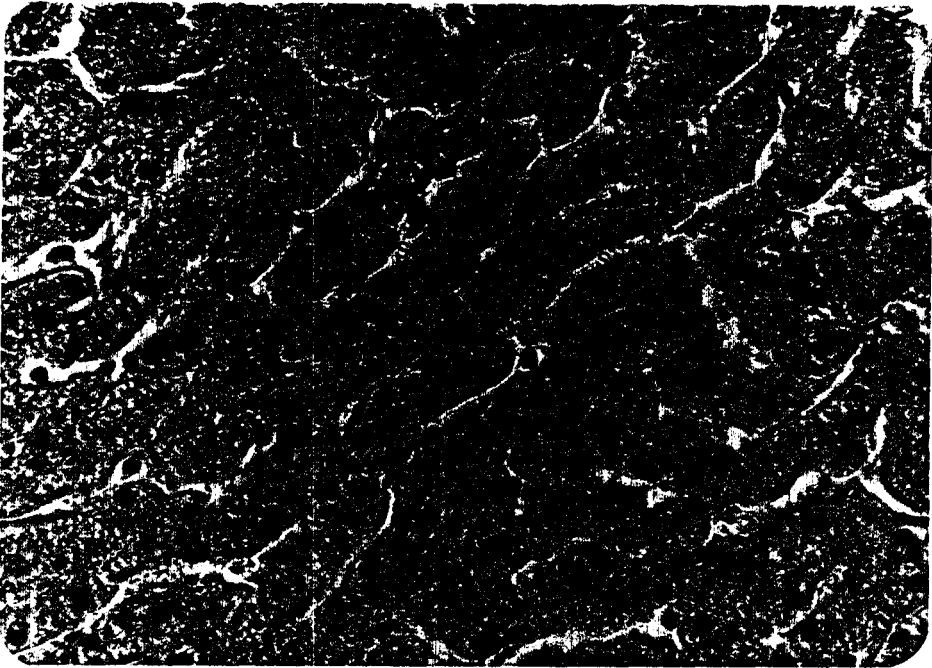
Kontrol grubuna ait erkek farelerin gerek kemik iliği (şekil 4) ve kan (şekil 5) gerekse karaciğer (şekil 6-7) ve dalak dokusunda (şekil 8) herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.



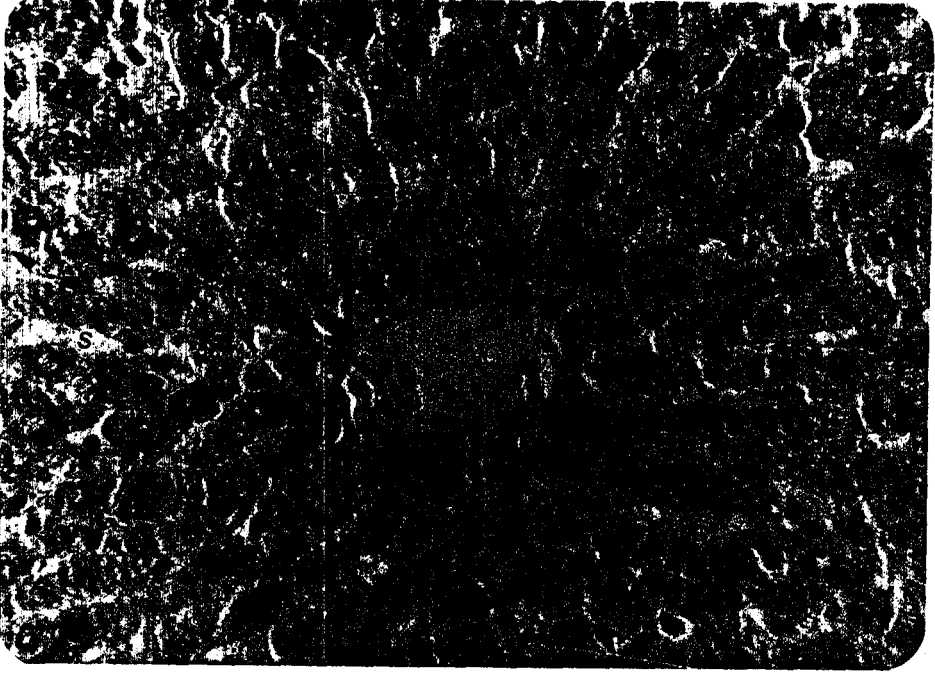
Şekil 4- Kemik iliğinde myelositer serinin eritrositer seri hücrelerine oranı 3/1 şeklinde olan normal yapı, m=myelositer seri, E=eritrositer seri (x300).



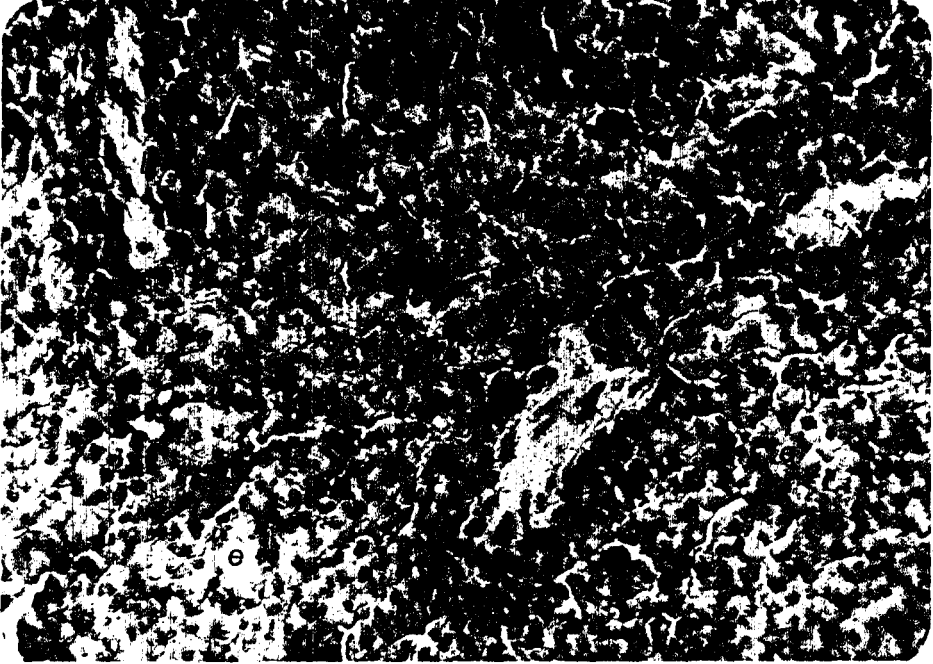
Şekil 5- Normal eritrositlerin perifer kanda görünüşü (x300).



Şekil 6- Karaciğer dokusu, p=parankima hücreleri, s=sinüzoidler (x300).



Şekil 7- Karaciğer dokusu, VC=vena centralis, s=sinüzoidler (x300).

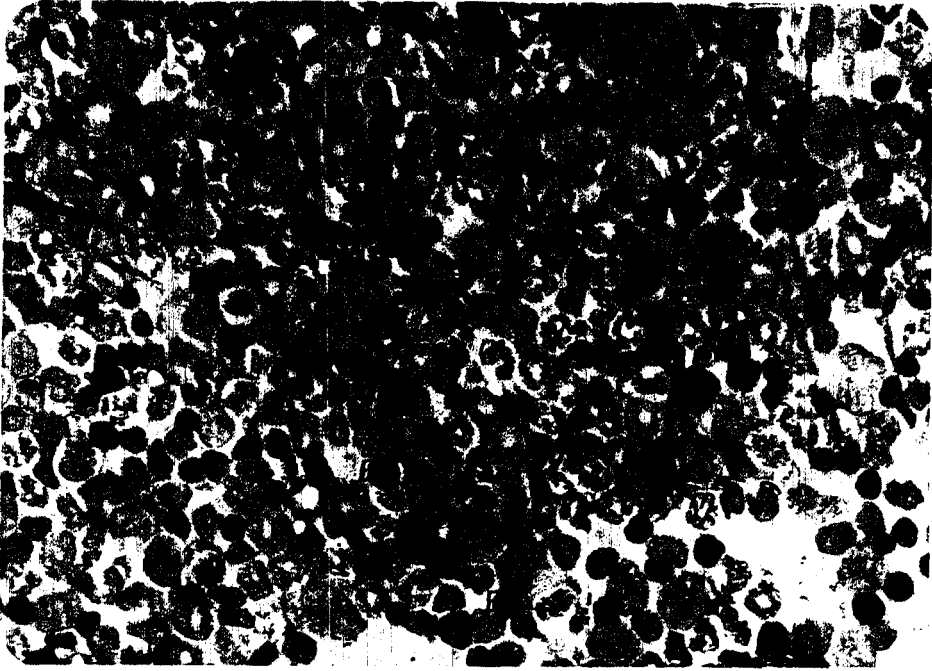


Şekil 8- Dalak dokusundan bir kesit, e=eritrosit kümeleri, l=lenfosit kümeleri (x300).

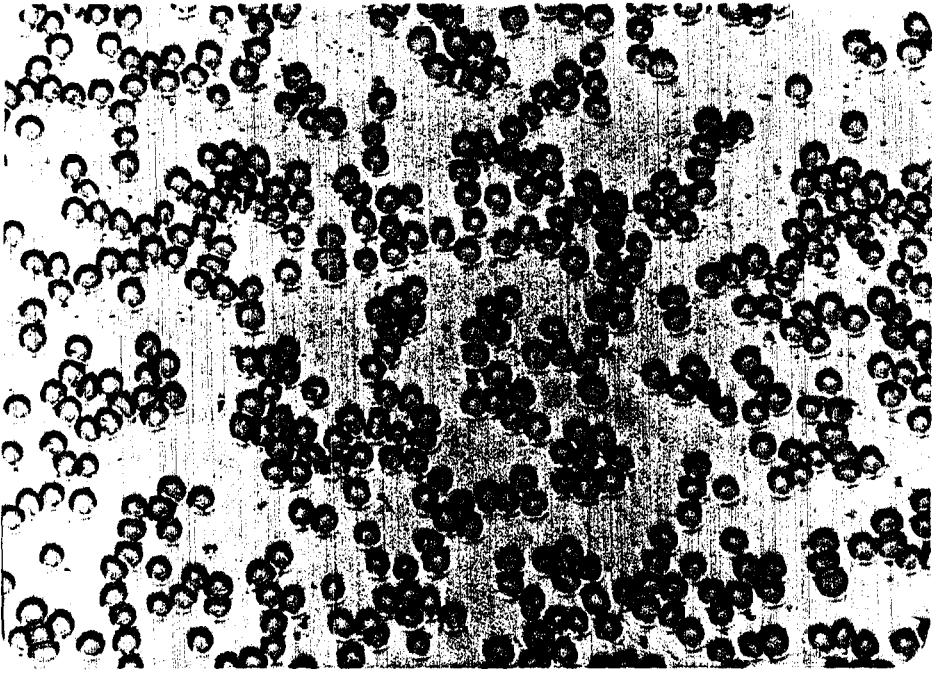
Normal kontrol grubu erkeklerin hemoglobin düzeyi ise ortalama 12,2 gr/lt olarak bulunmuştur.

3.2. Kontrol Grubuna Ait Dişı Farelerdeki Bulgular

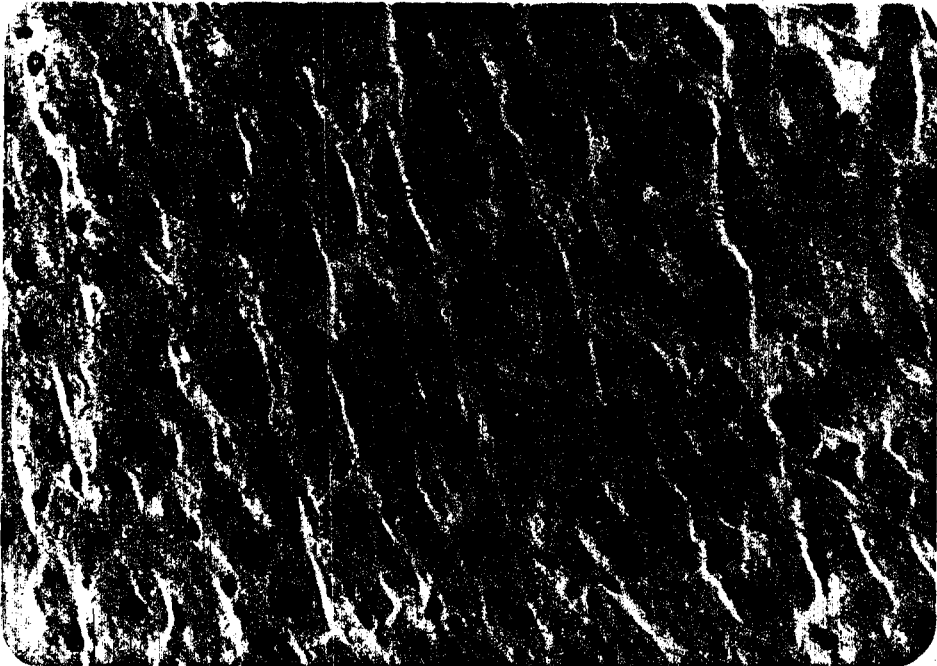
Kontrol grubuna ait dişı farelerin kemik iliği (şekil 9), kan (şekil 10), karaciğer (şekil 11) ve dalak dokusunda (şekil 12) herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.



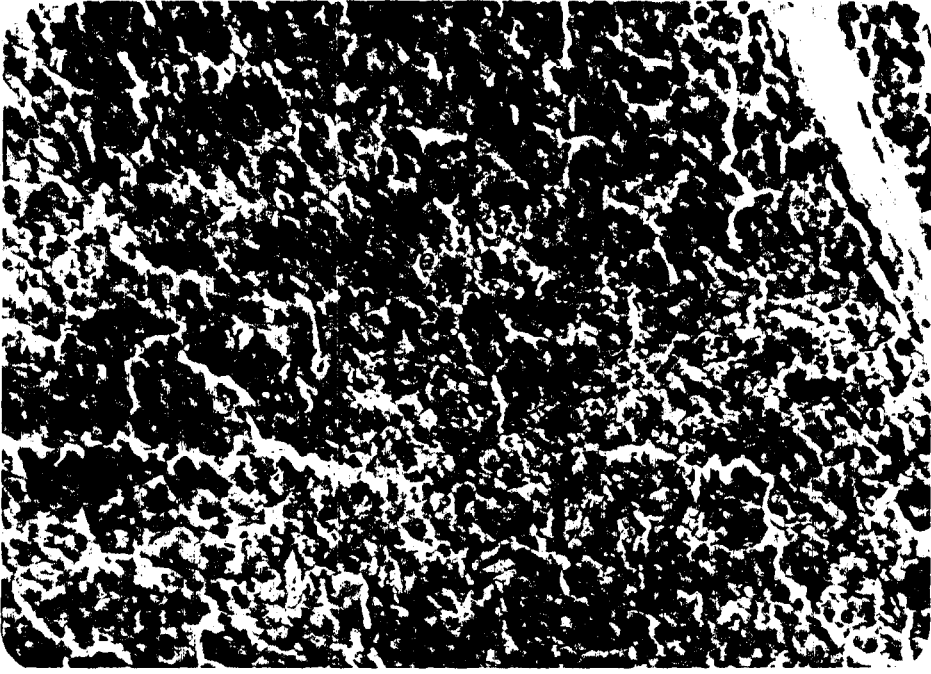
Şekil 9- Kemik iliğinde myelositer serinin eritrositer seri hücrelerine oranı 3/1 şeklinde olan normal yapı, m=myelositer seri, E=eritrositer seri (x300).



Şekil 10- Normal eritrositlerin perifer kanda görünüşü (x300).



Şekil 11- Karaciğer dokusundan bir kesit, p=parankima hücreleri, s=sinüzoidler (x300).



Şekil 12- Dalak dokusundan bir kesit, e=eritrosit kümeleri, l=lenfosit kümeleri (x300).

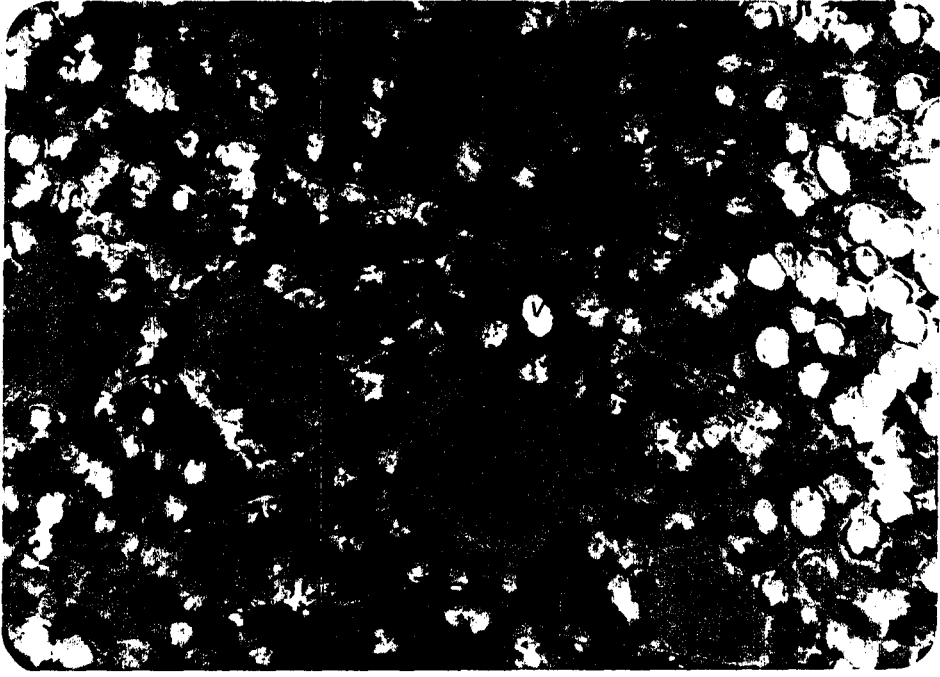
Normal kontrol grubu dişilerin hemoglobin düzeyi ise ortalama 9,4 gr/lt olarak bulunmuştur.

3.3. Oral Yolla LD₅₀ Benzen Uygulaması Yapılmış Erkek Farelere Ait Bulgular

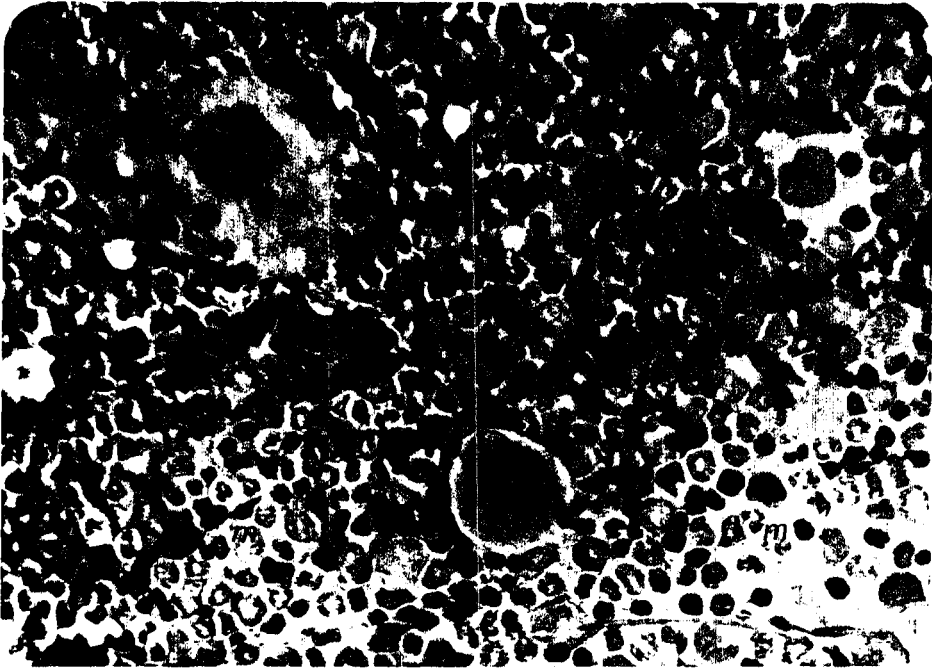
Bu uygulamada oral yolla LD₅₀ benzen verilmiş farelerin kemik iliği, kan, karaciğer ve dalak dokuları 3 ay sonra incelemeye alınarak hemoglobin düzeyleri ölçülmüştür.

3.3.1. Kemik İliğine Ait Bulgular

İmmatür megakaryositlerde artma, bütün kanser hücrelerinde vakuolizasyon (şekil 13) ve myelositer seride azalma (şekil 14) dikkati çekmiştir.



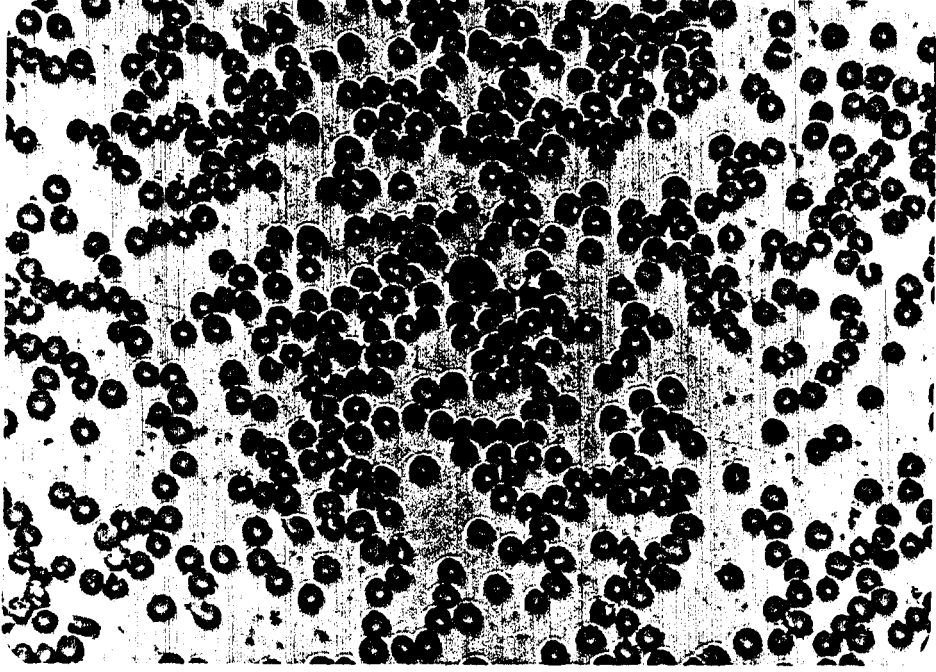
Şekil 13- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek farelerde kemik iliği preparatı, im=immatür megakaryositler, v=vakuolizasyon (x300).



Şekil 14- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek farelerde kemik iliği preparatı, m=myelositler seride azalma (x300).

3.3.2. Perifer Kan Dokusuna Ait Bulgular

Eritrositlerde dikensi çıkıntılar ve vakuolizasyon görülmüştür.



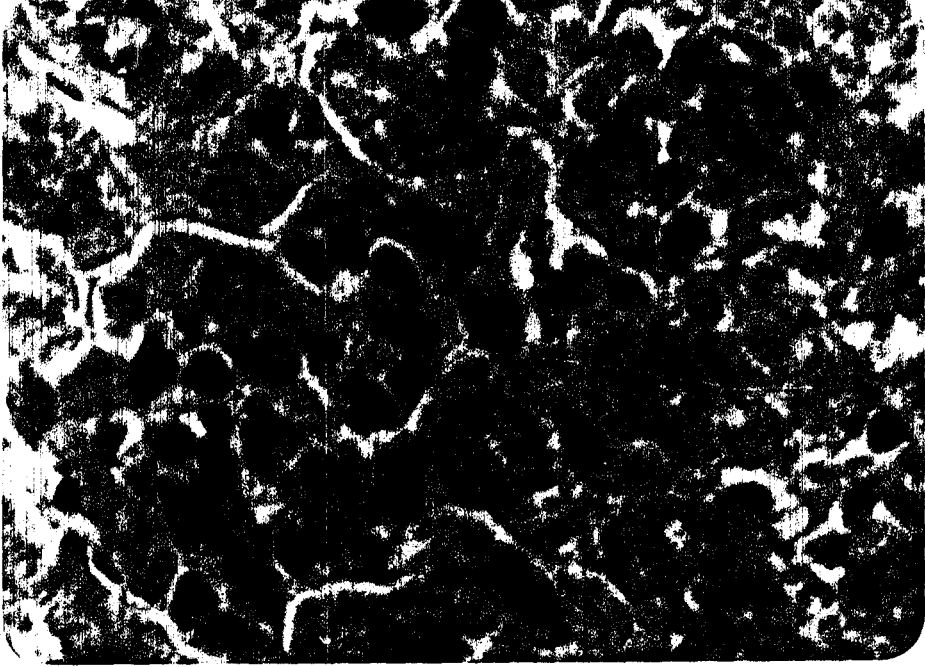
Şekil 15- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek farelere ait perifer kandaki eritrositlerin görünümü (x300).

3.3.3. Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular

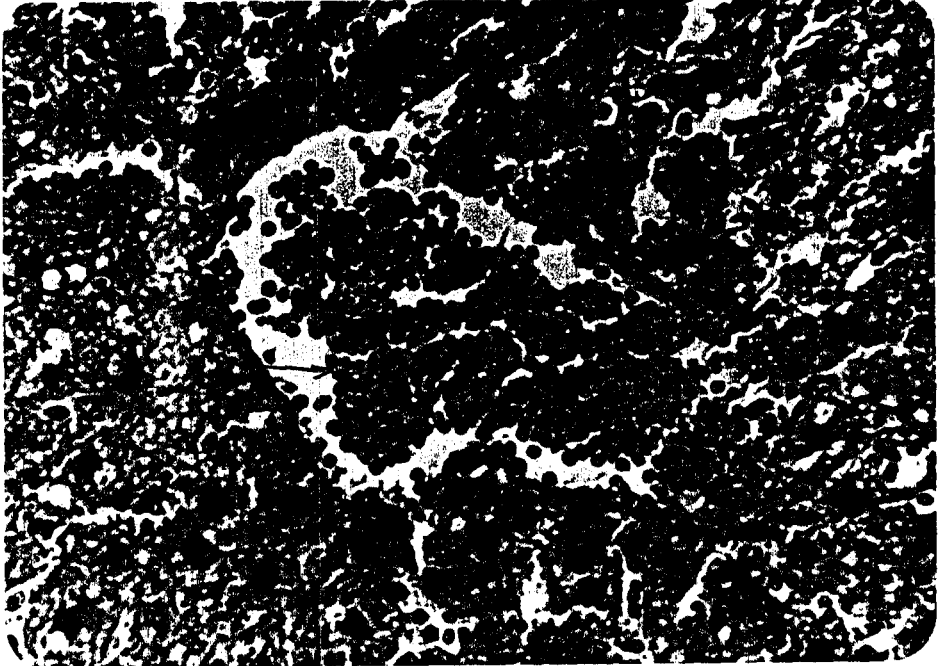
Amitoz olayının bir göstergesi olarak mitotik figürlerde artma (şekil 16), vena centralis'te aşırı kan birimi (şekil 17) ve Kupfer hücre aktivasyonu gözlenmiştir (şekil 18). Hücre kordonlarında ve sinüzoidlerde bozulma (şekil 19), parankima hücrelerinde nekroza kadar gidebilen bulanık şişkinlik biçimindeki dejenerasyonlar (şekil 20) ve granül artışı (şekil 21) dışilerden farklı

olarak gözlenen bulgular arasındadır (şekil 21).

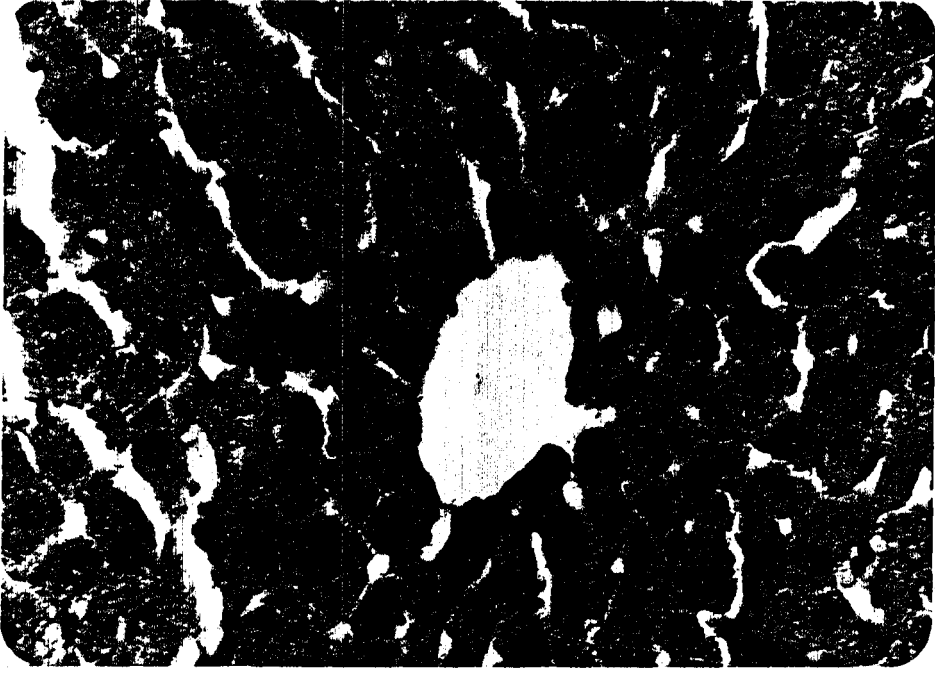
Ayrıca parankimal hücrelerde görülen anizostozis de bir başka farklı bulgudur (şekil 22).



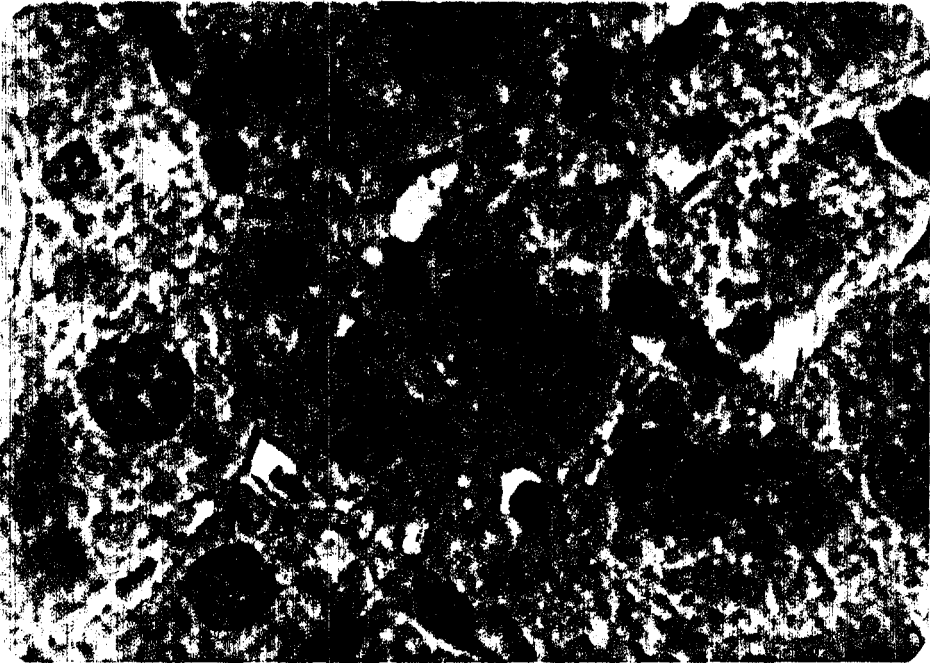
Şekil 16- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek farelere ait karaciğer dokusu, ç=mitotik figürler (x900).



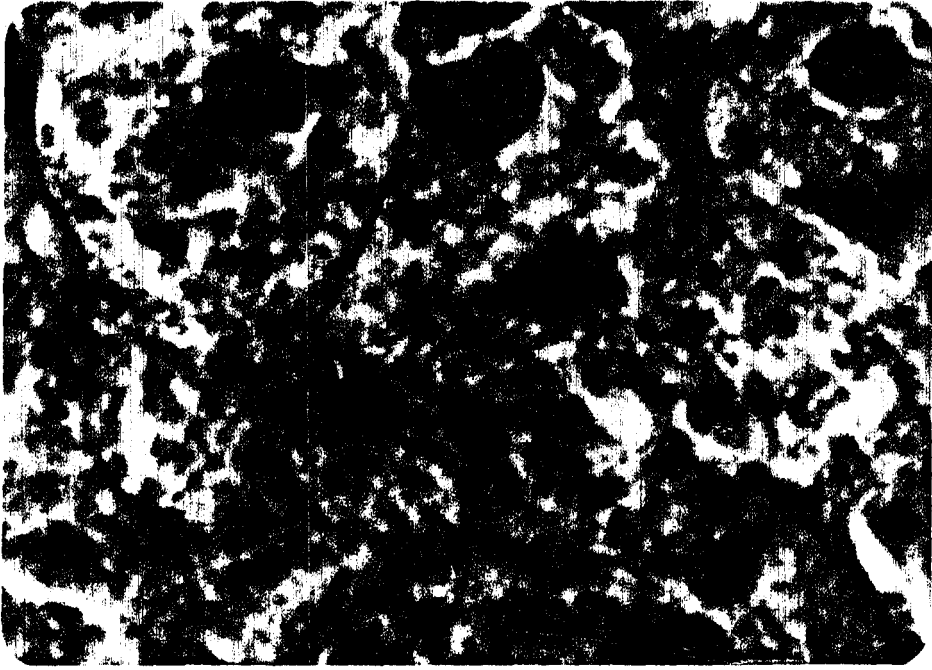
Şekil 17- LD₅₀ benzen verilmiş erkek farelere ait karaciğer vena centralis'te kanama (x300).



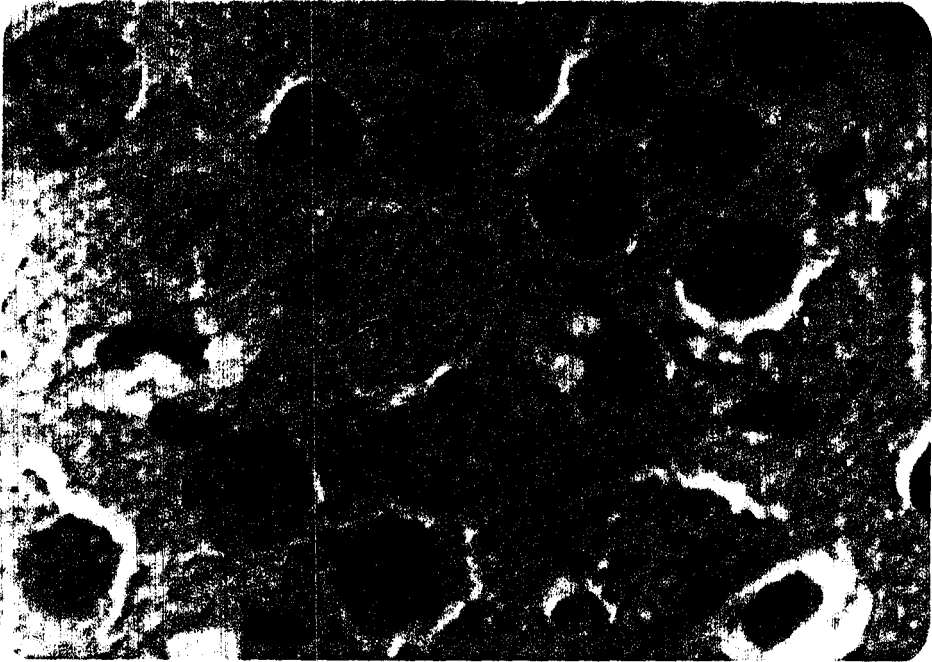
Şekil 18- LD₅₀ benzen verilmiş erkek farelere ait karaciğerde Kupfer hücre artışı(k),(x300).



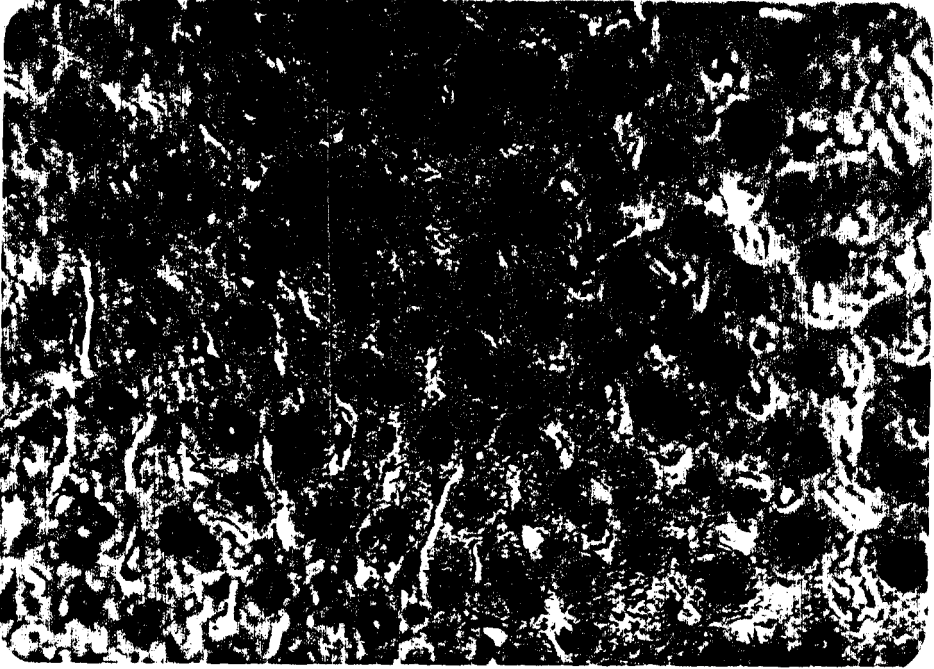
Şekil 19- LD₅₀ benzen verilmiş erkek farelere ait karaciğerde hücre kordonlarında ve sinüzoidlerde bozulma (x900).



Şekil 20- LD₅₀ benzen verilmiş erkek fareye ait karaciğerde ileri dejenerasyon (x900).



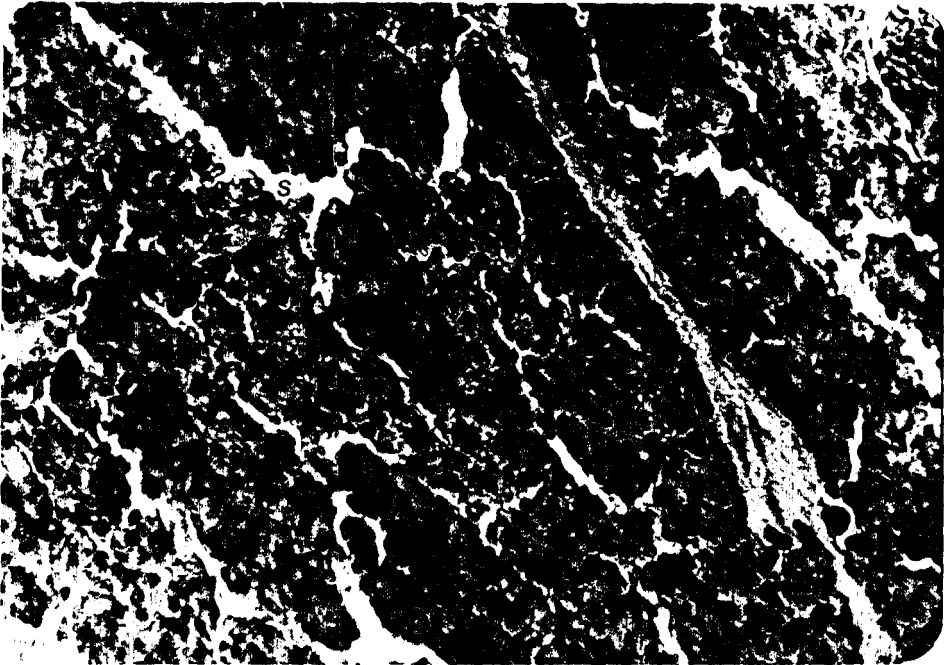
Şekil 21- LD₅₀ benzen verilmiş erkek fareye ait karaciğer parankima hücrelerinde granül artışı(ok), (x900).



Şekil 22- LD₅₀ benzen verilmiş erkek fareye ait akciğer parankimal hücrelerinde görülen anizostosis(ok), (x300).

3.3.4. Dalak Dokusuna Ait Bulgular

Sinüzoidlerde dolgunluk ve depo eritrositlerde artma bulgular arasındadır (şekil 23).



Şekil 23- LD₅₀ benzen verilmiş erkek fareye ait dalak dokusu, e=eritrosit, s=sinüzoid (x300).

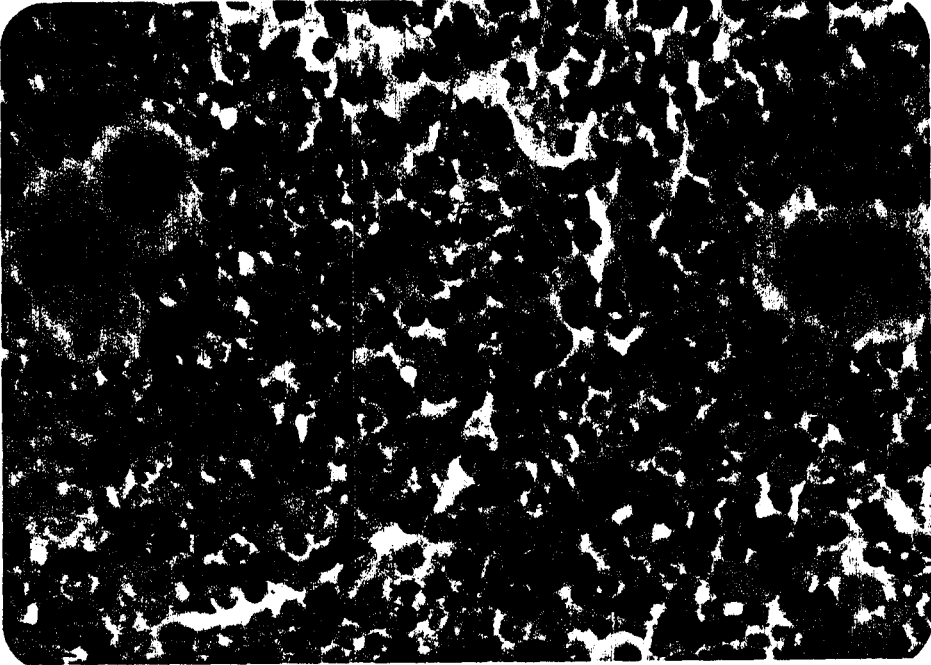
LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış erkek farelerin 3 ay sonunda hemoglobin değeri 9,5 gr/lt olarak ölçülmüştür.

3.4. Oral Yolla LD₅₀ Benzen Uygulaması Yapılmış Dişi Farelere Ait Bulgular

Burada da erkek farelere uygulanan yol izlenerek kemik iliği, kan, karaciğer ve dalak dokuları incelemeye alınmış ve hemoglobin düzeyleri ölçülmüştür.

3.4.1. Kemik İliğine Ait Bulgular

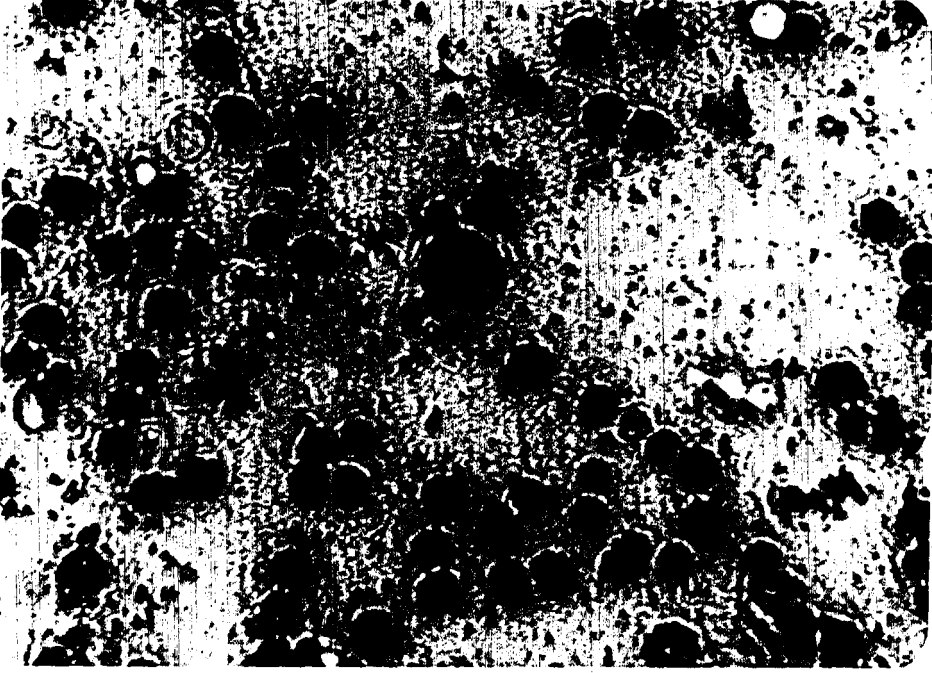
Bu grubun kemik iliği preparatlarının mikroskopik incelemesinde immatür megakaryositlere rastlandığı gibi, normalde 3/1 olan oranın (myelositer seri kan hücresi/eritrositer seri kan hücresi) 2/2 olduğu dikkat çekmiştir (şekil 24).



Şekil 24- LD₅₀ benzen verilmiş dişi farelere ait kemik iliği dokusu, im=immatür megakaryosit, m=myelositer seri kan hücresi (x300).

3.4.2. Perifer Kan Dokusuna Ait Bulgular

Eritrositlerde dikensi çıkıntılar tek bulgu olarak gözlenmiştir (şekil 25).

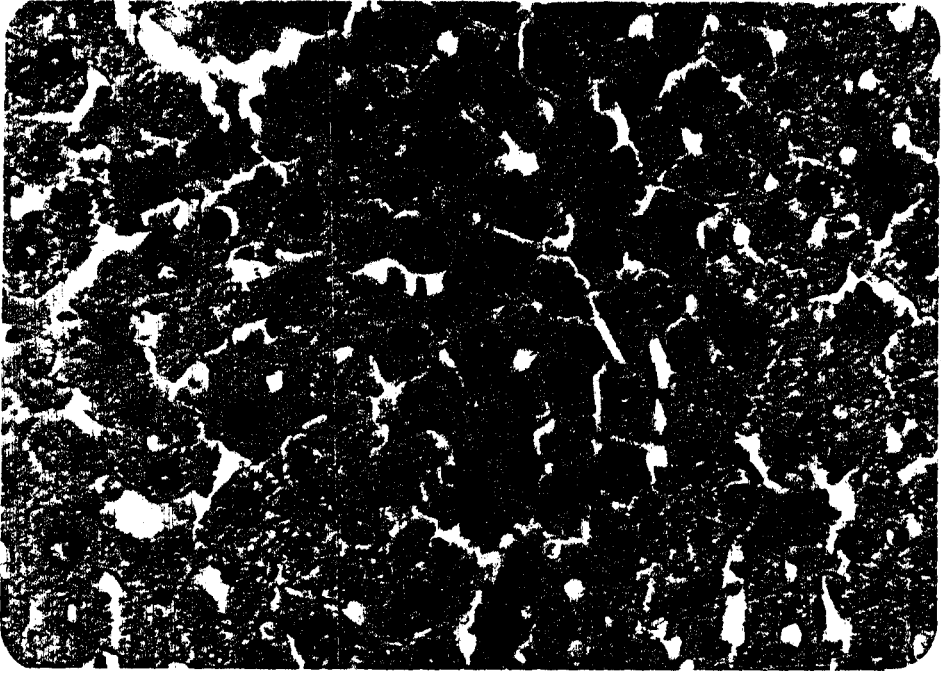


Şekil 25- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış dişi farelere ait perifer kandaki eritrositlerin görünümü (x300).

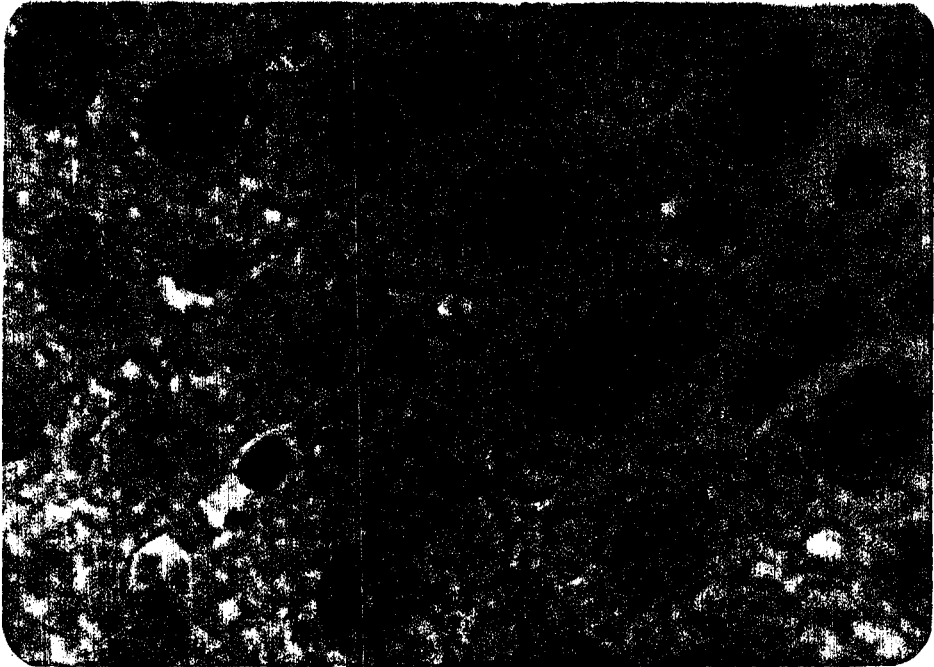
3.4.3. Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular

Dişilerde ilk olarak parankima hücrelerinde sitoplazmada dağılma, şişkinlik, bulanıklık şeklinde dejenerasyonlar (şekil 26), mitotik figürlerde artma (şekil 27) dikkati çekmiştir.

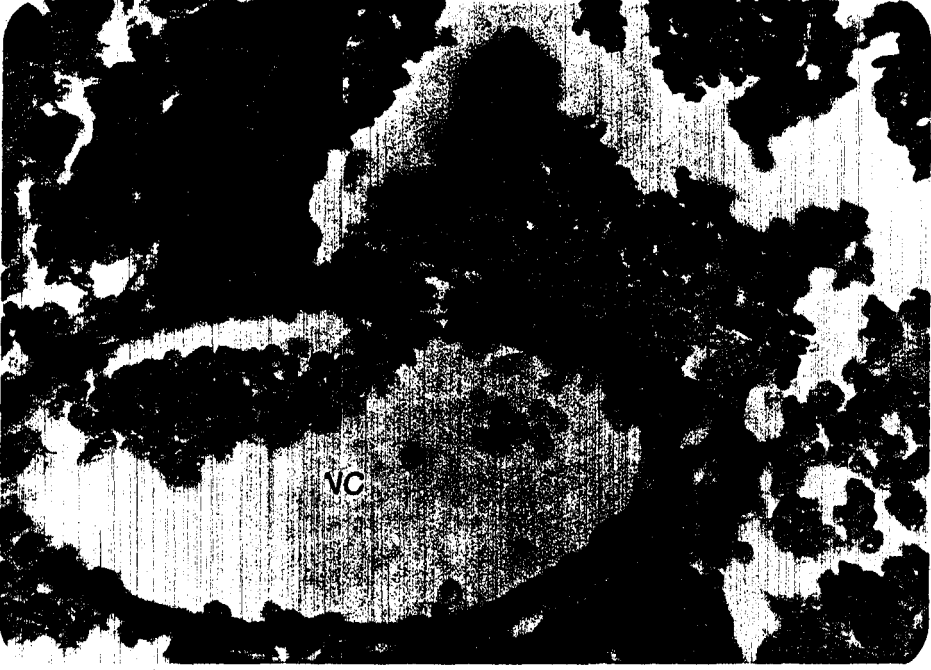
Ayrıca hücre plakları arasında genişlemeler ve bu bölgelerin kanla dolu olduğu görülmüştür (şekil 28).



Şekil 26- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış dişi farelere ait karaciğerde parankimal dejenerasyon (x300).



Şekil 27- LD₅₀ benzen uygulaması yapılmış dişi farelere ait karaciğer hücrelerinde mitotik figürlerde artma(ç), (x900).

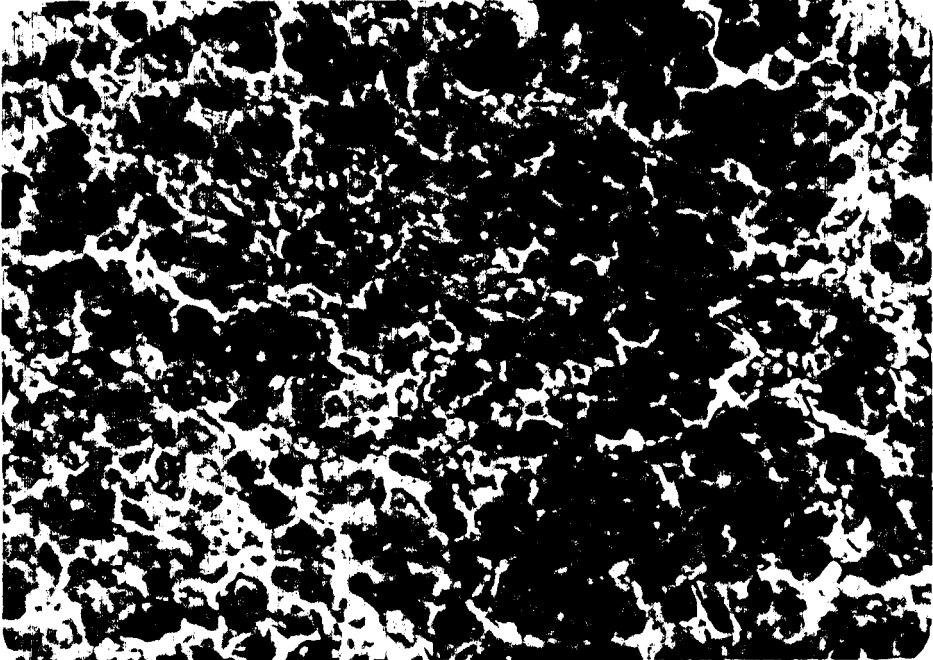


Şekil 28-LD₅₀ benzen verilmiş dişi farelere ait karaciğer plakları arasındaki genişlemeler ve bu bölgelerin kanla dolu olması (x300).

3.4.4. Dalak Dokusuna Ait Bulgular

Dalakta erkeklerin aksine eritrositlerde azalma tek bulgudur (şekil 29).

LD₅₀ benzen verilmiş dişi farelerin 3 ay sonunda hemoglobin değeri 7,2 gr/lt olarak ölçülmüştür.



Şekil 29-LD₅₀ benzen verilmiş dişi farelere ait dalak dokusu eritrositlerinde azalma (x300).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sanayinin ve endüstrinin çok çeşitli kollarında kullanılan ; hatta deterjanlar, leke temizleyicileri, yer cilaları, spreyler ile evlerimize kadar giren ve özellikle de bazı hastalıkları tedavi edici ilaçların içinde bulunan benzenin çok sayıda aplastik anemiye neden olduğu çalışmamızda ortaya çıkmış ve bu bulgular birçok araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Harigaya et al., 1981; Loge, 1965; Aksoy, 1975; Moeschin and Speck, 1967; Bilgin, 1979b; Speck et al., 1966; Erdoğan, 1973; Aksoy, 1973).

Croncote (1987) yaptığı çalışmada günde 6 saat, haftada 5 gün ve 16 hafta için toplam 300 ppm benzene maruz bırakılan erkek farelerde yüksek lösemi, aynı sürelerde bir başka erkek fare grubuna 100 ppm benzen uygulandığında ise anemi ve kemik iliği hücrelerinde azalma meydana geldiğini göstermiştir.

Gerek periferik kan ve gerekse kemik iliğinden yaptığımız smirlerin mikroskopik incelemelerinde tespit ettiğimiz bulgular benzenin periferik kanda ve kemik iliğinde araştırmacılar tarafından ileri sürülen bulgulara benzemektedir.

Periferik kan smirlilerinin incelenmesinde eritrositlerde anizositoz ve vakuolizasyonun meydana gelmiş olması benzenin toksik yan etkisine bağlı olarak araştırmacılar (Krakoff, 1955; Wentrobe, 1974) tarafından ileri sürülen bulguların aynısıdır.

Kemik iliği preparatlarında ise immatür kan hücrelerine rastlanması, kemik iliği mikrosirkülasyonunda bir bozukluğun meydana geldiğini düşündürmektedir. Çünkü normal şartlarda yani kemik iliği mikrosirkülasyonunda bozukluk olmadan hiçbir immatür hücre, kemik iliğinden periferik kana geçmez.

Biz çalışmalarımızda hayvanlara benzen uygulamasını 3 ayın sonunda kesmek zorunda kaldığımız için, sonuçta lösemi vakası tespit edemedik.

Bugün yine de lösemi problemi ile uğraşan araştırmacıların büyük çoğunluğu benzenin lösemiyle sıkı ilgisini kabul etmelerine karşın (Browning, 1965; Gaultier, 1966) bazı araştırmacılar bu sonuca kuşku ile bakmaktadırlar (Gallo, 1973). Bu kuşkunun dayandığı sebepler şunlar olabilir ; hayvanlarda lösemi oluşturmak için yapılan deneyler birbirine zıt sonuçlar vermektedir (Aksoy, 1973). Benzene maruz kalan işçi veya şahıslarla kontrol grubu arasında lösemi bakımından bir ayrılık olduğunu gösterecek çalışma şimdiye kadar yapılmamıştır. Son zamanlarda Aksoy ve arkadaşları benzenin lösemi yaptığını istatistiki bakımdan göstermişlerdir.

Diğer taraftan 1897'de La Noire ve Claude'nin benzene bağlı ilk lösemi vakasını, birçok araştırmacı benzene kronik maruz kalan işçi veya şahıslarda, dikkati çekecek sıklıkta göstermişlerdir. 1965'te Browning literatürden 61 lösemi vakası toplamıştır.

Bugün lösemiyle benzen arasındaki sıkı ilişkiyi gösteren çok inandırıcı iki bulgu vardır ; hastaların

bir kısmında lösemi, aplastik anemi bulguları geliştikten sonra kısa ve çoğu kez de uzun bir süre sonra görülmektedir. Bununla birlikte benzene maruz kalındıktan 2-3 yıl sonra löseminin geliştiği görülmüştür. Benzenin de lösemiye neden olduğu kesin olarak tespit edilen radyasyon gibi myelotoksik bir ajan olması da ikinci bulgudur. Başta aplastik anemi olmak üzere hematopoiyetik sistemi ilgilendiren çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır (Aksoy, 1973).

İşte bu nedenler ve benzenle çalışan işçi gruplarında bulunan lösemi vakalarına dayanarak biz benzenin löseminin etyolojisi ile ilgisini kabul ediyoruz.

Nitekim çalışmalarımızda benzene bağlı olarak karaciğer parankima hücrelerinde dejenerasyonlar, mitotik figürlerde artma, sentral vende kanama, hücre kordonlarında bozulma gibi çok önemli bulgulara rastlanmıştır. Dalakta ise erkeklerin eritrositlerinde artma, dişilerde ise aksine olarak azalma yine benzene bağlı patolojik bir bulgu olarak tespit edilmiştir.

Sonuçta erkek farelerin benzene daha duyarlı olduğu ve hemoglobin değerlerinin dişilere oranla daha yüksek oldukları görülmüştür. Erkeklerin hemoglobin değerlerinin yüksek olmasının nedenini testosteron hormonuna bağlayabiliriz.

Tüm bunlara rağmen hayvan ve insandaki doz-etki ilişkileri kesin bir şekilde bilinmemektedir. Oldukça farklı olmasına rağmen direkt olarak hayvanlardaki doz etkisinden çıkarılan sonuçtan insanlardaki eğilim çıka-

rılabilir. Eldeki son veriler kemik iliğinde olgunlaşmakta olan öncü kan hücreleri üzerine özellikle benzenin sitotoksik etkisi olduğunu göstermektedir (Galdo and Wierda, 1984). Bu da bize benzenin kanserojenik özelliği yanında mutajenik özelliği olduğunu da gösterir.

Tüm bunların sonucunda benzenin kansere neden olabilmesi toplam doza ve sıklığa, aktivasyon ve inaktivasyon derecesine, hassasiyet faktörlerine (tür, direnç, ses, diyet, alınan kalori, hormonal durum, immünolojik durum) bağlıdır (Mülle, 1975). **Erkekler**, gelişme çağındaki gençler, alkolikler, karaciğer ve C vitamini eksikliği çekenler özellikle benzen zehirlenmesine duyarlıdır.

Benzen zehirlenmesine maruz kalmamak için benzen inhalasyonunu minumuma indirmek gerekir. Bunun için biyolojik tayinler yanında belirli zamanlarda işyeri havasında benzen miktarının tespit edilmesi gereklidir. Bu gibi işyerlerinde benzenin yerine toluen ve ksilen gibi eriticilerin kullanılması gerektiğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aksoy, M., 1970, Benzen (Benzol) Zehirlenmesi ve Hematopoietik Sistem Etkileri, İstanbul Tıp Fak. Monografi Serisi 51, Sermet Matbaası, İstanbul.
- Aksoy, M., 1973, Lökozların Etiyolojisinde Bazı Akkiz ve Genetik Faktörlerin Önemi Gösteren Klinik İncelemeler, İstanbul Tıp Fak. Mecbuası 36, 783-806.
- Aksoy, M., 1975, Hematoloji I, Sermet Matbaası, İstanbul, 51-63, 315-336.
- Ames, B., 1975, Chemical Carcinogens, Mut. Res. 33, 27-28.
- Bağcı, H., 1985, Mutajenik ve Kanserojenik Maddeler, Tübitak Mol. Biy. ve Gen Müh. Lisansüstü Yaz Okulu Ders Notları, 22-25.
- Bilgin, U.Y., 1979a, Intraperitoneal Yolla Chloramphenicol'un Beyaz Fare Böbreklerindeki Etkisi, D.Ü.T.F. Dergisi 8, 217-234.
- Bilgin, U.Y., 1979b, Intraperitoneal Yolla Chloramphenicol'un Beyaz Fare Testislerindeki Etkisi, D.Ü.T.F. Dergisi 8, 235-248.
- Browning, E., 1965, Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents, Elsevier Publication, London, 41.
- Busch, H., 1974, Molecular Biological Aspects of Carcinogenesis, The Molecular Biology of Cancer, Ch II, 377-398.
- Carter, D.S. and Goldman, B.D., 1983, Progonadal role of the pineal in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus sungorus*): Mediation by melatonin, Endocrinology 113, 1268-1273.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Croncote, E.P., 1987, Chemical leukemogenesis benzene as a model, Seminars in Hematology, vol. 24, nr. 1 (January), 2-11.
- Erdoğan, G., 1973, Cytogenetic studies in thirteen patients with pancytopenia and leukemia associated with long-term exposure to benzene, Ist. Canc. Clin. Sci. 10, 230-247.
- Galdo, K., and Wierda, D., 1984, In vitro Effects of Benzene Metabolites on Mouse Bone Marrow Stromal Cells, Toxicology and Applied Pharmacology 76, 45-55.
- Gallo, R.C., 1973, On the Etiology of human leukemia, Med. Clin. North Am. 57, 343.
- Gaultier, P.M., 1966, Hemoglobinopathies observées en milieu professionnel, Bull L'1 NSERM 21, 1047.
- Geneva, A., 1968, Benzene: Uses, Toxic Effects, Substitutes International at Labour Office, 35.
- Gürer, F., ve Bilgin, U.Y., 1985, Diyarbakır'da Benzenli Materyal Kullanılan Çeşitli İşyerlerinde Çalışan Kişilerde Kronik Benzen İntoksikasyonunun Bazı Kan Parametrelerine Etkisi, D.Ü.T.F. Dergisi 12(1-2), 49-58.
- Harigaya, K., 1981, The delections of in vivo hematotoxicity of benzene by in vitro liquid bone marrow evitures, Toxicol. Appl. Pharmacol. 60, 346-353.
- Krakoff, I., 1955, Effects of large doses of chloramphenicol on human subjects, J. Med. 253, 7-10.
- Krishnave, G., 1981, Recent studies on the mechanism of chloramphenicol activation rens possible for aplastic anemia, Safety Problems Related to Chloramphenicol Therapy, 5-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- La Noire, C., 1897, Sur un cas de purpura atribuee a l'intoxication par le benzene, Bull. Mem. Soc. Chir. Paris 14, 1251.
- Loge, J.P., 1965, Aplastic anemia following exposure to benzene hexachloride, Jama 193, 110-113.
- Morimoto, K. and Wolff, S., 1980, Increase of sister chromatid exchanges and perturbation of cell division kinetics in human lymphocytes by benzene metabolites, Cancer Res. 40, 1189-1193.
- Moeschlin, S. and Speck, B., 1967, Experimental studies on the bone marrow, Acta Haematol. 38, 104-111.
- Mülle, J.A., 1975, Metabolic activation and reactivity of chemical carcinogenesis mutation, Research 33, 25-26.
- Parke, D.V. and Ioannides, C., 1984, Archives of Toxicology, Ed: Chambers, P.L., Preziosi, P. and Chambers, C.M., Metabolism and Toxicity, Springer-Verlag, Berlin, 535 p.
- Reuber, M.D., 1970, Cirrhosis and carcinoma of the liver in male rats given subcutaneous carbon tetrachloride, J. Natl. Cancer Inst. 44, 419-427.
- Saleh, M.A., 1980, Mutagenic and carcinogenic effects of pesticides, J. Environ. Sci. Health, B 15(6), 907-927.
- Speck, B., 1966, Experimentelle untersuchungen über den wirkungsmechanismus des benzoles auf das knochenmark, Auto Schweiz med-wschr, 96(1274), 121-126.
- Suzuki, F. and Racey, P.A., 1978, The organization of testicular interstitial tissue and changes in the fine structure of the Leydig cells of European moles (*Talpa europaea*) throughout the year, Journal of Reproduction and Fertility 52, 189-194.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Terzioğlu, M., 1982, Fizyoloji Pratik Kitabı, İstanbul Univ. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, İstanbul, 224s.
- Tunek, A., 1981, Toksic effects of benzene and benzene metabolite on translopoietic Stem cells and bone marrow cellularity in mice, Toxicol. Appl. Pharmacol 59, 149-156.
- Wentrobe, M., 1974, Clinical Haematology, Seventh Ed. Les and Febier, 1748-1752.
- Wierda, D., 1982, Hydroquinone and catechol reduce the frequency of progenitor B lymphocytes in mouse spleen and bone marrow, Immunopharmacology 4, 41-59.
- Vural, N., 1984, Toksikoloji, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları, No:56, 416s.