T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BDE-99'UN ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

MERT KUMAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

DOÇ. DR. AYŞEGÜL ÇERKEZKAYABEKİR

EDİRNE-2013

BDE-99'UN

ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

MERT KUMAŞ

YÜKSEK LİSANS

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

2013

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşegül ÇERKEZKAYABEKİR
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri İmza

Doç. Dr. Ayşegül ÇERKEZKAYABEKİR

Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN

Yrd. Doç. Dr. Elvan BAKAR

Tarih: 10/09/2013

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

10 /09/ 2013

Mert KUMAŞ

Yüksek Lisans Tezi

BDE- 99'un Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

2,2',4,4',5-pentabromodifenil eter'in (BDE-99) 0,05 mg/kg ve 0,1 mg/kg dozları mısır yağında çözülerek on gün boyunca Wistar Albino sıçanlara gavaj yoluyla verildi. Deneyin sonunda karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve akciğer dokularında biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler incelendi. Buna göre; karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve akciğerde KAT aktivitesi ve böbrekte GPX, SOD aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p<0,05$). Karaciğer ve ince bağırsakta GPX aktivitesi ve karaciğerde SOD aktivitesi istatistiksel açıdan anlamlı şekilde arttı ($p<0,05$). Karaciğerde; ven endotel hasarı, mononuklear hücre infiltrasyonu, hepatositlerde membran hasarı, sitoplazma kaybı, hipertrofi ve genel anlamda dokuda bütünlük kaybı meydana geldiği belirlendi. Böbreklerde; Bowman kapsülünün parietal ve visseral yaprakları arasında mesafe artışı, tübülleri astarlayan epitelde membran hasarı, epitel hücrelerinde hipertrofi, nukleus ve sitoplazma kaybı gözlendi. İnce bağırsakta; epitelin, altındaki bağ dokudan ayrıldığı ve mononuklear hücre infiltrasyonu oluştuğu, akciğerde de; dokunun karakteristik süngerimsi yapısının bozulduğu, alveolar alanlarda bağ doku artışı ve mononuklear hücre infiltrasyonu meydana geldiği belirlendi.

Sonuç olarak, BDE-99'un bu dozlarda antioksidan sistemi olumsuz yönde etkileyerek biyokimyasal ve histolojik değişikliklere neden olduğunu ve toksisite mekanizmasının aydınlatılması için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

Yıl **:** 2013

Sayfa Sayısı **:** 59

Anahtar Kelimeler **:** 2,2',4,4',5-pentabromodifenil eter (BDE-99), SOD, GPX, KAT, karaciğer, böbrek, ince bağırsak, akciğer.

Master's Thesis

Investigation of the effect of BDE-99 on antioxidant system

Trakya University Institute of Naturel Sciences Department of Biology

ABSTRACT

2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) dissolved in corn oil was given to Wistar Albino rats during ten days by gavage and the biochemical and the histopathological changes in liver, kidney, small intestine and lung tissue have been examined. Accordingly GPX, SOD and CAT activity in the liver and the kidney have shown a significant change from a biochemical point ($p < 0.05$), and CAT and GPX activity in the small Intestine showed a statistically significant change ($p < 0.05$), and the SOD activity showed no any statistically significant change ($p > 0,05$). CAT activity in the lungs has shown a statistically significant change ($p < 0.05$) and GPX and SOD activities have not shown any statistically significant changes ($p > 0,05$). And it was observed that a vein endothelial injury, mononuclear cell infiltration, membrane damage in the hepatocytes, hypertrophy, and cytoplasm loss and generally loss of integrity in the tissue also occurred in the liver. It was observed an increase in the distance (atrophy) between the parietal and visceral leaves of the Bowman's capsule in the kidneys, membrane damage in the epithelium which is lining the tubules, nucleus and cytoplasm loss in the epithelial cells, and hypertrophy. It was observed a separation of the epithelium from the connective tissue under it in the small intestine and a mononuclear cell infiltration; and in the lungs it was observed a disruption of the characteristic spongy structure of the tissue, an increase in the connective tissue in the alveolar areas and a mononuclear cell infiltration.

As a result, the BDE-99 molecule, having adversely affecting the antioxidant system, causes biochemical and histological changes. Therefore we think that it is required further studies for toxicity mechanism of BDE-99 in detail.

Year : 2013

Number of Pages : 59

Keywords : 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99), SOD, GPX, CAT, liver, kidney, small intestine, lung.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim sırasında bilimsel katkıları ile bana yardımcı olan, tecrübelerinden yararlanırken hoşgörü ve sabır gösteren, her aşamada yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım ve hocam sayın Doç.Dr. Ayşegül ÇERKEZKAYABEKİR'e çalışmamda değerli katkılarını esirgemeyen Yrd.Doç. Dr. Elvan BAKAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma T.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2010/164). T.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Eğitim hayatım ve Yüksek Lisansım boyunca beni destekleyen ve yüreklendiren Erol YALIM ve ailesine; bu zorlu yolda tezimi hazırlamamda desteğini eksik etmeyen biricik eşim ve bebeğimiz Zeynep Ada'nın biricik annesi Asiye ÖZDEMİR KUMAŞ'a minnetle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ v
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Karaciğer 3
2.2. Böbrek 10
2.3. İnce Bağırsak 15
2.4. Akciğer 18
2.5. Polibromodifenil eterler (PBDE) ve 2.2'.4.4'.5-pentabromodifenileter (BDE-99) 21
2.5.1. Polibromludifenil eterler (PBDE) 21
2.5.2. 2.2'.4.4'.5-pentabromodifenileter (BDE-99) 22
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 26
3.1. Denekler 26
3.2. Histolojik Değerlendirme 26
3.3. Biyokimyasal Değerlendirme 27
3.4. İstatistiksel Analiz 27
4. BULGULAR 28
4.1. BDE-99'un SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi: 28
4.2. BDE-99' un histopatolojik etkisi: 31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 47
KAYNAKLAR 52

SİMGELER DİZİNİ

BDE-99 **:** 2,2’,4,4’,5-pentabromodifenileter

GPX **:** Glutatyon Peroksidaz

KAT **:** Katalaz

SOD **:** Süperoksit dismutaz

PBDE **:** Polibromludifenileter

ROS **:** Reaktif Oksijen Türleri

µm **:** Mikrometre

PCB **:** Poliklorlu bifenil

CAS **:** Chemical Abstracts Service

ng **:** Nanogram

ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ

Şekiller

Şekil 2.1.1. Karaciğerin histolojik yapısı **5**
Şekil 2.1.2. Karaciğer Hücre Tipleri **6**
Şekil 2.1.3. Sinozoidal alanlarda Kupffer Hücreleri **8**
Şekil 2.2.1. Böbrekte glomerulus, bowman kapsülü ve renal korpüskül **11**
Şekil 2.2.2. Bowman Kapsülü, makula densa ve epitel tipleri **13**
Şekil 2.2.3. Böbrek genel morfolojisi **13**
Şekil 2.2.4. Proksimal ve distal tübül histolojik görünüm **14**
Şekil 2.3.1. Paneth hücreleri **16**
Şekil 2.3.2. Paneth hücrelerinin yer aldığı kriptalar **16**
Şekil 2.3.3. Bağırsak yapısının şematik olarak gösterimi **17**
Şekil 2.3.4. İnce Barsak Histolojik Görünümü **17**
Şekil 2.4.1. Akciğer Genel Yapısı **19**
Şekil 2.4.2. Alveolar Hücre Tipleri **20**
Şekil 2.5.2.1. BDE-99'un kimyasal formülü **22**
Şekil 2.5.2.2. BDE-99 molekülünün hidroksillenmiş metaboliti **25**
Şekil 4.2.1.1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **32**
Şekil 4.2.1.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **32**
Şekil 4.2.1.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **33**
Şekil 4.2.1.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **33**
Şekil 4.2.1.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **34**
Şekil 4.2.1.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin **34**
Şekil 4.2.2.1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin **36**

Şekil 4.2.2.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **36**

Şekil 4.2.2.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **37**

Şekil 4.2.2.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **37**

Şekil 4.2.2.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **38**

Şekil 4.2.2.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **38**

Şekil 4.2.3.1. Kontrol grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **39**

Şekil 4.2.3.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **40**

Şekil 4.2.3.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **40**

Şekil 4.2.3.4. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **41**

Şekil 4.2.3.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **41**

Şekil 4.2.3.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **42**

Şekil 4.2.4.1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **43**

Şekil 4.2.4.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **44**

Şekil 4.2.4.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **44**

Şekil 4.2.4.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **45**

Şekil 4.2.4.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **45**

Şekil 4.2.4.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **46**

Şekil 4.2.4.7. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu. Hematoksilin-Eozin..... **46**

Tablolar

Tablo 4.1.1. BDE-99'un karaciğerde SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi **28**

Tablo 4.1.2. BDE-99'un böbrekte SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi **29**

Tablo 4.1.3. BDE-99'un ince bağırsakta SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi **29**

Tablo 4.1.4. BDE-99'un akciğerde SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi……..... **30**

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Polibromludifenil eterler (PBDE) 1970 yılından bu yana dünyada ticari olarak geniş ölçekte, alev almayı geciktirici olarak kullanılan kimyasal bir madde grubudur [1,2]. PBDE'nin bu denli geniş ölçekte kullanılması, canlı mekanizması üzerine etkilerinin daha fazla araştırılmasını sağlamaktadır. Bu kirleticilere deniz ürünleri, hava, su, ev atıkları ve evsel tozlarla maruz kalınabileceği gibi en önemli maruz kalma yolu beslenmedir [3,4].

Ağız yoluyla PBDE' lere maruz kalan sıçanlarda hücre enzim etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir [5]. İnsan çalışmaları bir PBDE türevi olan 2,2',4,4',5-pentabromodifenil eter'in (BDE-99) karaciğer ve yağ dokularında diğer PBDE'ler ile karşılaştırıldığında daha fazla bulunduğu gösterilmiştir [6]. Oral yolla maruz kalma sonucunda PBDE etkisi ile hepatik hipertrofinin indüklendiği ve karaciğer ağırlığının arttığı rapor edilmiştir [7,8].

İnsan karaciğer, böbrek, akciğer ve ince bağırsak dokuları üzerindeki potansiyel toksisitesi hakkında pek az şey bilinen, PBDE türdeşlerinden biri olan BDE-99'un, yetişkin sıçanların karaciğer ve böbrek dokularındaki toksik etkisi hakkında da sınırlı sayıda çalışma mevcuttur [2]. Yetişkin erkek farelere sonda ile besleme yoluyla BDE-99 verilmiş ve 45 gün sonrasında karaciğer ve böbrek dokuları çıkarılıp oksidatif stres göstergeleri incelenmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (KAT) enzim aktivitelerine bakılmıştır. Karaciğer ve böbrek dokularında KAT aktivitelerinin anlamlı şekilde azaldığı, karaciğerde SOD ve GPX aktivitelerinin arttığı ve böbrekte SOD ve GPX aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir [2]. Dokuların histolojik incelemelerinde BDE-99'a maruz kalan yetişkin farelerin böbrek dokularında fagolizozomlar gösterilmiştir [2,9].

En derişik PBDE türdeşlerinden biri olan BDE-99'a maruz bırakılan yetişkin farelerin karaciğer ve böbreklerinde antioksidan kapasite değişiklikleri ve oksidatif hasarlar incelenmiş; karaciğer dokularında glutatyon (GSH) seviyesinin azaldığı, okside glutatyon (GSSG) seviyesinin ve GSSG/GSH seviyesinin arttığı bildirilmiştir [2]. Bu incelemenin sonuçları; ağız yolundan akut BDE-99 verilmesinin böbrek ve karaciğerde bozukluklara neden olduğu, oksidatif hasarın nefrotoksisite ve hepatoksisite için potansiyel mekanizma olduğunu göstermiştir [2].

BDE-99 molekülünün toksisitesi ile ilgili yapılan araştırmalarda; beyin dokusu, üreme sistemi, endokrin sistem, kan, karaciğer ve böbrek dokularının hepsinde yıkıcı etkiler oluşturduğu bildirilmiştir [48,49,54].

Yeni doğan farelere beyin büyüme dönemlerinde (0,4 mg/kg ve 0,8 mg/kg) BDE-99 diyeti uygulanmış, yetişkin olduklarında spontan motor davranış testleri 60 dakikalık süreyle yapılmış; hareket, yetiştirme ve toplam aktivite ölçülmüştür. 0,8 mg/kg doz BDE-99'a maruz kalan farelerin toplam aktivitelerinde ilk 20 dakikalık süre içerinde azalma (hipoaktif) son 20 dakikalık süre içerisinde aktivite de artma (hiperaktif) gözlenmiştir [10].

Farelere perinatal dönemde (0,6 mg/kg) uygulanan BDE-99'un, yetişkin dönemde bedensel gelişimlerinde, tüy oluşumunda, göz kapağı oluşumunda ve kulak açıklığı oluşumunda olumsuz bir etkisi olmadığı ortaya koyulmuştur [11].

Bir başka çalışmada erkek sıçanlarda BDE-99'un üreme sağlığı üzerine etkileri incelenmiş, (0,06 mg/kg ve 0,3 mg/kg) BDE-99'a maruz kalan sıçanlarda yüksek dozda, testis ağırlığında azalma olduğu, sperm sayısının kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir [12].

Tüm bu çalışmalara rağmen BDE-99'un toksisite mekanizması hakkında pek az şey bilinmektedir. Öne sürülen toksisite mekanizmalarından biri karaciğer ve böbrekleri etkileyebilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumundaki artıştır [13].

Bu çalışmada, BDE-99'a maruz bırakılan yetişkin sıçanların karaciğer, böbrek, akciğer ve ince bağırsak dokularında antioksidan sistemin anahtar enzimlerinden olan SOD, GPX ve KAT enzim aktivitelerinin değişip değişmediğinin tespit edilmesi ayrıca morfolojik düzeyde meydana gelebilecek değişikliklerin ışık mikroskobu ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

Anatomi

Karaciğer, vücudumuzun en büyük bezi ve deriden sonra gelen en büyük organıdır [14]. Ağırlığı 1200–1500 gr civarındadır [15]. Genişliği 14 cm, yüksekliği ise 16 cm kadardır. Karaciğerin diyaframla komşu olan yüzü konveks (facia diaphragmatica), iç organlarla komşu olan yüzü ise konkavdır (facia viseralis). Karaciğerin iç organlarla komşu olan yüzünde üç oluk bulunur. Enine durumda olan ve iki yan oluğu birbiriyle birleştiren orta oluğa karaciğer kapısı (porta hepatis) adı verilir. Buradan, karaciğere giren çıkan kan damarları, safra yolları, sinirler ve lenf damarları geçer. Bu üç oluk karaciğeri dört loba ayırır. Sağ oluğun sağında bulunan kısma sağ lob, sol oluğun solundakine sol lob, porta hepatisin önündeki parçaya lobus quadratus (kuadrat lob), arkasındakine lobus kaudatus (kaudat lob) denir. Lobların en geniş ve kalın olanı sağ lobdur [16].

Karaciğer hilumda kalınlaşan, elastik ve kollajen liflerden oluşan Glisson kapsülü adı verilen özel bir kapsül ile örtülüdür [15]. Karaciğer intraperitoneal bir organ olup diyaframa komşu olan area nuda kısmı hariç neredeyse tamamı periton ile kaplıdır [17]. Diyaframa aracılığı ile akciğer, plevra, fibröz perikardiyum ve kalbin ventriküler bölümünden ayrılır [18].

Karaciğer vücutta dolaşan toplam kanın % 15'ini içerir [18]. Karaciğer bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek gibi çok önemli ve hayati bir işleve sahiptir. Karaciğer portal ven ve hepatik arter olmak üzere iki kan damarından beslenir. Dakikada karaciğere gelen 1500 ml kanın % 25'i hepatik artere % 75'i ise portal vene aittir [16,19]. Hepatik arter, karaciğer kanlanmasının %20'sini oksijenlenmenin ise %50'sini sağlar [20]. Portal ven, içinde kapak bulunmayan bir damardır. Mide, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşır. Vena mezenterika süperior ile vena lienalisin birleşmesinden oluşur [21]. Portal

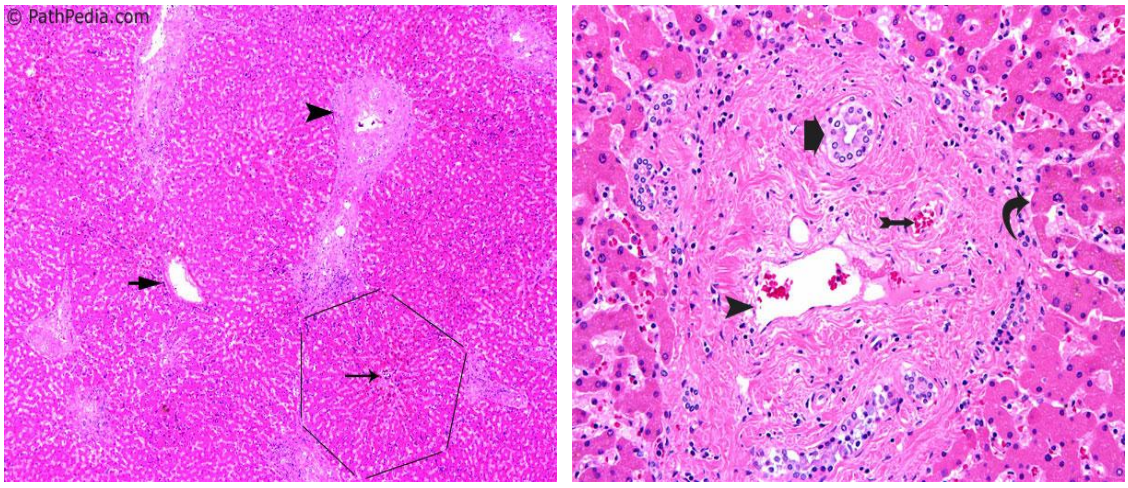
ven, gastrointestinal emilim sonrası emilen sıvıları karaciğer kapillerine doğru taşır [21]. Portal ven akımı, karaciğer kanlanmasının %80'ini, oksijenlenmesinin ise %50'sini sağlar [20].

Karaciğer, ductus thoracicus'a gelen lenf sıvısının %25-50'sini üretir. Karaciğerin lenf damarları derin ve yüzeyel olmak üzere iki grupta toplanır. Derin olanları karaciğer damarları etrafındaki bağ dokusu içerisinde, yüzeyel olanları ise Glisson kapsülünde bulunur. Hilumda organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar [15]. Karaciğerin innervasyonu medulla spinalis'in T9 ve L1 segmentlerinden gelen sempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur [16].

Histoloji

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi, karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimlerdir. Bu lobüller birkaç mm uzunluğunda 0,8-2 mm çapında ve silindirik yapıda 50.000-100.000 adet bulunan poligonal doku kitleleridir. Karaciğer lobülleri çoğu bölümlerinde birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırlarını belirlemek oldukça güçtür [15]. Her lobülün merkezinde karaciğerden kalbe kan taşıyan merkezi ven yer alır (Şekil 2.1.1a). Bu merkezi venler giderek genişleyen sublobuler venlerle infrahepatik venlere drene olur ve en sonunda vena cava inferiora katılan vena hepatikayı oluştururlar. Periferde birçok lobül arasında yer alan portal traktus veya portal triad adıyla bilinen bir bağ dokusu topluluğu vardır. Bu bağ doku topluluğu içinde portal ven, hepatik arter ve safra kanalikülleri yer alır (Şekil 2.1.1b). Bu üçlü yapıdan venül, genellikle en büyük olanıdır, duvarı ince ve lümeni düzensizdir. Arter ise, venüle göre daha küçük, daha kalın duvarlı ve daha düzgün lümenlidir. Safra kanalının ise belirgin bir tek katlı kübik epiteli vardır [15].

Portal ven ve hepatik arterin uç dalları sinüzoidlerle temas halindedir. Portal ven ve hepatik arterin dalları bir seri bölünmeden sonra daha küçük dallara ayrılarak doğrudan sinüzoidlere dökülür. Safra yolları sistemi, hücre zarının bir bölümünü oluşturan ince safra kanalikülleri olarak başlar. Hepatositler tarafından oluşturulan safra bu ince kanaliküllere drene olur. Safra kanalikülleri yoluyla intralobüler duktuslara ve daha sonra da portal traktus içindeki büyük safra kanallarına dökülür [15].

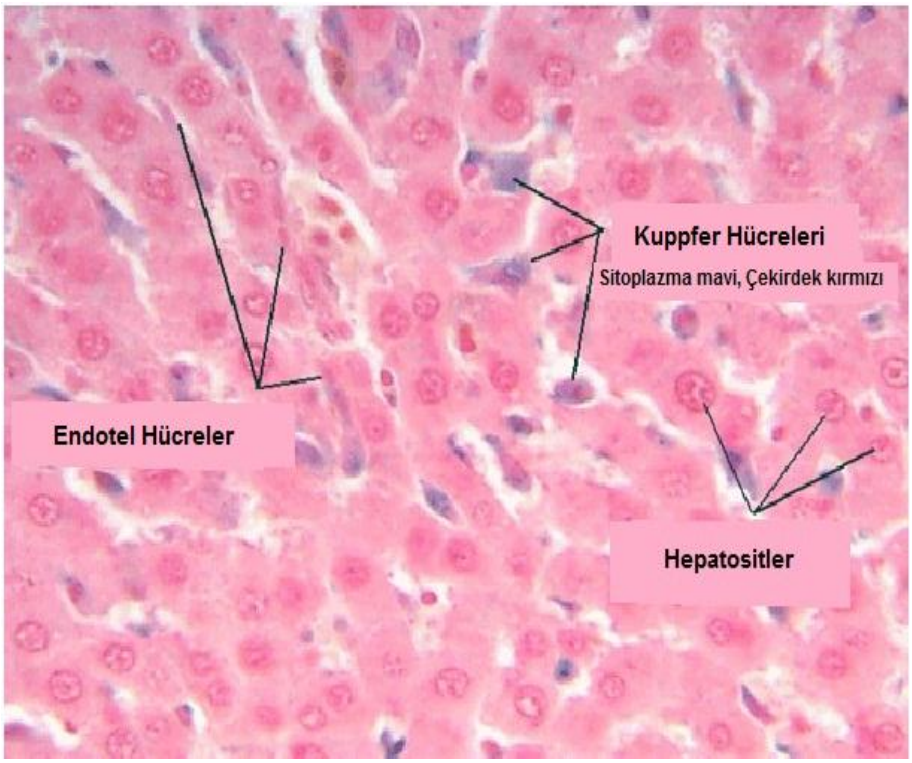


a **b**

Şekil 2.1.1: a) Karaciğerin histolojik yapısı. Okbaşı; portal triad, ince ok; merkezi ven (karaciğerin altıgen lobüllerinin merkezinde), ok; interlobüler portal ven b) Portal triad yapısı. Okbaşı; portal ven, kuyruklu ok; hepatik arter, kalın ok; safra kanalı, kavisli ok; portal sistem sınırı [22].

Karaciğer lobülleri; hepatik venlere oradan da vena kavaya boşalan bir santral ven etrafındaki yapılardan oluşur. Venöz sinüzoidlerin etrafında tipik endotel hücreleri ve büyük Kupffer hücreleri bulunmaktadır. Venöz sinüzoidleri çeviren endotel hücrelerinde yaklaşık 1 mikron çapında çok geniş porlar bulunur. Sinüzoidlerin endotel hücreleriyle hepatositler arasındaki çok dar olan doku aralığına Disse aralığı denir. Disse aralığında retiküler liflerle hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Endotelin büyük porları nedeni ile plazmadaki maddeler Disse aralığına geçebilirler. Karaciğer sinüzoidlerinin iç yüzlerinde, kan akımına doğru uzanan pek çok Kupffer hücresi vardır. Bu hücreler çok yüksek fagositik aktivite göstererek portal venöz kandaki bakterilerin % 99'unu, hatta fazlasını kan, karaciğer sinüzoidlerinden ayrılmadan tutarlar. Karaciğerden bir dakikada geçen kan akımı miktarı ortalama 1500 ml kadardır. Bir dakikada bu kadar fazla miktardaki kanın geçiş yeri olan karaciğerin, makrofaj sistemine katkısı yadsınamaz ölçüdedir [23,24].

Karaciğerde beş tip hücre bulunmaktadır. Bunlar; hepatositler, kupffer hücreleri, endotel hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitelyum hücreleridir [25] (Şekil 2.1.2).



Şekil 2.1.2: Karaciğer hücre tipleri [59].

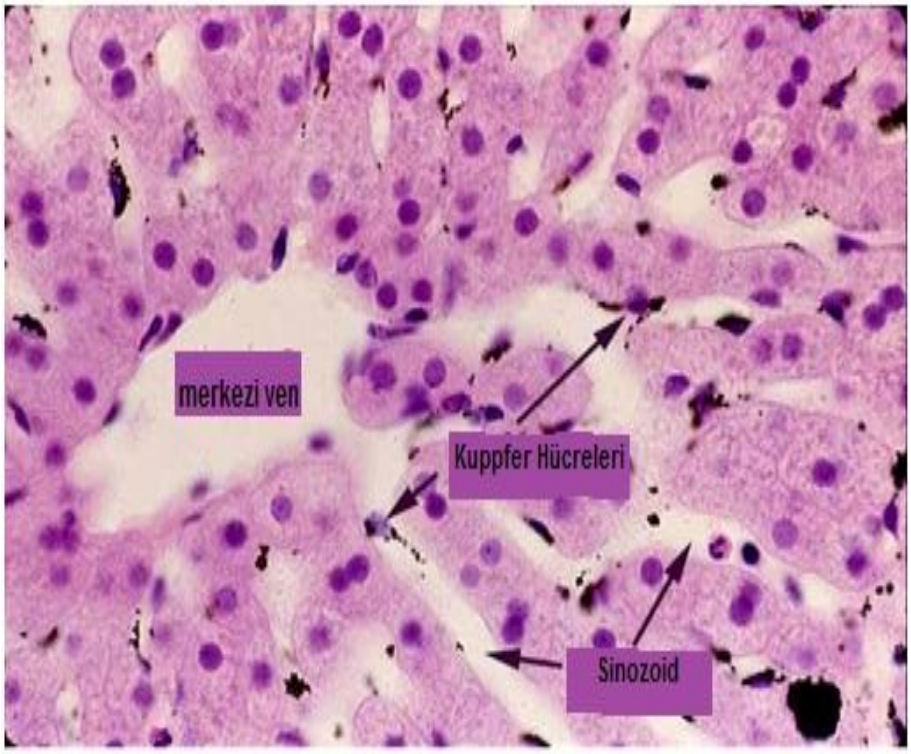
Hepatositler: Karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık %80'ini oluştururlar. Karaciğerin, endokrin ve ekzokrin görev yapan fonksiyonel hücreleridir. Ekzokrin fonksiyonu; safra salgılamasıdır. Endokrin fonksiyonu; albumin, globulin, fibrinojen, lipoprotein, protrombin gibi proteinlerin ve glikozun sentezlenip sinüzoidlere salgılanmasıdır. Hepatositler, ortalama 20-30 mikrometre çapındadırlar ve merkezi venden lobülün periferine doğru radiyer tarzda uzanan tek ya da iki hücre kalınlığında hücre kordonları oluştururlar. Bu kordonlar, lobül içerisinde birbirleriyle anastomozlaşmıştır. Bu kordonların arasında kalan boşluklarda sinüzoidal kapillerler bulunmaktadır [15,21].

Hepatositler ışık mikroskobik olarak poligonal veya kübik şekilli olup, nukleusları yuvarlak ve merkezdedir. Nukleusları bir veya iki nukleolus içerir. Sitoplazmaları asidofiliktir. Organel bakımından zengindirler. Hepatositlerde bol miktarda endoplazmik retikulum bulunur. Ayrıca karaciğer metabolik aktivitesi yoğun

bir organ olduğundan peroksizom, lizozom, mitokondri gibi organeller de yoğun olarak bulunur.

Hepatositlerin bazolateral ve apikal olmak üzere iki yüzü vardır. Bazolateral yüz, hepatositlerin sinüzoidlere ve Disse aralığına bakan yüzünü oluşturur. Bu bölgede çok sayıda düzensiz şekil ve büyüklükte mikrovillus bulunur. Bu yapılar hücrenin sekresyon ve absorbsiyon alanını yaklaşık 6 kez artırır. Apikal yüz ise; safranın ilk salgılandığı bölümün duvarlarını oluşturur. Komşu hücre ile sıkı temasta olan bu yüzde, özellikle safra kanalikülünün hemen altında ve üstünde kalan bölgelerde, hücreler arasında zonula okludens tipi sıkı bağlantı birimleri bulunur. Böylece safranın bu kanalikül dışına sızması önlenmiş olur ve bir tür kan-safra bariyeri oluşturarak safranın geri kaçışını önler [15].

Kupffer hücreleri: Perisinüzoidal alanda yer alan lokal makrofajlardır. Bu hücreler kandaki monositlerden köken alır ve mononükleer fagositer sistemin üyesidir. Sitoplazmik uzantılar içeren, fagositoz yeteneğindeki hücrelerdir [26]. Bu hücreler yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek, immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamak ve kalın bağırsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmakla görevlidir [15]. Ayrıca hücresel immuniteyi de aktive etmektedir [21] (Şekil 2.1.3).



Şekil 2.1.3. Sinozoidal alanlarda Kupffer Hücreleri [60].

Endotel hücreleri: Sinüzoidlerin duvarlarında yer alan geçirgen yani madde geçişine izin veren hücrelerdir. Karaciğer oldukça vasküler bir organ olduğundan endotel hücrelerinden zengindir. Bu hücreler bağırsaklardan gelen makromoleküllerin hepatositlere geçişine olanak sağlar [25].

Stellat hücreler: Disse aralığında (perisinüzoidal aralıkta) lokalize olan, A vitamini metabolizması ve depolanmasında görev alan yıldızsı hücrelerdir. İto hücreleri veya yağ hücreleri olarak da adlandırılırlar. Patolojik durumlarda bu hücreler kollajen üreten miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler [26]. Sitokin sekresyonu, retinoid metabolizması ve kan akımı düzenlenmesi gibi fonksiyonlara sahiptirler [27].

Safra kanalikülleri: Karaciğerin ekzokrin salgısı olan safranın hepatositler arası iletildiği kanalcıklardır. Bu kanalcıklar, karaciğer lobülünün plakları boyunca birleşerek kompleks bir ağ oluşturur ve portal alanda sonlanır. Bu nedenle safra, kan akışının tersi yönünde, yani klasik lobül merkezinden periferine doğru akar. Kanalcıkların duvarlarını oluşturan karaciğer hücreleri arasında safra sızıntısını önleyen zonula adherens tipte sıkı bağlantı kompleksleri bulunur. Safra, safra kanaliküllerinden lob içi safra kanalcıklarına oradanda lobül dışındaki Hering kanalını geçerek portal alandaki safra kanallarına veya

kanalcıklarına boşalır. Safra kanalcıkları karaciğer içi safra kanallarında birleşirler. Hepatositler tarafından çevrili olan safra kanalcıklarını, safra kanalı epitelyum hücreleri ile çevrili kanallara birleştiren yapılara Herring kanalı denilmektedir ve bu bölgede hepatosit kök hücrelerine ev sahipliği yaptığı için bu kanal stratejik bir öneme sahiptir. Herring kanalı tek katlı yassı epitelden tek katlı kübik epitele değişen bir epitel ile döşelidir. Safra kanalı ise tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Bu kanallar giderek genişleyip, birleşerek sağ ve sol hepatik kanalları oluşturur. Daha sonra bu kanallar karaciğeri terk ederek duedonum lümenine açılır [25,26].

Fizyoloji

Karaciğer, bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek ve depolamak üzere çok önemli bir göreve sahiptir [21]. Sindirilen proteinlerin, karbonhidratların ve lipidlerin metabolize edilmesi, karaciğerin birçok metabolik ve yaşamsal fonksiyonu arasında sayılabilir.

Karaciğer, karbonhidrat metabolizmasında; glikoz, fruktoz ve galaktozu glikojene çevirerek depo eder (glikogenez). Lipitlerin gliserol parçaları ve aminoasitlerden glikoz yapar (glikoneogenez). Protein metabolizmasında; aminoasitlerin deaminasyonu, amonyağın uzaklaştırılması, esansiyel olmayan aminoasitlerin sentezi, albumin ve globulin gibi plazma proteinlerinin sentezi, pıhtılaşma faktörlerinden fibrinojen, protrombin, faktör V, faktör VII, faktör IX ve faktör X'un sentezini sağlar. Lipit metabolizmasında; yağ asitlerinin beta oksidasyonu, safra tuzu yapımı, fosfolipit sentezi, kolesterol yapımı ve diğer steroidlere dönüşümü, östrojenlerin metabolize ve inaktive edilmesi ve testosteronun parçalanmasını sağlar [18,28].

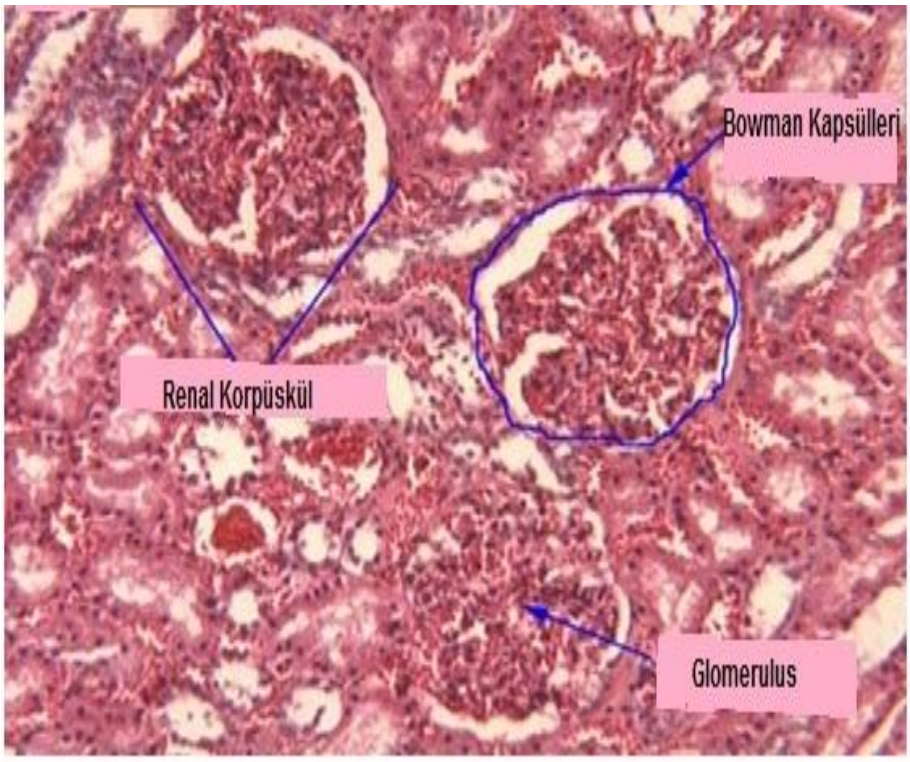
Doğrudan kana emilen vitaminlerin işlenmesi, A, D, B_{12} gibi vitaminlerin ve demirin depolanmasını sağlar. İlaçların, hormonların, endojen atık ürünlerin, zararlı ksenobiyotiklerin ve diğer zararlı ajanların detoksifiye edilip atılmasını sağlar. Karaciğerin diğer işlevleri; safranın sentezlenip salgılanması, kanın depo edilmesi ve filtrasyonu, hematopoez, toksinler ve steroidlerin etkinsizleştirilmesi, bağışıklık, bilirübinin metabolize edilmesi ve atılımı şeklinde sıralanabilir [18,29].

2.2. Böbrek

Böbrekler sağlı sollu olmak üzere karın boşluğunun arka kısmında bir çift olarak yerleşmiş organdır. Böbrekler; ince olmasına rağmen kollagen fibrinlerden zengin olan sağlam bir fibröz kapsül ile örtülüdür. Yaşla birlikte kapsülün kalınlığı ve elastik fibrillerin sayısı artar. Fibröz kapsül böbreğin hilus denilen iç bükey kısmından organın içine girer. Hillustan; arteria renalis girer, vena renalis ve üreter çıkar [30]. Minör kaliksler majör kaliksleri, major kalikslerde üreteri oluşturur. Piramid olarak isimlendirilen koni şeklindeki böbrek dokuları huni şeklindeki kaliksler ile birleşir. Her pramidin tepesi papilla olarak isimlendirilir ve minör kalikslere doğru uzanır. Piramidler hilum etrafında radiel olarak yerleşmişlerdir, papillalar hilumu gösterir, geniş tabanları ise dışa doğru bakar. Piramidler böbreğin medullasını oluşturur. Medulla dokusunun üzerinde korteks bulunur [31] (Şekil 2.2.1).

Böbrek sagital olarak kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medüller piramit ismi verilen 10-18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüllar bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir. Korteks böbreğin dış kısmının yanı sıra medüller piramitler arasında yer alır ve bu kısma Bertini'nin böbrek kolonları denir [15].

Her böbrek yaklaşık 1 ile 4 milyon nefron içerir. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik (renal corpuse), proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulbunun kalın-ince uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşmuştur (Şekil 2.2.2). Her nefron filtrasyon işlevi gören böbrek cisimciği olarak isimlendirilen küresel bir yapıya ve böbrek cisimciğinden çıkan tübüle sahiptir. Böbrek cisimciği idrar oluşumunda ilk basamaktan sorumludur, plazmadan protein içermeyen filtratı ayırır [31]. Böbrek cisimciği glomerulus olarak isimlendirilen sıkı kılcal damar kümesi ve onu çevreleyen Bowman kapsülü olarak bilinen balon şeklindeki kapsülden oluşur. Kan bowman kapsülüne damar kutbundan kan damarları vasıtasıyla giriş çıkış yapar. Kapsül içerisinde idrar boşluğu ve Bowman boşluğu olarak isimlendirilen içi filtre edilen sıvı ile dolu boşluk bulunur. Damar kutbunun ters yönünde Bowman kapsülü tübülünün ilk kısmına açılır [31].



Şekil 2.2.1. Böbrekte glomerulus, bowman kapsülü ve renal korpüskül [61].

Böbrek cisimciğindeki filtrasyon bariyeri üç tabakadan oluşur.

1) Glomerular kılcal damarın endoteli
2) Bazal tabaka
3) Tek hücre tabaksından oluşan epitel hücreleri.

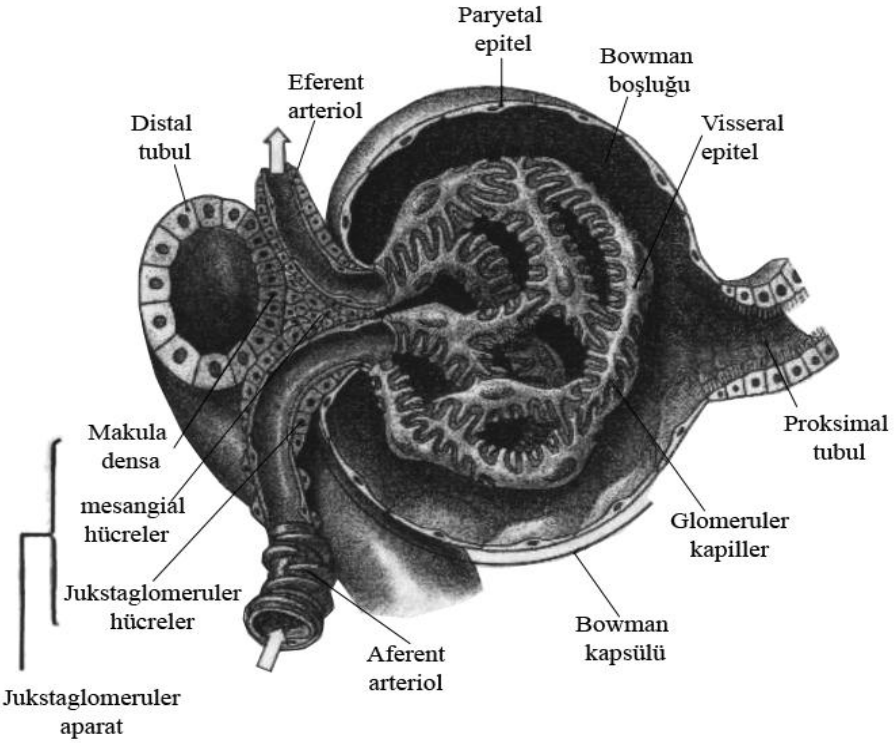
Kılcal damarların endotelin hücrelerinden oluşan ilk tabakada birçok delik bulunur ve kırmızı kan hücreleri ve trombositler hariç kandaki her şeye karşı geçirgendir. Ortada bulunan bazal tabaka glikoproteinler ve proteoglikanlar açısından zengindir. Bazal membran üzerine yerleşen ve Bowman boşluğuna bakan epitelyum hücreleri podosit olarak isimlendirilir. Bowman kapsülünün dış yüzeyi basit ve düz hücrelerle kaplıdır. Üçüncü hücre tipi olan mezenşiyal hücreler glomerulusu merkezinde kılcal damarların arasında bulunur. Glomerulusun mezenşiyal hücreleri fagositler gibi davranır, bazal membranı geçebilen maddeleri ortamdan uzaklaştırır [31].

Renal cisimciğin idrar kutbunda Bowman kapsülünün yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal tübüllerde prizmatik epitelyum şeklinde devam eder (Şekil 2.2.2). Proksimal kıvrımlı tübül tek katlı kübik ya da prizmatik epitelle örtülüdür. Hücrenin

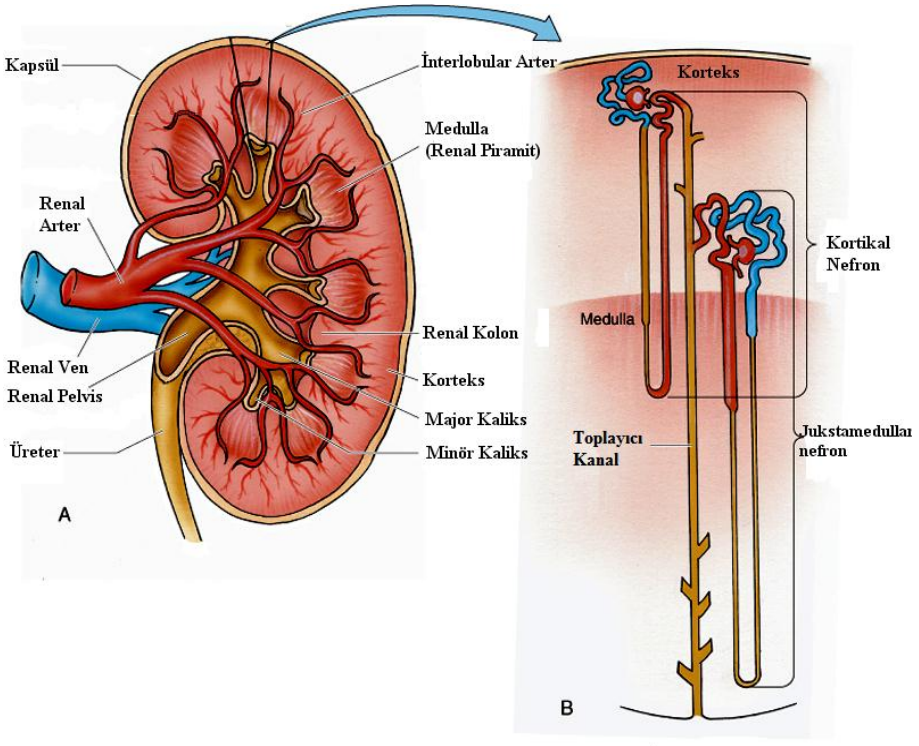
lümene bakan yüzünde fırçamsı kenarı oluşturan çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarıyla mikrovillus tabanları arasında çok sayıda kanalikuli vardır. Bu kanalikuller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme kapasitelerinde etkin rol alırlar. Proksimal tübülüs filtre edilen suyun üçte ikisini, sodyum ve klorürü ve vücut için gerekli organik molekülleri (glikoz, aminoasit vb.) ayrıca birçok önemli iyonun (potasyum, fosfat, kalsiyum ve bikarbonat) önemli bir bölümünü geri emer. Proksimal tübüller metabolik artık ürün (ürat, kreatinin) ve ilaçlar gibi birçok organik maddenin atılım yeridir [31] (Şekil 2.2.3).

Henle kulbu proksimal tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol, ince inen kol, ince çıkan kol ve yapıca distal kıvrımlı tübülle aynı olan kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır (Şekil 2.2.3). Henle kulbunun tümü filtre edilen sodyumun %20'sini geri emer. Tuz geri emilimi su geri emiliminden daha fazla olduğu bu yerde lüminal sıvı plazmaya ve çevreleyen interstiyuma göre dilüe hale gelir. İdrarın dilüe edilmesinde Henle kulpunun rolü önemlidir. Henle kulpunun sonu makula densa hücrelerini içerir (Şekil 2.2.2). Bu hücreler lümendeki sodyum ve klorür içeriğini algılar. Böbreğin diğer bölgelerini özellikle renin-anjiyotensin sistemini etkileyen sinyalleri üretir [31].

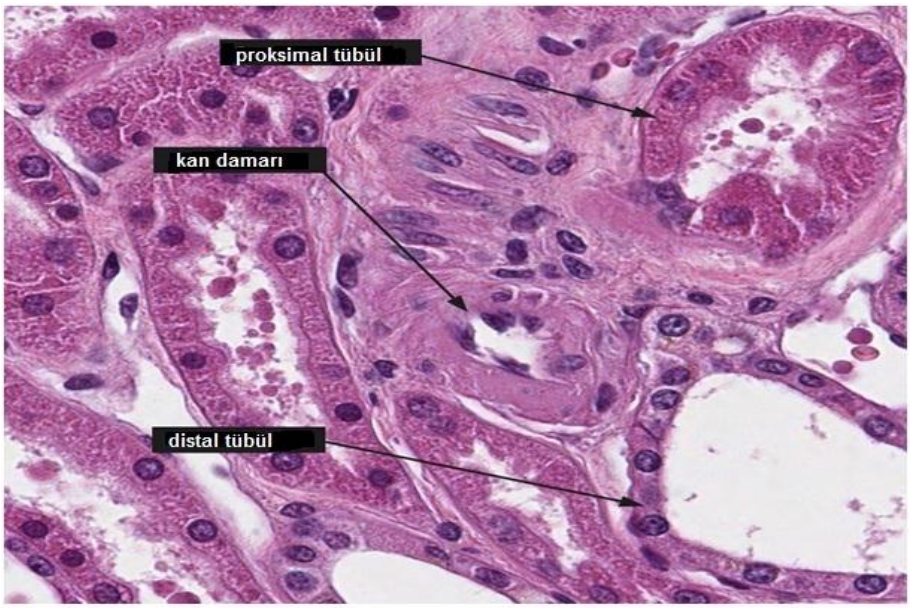
Henle kulbunun çıkan kolu kortekse girdiğinde büklümlenerek nefronun son kısmı olan distal kıvrımlı tübülleri oluşturur. Bu tübül tek katlı kübik epitelyum ile döşelidir (Şekil 2.2.4). Bu bölüm su ve tuz emilimine %5 gibi katkıda bulunur. Histolojik olarak proksimal tübül hücreleri distal tübülde bulunan hücrelerden daha büyük ve fırçamsı kenarlıdır. Distal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar gözlenmez ve lümenleri daha geniştir. Proksimal tübül hücrelerine göre daha yassı ve küçük olduğu için distal tübül hücrelerinde daha fazla nukleus görülür (Şekil 2.2.4). Ayrıca distal tübül kortekste izlediği yol boyunca kendi nefronlarına ait renal cisimciğin damar kutbuna değer ve bu değme noktasında afferent arteriyol ve distal tübül modifiye olur. Distal tübül hücreleri bu bölgede prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleri bir araya toplanır. Bu bölgeye makula densa denir (Şekil 2.2.2). Filtrasyon hızında rol oynadığı düşünülür [31].



Şekil 2.2.2. Bowman Kapsülü, makula densa ve epitel tipleri [33].



Şekil 2.2.3. Böbrek genel morfolojisi (A), nefron genel yapısı (B); [32].



Şekil 2.2.4. Proksimal ve distal tübül histolojik görünüm [62].

2.3. İnce Bağırsak

İnce bağırsak duodenum, jejenum ve ileumdan oluşan, besinlerin sindiriminin ve emiliminin gerçekleştiği hayati bir organdır (Şekil 2.3.4). Yaklaşık uzunluğu 5 m olup bunun % 60'ı ileum, % 40'ı duedonum ve jejenum tarafından oluşturulur. İnce bağırsağın emilim alanı 200-400 m^2 kadardır. Yüzey alanındaki bu genişlik intestinal mukoza katlantıları, villuslar ve mikrovilluslar sayesinde oluşturulur (Şekil 2.3.3). Villuslar ince bağırsak lümenine doğru çıkıntı yapan uzantılardır, mikrovilluslar ise yaklaşık 1 μm uzunluğunda 0.1 μm çapında olup enterositlerin uzantılarıdır (Şekil 2.3.1). Villusların venöz dolaşımı portal sisteme dökülür, lakteal ismi verilen lenfatik damarlar emilen yağın torasik duktusa iletilmesini sağlarlar [38].

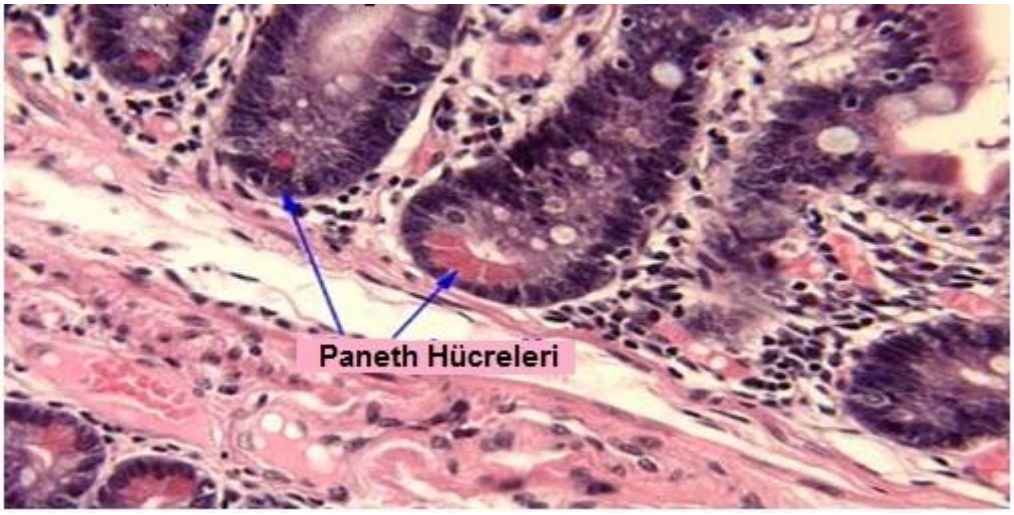
İnce bağırsak hücreleri 4 gruba ayrılırlar.

1) Enterositler
2) Goblet Hücreleri
3) Paneth hücreleri
4) Endokrin hücreler

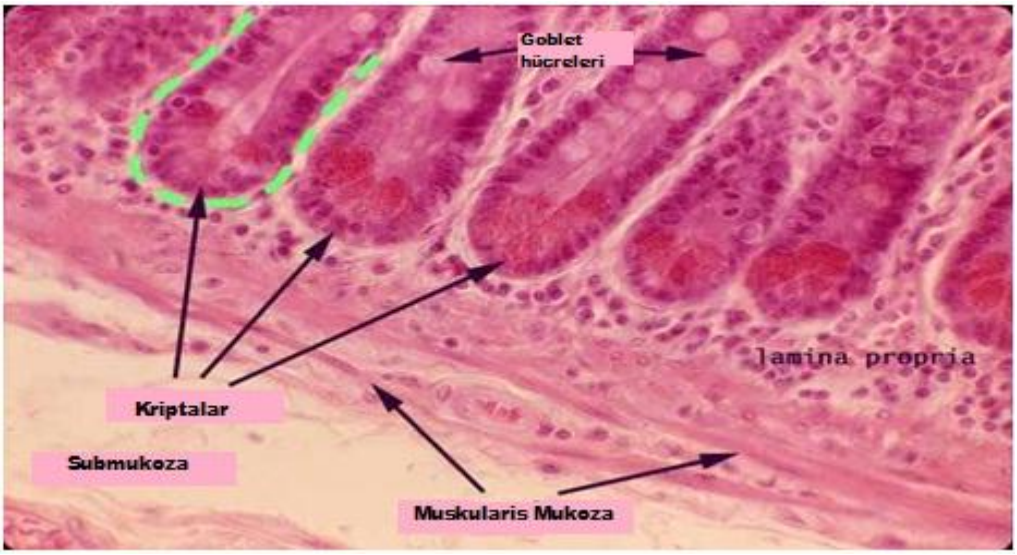
Hücrelerin % 95'i enterosittir, enterositlerin mikrovillusları içinde hidrolaz, peptidaz gibi enzimler, taşıyıcı proteinler ve çeşitli ligantlar için reseptörler bulunur. Enterositlerin basolateral membranında yer alan Na-K pompası emilim için gerekli enerjiyi sağlar. Adenilat siklaz enzimi cAMP oluşturarak çeşitli uyarılara karşı su ve tuz sekresyonunu meydana getirir.

İnce bağırsakta emilim villuslarda meydana gelirken, kriptlerde yerleşen hücreler sekresyon yaparlar. İnce bağırsakta baskın olay emilim olduğu halde bazı patolojik durumlarda sekresyon ön plana çıkabilir. Bakteriyel toksinler, safra tuzları, sitokinler, prostoglandinler ve bazı hormonlar sekresyonu uyarabilir.

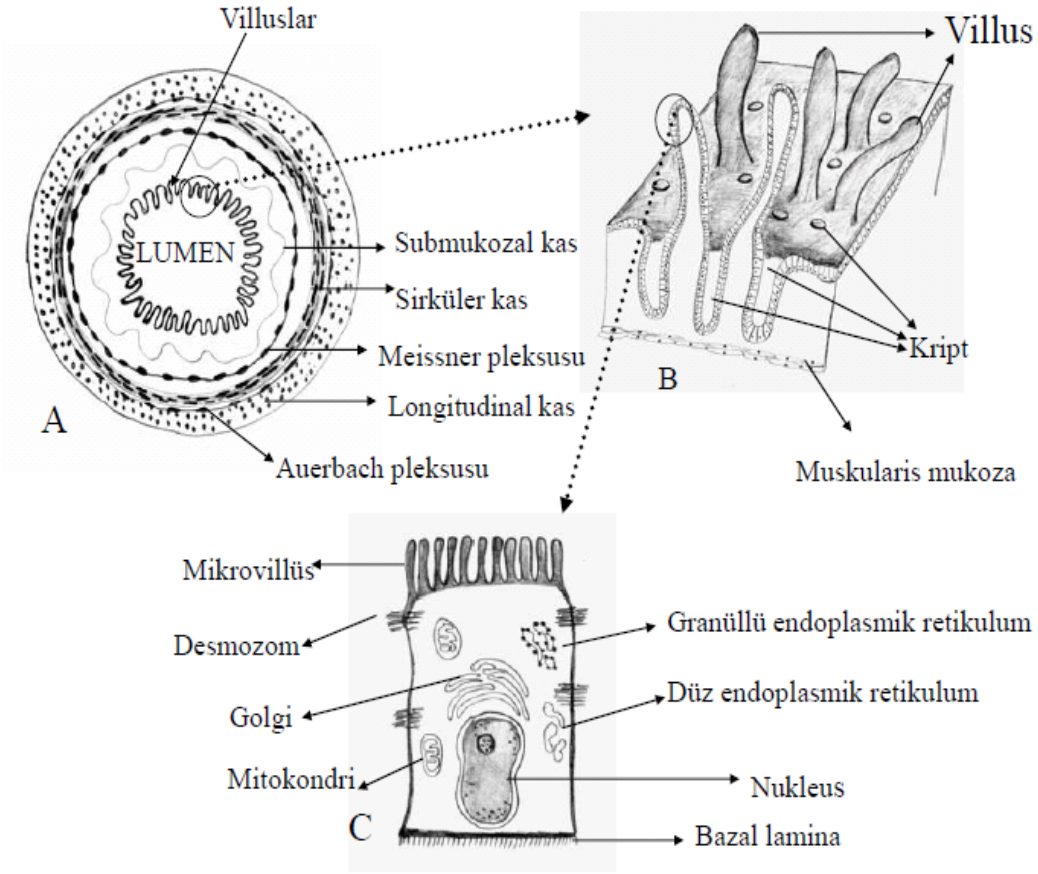
Goblet hücrelerinde mukus oluşturulurken, enteroendokrin hücreler, peptid hormonlar ve parakrin maddeler salgılarlar. Paneth hücreleri kriptlerin dip kısımlarında yer alır ve lizozim salgılayarak mukozanın korunmasında rol alırlar [38] (Şekil 2.3.2).



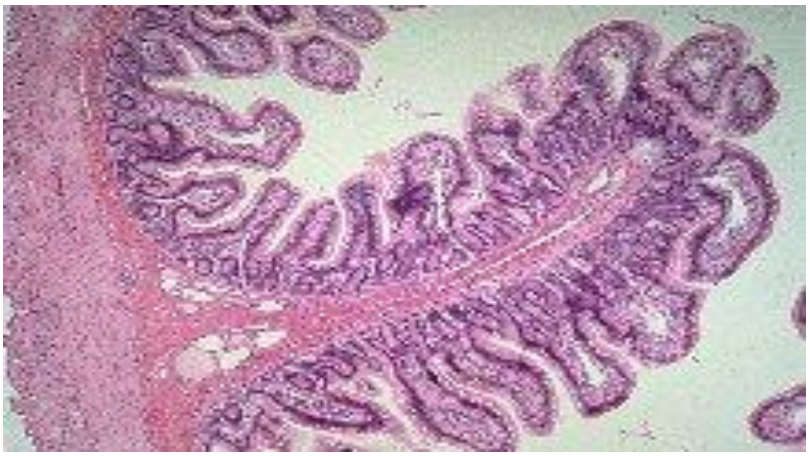
Şekil 2.3.1. Oklar Paneth hücrelerini göstermektedir [64].



Şekil 2.3.2. Paneth hücrelerinin yer aldığı kriptalar [65].



Şekil 2.3.3. Bağırsak yapısının şematik olarak gösterimi (A) Bağırsak lümeni içerisine doğru uzanan villus yapısı. (B) Villus yapısının büyütülmüş hali. (C) Enterosit ve apikal bölgedeki mikrovillus yapısı.



Şekil 2.3.4. İnce bağırsak histolojik görünümü.

2.4. Akciğer

Akciğerler solunum organlarının en önemli kısmını oluşturur. Akciğerler sağ ve sol olmak üzere iki tanedir. İç yüzde bulunan bronş, damar ve sinirlerin girip çıktığı hiluslar dışında, akciğerlerin bütün yüzleri visseral plevra ile kaplanmıştır. Akciğerler toraks duvarı ile sıkı bir komşuluk halindedir. Toraks boşluğu ile dış ortam arasında direkt ilişki kurulması halinde akciğerler normal büyüklüklerinin 1/3'üne düşerler [18].

Akciğerin en önemli görevi, dokulara gereken oksijenin sağlanması ve dokularda oluşan karbondioksitin uzaklaştırılmasıdır. Özellikle aerobik enerji yollarının devrede olduğu dayanıklılık egzersizleri sırasında, kas dokusunun artan iş yükünün karşılanabilmesi için daha çok oksijene gereksinim duyulur. Bu süreç, akciğer ile kan ve kan ile kas dokusunun arasındaki gaz alışverişinin artmasını beraberinde getirir [34].

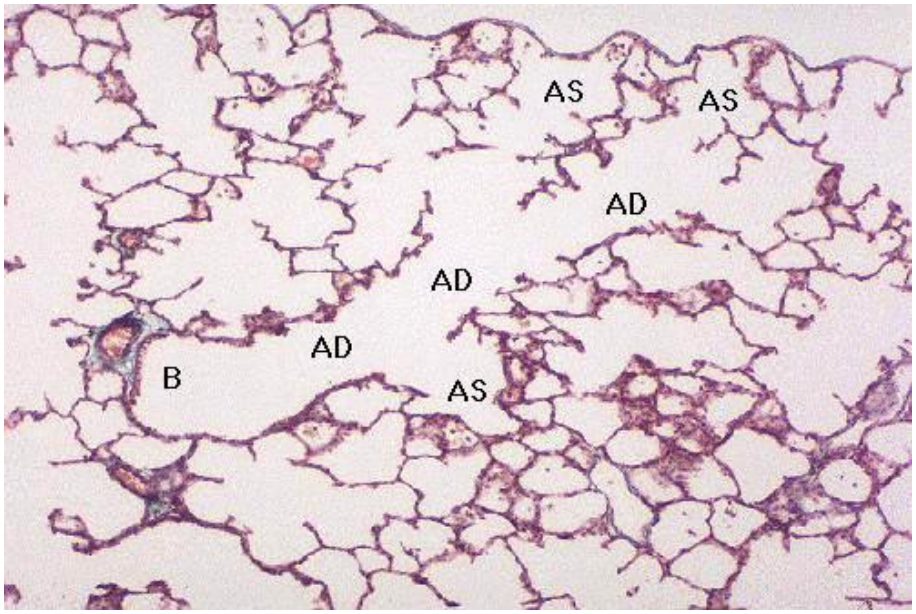
Akciğerler, plevra adı verilen ve aralarında plevral sıvı bulunan iki kat zar ile çevrilidir. İçteki zar akciğere yapışıktır; dıştaki zar ise göğüs kafesinin yapısını oluşturan kaburgaların iç yüzeyine ve diyafram kasına bağlıdır. Böylece akciğerler doğrudan kaburgalara bağlı değildir. Akciğerler ve kaburgalar arasında yer alan bu iki zar ve aralarındaki sıvı, solunum esnasında meydana gelebilecek sürtünmeyi azaltır [18].

Sağ akciğer üç, sol akciğer iki loba ayrılmıştır. Akciğerleri örten plevra iki komşu lobun birbiri ile temas eden yüzlerini örter. Bu şekilde loblar birbirinden ayrılmış olur. Komşu lobların birbiri üzerine kayması ve bu şekilde yer değiştirmesi sayesinde, toraks duvarlarını takip etmek zorunda olan akciğer bu değişik durumlara daha kolay uyabilir. Akciğerlerin loblara ayrılmış olması hastalık açısından da önemlidir. Bir lobda olan hastalık, ancak lobların birbirine yapışması halinde bir başka loba geçer [18].

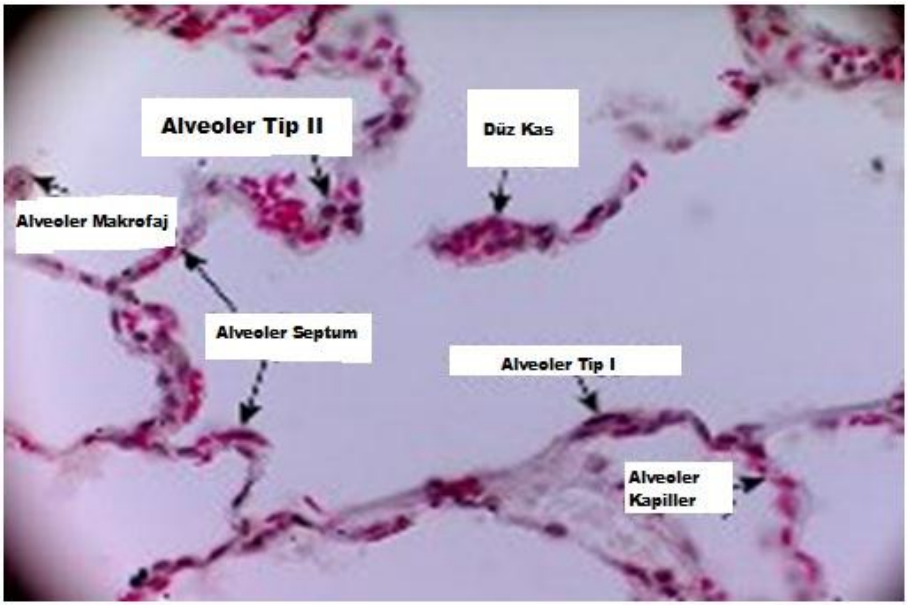
Akciğer; sağ ve sol ana bronşlar, bronşiyoller, terminal ve respiratör bronşiyoller, alveolar kanal, alveol kesecikleri ve alveollerden meydana gelmiştir (Şekil 2.4.1). Bronşlarda kıkırdak halkalarının bulunmasına karşın bronşiyollerde kıkırdak bulunmaz. Bronşların içerisinde sil ihtiva eden tek katlı silindirik epitel ve goblet hücreleri vardır. Bronşiyollerde ise epitel incelerek tek katlı silli silindirik epitel karakterini alır ve goblet hücre sayısı da azalır. Epitelin altında bazal membran, bağ dokusu, kapiller tabakası ve bunun içerisinde mukus bezleri bulunur. Bir erişkinde 250-300 milyon arasında alveol vardır. Bunların çapları 150 mikron civarındadır. Alveol iç

yüzeyleri tip I Pnomosit ve tip II Pnomosit olarak isimlendirilen iki değişik epitel hücresi ile döşelidir [35].

Tip II Pnömosit: Surfektan adı verilen bir lipoprotein salgılar. Bu salgılanan madde alveollerin sürekli olarak açık kalmasını sağlar. Epitelin altında bazal membran bulunur, bunun dış tarafında ise kapillerin bazal membranları vardır. Alveol epiteli ve onunla birlikte bulunan kapillerden zengin ara dokunun tümüne alveol-kapiller membran adı verilir. Gaz değişimi bu bölgede meydana gelir (Şekil 2.4.2) [35].



Şekil 2.4.1. Akciğer Genel Yapısı. B: Respiratör bronşiol, AD: Alveolar kanallar, AS: Alveol kesecikleri [63].



Şekil 2.4.2. Alveolar hücre tipleri

Akciğer Dolaşımı

Akciğerlerin iki ayrı kan dolaşımı vardır. Birincisi, sağ ventriküldeki venöz kanı temizlemek üzere akciğer kapillerlerine taşıyan pulmuner arter dolaşımı, diğeri ise sistemik dolaşımdan kaynaklanarak akciğerlerin besleyici damar sistemini oluşturan bronşiyal arter dolaşımıdır. Bronşlar, bronşiyoller, akciğer içi arter ve venlerin duvarları bronşiyal arterler yolu ile beslenirler. Bronşiyol arterler, sinirleri, akciğer içi lenf düğümlerini ve bağ dokusu semptomlarını da kanlandırır [36].

Sol ventrikül tarafından atılan kan sağ atriuma geri döner ve sağ ventrikül tarafından tekrar atılarak akciğer damar yatağını, vücudun geri kalan bütün organlarına giden kana hemen hemen eşit bir miktarda kan alması ile çok özel bir hale getirir.

Herhangi bir zamanda, akciğer damarlarındaki kan hacmi ortalama 1 lt'dir ve bunun 100 ml'den azı kapillerde bulunur. Pulmoner arterin hemen başlangıcındaki ortalama kan akış hızı aorttaki kadardır (40 cm/s). Bu hız süratle düşer, daha sonra büyük pulmoner venlerde tekrar biraz artar [37].

Pulmuner arter basıncı ven basıncının devamlı üstünde olduğundan kan akımı ve gaz değişimi kolaylıkla olmaktadır. Akciğerlerin tabanlarına doğru olan bölgelerde pulmoner arter basıncı alveol basıncını aşar. Gaz değişimi bu bölgede de rahatlıkla meydana gelebilmektedir. Bunu, pulmoner arterlerle venler arasındaki basınç farkı belirler [36].

2.5. Polibromodifenil eterler (PBDE) ve 2,2',4,4',5- pentabromodifenil eter (BDE-99)

2.5.1. PBDE (Polibromludifenil eterler)

Kimyasal yapılarına göre bromlu (PBDE), klorlu (PCB), fosforlu, azotlu ve inorganik olmak üzere beş ana grupta toplanan alev almayı geciktirici moleküllerin en fazla kullanılanı olan PBDE ailesi en önemli ve yaygın çevre kirleticisidir. TetraBDE, PentaBDE, HexaBDE, OctaBDE ve DecaBDE üyeleri olmak üzere bromlu üyeler açısından en yüksek konsantrasyonda bulunan PBDE ailesinin üyesi %50-60 oranıyla PentaBDE'dir [74,79]. Polibromodifenil eterleri (PBDE), döşemecilikte, tekstilde, elektrikli ev aletleri, evde bulunan diğer plastik malzemelerde ve bazı halılarda da 1970'lerden beri yanmayı geciktirici olarak kullanılan kimyasal madde grubudur [39]. Eser miktarda da olsa PBDE'ler hava ve suya; bilgisayarlar, döşemecilikte kullanılan köpükler, halı ve perdelerin kumaşlarından yayılabilmektedir. Bu ürünlerin ağırlıklarının %5-35 kadarını PBDE oluşturmaktadır. Lipofilik özellikleri ve kalıcı olmaları nedeniyle PBDE'ler önemli yaygın çevre kirleticilerdir [40]. PBDE'lere maruz kalma yolları farklılık göstermekle birlikte son veriler beslenme ve soluma maruziyetinin baskın yollar olduğunu göstermektedir [41]. İnsanlarda PBDE'lere maruz kalmanın ana yollarından biri beslenmedir, besin zincirinde dokularda birikim gösteren PBDE, en alt tüketiciye ulaşabilmektedir. [3,4,43]. Kirli denizlerden elde edilen deniz ürünleri önemli kaynaklardandır. Sanayileşmiş bölgelerde havadan alınabilineceği gibi, evsel tozlarla da kontamine olmak mümkündür [42].

PBDE'lerin çevre ve insan örneklerinde (süt, serum, yağ dokusu gibi) bulunduğu, erişkin insanlarda günlük PBDE alımının 51 ng olduğu, bu miktarın anne sütü alan bebeklerde günde 110 ng'a çıktığıyla ilgili tahminler mevcuttur [44].

PBDE'ler; plazma ve anne sütünün yanı sıra; karaciğer, böbrek ve adipoz dokularında da tespit edilmiştir, Kanada'da yapılan bir araştırmada anne sütündeki konsantrasyon 2,4-22 ng/g düzeyindedir [45]. Meksika da yapılan başka bir araştırmada da PBDE'nin insan plazma konsantrasyon düzeyi 38 ng/g olarak tespit edilmiştir [46]. Avustralya'da ise anne sütünde PBDE konsantrasyonu 10,2 ng/g olarak tespit edilmiştir [47].

Kemirgenlerde, çevresel olarak PBDE'lere maruz kalma sonrasında karaciğerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumundaki artış mekanizmasıyla enzim işlevlerinin

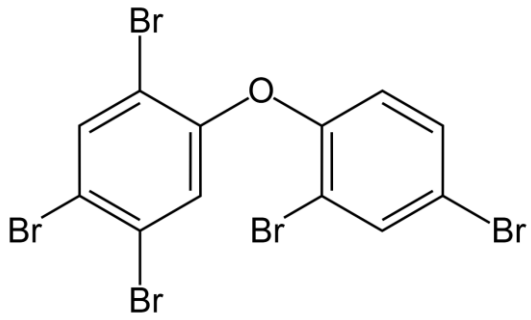
etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir [5]. Daha düşük bromlu türdeşlere maruz kalmanın karaciğer hipertrofisine neden olduğu ve karaciğer ağırlığını arttırdığı bildirilmiştir [7,8].

PBDE'lerin insan dokusundaki varlığı; karsinojenik, nörotoksisite, üreme toksisitesi ve endokrin toksisitesi gibi potansiyel toksikolojik nedenlere yol açabileceği için büyük bir endişe uyandırdığı ifade edilmiştir [48].

Yaygın çevresel kirleticiler olan alev almayı geciktirici PBDE'lerin 209 farklı bromlanmış üyesi mevcuttur [78]. İçlerinden insan dokularında en yaygın olarak bulunan 5 PBDE üyesini karşılaştırmak için fare serebrum nöronlarında birikimleri ve toksititeleri üzerine incelemeler yapılmıştır. Çalışmalardan birinde 1µM PBDE üyelerine maruz bırakılma sonucunda nöronlarda biriken PBDE üyelerinin tespit edilen sıralaması BDE-100 > BDE-47 > BDE-99 > BDE-153 > BDE-209 şeklinde olmuştur [78]. 2008 yılında Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (US-EPA) insan sağlığı açısından en riskli PBDE üyelerinin; BDE-47, BDE-153, BDE-99 ve BDE-209 olduğunu açıklamıştır [79].

2.5.2. 2,2',4,4',5- pentabromodifenil eter (BDE-99)

Kimyasal formülü $C_{12}H_5Br_5O$ (Şekil 2.5.2.1), CAS NO: 60348-60-9, molekül ağırlığı 564,89 g/mol olan 2,2',4,4',5- pentabromodifenil eter (BDE-99), çevrede ve insan dokularında en bol bulunan PBDE türdeşlerinden biridir [74,79]. İnsan araştırmaları, BDE-99'un hem karaciğer hem de yağ dokusunda baskın olan türdeş olduğunu göstermiştir [6,74].



Şekil 2.5.2.1. BDE-99'un kimyasal formülü.

PBDE ailesi içerisinde organizma vücudunda en yaygın metabolize olan bireysel moleküller BDE-99 ve BDE-100 molekülleridir [49]. BDE-99 molekülünün fare serebrum nöronlarında ara etki mekanizması bilinmese de mitokondri üzerinden oksidatif stres kaynaklı apoptotik yolu uyararak hücre ölümlerine neden olduğu gösterilmiştir [78]. PBDE ailesinin 5 üyesinin konsantrasyonları üzerinde yapılan bir çalışmada, fare serebrum nöronlarında en yüksek konsantrasyonun mikrozomlarda azalarak endoplazmik retikulum ve Golgi aygıtında görüldüğü tespit edilmiştir. Mitokondride konsantrasyon kısmen daha düşük tespit edilirken sitoplazma ve nukleusta en düşük konsantrasyon tespit edilmiştir [78]. Fare idrarların da BDE-99'un oranı %70-%80 civarındadır [49]. Molekülün idrar proteini olan (MUP) proteinlerine bağlı olması ve idrarda bu proteinlerle beraber izlenmesi sonucu yapılan bir araştırmada erkek farelerin idrarında dişi farelerin idrarına göre daha fazla molekül metaboliti tespit edilmiştir. Bu idrar proteini karaciğerde üretilmekte olup, erkek farelerin karaciğerinde dişi farelere göre bu protein daha fazla üretildiğinden erkek farelerin idrarında molekül metaboliti daha fazla saptanmıştır [49].

İnsanda; böbrekler BDE-99 toksisitesi için hedef organ olmasa da bir dizi deneysel araştırma diğer memelilerin ve kuşların böbreklerinde bu kirleticiyi tespit etmiştir. Ancak bu araştırmalarda işlevsel değişiklikler ortaya konmamıştır [49,50].

Diğer yandan, bir dizi in vivo ve in vitro araştırma yağda çözünen ksenobiyotik türevi BDE-99'un da oksidatif yollar ile P450 sitokrom tarafından karaciğerde metabolize edildiğini göstermiştir [51,52,53].

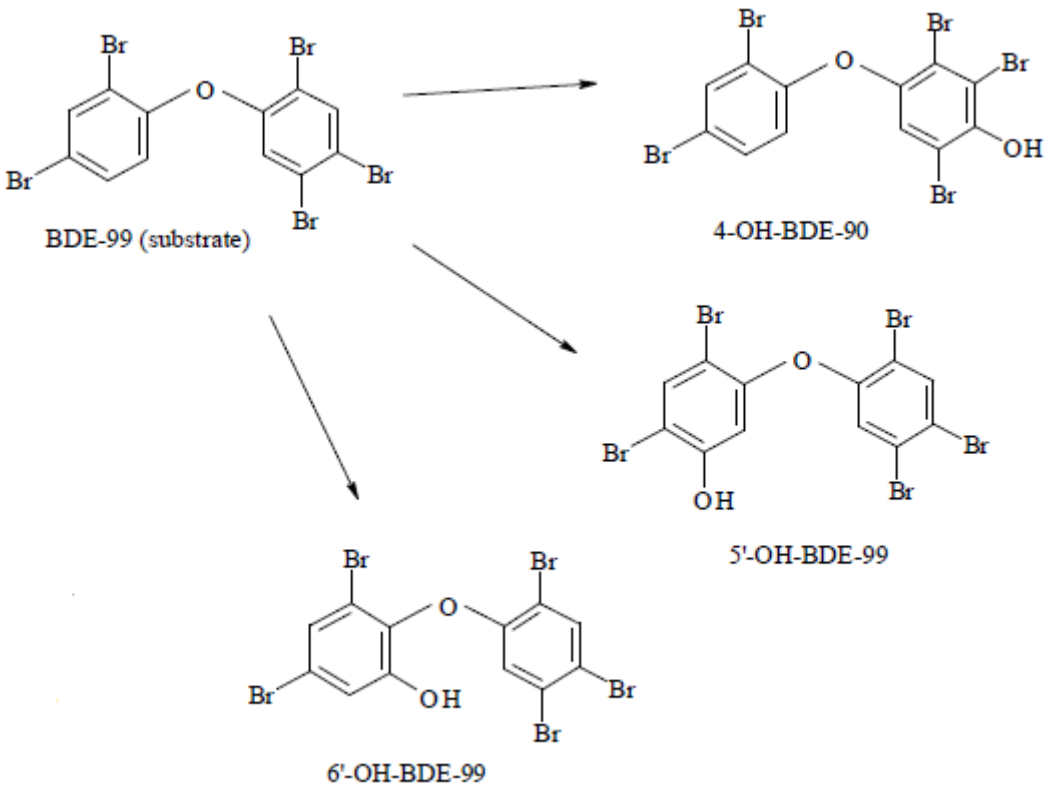
İnsan böbreklerinde BDE-99 toksisitesi hedef organ olmasa da (US EPA, 2008); yetişkin memelilerin ve kuşların böbreklerinde BDE-99 kirleticisinin varlığı tespit edilmiştir [49,50] ancak BDE-99'un toksisitesi hakkında pek az şey bilinmektedir. Öne sürülen toksisite mekanizmalarından biri karaciğer ve böbrekleri etkileyebilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumundaki artıştır. Oksidatif moleküller hücresel yapılarla etkileşerek onlara zarar verir ve önemli hücresel işlevlerde aksamalar oluşur böylece de hücre yapılarında hasara neden olurlar [13].

BDE-99 molekülüne maruz bırakılan dişi sıçanların yumurtalıklarındaki epitel hücrelerinde histolojik değişiklikler tespit edilmiştir, ancak bu değişikliklerin doğurganlık istatistiği açısından anlamı bulunmadığı ortaya koyulmuştur [73].

Yetişkin erkek farelere 8 mg/kg oral yolla verilmiş olan ^{14}C-BDE-99 molekülünün radyoaktivite değerlendirmeleri sonucu uygulanan dozun; % 39'u gövdede, % 6'sı gastrointestinal sistemde, % 4'ü yağ dokuda ve yaklaşık % 21'i deride tespit edilmiştir. Akciğer, böbrek, karaciğer ve testis incelendiğinde konsantrasyonun düşük olduğu görülmüş ve mekanizma olarak bu dokuların lipofilik olmasına rağmen molekülü tutma eğilimi göstermediği, atılımı sağladıkları sonucuna ulaşılmıştır [54].

BDE-99 molekülünün hidroksillenmiş metabolitler halinde organizma vücudunda bulunduğu ve konsantrasyonu yüksek metabolitlerin; 6-OH-BDE-99, 5-OH-BDE-99 ve 4-OH-BDE-99 olduğu [74]; BDE-99'un kanda varlığını bu metabolitlerle sürdürebildiği keşfedilmiştir (Şekil 2.5.2.2). Toksisite mekanizması henüz tam anlaşılamamış olsa da nörotoksisite, üreme toksisitesi ve tiroid toksisitesi hidroksillenmiş metabolitlerin (OH-PBDE) varlığına bağlı olabilir. Bu metabolitlerin (OH-PBDE); tiroid hormonu ile yapısal benzerlikleri olması insan kanında nasıl korunduğunun muhtemel açıklaması olmuştur [55,56]. Bu metabolitlerin, östrojen ve tiroid hormonlarının reseptörleri için ligand uyumu göstermekte olduğu anlaşılmıştır [57].

BDE-99 molekülünün insan sütü, adipoz doku ve kandaki varlıkları tespit edilmiş olsa da; mevcut çalışmalar; BDE-99 molekülünün insanlarda kanserojen potansiyeli üzerine etkilerini ortaya koymakta yetersizdir [72]. PBDE ailesinin en derişik üyesi olan BDE-99 molekülünün organizmada dağılımı, absorpsiyonu, atılımı ve metabolizması hakkında bilgiler sınırlı olup, insan metabolizması için fizyolojik bir model kanıtlanamamıştır [74].



Şekil 2.5.2.2. BDE-99 molekülünün hidroksillenmiş metabolitleri (OH-BDE-99).

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Denekler

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 24 adet Wistar albino türü erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuar koşulları (22±1 ^{0}C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle beslendi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı. Hayvanlar deney ortamına adaptasyonları için 24 saat önce laboratuar ortamına getirildi. Denekler her grupta 8 hayvan olacak şekilde (1 kontrol ve 2 deney grubu) rastgele 3 gruba ayrılarak, başlangıç ağırlıkları ölçüldü. Deney gruplarına BDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromodifenil eter) (Cas No: 60348-60-9, Sigma-Aldrich) mısır yağında çözülerek gavaj yoluyla verildi.

Grup 1 (Kontrol) (n=8): Bu grupta sıçanlara sadece aynı hacimde mısır yağı uygulandı.
Grup 2 (Doz I) (n=8): Mısır yağında çözdürülen BDE-99 (0,05 mg/kg vücut ağırlığı)
Grup 3 (Doz II) (n=8): Mısır yağında çözdürülen BDE-99 (0,1 mg/kg vücut ağırlığı)

Bu dozların seçimi, düşük dozların yetişkin erkek sıçanlar üzerinde muhtemel toksisitesi hakkında pek az araştırma olması ve BDE-99'un düşük dozlardaki toksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır [2].

3.2. Histolojik Değerlendirme

10 günlük deney sonrası hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldü ve Rompun (%2'lik, Bayer) ve Ketasol (% 10'luk, Richterpharma) enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Karaciğer, böbrek, akciğer ve ince bağırsak dokuları ışık mikroskobu takibi için formalin (% 10) ile 24 saat fikse edildi, dehidrasyon ve şeffaflaştırma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü, 5 μm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilin--Eozin

ile boyandı. Morfolojik düzeyde histopatolojik bulgular, fotomikroskop ile değerlendirildi.

3.3. Biyokimyasal Değerlendirme

Aynı dokulardan biyokimyasal parametreleri incelenmek üzere örnek alınarak serum fizyolojikle yıkanıp kurutma kağıdıyla fazla suyu alındıktan sonra -80 °C'de saklanmak üzere derin dondurucuya konuldu.

Doku örneklerinde SOD, GPX ve KAT aktivite tayini için ortak bir ekstraksiyon işlemi uygulandı. Bunun için 0,5 gr doku örnekleri 5 ml fosfat tamponunda (%1 triton X-100 içeren 0.05 M, pH: 7.0) cam-cam homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Homojenat +4 °C'de, 12.000 g'de 20 dk santrifüj edilerek süpernatant (S_1) ayrıldı ve GPX aktivitesi için kullanıldı. S_1'in 1 ml'sine 0,2 ml etanol (% 1'lik) ilave edilerek KAT aktivitesi için kullanıldı. Ayrıca S_1 in 2 ml'sine 0,6 ml etanol-kloroform (3:5 v/v) eklenerek, 15 dakika buz içerisinde karıştırılarak inkübe edildi, bu işlemden sonra +4 °C'de 12.000 g'de 15 dakika santrifüj yapılıp elde edilen süpernatant (S_2) SOD aktivitesi tayininde kullanıldı.

SOD ve GPX enzim aktiviteleri sırasıyla "Ransod SD 125 (Randox) Kit" [66,67,68] ve " Ransel RS 505 (Randox) Kit" (69,70) kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bir ünite SOD aktivitesi, 37 °C'de, pH: 7.0' de, INT {2-(2iodofenil)-3-(nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorit} redüksiyonunu % 50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlandı. Bir ünite GPX aktivitesi, 1 µmol NADPH'ı 37 °C'de, 1 dakikada NADP'ye dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlandı. Bir ünite KAT ise, pH: 7.0' de, 1 µmol H_2O_2'yi parçalayan enzim miktarı olarak tanımlandı [58].

3.4. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (S.D) olarak ifade edildi. Dört farklı doku ve 12 farklı değişkenin ortalamaları karşılaştırıldı. Homojen dağılım gösteren gruplar ANOVA ve TUKEY varyans analizi ile karşılaştırıldı. Homojen dağılım göstermeyen gruplara Kruskal Wallis ve gruplar arasındaki anlamlılık için Mann Whitney U Testi uygulanarak analiz edildi. İstatistiksel analiz SPSS 16 programı kullanılarak yapıldı. Bütün testlerde $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

Deneklerin durumları deney süresi boyunca her gün, uygulama öncesinde kontrol edildi. Deney süresince, deneklerin vücutlarında herhangi bir yara ya da genel durumlarında bir bozukluk gözlenmedi. Deney süresi sonuna kadar hiçbir hayvan ölmedi ve başlangıçtaki denek sayısı korundu.

4.1. BDE-99'un SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi:

Karaciğer dokusunda 0,05 mg/kg ve 0,1 mg/kg BDE-99 verilen gruplarda KAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla sadece 0,1 mg/kg BDE-99 alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalırken, SOD ve GPX aktivitesi her iki doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyede artış göstermiştir (Tablo 4.1.1).

Tablo 4.1.1: BDE-99'un karaciğerde SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi

	Kontrol	0,05mg/kg	0,1 mg/kg
KAT	163.25±3.69	161.87±7.51	136.25±3.24*
GPX	311.12±11.82	400.92±13.35*	387±26.24*
SOD	109.9±7.54	125.41±17.49*	141.13±4.08*

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (S.D) olarak ifade edildi, *: istatistiksel olarak anlamlıdır, $p<0,05$.

Böbrek dokusunda KAT aktivitesi, 0,05 mg/kg ve 0,1 mg/kg BDE-99 verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır. GPX aktivitesi sadece 0,1 mg/kg BDE-99 verilen grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı seviyede azalmıştır. SOD aktivitesi her iki doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır (Tablo 4.1.2).

Tablo 4.1.2: BDE-99'un böbrekte SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi

	Kontrol	0,05 mg/kg	0,1 mg/kg
KAT	110.62±9,7	82.18±8.21*	63.43±14.34*
GPX	511.62±7.89	514.15±6.49	472.91±8.11*
SOD	151.41±3.61	142.9±8.49*	135±2.61*

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (S.D) olarak ifade edildi, *: istatistiksel olarak anlamlıdır, $p<0,05$.

İnce bağırsakta 0,05 mg/kg ve 0,1 mg/kg BDE-99 verilen gruplarda KAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla sadece 0,1 mg/kg BDE-99 alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır. GPX aktivitesi her iki doz grubunda anlamlı şekilde artarken, SOD aktivitesindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.1.3).

Tablo 4.1.3: BDE-99'un ince bağırsakta SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi

	Kontrol	0,05 mg/kg	0,1 mg/kg
KAT	74,53±3,61	68,25±4,25	54,25±3,69*
GPX	352,75±22,21	490,25±35,6*	503,87±2,35*
SOD	160,87±2,35	158,12±5,71	155±2,72

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (S.D) olarak ifade edildi, *: istatistiksel olarak anlamlıdır, $p<0,05$.

Akciğer dokusunda 0,05 mg/kg ve 0,1 mg/kg BDE-99 verilen gruplarda KAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla 0,1 mg/kg BDE-99 alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır, 0,05 mg/kg BDE-99 verilen gruptada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir azalma gözlenmiştir. SOD ve GPX aktivitesinde meydana gelen değişiklikler ise istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 4.1.4).

Tablo 4.1.4: BDE-99'un akciğerde SOD, GPX ve KAT aktivitesi üzerine etkisi

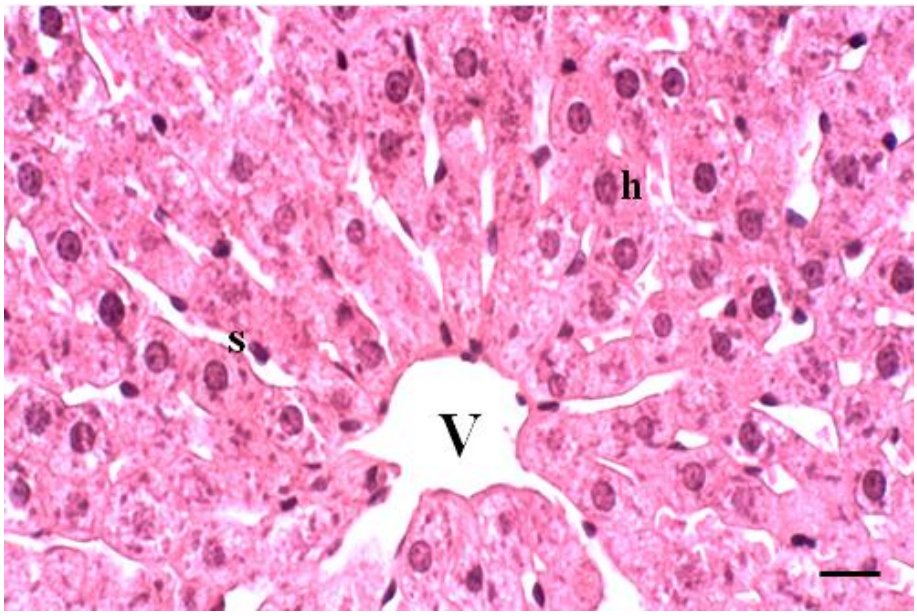
	Kontrol	0,05 mg/kg	0,1 mg/kg
KAT	170,12±3,72	161±4,1	153,25±4,3*
GPX	478±7,36	481,62±7,55	482,25±5,03
SOD	158,01±8,5	158,85±2,56	156,94±7,18

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (S.D) olarak ifade edildi, *: istatistiksel olarak anlamlıdır, $p<0,05$.

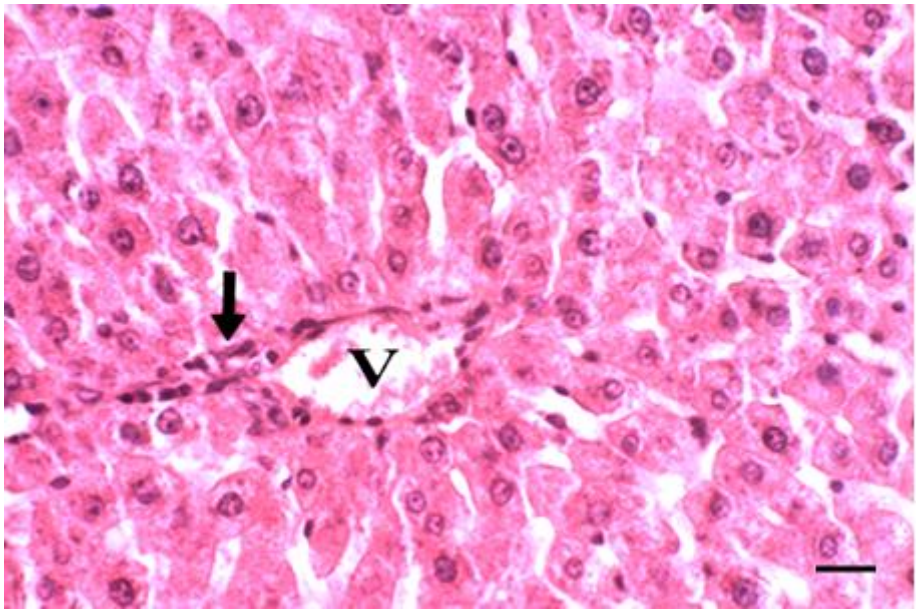
4.2. BDE-99'un histopatolojik etkisi:

4.2.1. Karaciğer

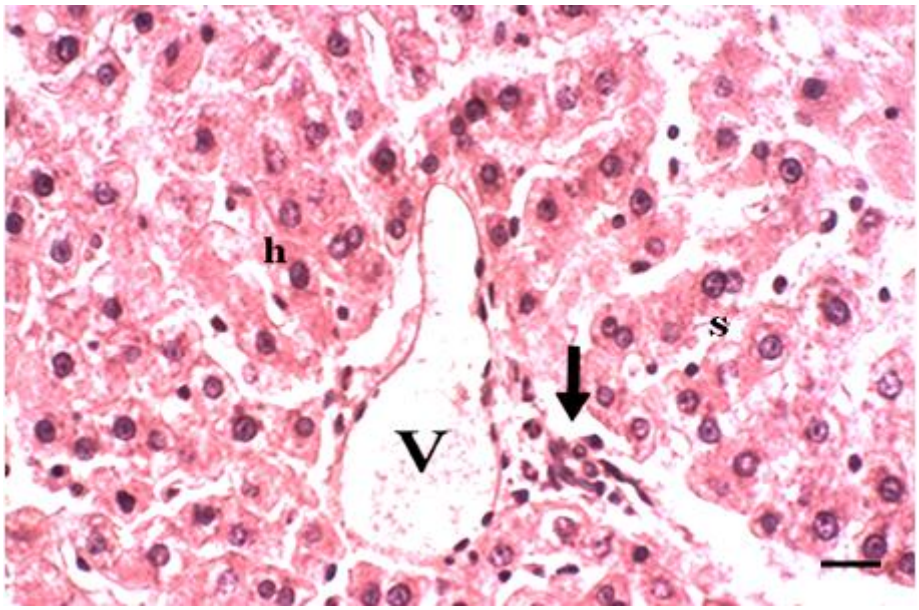
Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde dokunun genel histolojik yapısının korunduğu (Şekil 4.2.1.1), deney gruplarında (0,05 mg/kg BDE-99 ve 0,1 mg/kg BDE-99) ise dokuda dejeneratif değişiklikler meydana geldiği görülmüştür. Doz-1 (0,05 mg/kg BDE-99) grubunda hepatosit kordonlarında düzensizlik (Şekil 4.2.1.3 ve 4.2.1.4) gözlemlenmiştir. Venlerde endotel hasarı sonucu bütünlük kaybı oluştuğu (Şekil 4.2.1.4) ve venler etrafında mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleştiği belirlenmiştir (Şekil 4.2.1.2 ve 4.2.1.3). Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda, doku genelinde yaygın şekilde hipertrofik hepatositlerin bulunduğu ve hepatositlerde sitoplazma kayıplarının meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2.1.5). Venler etrafında mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.2.1.5). Hepatosit membranlarında hasar meydana geldiği, sitoplazma ile nukleus arasında boşluklar oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.1.6).



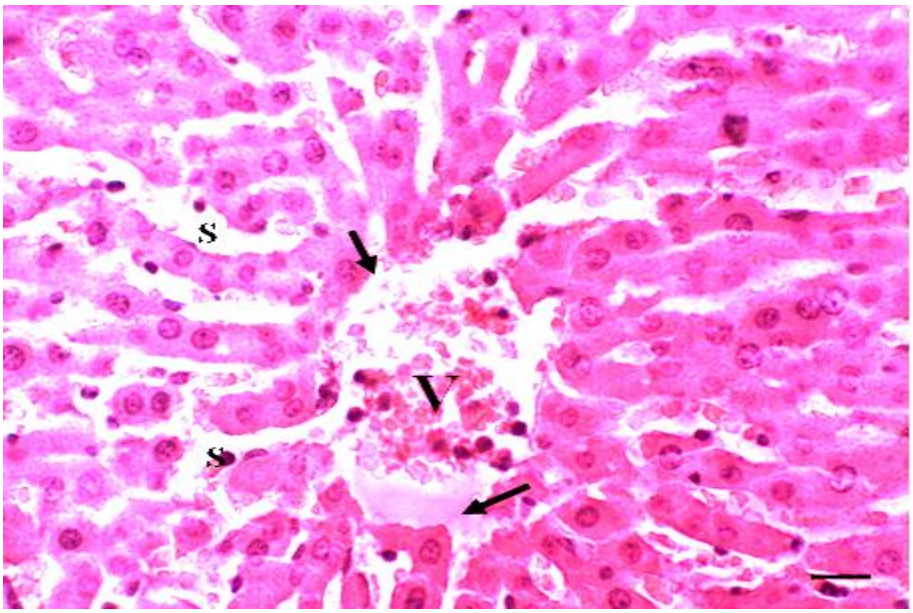
Şekil 4.2.1.1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, s: sinüzoid, h: hepatosit, (bar 20 µm)



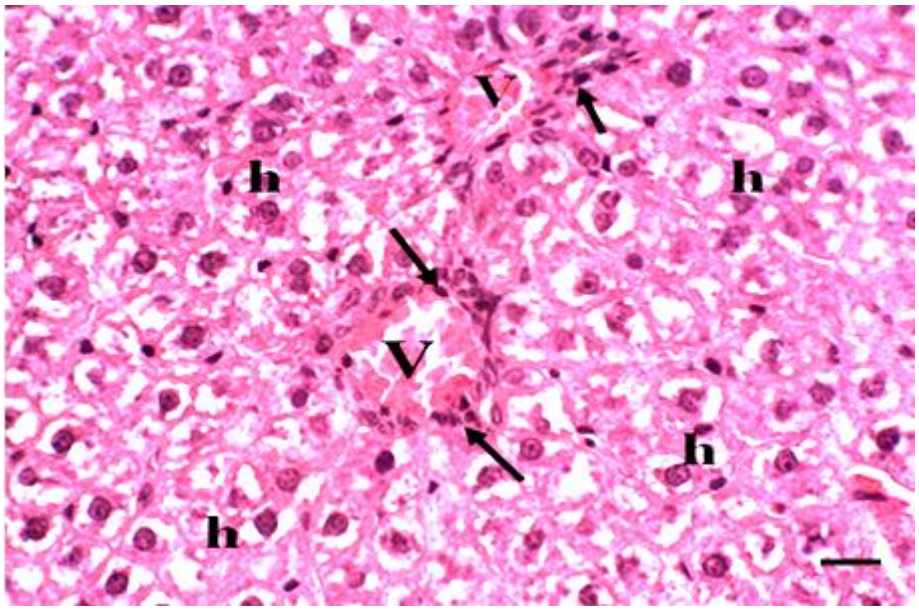
Şekil 4.2.1.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, ven etrafında mononuklear hücre infiltrasyonu (ok), (bar: 20 µm)



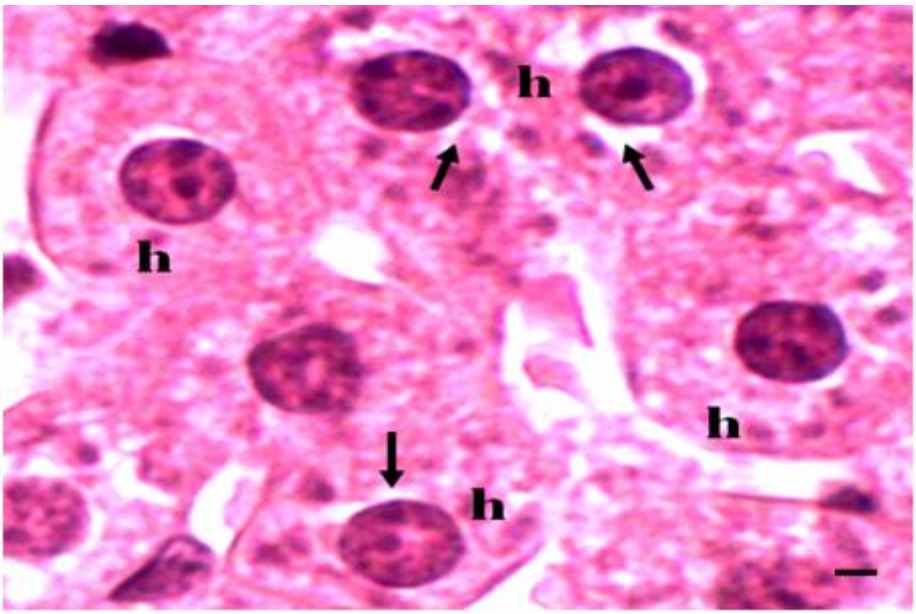
Şekil 4.2.1.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, ven etrafında mononuklear hücre infiltrasyonu (ok), s: sinüzoid, sinüzoidal alanlarda düzensizlik, h: hepatosit, (bar: 20 µm)



Şekil 4.2.1.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, endotel kaybı nedeniyle ven de bütünlük kaybı (oklar), s: sinüzoid kordonlarında düzensizlik, (bar: 20 µm)



Şekil 4.2.1.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, ven etrafında mononuklear hücre infiltrasyonu (oklar), h: hipertrofik hepatositler, hepatositlerde sitoplazma kaybı, (bar: 20 µm)

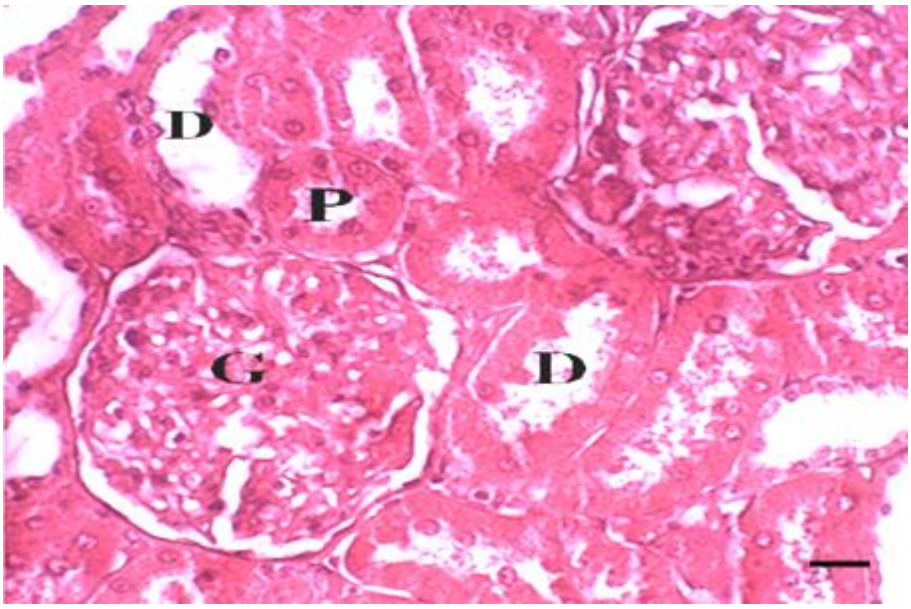


Şekil 4.2.1.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait karaciğer dokusu, h: hipertrofik hepatositler; hepatositlerde nukleus-sitoplazma ilişkisinin bozulması ve sitoplazma kaybı (oklar), (bar: 40 µm)

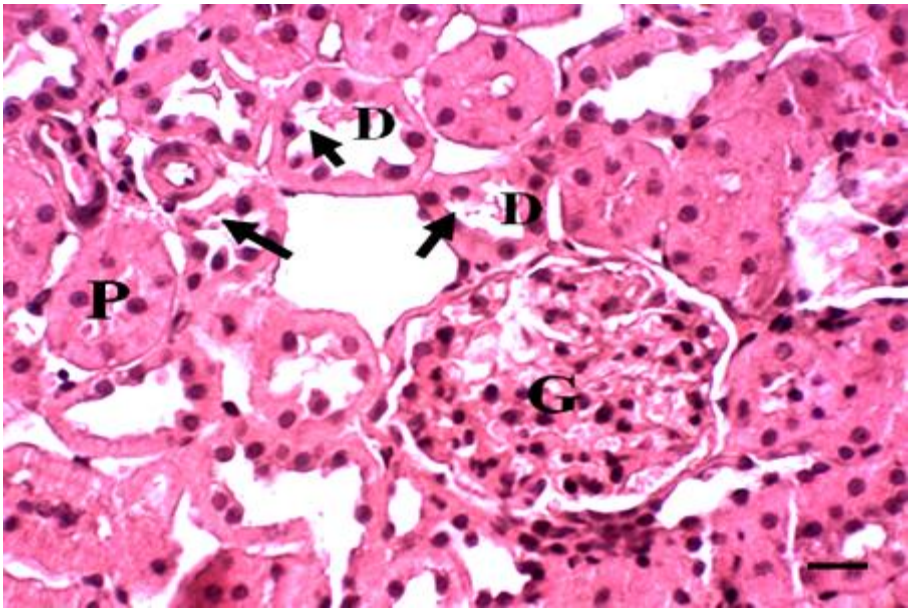
4.2.2. Böbrek

Böbrek dokusunda, kontrol grubuna ait kesitlerde genel histolojik yapı korunurken (Şekil 4.2.2.1), deney gruplarında çeşitli dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür. Doz-1 (0,05 mg/kg BDE-99) grubunda korteks bölgesinde, Korteks bölgesinde proksimal ve distal tübülü astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği belirlenmiş, epitel hücrelerinde sitoplazma kayıplarının olduğu, tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntıların bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.2.2, 4.2.2.3 ve 4.2.2.4). Glomeruluslarda hafif düzeyde atrofi ve Bowman kapsülünün parietal-visseral yaprakları arasında mesafe artışı tespit edilmiştir (Şekil 4.2.2.3). Ayrıca Bowman kapsülünün viseral yaprağında dejenerasyon gözlenmiştir (Şekil 4.2.2.4).

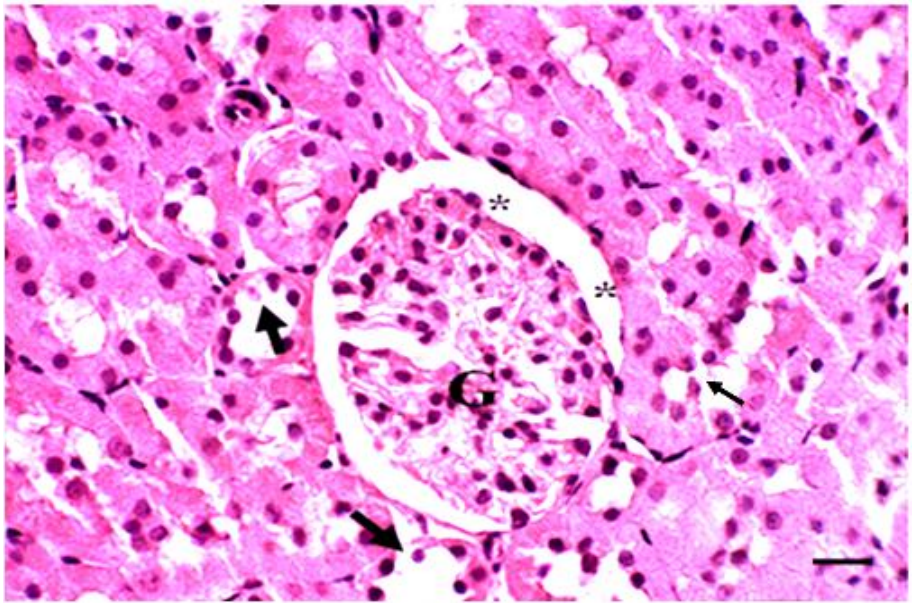
Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda şiddetli atrofi oluştuğu görülmüş, Bowman kapsülünün parietal-visseral yaprakları arası mesafenin daha fazla artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2.2.5). Korteks bölgesinde proksimal ve distal tübülü astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği, epitel hücrelerinde sitoplazma kayıplarının olduğu, tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntıların bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.2.5). Aynı zamanda tübülü astarlayan epitel hücrelerinde membran hasarı gözlenmiştir (Şekil 4.2.2.6).



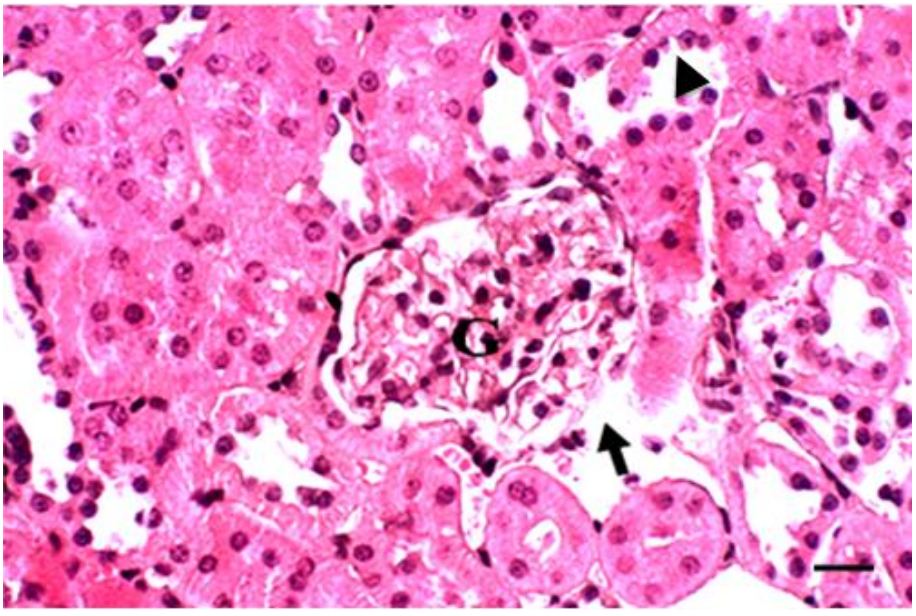
Şekil 4.2.2.1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu G: Glomerulus, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, (bar: 20 µm)



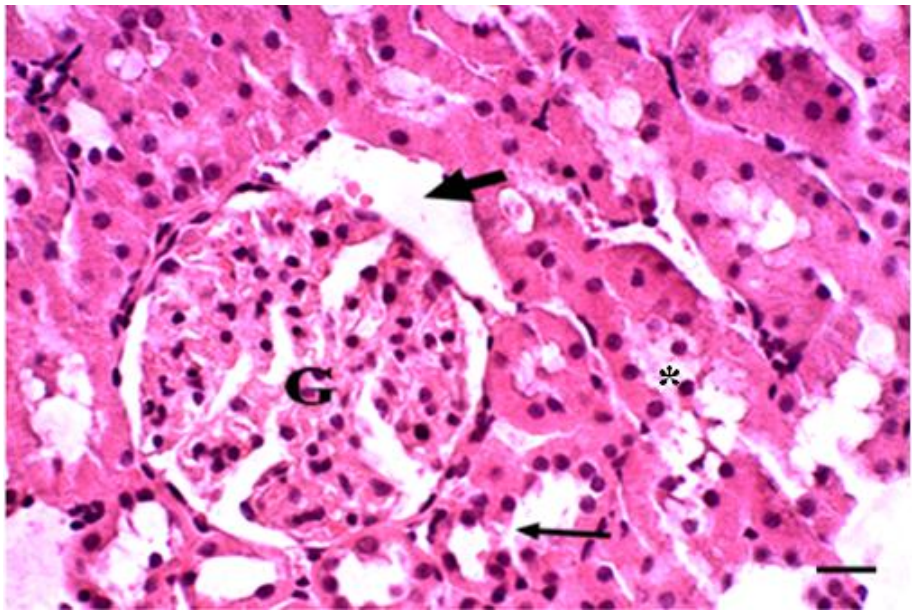
Şekil 4.2.2.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulus, P: Proksimal tübül, D: Distal tübül epitelinde dejenerasyon ve sitoplazma kaybı (ok başları), (bar: 20 µm)



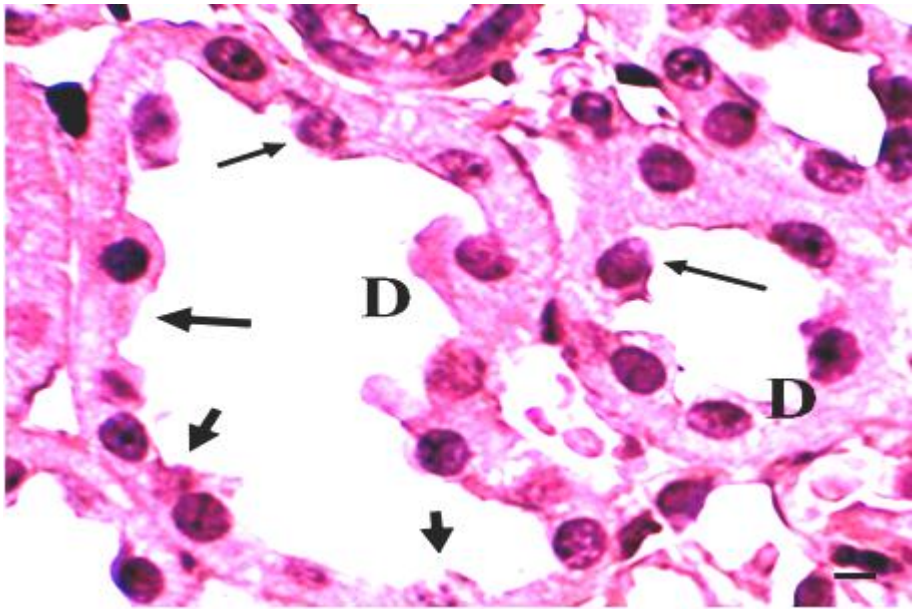
Şekil 4.2.2.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulusta atrofi, *: Bowman kapsülünün parietal ve viseral yaprakları arasında mesafe artışı, D: Distal tübül epitellerinde dejenerasyon ve sitoplazma kaybı (kalın oklar), tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntılar (ince ok), (bar: 20 µm)



Şekil 4.2.2.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulusta atrofi ve Bowman kapsülü viseral yaprakta dejenerasyon (ince ok), distal tübül epitelinde membran hasarı (kalın ok ucu), (bar: 20 µm)



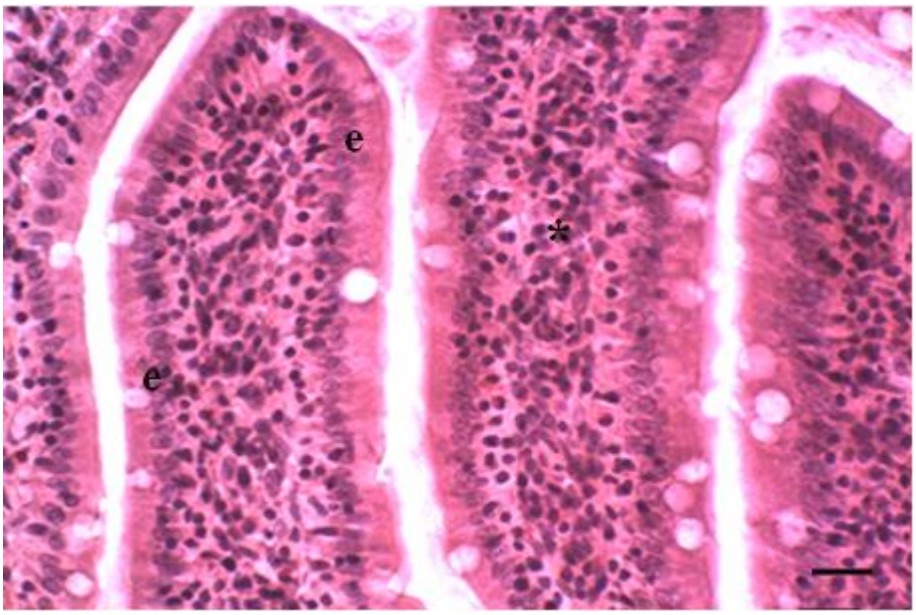
Şekil 4.2.2.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulusta şiddetli atrofi, bowman kapsülü yapraklarında şiddetli dejenerasyon (kalın ok), distal tübül epitellerinde dejenerasyon (ince ok), *: tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntılar, (bar: 20 µm)



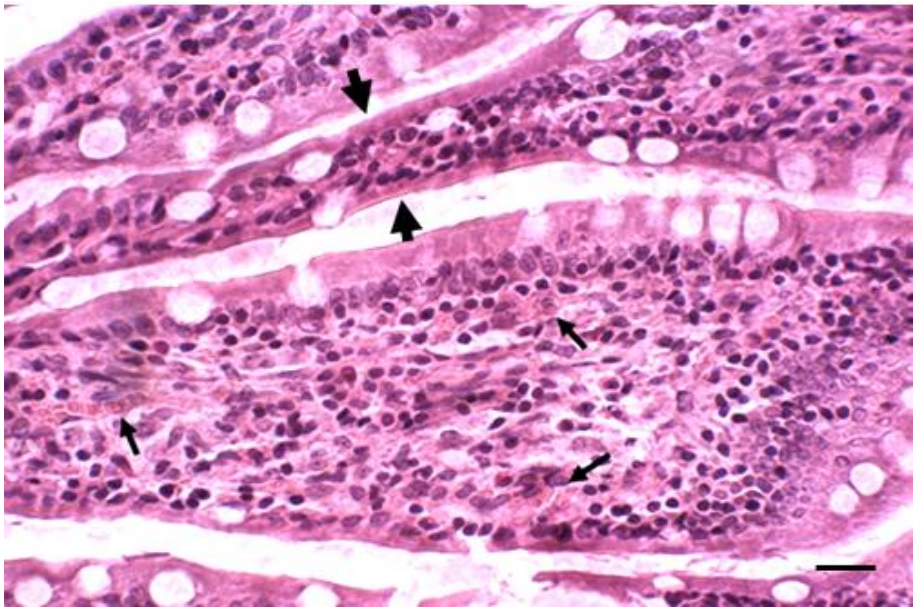
Şekil 4.2.2.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait böbrek dokusu, D: Distal tübül epitellerinde membran hasarı ve sitoplazma kaybı (oklar), (bar: 40 µm)

4.2.3. İnce Bağırsak

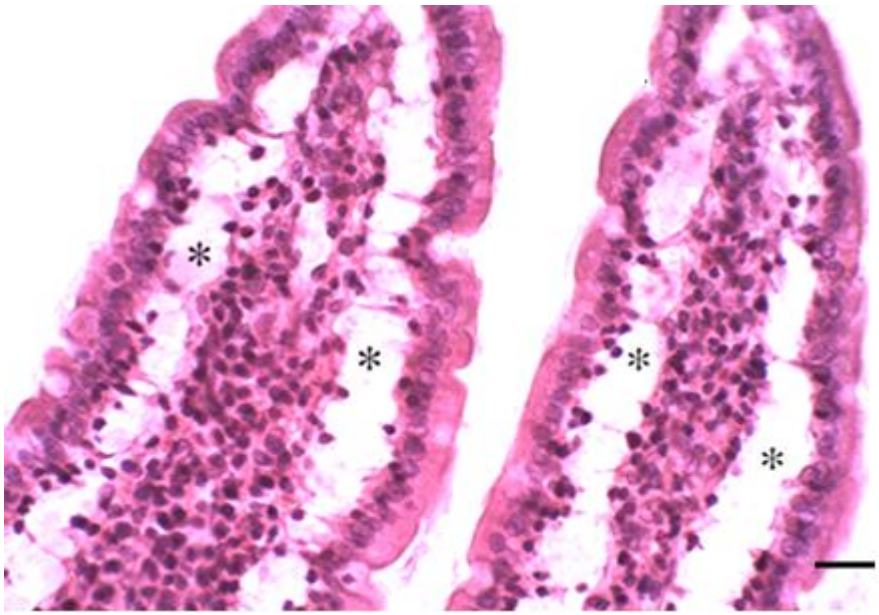
İnce bağırsak dokusunda, kontrol grubuna ait kesitlerde genel histolojik yapının korunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2.3.1). Doz-1 (0,05 mg/kg BDE-99) grubunda dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Şiddetli olmasa da; epitelde belirli bölgelerde yükseklik azalması (Şekil 4.2.3.2), Lamina propria içerisinde kanama odakları ve yer yer bağ doku kaybı meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.2.3.2). Epitelin altındaki bağ dokunun kaybı ve epitelin bağ dokudan ayrıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.2.3.3). Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda; Lamina propria içinde kanama odağı oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.2.3.4). Epitelin altındaki bağ dokudan daha şiddetli olarak ayrıldığı ve epitelde apikal yüzeyde membran hasarlarının meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.2.3.5). Lamina propria içinde güçlü ödem görülmüştür (Şekil 4.2.3.6).



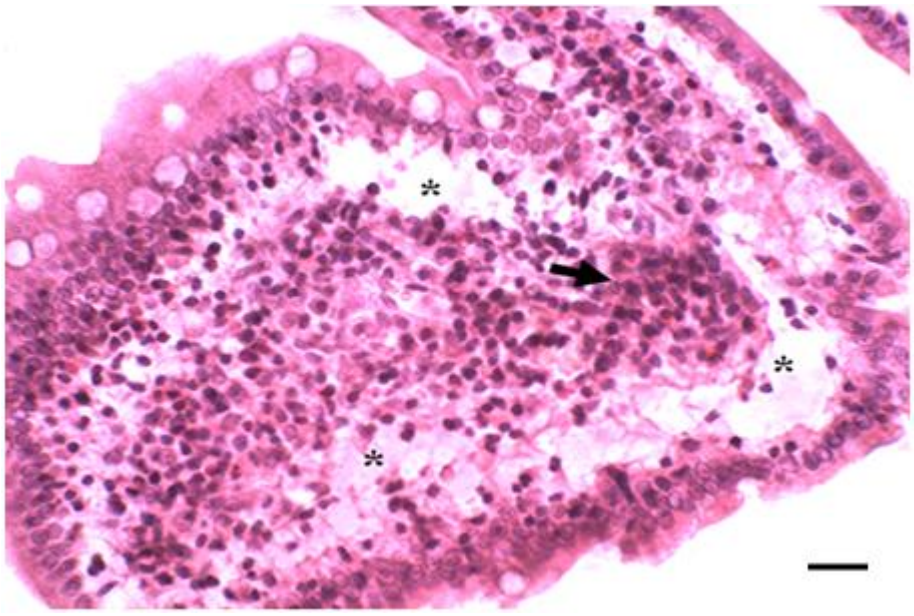
Şekil 4.2.3.1. Kontrol grubuna ait ince bağırsak dokusu, e: epitel tabaka, *: lamina propria, (bar: 20 µm)



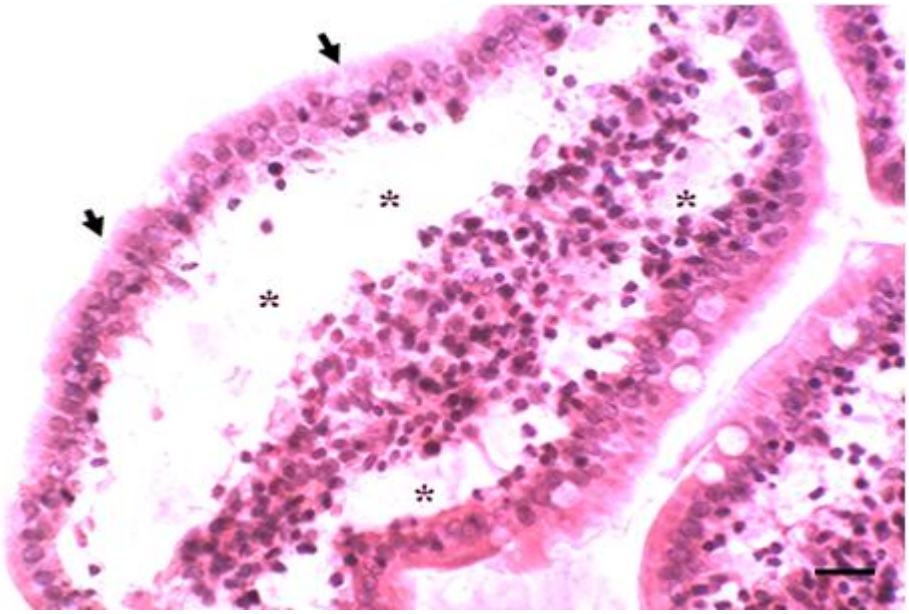
Şekil 4.2.3.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu, epitel dokuda yükseklik azalması (kalın oklar) *: lamina propria içinde kanama odakları ve bağ doku kaybı (ince oklar), (bar: 20 µm)



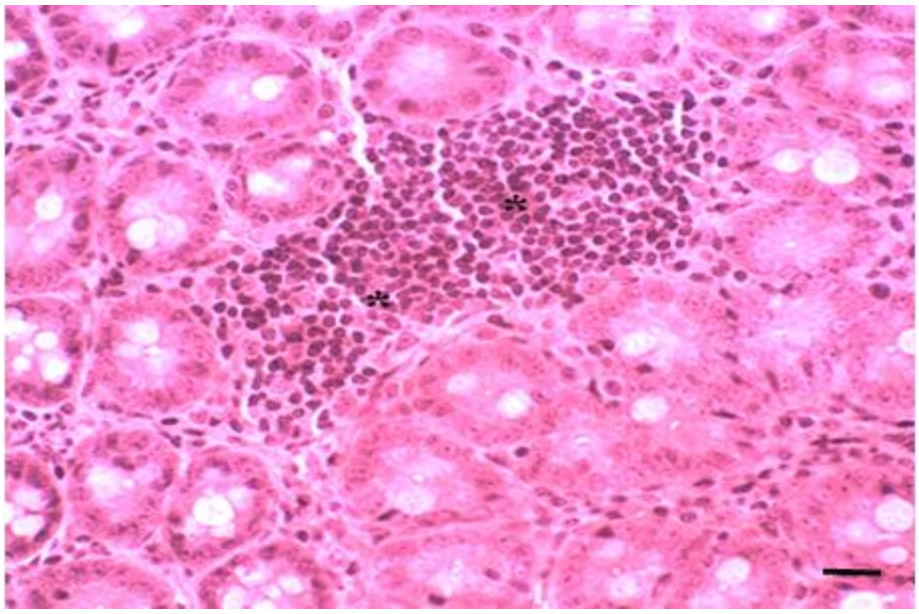
Şekil 4.2.3.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu, *: Epitelin bağ dokudan ayrılması, (bar: 20 µm)



Şekil 4.2.3.4. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu, *: Epitelin bağ dokudan ayrılması, lamina propria içinde kanama odağı (ok ucu), (bar: 20 µm)



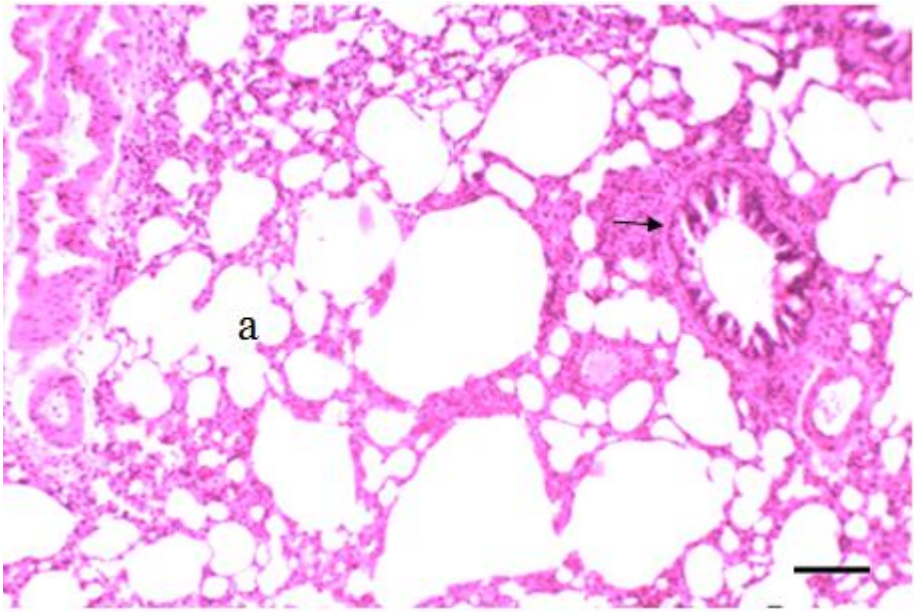
Şekil 4.2.3.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu, *: Epitel dokunun bağ dokudan şiddetli olarak ayrılması, epitel hücrelerinde apikal yüzeyde membran hasarı (oklar), (bar: 20 µm)



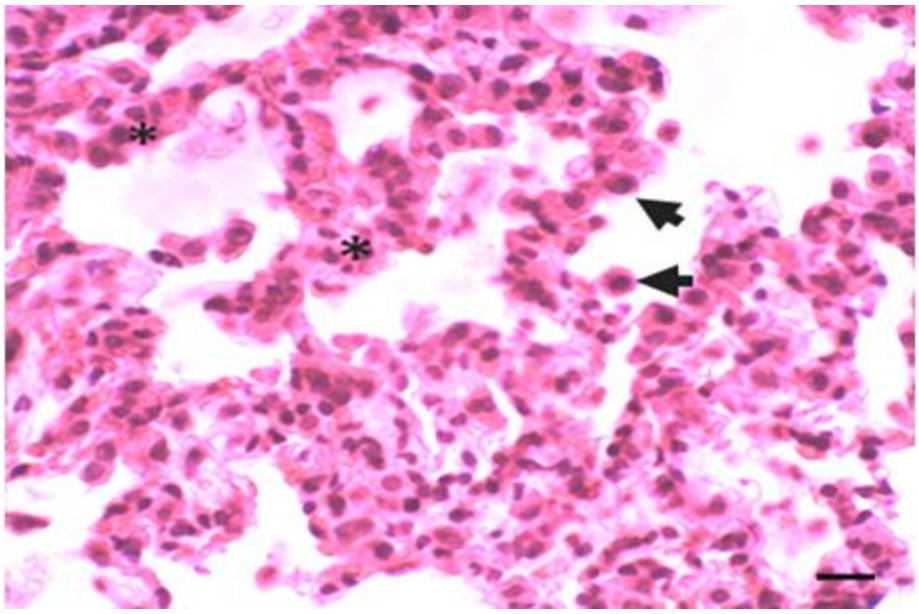
Şekil 4.2.3.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince bağırsak dokusu, *: Lamina propria içinde ödem, (bar: 20 µm)

4.2.4. Akciğer

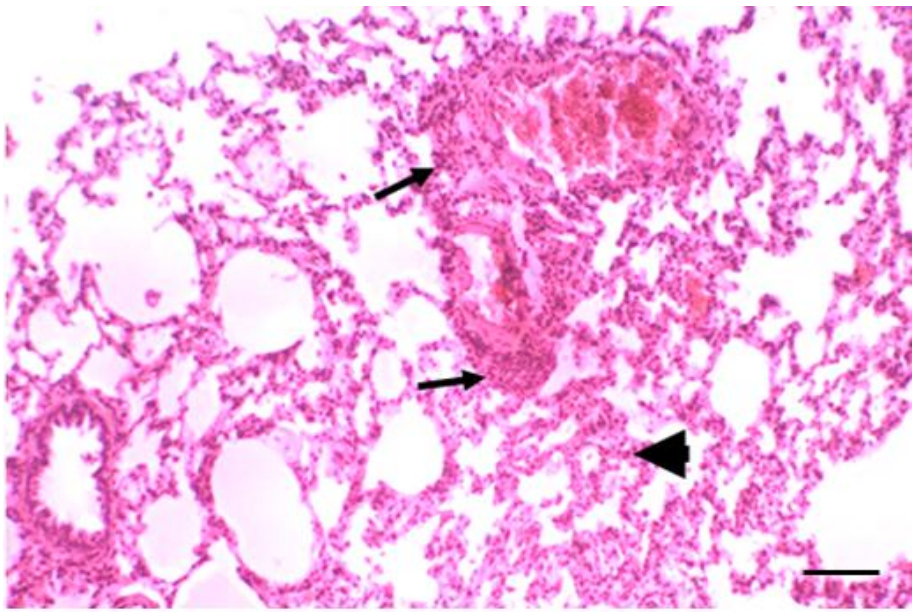
Akciğer dokusunda, kontrol grubuna ait kesitlerde genel histolojik yapı korunmuştur (Şekil 4.2.4.1). Doz-1 (0,05 mg/kg BDE-99) grubunda, alveolar arası septumda bağ doku artışı ve düzensizlik görülmüştür (Şekil 4.2.4.2 ve 4.2.4.3). Tip 1 alveolar hücrelerde eosinofilik boyanma (Şekil 4.2.4.2), mononuklear hücre infiltrasyonu (Şekil 4.2.4.3) ve dokuda ödem görülmüştür ve alveolar arası septumlarda kanama odakları belirlenmiştir (Şekil 4.2.4.4). Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda, alveolar arası septumda daha şiddetli bağ doku artışı gözlenmiş olup, mononuklear hücre inflamasyonu ve dokuda ödem (Şekil 4.2.4.5) dokunun genel karakteristik alveollerle dolu süngerimsi yapısının bozulmuş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.4.6 ve 4.2.4.7).



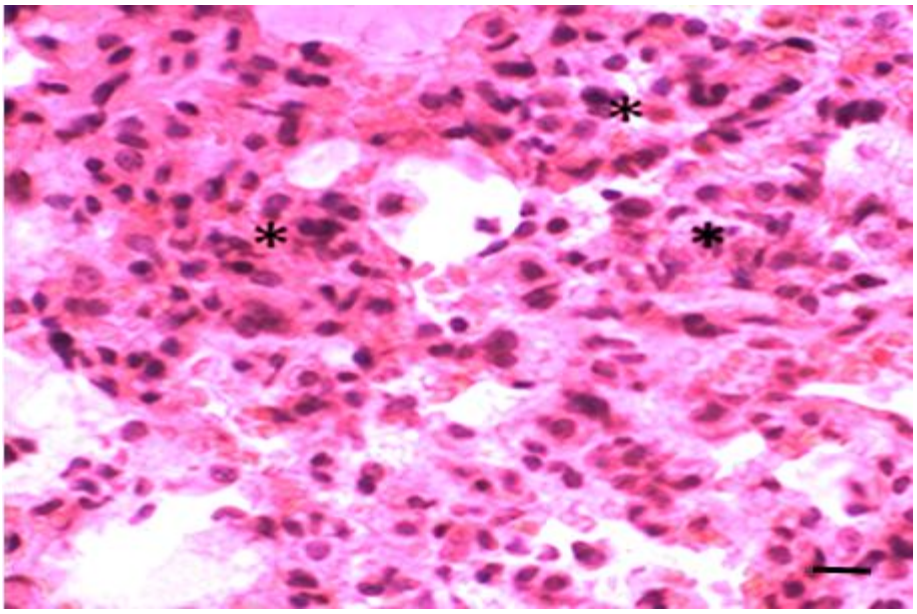
Şekil 4.2.4.1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu, a: alveol kesecikleri, bronşiol (ok), (bar: 100 µm)



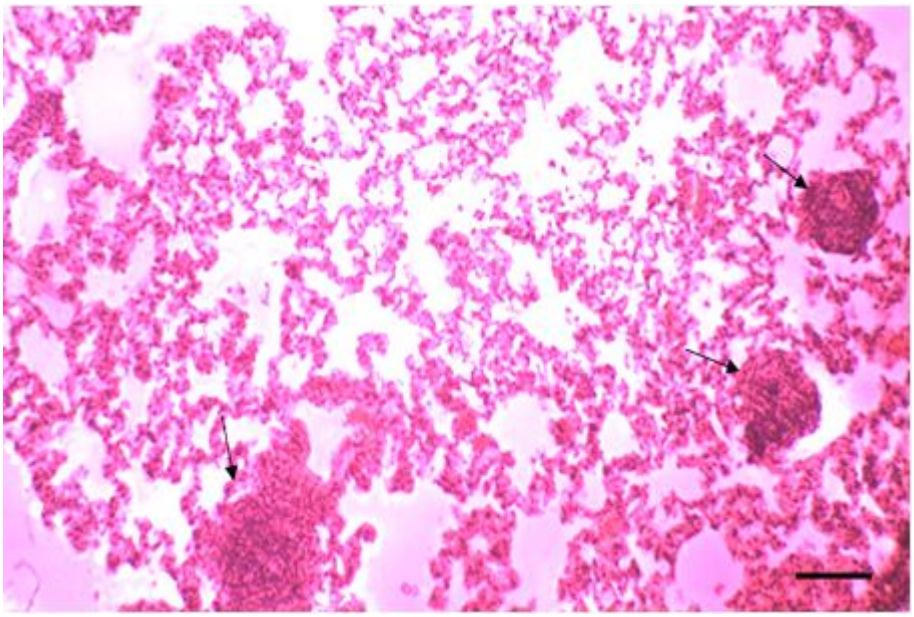
Şekil 4.2.4.2. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu, *: alveolar arası septumda bağ doku artışı, Tip 1 alveolar hücrelerde eosinofilik boyanma (oklar), (bar: 40 µm)



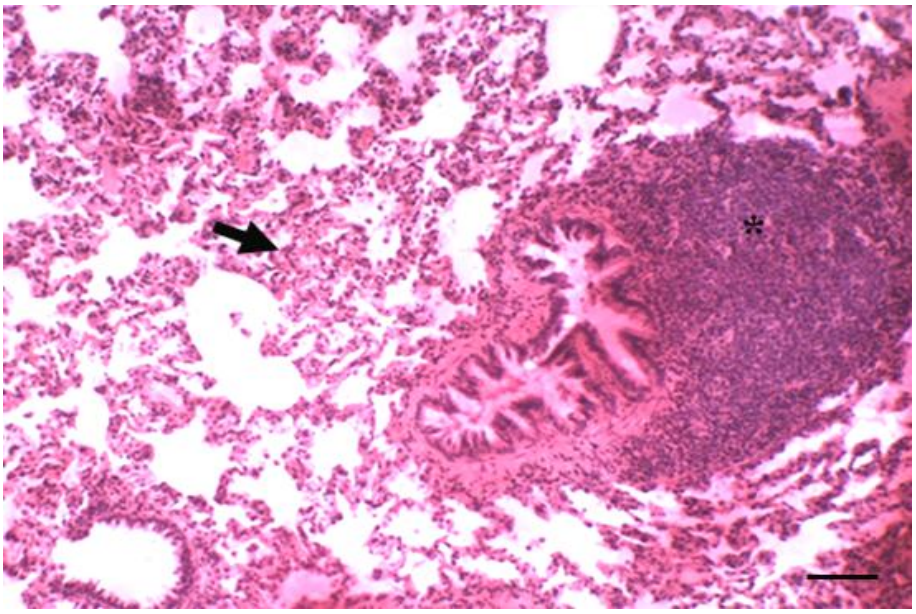
Şekil 4.2.4.3. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu, mononuklear hücre infiltrasyonu (ince oklar), alveoller arası septumda bağ doku artışı (kalın ok ucu), (bar: 100 µm)



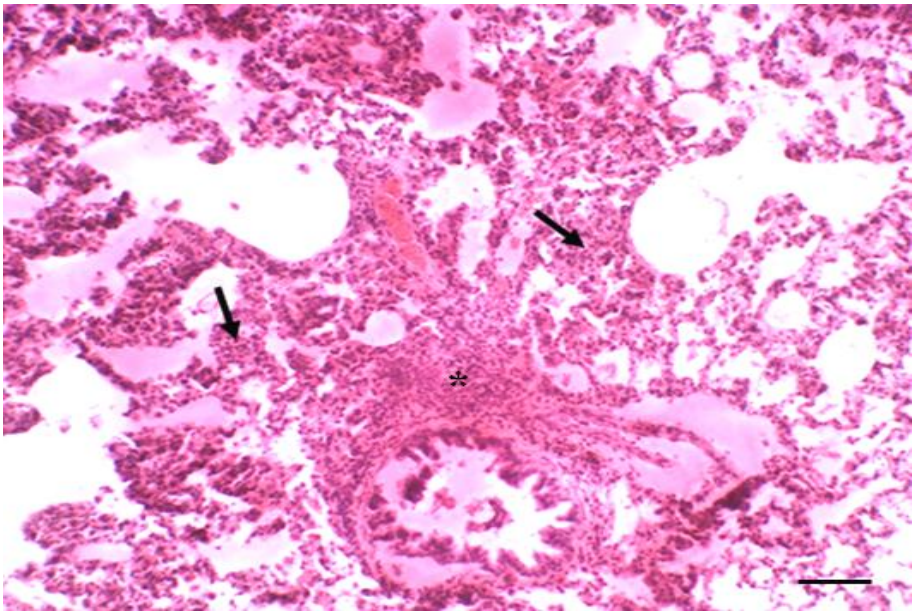
Şekil 4.2.4.4. 0,05 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu, *: alveollar arası septumda düzensizlik ve bağ doku artışı ve kanama odakları, (bar: 20 µm)



Şekil 4.2.4.5. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu, alveolar arası septumda bağ doku artışı, mononuklear hücre inflamasyonu ve dokuda ödem (oklar), (bar: 100 µm)



Şekil 4.2.4.6. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait ince akciğer dokusu, akciğerin karakteristik alveollerle dolu süngerimsi yapısında bozulma, (ok), *: mononuklear hücre infiltrasyonu, (bar: 100 µm)



Şekil 4.2.4.7. 0,1 mg/kg BDE-99 grubuna ait akciğer dokusu, *: mononuklear hücre infiltrasyonu, alveoller arası septumda bağ doku artışı (ok), dokunun karakteristik süngerimsi yapısında bozulma, (bar: 100 µm)

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Polibromludifenil eterler (PBDE), ticari olarak geniş ölçekte, alev almayı geciktirici olarak kullanılan kimyasal bir madde grubudur [1,2]. Polibromlu difenil eterler'in (PBDE'ler) karaciğer, böbrek, akciğer ve ince bağırsak dokuları üzerindeki potansiyel toksisitesi hakkında pek az şey bilinmektedir. PBDE türdeşlerinden biri olan BDE-99'un da toksik etkileri üzerine çeşitli çalışmalar mevcuttur [2,9,54]. PBDE'ler gibi çevresel zehirleyicilere maruz kalmanın oksidatif hasar meydana getirdiği ve bu yolla hastalıklara neden olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır [75,76]. Ksenobiotiklerin canlılar üzerindeki etkileri tür, cinsiyet, yaş ve doz alımına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [9,54]. Aynı zamanda, BDE-99'un düşük dozlarının toksik etkisine dair pek az araştırma olması ve bu toksik etkisinden sorumlu mekanizmanın henüz aydınlatılamamış olması nedeniyle çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışmada BDE-99'un 2 ayrı dozu (0,05 ve 0,1 mg/kg vücut ağırlığı) yetişkin erkek Wistar albino sıçanlara on gün süreyle gavaj yoluyla verilerek, karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve akciğer dokularında meydana getirdiği biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler araştırıldı. Histopatolojik değişikliklerin gözlenebilmesi için ışık mikroskobik incelemeler yapılarak BDE-99 etkisi ile meydana gelen hasar düzeyi değerlendirildi. Biyokimyasal olarak antioksidan sistemin üç anahtar enziminin (SOD, GPX ve KAT) doku düzeyinde aktiviteleri ölçüldü ve meydana gelen değişiklikler, mikroskobik verilerle karşılaştırıldı.

Çalışmamızda BDE-99'a maruz kalan sıçanların karaciğer dokusunda 0,05 ve 0,1 mg/kg doz gruplarında KAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla sadece yüksek doz alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalırken, SOD ve GPX aktivitesi her iki doz grubunda da istatistiksel olarak anlamlı seviyede artış göstermiştir. Aynı artış, Albina ve ark.nın (2010) çalışmalarında da gösterilmiştir [2].

Böbrek dokusunda KAT aktivitesi, doz gruplarında, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır. GPX aktivitesi sadece 0,1 mg/kg BDE-99 verilen grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı seviyede azalmıştır. SOD aktivitesi her iki doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalmıştır. Banudevi ve ark. (2006) çalışmalarında benzer şekilde SOD ve KAT aktivitelerinde azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir [71].

Albina ve Alonso (2010) çalışmalarında ağız yoluyla akut 0,6 mg/kg ve 1,2 mg/kg BDE-99'a maruz bırakılan yetişkin sıçanların karaciğer ve böbreklerinde oksidatif hasarlar meydana geldiğini ve karaciğerde KAT aktivitesinin azaldığını, GPX ve SOD aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Böbrekte ise SOD ve KAT aktivitesinin azaldığını, GPX aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir [2]. Bizim çalışmamızda karaciğerdeki aktivite değişiklikleri Albina ve Alonso (2010)'nun bulguları ile paraleldir. Böbrekte ise SOD ve KAT aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler benzer olmakla birlikte GPX aktivitesi çalışmamızda anlamlı şekilde azalmıştır. Elde ettiğimiz bulgular ışığında, karaciğer dokusunun artmış SOD ve GPX aktivitesi ile oksidan strese cevap verdiğini, böbrekte ise, enzim aktivitelerinde gözlenen anlamlı düşüşün bu organı serbest radikallerin hasarına karşı daha zayıf hale getirdiğini düşünmekteyiz.

İnce bağırsakta KAT aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla sadece 0,1 mg/kg BDE-99 alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı, GPX aktivitesinin her iki doz grubunda anlamlı şekilde arttığı, SOD aktivitesindeki değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Bu bulgular bağırsakta azalan KAT aktivitesinin, artan GPX aktivitesi ile telafi edilmeye çalışıldığını düşündürmektedir. SOD aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olmaması ortamda normal oksidan kapasitesinin değişmediğini, mevcut cevabın KAT ve GPX aktivitesi ile karşılandığını akla getirmektedir.

Akciğerde KAT aktivitesinin 0,1 mg/kg BDE-99 alan hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı, 0,05 mg/kg BDE-99 verilen grupta da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir azalma gözlendiği, SOD ve GPX aktivitesinde meydana gelen değişikliklerin ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Akciğerde; sadece KAT aktivitesinde yüksek dozda anlamlı bir azalma gözlenmiş olması, dokunun

antioksidan kapasitesinin mevcut stresi karşılayabildiğini ve diğer enzimlerin indüklenmediğini göstermektedir.

Toksik maddelerin temel olarak metabolize olduğu dokuların oksidatif strese karşı özellikle hassas olduğu görülmektedir [71]. Banudevi ve ark., (2006) yapmış olduğu çalışmada farelerin tek doz (poliklorinat bifenil) PCB'lere maruz kalmasının okside glutatyon (GSSG) oranında atışa neden olmasını sağlarken, glutatyon-S-transferaz (GST) etkinliğinde azalma gerçekleştirmiştir. Yine glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPX) aktivitelerindeki artış toksik maddelerin metabolize olduğu dokularda oksidatif stres yarattığı görülmüştür [71].

Histopatolojik incelemelerde, karaciğerde deney gruplarında dokuda bütünlük kaybının gerçekleştiği görülmüştür. Hepatosit kordonlarında düzensizlik (Şekil 4.2.1.3 ve 4.2.1.4) oluşması dokunun bütünlüğünün bozulduğunun göstergelerindendir. Venlerde endotel hasarı oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.1.4). Hepatosit membranlarında hasar meydana geldiği, dolayısıyla sitoplazma ve nukleus kaybı olduğu gözlenmiştir. Doku genelinde yaygın şekilde hipertrofik hepatositlerin bulunduğu ve hepatositlerde sitoplazma ve nukleus kayıplarının meydana geldiği tespit edilmiştir. Özellikle venler etrafında mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.2.1.5). Mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleşmesi BDE-99 etkisine karşı koruyucu bir cevap olarak kabul edilebilir. Kan yoluyla karaciğere gelen BDE-99, portal venlerden hepatik lobülün merkezine doğru, sinüzoidler boyunca metabolize edilirken inflamatuar cevabı başlatmış olabilir. Dunnick ve Nyska, (2009), PBDE'lere maruz kalma sonucunda karaciğerde hipertrofi ve inflamasyon gözlemlediklerini bildirmişlerdir [8].

Dokudaki membran hasarı ve hipertrofi, nekrotik değişimin en temel göstergesidir. Membranların hasar görmesi sonucu hücresel lizozomlar serbestleşip hücreler arası alana dağılmış olabilir. Bu da dokudaki genel nekrotik değişimi açıklayabilir. Hepatositlerdeki sitoplazma ve nukleus kaybı sitoplazma-nukleus ilişkisini bozduğundan hücresel bütünlüğe zarar verebilir. Nukleus-sitoplazma ilişkisi, hücrenin özgül cevabı açısından önemli olduğu kadar, hücrenin adaptif gücünü koruması bakımından da önemlidir. Hücre bütünlüğündeki hasarın boyutu geri dönüşü olmayan nekrotik süreçleri başlatabilir ve ilerletebilir.

Böbrek dokusunda, Doz-1 (0,05 mg/kg BDE-99) grubunda dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür. Korteks bölgesinde, Glomeruluslarda hafif düzeyde atrofi, Bowman kapsülünün parietal ve visseral yaprakları arasında mesafe artışı görülmüştür. Korteks bölgesinde proksimal ve distal tübülü astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği belirlenmiş, epitel hücrelerinde sitoplazma kayıplarının olduğu, tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntıların bulunduğu tespit edilmiştir.

Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda şiddetli atrofi oluştuğu görülmüş, Bowman kapsülünün visseral ve parietal yaprakları arası mesafenin daha fazla artış gösterdiği tespit edilmiştir. Korteks bölgesinde proksimal ve distal tübülü astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği, epitel hücrelerinde sitoplazma kayıplarının olduğu, tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntıların bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda tübülü astarlayan epitel hücrelerinde şiddetli hipertrofi gözlenmiştir. Tübüllerde de bütünlük kaybı gözlenmiştir (Şekil 4.2.2.3 ve 4.2.2.5). Bu dejeneratif değişiklikler BDE-99'un böbrekte de membranlar üzerine negatif etkisinin göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu durum membran hasarı ile birlikte tübüllerin epitel bütünlüğünün bozulduğunun göstergesidir. Böbrek tübülleri, su ve elektrolit dengesinin korunmasında geri emilimin yapıldığı fonksiyonel birimlerdir. Bu nedenle tübül bütünlüğünün bozulması, böbreğin geri emilim fonksiyonun da bir gerilemenin olabileceğini düşündürmektedir. PCB'ler gibi çevre kirleticilere sürekli maruz kalan dişi farelerde böbrek tubuluslarının ve glomerulusun dejenerasyona uğradığı gösterilmiştir [77]. BDE-99 etkisi ile böbrekte fagolizozomların varlığı da gösterilmiştir [2].

BDE-99'un nefropatiye neden olup olmadığı bilinmemektedir [2]. Ancak; 1,2 mg/kg BDE-99 dozunun karaciğer ve böbrekte antioksidan sistem aktivasyonunda ve histolojik yapıda kayda değer şekilde dejeneratif değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir [2].

İnce bağırsak dokusunda, 0,05 mg/kg dozunda epitelde belirli bölgelerde yükseklik azalması, epitelin altındaki bağ dokuda hafif kayıp ve epitelin bağ dokudan ayrıldığı görülmüştür. Lamina propria içerisinde kanama odakları ve mononuklear hücre infiltrasyonu görülmüştür. Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda, epitelin altındaki bağ dokudan daha şiddetli olarak ayrıldığı görülmüş ve epitelde apikal yüzeyde membran

hasarlarının meydana geldiği gözlenmiştir. Lamina propria içinde çok güçlü mononuklear hücre infiltrasyonunun oluştuğu ve kanama odaklarının varlığı görülmüştür. Hakk ve ark. (2002) gastrointestinal sistemde işaretlenmiş BDE-99 molekülünün varlığını göstermişlerdir [54]. İnce bağırsak, gavaj yoluyla uyguladığımız BDE-99' un emilerek vücuda girdiği bölgedir. Dolayısıyla, emilim bölgesi olarak BDE-99'a karşı ilk cevabın verildiği bölge bağırsaklardır. Sistemik olarak vücuda dağılmadan önce ilk negatif etkisini bağırsakta göstermiştir. Dejeneratif süreç, hücre içindeki lizozomal enzimlerin serbestleşmesi sonucu bağ dokuya geçmesiyle başlamış olabilir, bu da dokudaki epitel doku-bağ doku ayrılmasının nedenini açıklayabilir.

Akciğer dokusunda, 0,05 mg/kg BDE-99 grubunda, alveolar arası septumda bağ doku artışı ve düzensizlik görülmüştür. Tip 1 alveolar hücrelerde eosinofilik boyanma görülmüş olması, hücre içi pH'ın aside kaydığının göstergesi olarak kabul edilebilir. Alveolar arası septumlarda kanama odakları, mononuklear hücre infiltrasyonu ve dokuda ödem meydana gelmiştir. Doz-2 (0,1 mg/kg BDE-99) grubunda; alveolar arası septumda daha şiddetli bağ doku artışı ve ileri düzeyde mononuklear hücre infiltrasyonu görülmüştür. Dokunun genel karakteristik alveollerle dolu süngerimsi yapısının bozulmuş olduğu gözlenmiştir. Hakk ve ark.nın (2002) akciğerde işaretlenmiş BDE-99 molekülününün varlığını göstermiş olmaları sistemik yolla BDE-99'un akciğere ulaştığını göstermektedir [54]. Bağ dokunun artışı ve mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleşmesi, BDE-99 etkisine karşı koruyucu bir cevap olarak kabul edilebilir. Ancak kan yoluyla akciğere gelen BDE-99'un oluşturduğu inflamatuar hücrelerin dağınık olarak değil de odak halinde olması, inflamatuar sürecin ileri aşamasında olduğunu düşündürmektedir. Akciğerin temel karakteristik alveollerle dolu süngerimsi yapısını kaybedip, bağ dokunun artışı, dokuda kısmen de olsa bir fonksiyon kaybının olabileceğine işaret etmektedir.

BDE-99'un toksik etkileri ve bu etkinin mekaznizması ile ilgili çalışmalar çok sınırlıdır. Yaygın kullanımı nedeniyle BDE-99'un histopatolojik ve biyokimyasal düzeyde etkilerinin daha ayrıntılı çalışmalarla araştırılması gerektiği inancındayız.

KAYNAKLAR

[1] Alaee M, Arias P, Sjödin A, Bergman A. ***An overview of commercially used brominated flame retardants and their applications, changes in their use pattern in different countries\regions over time and possible modes of release.*** Environ ınt, 29;683-689, (2003).

[2] Maria L. Albina, Virginia Alonso, Victoria Linares, Montserrat Belles, Juan J. Sirvent, Jose Domingo, Domenec J. Sanchez. ***Effects of exposure to BDE-99 on oxidative status of liver and kidney in adult rats.*** Toxicology, 271, 51-56, (2010).

[3] Bakker, MI., de Winter-Sorkina, R, de Mul, A, Boon, P.E, van Donkersgoed, G, Van Klaveren, J.D., Baumann, BA, Hijman,W.C, van Leeuwen, S.P., de Boer, J., Zeilmaker, MJ. ***Dietary intake and risk evaluation of polybrominated difenil eterler in The Netherlands.*** Mol. Nutr. Food Res., 52, 204-216, (2008).

[4] Hooper, K., McDonald, T.A,. ***The PBDEs: an emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs.*** Environ. Health Perspect, 108, 387-392 (2000).

[5] Huwe, J.K, Hakk, H, Smith, DJ, Diliberto, J.J, Richardson, V., Stapleton HM, Birnbaun, LS,. ***Comparative absorption and bioaccumulatıon of poly-brominated difenil eterler following ingestion via dust and oil in male rats.*** Environ. Sci. Technol, 42, 2694-2700, (2008).

[6] Guvenius, D. M., Bergman, A. ve Noren, K. ***Polybrominated diphenyl eters in Swedish human liver and adipose tissue.*** Arch Environ Contam Toxicol, 40, 564-570 (2010).

[7] IPCS (International Program on Chemical Safety), ***Brominated Diphenyl Ethers.*** Environ. Health Criteria no. 162. WHO, Geneva. (1994).

[8] Dunnick, J.K, Nyska, A,. ***Characterization of liver toxicity in F344/N rats and B6C33f1 mice after exposure to a flame retardant containing lower molecularweight polybrominated difenil eterler.*** Exp. Toxicol. Pathol., 61, 1-12 (2009).

[9] L.-J. Chen, E. H. Lebetkın, J.M. Sanders, & L. T. Burka. ***Metabolism and disposition of 2,2,4,4,5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) following a single or repeated administration to rats or mice.*** Xenobiotica, 36(6):515-534, (2006).

[10] Viberg, H.; Fredriksson, A; Eriksson, P. ***Investigations of strain and\or gender differences in developmental neurotoxic effects of polybrominated diphenyl ethers in mice.*** Toxicol Sci., 81: 344-353, (2004).

[11] Branchi, I; Alleva, E; Costa, LG. ***Effects of perinatal exposure to a polybrominated diphenyl ether (PBDE-99) on Mouse neurobehavioural development.*** Neurotoxicol, 23(3):375-384, (2002).

[12] Kuriyama, SN; Talsness, CE; Grote, K; et al. ***Developmental exposure to low dose PBDE-99: effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring.*** Environ Health Perspect, 113:149-154, (2005).

[13] Scharuwen, P., Scharuwen- Hinderling, V., Hoeks, J., Hesselink, MK,. ***Mitochondrial dysfunction and lipotoxicity.*** Biochim. Biophys. Acta, doi: 10.1016/j.bbalip.2009.09.011, (2009).

[14] Ozan H. Karaciğer. In: Ozan H. (Ed). ***Anatomi,*** Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, (2004).

[15] Jungueira LC, Carneiro J. ***Temel Histoloji*** (Çev. Y Aytekin, S Solakoğlu). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, (2006).

[16] John L. Cameron: ***Liver anatomy***. Current surgery, (2001).

[17] Bayramiçli M. ***Deneysel Mikrocerrahi***, ARGOS, İstanbul, (2005)

[18] Guyton AJ, Hall JE (Çeviri: H. Çavuşoğlu). ***Tıbbi Fizyoloji***, Nobel, İstanbul, (2001).

[19] Ovale W K, Nahirney PC. Netter ***Temel Histoloji*** (Çev. S Müftüoğlu, F Kayman). Netters Essential Histology Saunders Elsevier, İstanbul, (2009)

[20] Yıldırım M. ***Topografik Anatomi***, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, (2004).

[21] William A, Sodeman JR, Thomas M (Çeviri: Hekimler Birliği). ***Fizyopatoloji,*** Türkiye Klinikler Yayınevi; Ankara, (1992).

[22] http://www.pathpedia.com/Education/eAtlas/Histology/Liver and bile ducts/Images.html adlı web sayfasından alınmıştır. Nisan, 2011.

[23] Emre A. ***Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi*** / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2002.

[24] Arıncı K, Elhan A. ***Anatomi***. Güneş Kitabevi, 1995.

[25] Şentürk H. ***Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü.*** Kocatepe Tıp Dergisi, 2004.

[26] Bataller R, Brenner DA. ***Liver fibrosis***. J Clin Invest, 2005.

[27] Poli G. ***Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress***. Mol Aspects of Med., 21:49–98 (2000).

[28] Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Çeviri: U. Çevikbaş). ***Robbinin Temel Patolojsi,*** Nobel, İstanbul, 2003.

[29] Ganong WF. ***Tıbbi Fizyoloji***. 19. ingilizce baskıdan çeviri. İstanbul: Barış Kitabevi; 1999: s: 529.

[30] Özer A, Yakışık M, Özfiliz N, Erdost H ve Zık B. ***Veteriner Embriyoloji***.Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Bursa. 2005.

[31] Eaton, D.C. and Pooler, J.P. ***Vander'in Böbrek Fizyolojisi***. Ankara. 2005.

[32] Gartner, L.P. and Hiat, J.L,. ***Color Textbook of Histology***, 3rd Edition, Saunders, 592, (2007).

[33] Martini FH, Ober WC, Garrison CW, Welch K, Hutchings RT, and İreland K, ***Anatomy-Physiology***, Benjamin-Cummings Publishing Company USA. 2005.

[34] Odar V. ***Anatomi Ders Kitabı***, Yenidesen Ltd Şti. Matbaası, Ankara, 1986.

[35] Yüksel M, Kalaycı G.N, Topçu S., Çetin G., ***Göğüs Cerrahi Kitabı***, Bil Medya grup, İstanbul, 2001.

[36] Arseven O. ***Akciğer Hastalıkları***, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2002.

[37] Bullock J, Boyle J., Çeviri: Hariri N. ***Fizyoloji***, Saray Kitabevi, İzmir, 1994.

[38] Jungueria LC, Carneiro J, Kelly RO, eds. ***Basic histology***, edn. 6.Appleton-Lange, 1989.

[39] Cui J, Forssberg E. ***Mechanical recycling of waste electric and electronic equipment: a review.*** J Hazard Mater, 99: 243-263, 2003.

[40] Aksakal, N., Vaizoğlu, S. Güler, Ç., ***Mobilyalardaki kimyasallar ve Sağlık etkileri,*** Türk Tabipleri Birliği Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (Sted). Ankara, Cilt 14 Sayı 12 sf. 268-272, (2005).

[41] Allen JG, McClean MD, Stapleton HM, Nelson JW, Webster TF. ***Personal exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in residential in door air.*** Environ. Sci. Technol, 4574-4579, (2007).

[42] Butt CM, Diamond ML, Truong J, Ikonomou MG, ter Schure AFH. ***Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers in southern Ontario as measured in ondoor and outdoor window organic films.*** Environ Sci Technol, 38: 724-731, (2004).

[43] Domingo, J.L, Cid, RM Castell, V., Llobet, J.M,. ***Human exposure to PBDE'ler through the diet in Catalonia, Spain: temporal trend. Areview of recent literature on dietary PBDE intake.*** Toksikoloji, 248, 25-32, (2008).

[44] Goralczyk K, Strucinski P, Hernik A, Ludwicki JK. ***Flame retardants-use hazards for human.*** Rocz Panstw Zakl Hig., 53(3): 293-305, (2002).

[45] Hites RA. ***Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: a meta analysis of concentrations.*** Environ. Sci.technol., 38: 945-956, (2004).

[46] Lopez D ve ark.; ***A preliminary study on PBDEs and HBCDD in blood and milk from Mexican women. Toronto:third ınternatıonal Workshop on Brominated Flame Reterdants.*** BFR., 483-487, (2004)

[47] Toms LM, ve ark.; ***Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human milk from Australia.*** Chemosphere, 68:797-803, (2007).

[48] Darnerud PO, Eriksen GS, Johannesson T, Larsen PB, Viluksela M. ***Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure and toxicology.*** Environ Health Perspect, 109 Suppl.1:49-68, (2001).

[49] Staskal, D.F., Hakk, H, Bauer, D., Diliberto, J.J., Birnbaum, L.S. ***Toxicokinetics of polybrominated difenil ether congeners 47,99,100 and 153 in mice.*** Toxicol. Sci. 94:28-37, (2006).

[50] Liang, S., Zhao, O., Qin, Z.i Zhao, X., Yang, Z., Xiao, B., ***Levels and distribution of polybrominated difenil eter in various tissues of foraging hens from an electronic waste recyling area in South China.*** Environ. Toxicol. Chem.27, (2008).

[51] Zhou, T., Ross, DG., De Vito, MJ., Crofton, K.M,. ***Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated difenil eterler on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weaning rats.*** Toxicol. Sci., 61,76-82, (2001).

[52] Sanders, JM. Ve ark. ***Differential expression of CYPIA, 2B, and 3A genes in the F344 rat following exposure to a polybrominated difenil ether mixture or individual compo-nents.*** Toxicol.sci., 88,127-133, (2005).

[53] Stapleton, HM, ve ark. ***Metabolism of poly-brominated difenil eter (PBDE) by human hepatocytes in vitro.*** Environ. Health Perspect., 117, 197-202, (2009).

[54] Hakk H. Larsen G, Klasson Wehler E. ***Tissue disposition, excretion and metabolism of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) in the male Sprague-Dawley rat.*** Xenobiotica, 32:369-382, (2002).

[55] Meerts IATM, van Zanden JJ, Luijks EAC, van Leeuven-Bol I, Marsh G, Jakobsson E,. ***Potent competitive interactions of some brominated flame reterdants and related compounds with human transthyretin in vitro.*** Toxicol Sci., 6:95-104, (2000).

[56] Darnerud PO, Aune M, Larsson L, Hallgren S, ***Plazma PBDE and thyroxine levels in rats exposed to Bromkal or BDE-47.*** Chemosphore, 67386-392, (2007).

[57] Mercado-Feliciano M, Bigsby RM. ***The polybrominated diphenyl ether mixture BDE-71 is mildly estrogenic.*** Environ Health Perspect, 116: 605-611, (2008).

[58] Aknes, A. ve Njaa,L.R. ***Catalase, glutathione and superoxide dismutase in different fish species.*** Comp.Biochem. Physiol, 69: 893-896, (1981).

[59] http://www.studyblue.com/notes/note/n/slides/deck/2742419 adlı web sayfasından alınmıştır.

[60] http://www.siumed.edu/~dking2/erg/GI166b.htm adlı internet sitesinden alınmıştır. 25 Ocak 2002.

[61] http://w3.ouhsc.edu/histology/Text%20Sections/Urinary.html adlı internet sitesinden alınmıştır.

[62] http://www.proteinatlas.org/dictionary/normal/kidney/detail+1/magnification+1 adlı sitesinden alınmıştır.

[63] http://www.vetmed.vt.edu/education/curriculum/vm8054/labs/Lab25/lab25.htm adlı internet sitesinden alınmıştır.

[64] http://www.ouhsc.edu/histology/text%20sections/lower%20gi.html adlı internet sitesinden alınmıştır.

[65] http://www.siumed.edu/~dking2/erg/GI007b.htm adlı internet sitesinden alınmıştır. Aralık 2001.

[66] Suttle, N.F. ve McMurray, C.H. ***Use of erythrocyte copper:zinc superoxide dismutase activity and hair or fleece copper concentrations in the diagnosis of hypocuprosis in ruminants.*** Res Vet Sci. 35; 47-52, (1983).

[67] Woolliams, J.A.,Wiener, G., Anderson, P.H. ve McMurray, C.H. ***Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep.*** Res Vet Sci 34, 253-256, (1983).

[68] Arthur, J.R. ve Boyne, R. ***Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle.*** Life Sci. 36,1569-1575, (1985).

[69] Paglia, D. E. Ve Valentine, W.N. ***Studies on the guantitative and gualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase.*** JLab Clin Med 70, 158-169, (1967).

[70] Kraus, R.J. ve Ganther, H.E. ***Reaction of cyanide with glutathione peroxidase.*** Biochem Biophys Res Commun 96, 1116-1122, (1980).

[71] Banudevi, S., Krishnamoorthy, G.,Venkataraman, P.,Vignesh, C., Aruldhas, M.M., Arunakaran, J., ***Role of alpha-tocopherol on antioxidant status in liver lung and kidney of PCB exposed male albino rats.*** Food Chem. Toxicol, 44, 2040-2046, (2006).

[72] U.S-EPA. ***Guidelines for carcinogen risk assessment.*** Federal Register. 70:17765-18717, 2005 Available online at http://www.epa.gov/cancerguidelines.

[73] Talsness, CF; Shakibaei, M; Kuriyama, S; et al. ***Ultrastructural changes observed in rat ovarias following in utero and lactationel exposure to low doses of a polybrominated flame retardant.*** Toxicol Lett., 157-189-202, (2005).

[74] US-EPA, ***Toxicological review of 2,2,4,4,5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99).*** EPA REport 635R07006F. Washington DC, USA. pp.7-12, (2008).

[75] Schlezinger, J.J., Struntz, W.D., Goldstone, J.V.,Stegeman, J.J. ***Uncoupling of cytochrome P450 1A and stimulation of reactive oxygen species production by co-planar polychlorinated biphenyl congeners.*** Aguat. Toxicol. 77, 422-432, (2006).

[76] Glauert, HP., Tharappe, L.J.C, Lu, Z, Stemm, D., Banerjee, S., Chan, L.S., Le, EY., Lehmler, H.J., Robertson, L.W., Spear, B.T. ***Role of oxidative stres in the promoting activities of PCBs.*** Environ. Toxicol. Pharmacol, 25, 247-250, (2008).

[77] Kutlu, S., Colakoglu, N., Halifeoglu, I., Sanda, I.S, Seyran, A.D., Aydin, M, Yılmaz B. ***Comparative evaluation of hepatoxic effects of aroclors 1221 and 1254 in female rats.*** Cell Biochem. Funct. 25, 167-172, (2007).

[78] Suping C. Huang, G. Giordano., L. G. Costa. ***Comparative Cytotoxicity and ıntracellular accumulatıon of five polybrominated diphenyl ether congeners in Mouse cerebellar granule neurons.*** Toxıcologıcal Scıences. 114 (1), 124-132, (2010).

[79] European Food Safety Authority. ***Scientific Opinion on Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Food.*** EFSA Journal, 9(5), 2156, (2011).

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İstanbul'da doğdu. Ortaöğretimimi İstanbul Mehmet Akif Ersoy Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2005 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2009 yılında mezun oldu ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime devam etmektedir. Aynı zamanda Çalışma ve İş Kurumu İstanbul İl Müdürlüğü'nde çalışmaktadır.

Evli ve İngilizce bilmektedir.

EK –A

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 6 **Karar Tarihi: 31.08.2010**

KARAR NO: 2010/06.01

Yürütücülüğünü Fen Fakültesi öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr. Ayşegül ÇERKEZKAYABEKİR'in yaptığı TÜHDYEK-2010/038 protokol nolu "BDE-99'un (2,2,4,4,5-Pentabromodifenil eter) antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılması" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	