

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DIFENACOUM'UN SIÇAN KARACİĞERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Ebru DEMİREL**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2012**

**Her hakkı saklıdır**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### DIFENACOUM'UN SIÇAN KARACİĞERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ebru DEMİREL

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nursel GÜL

Difenacoum'un sitotoksik etkileri geçirmeli elektron mikroskopunda incelendi. Çalışmada hayvanlar dört gruba ayrıldı (n=5 her grupta): Kontrol grubu, 24 saat Difenacoum uygulanmış grup, dört gün Difenacoum uygulanmış grup ve yedi gün Difenacoum uygulanmış grup. Dimetil sülfoksitte hazırlanan 0.8 mg/kg'lık tek doz Difenacoum oral yoldan gastrik gavaj ile sıçanlara uygulandı. Deneylerin sonunda karaciğer örnekleri, kontrol ve Difenacoum uygulanan sıçanlardan eter anestezisi altında alındı. Difenacoum uygulanan 24 saatlik sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde hasar görülmedi. Oysaki dört gün Difenacoum uygulanan sıçanların karaciğerinde sitotoksik hasarlar tespit edildi. Hepatositlerin sitoplazmalarında lizozomal yapılar, granüllü endoplazmik retikulum keseleri ve geniş hacimli mitokondriler vardı. Yedinci günde hepatositlerde sitoplazmik materyal kaybı, mitokondrilerde küçülme, devamlılığı olmayan endoplazmik retikulum keseleri ve glikojen taneleri gözlendi. Ayrıca karaciğer sinüzoidlerinde yoğun madde birikimi, piknotik çekirdekli hücreler ve hasar görmüş eritrositler tespit edildi. Sonuç olarak, çalışmamızın bulguları Difenacoum'un karaciğer hücrelerinde yapısal bozukluğa sebep olduğunu gösterdi.

**Ekim 2012, 48 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Difenacoum, sıçan, karaciğer, geçirmeli elektron mikroskobu

## **ABSTRACT**

Master Thesis

### **EFFECT OF DIFENACOUM ON RAT LIVER**

Ebru DEMİREL

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nursel GÜL

Cytotoxic effects of difenacoum on rat liver were examined by transmission electron microscopy. Animals were divided into four groups (n= 5 in each group): Control, 24 hours difenacoum treated, four days difenacoum treated and seven days difenacoum treated groups. Difenacoum prepared in dimethyl sulphoxide was orally administered to rats as a single dose (0.8 mg/kg) by gastric gavage. At the end of experiments samples of liver were obtained from control and difenacoum-treated rats under ether anesthesia. Transmission electron microscopy showed no damage in 24 hours difenacoum- treated rat liver. Whereas, cytotoxicological damages were determined in four days difenacoum-treated rat liver. Cytoplasm of hepatocytes had enlarged mitochondria and rough endoplasmic reticulum cisternae and lysosomal structures. On the seventh day, loss of cytoplasmic material, shrinkage of mitochondria, discontinuous endoplasmic reticulum cisternae, grains of glycogen were observed in hepatocytes. Also, accumulation of dense material, cells with picnotic nucleus and damaged erythrocytes were determined in sinusoids of liver. As a results, our findings showed that Difenacoum cause to disruption cell structure in liver.

**October 2012, 48 pages**

**Key Words:** Difenacoum, rat, liver, transmission electron microscopy

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında bana bilgi ve tecrübeleriyle katkı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nursel GÜL'e (Ankara Üniversitesi), tez önerisinde teori kurmamızda bize yol gösteren Sayın Prof. Dr. Nuri YİĞİT'e (Ankara Üniversitesi), kesit alınmasında tez çalışmamda katkısı olan İstanbul Üniversitesi'nde Sayın Prof. Dr. Hüsametdin BALKIS ve Sayın Araş. Gör. Dr. Aslı KANDİL hocalarıma sonsuz teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sırasında bana manevi destek sağlayan Ahmet MUHAMMED'e, Ceren GENİŞ'e ve Merve KÖKSAL'a teşekkür ederim. Benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan aileme ve Mustafa Mert ÖZCAN'a saygı ve sevgiyle teşekkür ederim.

Ayrıca doku kesitlerinin preperasyonunda kullanılan kimyasal maddelerinin ve deney hayvanlarının alımında kısmi finansal destekleri için Ankara İleri Teknoloji Yatırımları A.Ş. (Ankara Üniversitesi Tekno Kenti) ve Eko-Zon Halk Sağlığı ve Çevre Danışmanlık Şirketi'ne teşekkür ederim.

Ebru DEMİREL

Ankara, Ekim 2012

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Rodentler.....	3
2.1.1 Gıda işletmelerine zarar veren rodentler.....	3
2.1.2 Rodentlerin özellikleri.....	4
2.2 Karaciğer.....	7
2.2.1 Karaciğerin görevleri.....	10
2.2.2 Kan pıhtılaşması ile karaciğerin ilişkisi.....	11
2.3 K vitamini (Naftokinonlar) .....	12
2.4 Pıhtılaşma mekanizması.....	16
2.5 Difenacoum.....	20
2.5.1 Antikoagülant rodentisitler.....	20
2.5.2 Difenacoum'un tanımı.....	21
2.5.3 Difenacoum'un etki mekanizması.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Deney hayvanları.....	27
3.2 Hayvanlara Difenacoum'un uygulanması.....	27
3.3 Elektron mikroskobu.....	27
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	48

## KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	Adenozin difosfat
BW	Body weight (Vücut ağırlığı)
CCl <sub>4</sub>	Karbon tetraklorür
CO <sub>2</sub>	Karbon dioksit
COOH	Karboksil grubu
DMSO	Dimetil sülfoksit
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
KH <sub>2</sub>	İndirgenmiş K vitamini
KO	K vitamini epoksidi
LD <sub>15</sub>	Sublethal dozda
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NH <sub>3</sub>	Amonyak
PCA	Protrombin Kompleks Aktivitesi
TEM	Geçirmeli Elektron Mikroskop
VKORC1	Vitamin K epoksi-redüktaz kompleksi altbirimi 1

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 a. Norveç sıçanı, b. ev sıçanı, c. ev faresi .....	3
Şekil 2.2 Karaciğer.....	7
Şekil 2.3 Sinüzoidler ve disse aralığı.....	8
Şekil 2.4 Karaciğerdeki kimyasal yollar .....	9
Şekil 2.5 Karaciğerin görevleri.....	11
Şekil 2.6 Kan pıhtılaşmasında karaciğerin görevi .....	12
Şekil 2.7 Pıhtılaşma faktörlerinin K vitamini ile sentezlenmesi .....	13
Şekil 2.8 $\gamma$ -karboksi glutamik asit formülü.....	13
Şekil 2.9 Protrombindeki glutamik asit kalıntılarının $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılarına dönüştürülmesi .....	14
Şekil 2.10 K vitamini hidrokinonunun protrombindeki glutamik asit kalıntılarının $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılarına dönüştürülmesindeki rolü ve dikumarol yapısı.....	15
Şekil 2.11 K vitamininin fizyolojik etkisi ve metabolizma arasındaki ilişki.....	16
Şekil 2.12 Genel kan şeması .....	16
Şekil 2.13 Kanın pıhtılaşma reaksiyonları .....	18
Şekil 2.14 Genel pıhtılaşma yolu .....	19
Şekil 2.15 Pıhtılaşmış bir kanda fibrin arasında alyuvarlar.....	19
Şekil 2.16 Çeşitli fare zehirleri .....	20
Şekil 2.17 4 Hidroksikumarin ve 1,3 İndandion yapıları .....	21
Şekil 2.18 Difenacoum'un moleküler yapısı .....	22
Şekil 2.19 4-Hidroksikumarin (dikumarol) türevlerinin pıhtılaşma faktörlerinin yapımı sırasında K vitamini epoksidinin K vitaminine dönüşümünü engellemesi.....	23
Şekil 2.20 Glutamatın karboksilasyonu ile $\gamma$ -karboksiglutamat oluşumu .....	23
Şekil 4.1 Kontrol grubuna ait bir karaciğer hücresi .....	29
Şekil 4.2 Kontrol grubu sıçanların karaciğerine ait ve sinüzoidde yakın bir hepatosit ..	30
Şekil 4.3 Deneylerde 24 saat Difenacoum uygulanan sıçanların karaciğer örneği.....	31
Şekil 4.4 Düzgün yapıya sahip iki sinüzoid arasındaki hepatositler .....	32
Şekil 4.5 Difenacoum'un dört gün sonunda karaciğere verdiği hasarlar.....	33

Şekil 4.6 Dört günlük Difencoum'lu karaciğer hücresi .....	34
Şekil 4.7 Yedi gün sonunda Difenacoum uygulanmış karaciğer hücreleri .....	35
Şekil 4.8 Dejenere olmuş yedi günlük Difenacoum'lu karaciğer hücresi.....	36
Şekil 4.9 Yedi gün Difenacoum uygulanmış sıçan karaciğerindeki sinüzoid yapısı.....	37

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Rodentlerle taşınan ve bulaştırılan hastalık etkenleri .....	4
Çizelge 2.2 Rodentlerin bazı fiziksel özellikleri ve üreme özellikleri.....	5

## 1.GİRİŞ

İnsanların sağlıklı beslenmesi için gıdaların hijyenik ortamlarda üretilmesi ve depo edilmesi gerekir. Bu nedenle gıdalara ve tüketiciye çeşitli sebeplerle zarar veren canlılarla mücadele edilmektedir. Bu zararlı canlılar böcekler, küf mantarları, akarlar, nematodlar, yumuşakçalar, yabancı otlar ve kemiricilerdir. Bu canlıların yok edilmesi için kullanılan maddelere pestisitler veya şimdiki tanımıyla biyosidal ürünler denilmektedir (Kaya vd. 2002).

Pestisitler etki ettikleri canlılara göre genel olarak 7 çeşittir.

- 1- Rodentisitler (kemiricileri öldürenler)
- 2- İnsektisitler (böcekleri öldürenler)
- 3- Fungisitler (mantarları öldürenler)
- 4- Herbisitler (yabancı otları öldürenler)
- 5- Akarisitler (akarları öldürenler)
- 6- Nematositler (nematodları öldürenler)
- 7- Molluskositler (yumuşakçaları öldürenler) olarak sınıflandırılabilirler.

Geniş bir grup olan kemiricilerin (rodentler) başında sıçanlar ve fareler gelir. Bunlar önemli bir enfeksiyon kaynağı olarak dikkat çekerler. Özellikle tarlalarda, sebze bahçelerinde ve besinlerin depo edildiği yerlerde gıdaları tahrip ederler ve patojenik mikroorganizmaları taşıyarak gıdalara bulaştırırlar. Gıda hijyenini sağlamak ve ekonomik kayıpları önlemek için zararlıların kontrol altında tutulması gerekir, bu nedenle kimyasal ve biyolojik ajanlar kullanılarak mücadele edilmektedir (Çetin ve Aksu 2000).

Kimyasal m¼cadelede kullanılan rodentisitlerin bir kısmı antikoag¼lant özelliğe sahiptir. Antikoag¼lant rodentisitler, kanın pıhtılaşma mekanizmasında görevli olan 2,3-epoksi red¼ktaz enzimini inhibe ederek pıhtılaşma faktörlerinin aktifleşmesini engellerler ve dolayısıyla kanın pıhtılaşmasını önlerler (Ulukaya 2007). Antikoag¼lant rodentisitler birinci nesil ve ikinci nesil olmak üzere iki çeşittir. Birinci nesil antikoag¼lant rodentisitlere (Warfarin, Chlorophacinone, Diphacinone, Coumatetryl, Pindone) karşı kemiriciler zamanla direnç göstermiştir. Bunun üzerine daha etkili olan ikinci nesil antikog¼lantlar üretilmiştir. İkinci nesil antikoag¼lant rodentisitler ise Difenacoum, Bromadiolone, Flocoumafen, Brodifacoum'dur (Guthrie 1972).

Organizmalardaki karaciğer v¼cuttaki zararlı maddelerin detoksifiye edildiği organdır (Demirsoy vd. 2004). Toksik maddelerden etkilenen karaciğerin bu özelliği dikkate alınarak, Difenacoum'un sıçan karaciğerinde meydana getirdiği yapısal değişiklikler geçirmeli elektron mikroskobunda incelendi.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Rodentler

#### 2.1.1 Gıda işletmelerine zarar veren rodentler

İnsan sağlığına zarar veren rodentlerin başında *Rattus norvegicus* (Norveç sıçanı, göçebe sıçan), *Rattus rattus* (ev sıçanı, gemi faresi, çatı faresi) ve *Mus musculus* (ev faresi) gelmektedir (Çetin ve Aksu 2000), (Şekil 2.1).



a.

b.

c.

Şekil 2.1 a. Norveç sıçanı (*Rattus norvegicus*), (genome.csdb.cn), b. ev sıçanı (*Rattus rattus*), (malaysiapest.blogspot.com), c. ev faresi (*Mus musculus*), (mus-musculus.com)

Rodentler, insan sağlığını etkileyen birçok hastalık etkenlerini insanlara bulaştırırlar. Bunlar bakteri, virüs, mantar ve parazit etkenleridir. Rodentler başta veba etkeni (*Yersinia pestis*) olmak üzere birçok bakteriyi taşırlar. Bunun yanı sıra kuduz virüsü, domuz vebası virüsü gibi bir çok virüsü taşıyıp viral enfeksiyonlara neden olurlar (Çizelge 2.1), (Çetin ve Aksu 2000).

Çizelge 2.1 Rodentlerle taşınan ve bulaştırılan hastalık etkenleri (Çetin ve Aksu 2000)

BAKTERİYEL ETKENLER	VİRAL ETKENLER
- <i>Yersinia pestis</i> (veba etkeni)	-Kuduz virüsü
- <i>Salmonella sp.</i>	-Domuz vebası virüsü
- <i>Shigella sp.</i>	-Encephalitis virüsü
- <i>Yersinia enterocolitica</i>	
- <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	
- <i>Francisella tularensis</i>	MANTARLAR
- <i>Listeria monocytogenes</i>	
- <i>Pseudomonas pseudomallei</i>	- <i>Trichophyton quinckeanum</i>
- <i>Streptobacillus moniliformis</i>	- <i>Trichophyton schoenleinii</i>
- <i>Clostridium botulinum</i>	
- <i>Leptospira spp.</i>	PARAZİTER ETKENLER
- <i>Spirillum minus</i>	
- <i>Coxiella burnetii</i>	- <i>Trichinella spiralis</i>
- <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	- <i>Hymenolepis nana</i>
- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	- <i>Hymenolepis diminuta</i>
- <i>Vibrio cholerae</i>	- <i>Echinococcus multilocularis</i>
- <i>Borrelia sp.</i>	

### 2.1.2 Rodentlerin Özellikleri

Rodentler 1500'ü aşkın cins ile en geniş memeliler grubunu oluştururlar. *Rattus norvegicus* çoğunlukla insanların barındığı ev ve binaların bodrum katlarında ve kanalizasyonlarda yaşar. Kırsal alanlarda yaşayanlar ise su kaynaklarına yakın ahır, çöplük, depo ve kanallara yerleşirler. *Rattus rattus* sıcak ortamları sevdiğinden çoğunlukla evlere, kapalı mekanlara ve binaların üst katlarına yerleşirler. *Mus musculus* ise binalarda ve kanalizasyonlarda yaşarlar (Çetin ve Aksu 2000).

Rodentler dişlerinin yapısı ve dizilişi ile diğer memelilerden ayrılır. Bir çift alt ve üst ön dişleri vardır. Azı dişleri yoktur. Ön dişler sürekli uzar ve içe doğru kıvrılır. Aşırı içeri uzamış dişler rodentlerin beslenememeleri sonucu ölümlerine neden olabilmektedir. Bu nedenle fareler sürekli bir şeyler kemirerek ön dişlerini aşındırarak, fazla uzamasını engellemeye çalışırlar. Aşınmaya bağlı olarak ön dişler oldukça keskin hale gelirler.

*Rattus norvegicus*'un vücut uzunluğu yaklaşık 25 cm iken, *Rattus rattus* 18 cm, *Mus musculus* ise 8 cm boyundadır. Bir batındaki yavru sayısı bakımından *Rattus norvegicus* ile *Rattus rattus* hemen hemen aynıdır. *Mus musculus*'un yavru sayısı daha azdır; ama bir yıl içinde yavrulama sayısı daha fazladır (Çizelge 2.2).

*Rattus rattus* ve *Mus musculus* çok iyi tırmanıcıdırlar. Bunun yanı sıra zıplama özellikleri de iyidir. *Rattus norvegicus* 70 cm, ufak fareler ise 25 cm'ye kadar zıplayabilir. Tırmanma ve zıplama özellikleri yerleştikleri yerlere girişi ve yayılışı açısından önemlidir. Ayrıca kanalizasyon hatları yoluyla da binalara girebilirler. Yüzme yetenekleri vardır ve dalıp uzun süre suyun altında kalabilirler (İnal 1990).

Çizelge 2.2 Rodentlerin bazı fiziksel özellikleri ve üreme özellikleri (<http://www.amatortv.com/fareler.htm>)

Özellikler	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Rattus rattus</i>	<i>Mus musculus</i>
Vücut uzunluğu	19-27 cm	14-23 cm	8-9 cm
Kuyruk uzunluğu	16-23 cm	17-25 cm	16-28 cm
Ağırlık	200-450 g	150-230 g	10-30 g
Renk	Sırt:Açık kahverengiden koyu griye kadar değişen renkte Karın:Kirlili beyaz	Sırt:Siyahtan kahverengimsi griye kadar değişen renkte Karın:Karbeyazı, sarımsı, Açık veya koyu gri Kuyruk : Koyu gri	Sırt: Grimsi kahverengi Karın: Grimsi beyaz
Burun	Burun küt ve kalın	Burun:silindirik ve kesik	Burun:silindirik ve kesik
Erginleşme	8-12 hafta	12-16 hafta	8-12 hafta
Hamilelik süresi	21-24 gün	21-22 gün	17-20 gün
Bir batındaki yavru sayısı(ort.)	6-11	6-10	5-6
Bir yıl içindeki yavrulama sayısı(ort.)	4-6	3-5	5-10
Sütten kesilme süresi	3-4 hafta	3-4 hafta	3 hafta

Fare ve sıçanlarda en önemli duyulardan biri dokunmadır. Dokunma duyusu için vücudundaki tüylerden ve bıyıklarından yararlanırlar. Koku alma duyuları çok gelişmiştir. Yüksek frekanslı seslere karşı oldukça duyarlıdır. Görme duyularını diğer duyularına göre daha az kullanırlar. Rodentler gündüz, geceye göre daha az aktiftirler. Aktiviteleri karanlık başlangıcında ve güneşin doğuşundan önce daha yoğundur. Ancak bazı stres nedenlerinden dolayı gündüz de aktivite gösterebilirler (Çetin ve Aksu 2000).

Fareler ve sıçanlar laboratuvar koşullarında iki yıldan daha fazla bir süre yaşayabilirler. Ancak doğal koşullarda ömürleri genellikle bir yıldan azdır. Dişilerin yaşama süreleri daha uzundur. Çok hızlı ürerler ve gebelik süreleri çok kısadır. Popülasyon çoğalır, gıda kaynakları azalırsa üreme hızı da düşer (İnal 1992), (Çizelge 2.2).

Tahıl ürünleri diyetlerinin büyük kısmını oluşturur. Bunun dışında et, balık, böcekler ve sebzelerle beslenirler. Günde ortalama olarak vücut ağırlıklarının %10' u kadar yiyecek tüketebilirler. Yiyecek sınırlıysa su tüketimini de azaltırlar. Rodentlerin tümü yiyeceği alıp kapalı ve güvenli bir yere götürürler. Yiyecek bulamadıkları durumlarda kendi dışkılarını yerler.

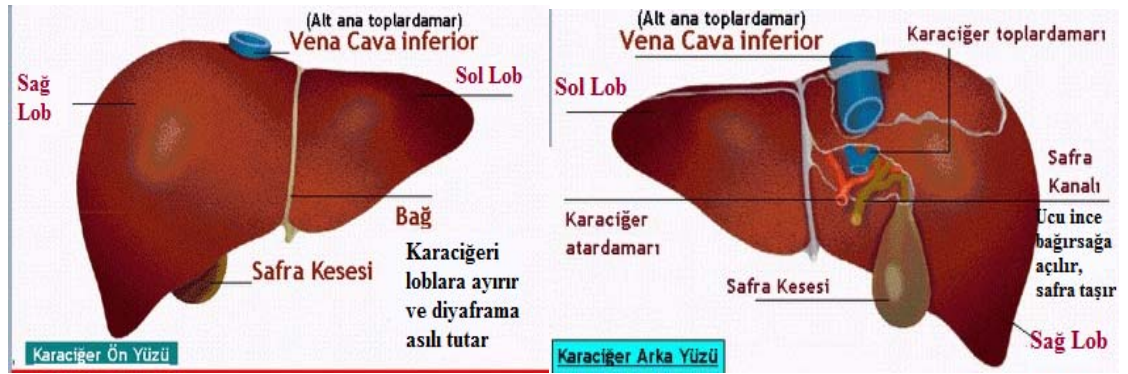
*Mus musculus* gıda seçimlerinde farklılık göstermez; kentsel bölgelerde yaşadığında insanların yediklerinin aynısını yer. Çok az su ile yaşayabilir. Su ihtiyacını gıdaların neminden karşılayabilir. Eğer gıda %15-16 nem ihtiva ediyorsa su içmeye ihtiyaç duymaz. Hafif, aralıklı ve düzensiz beslenir ve bir günde yaklaşık 2-3 g yiyecek beslenirler.

*Rattus norvegicus* çöplüklerden yiyecek temin edebilir. Bazen sabun, yapıştırıcı veya cam macunu bile yer (bu dışkısının renginden anlaşılabilir). Su yokluğundan çok etkilenir. Muhtemel tehlikelere karşı bir savunma olarak yiyeceklerini saklayıp gizlice yeme eğilimi gösterir. Bir günde 20-25 g kuru yiyecek tüketebilir.

*Rattus rattus* diğer iki tür ile kıyaslandığında bazı meyveler içeren daha sınırlı bir diyetle beslenir (Çetin ve Aksu 2000).

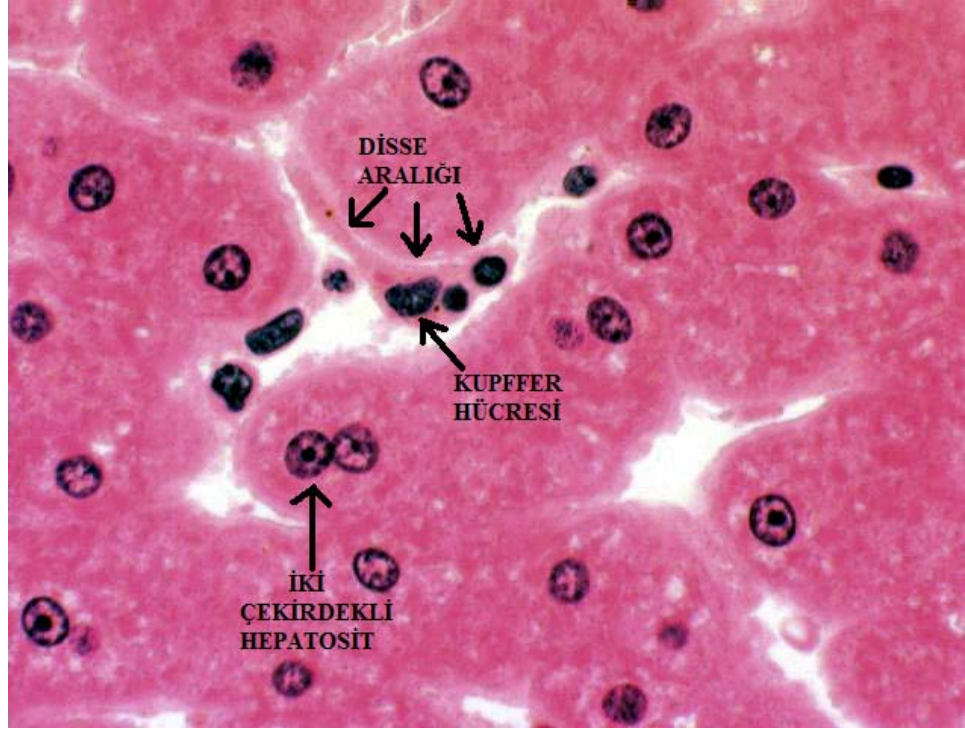
## 2.2 Karaciğer

Karaciğer vücuttaki en büyük iç organdır ve aynı zamanda dış ve iç salgı yapan bezdir. Karaciğer mediyan lob, sağ lateral lob, sol lateral lob ve kaudal lob olmak üzere dört lobtan oluşur (Şekil 2.2). Karaciğer tarafından pek çok plazma proteinleri üretilir ve salgılanır.



Şekil 2.2 Karaciğer (<http://www.turkkaracigervakfi.org>)

Karaciğer fibröz yapıda bir kapsül ile (Glisson kapsülü) sarılmıştır ve kapsül karaciğer dokusunun içine doğru yayılır. Karaciğeri oluşturan hücreler altıgen şekilli lobüller (lobuli hepatis) şeklinde düzenlenmiştir. Karaciğer hücreleri, lobüller içinde periferden merkeze doğru yönelen kordonlar oluştururlar. Hücre kordonları birbirleriyle serbest birleşmeler yaparak labirent şeklinde bir yapı oluştururlar. Hücre kordonları arasında karaciğer sinüzoidleri bulunur. Karaciğer sinüzoidleri, lobül kenarından vena centralise doğru kan akımı olan özel kapillerlerdir. Sinüzoidler, endotel ve makrofaj tipi hücrelerle tek sıra hücreler ile döşeli bir yapıdadır. Sinüzoid duvarı kesintisiz bir duvar yapısı değildir. Karaciğer hücreleri ile sinüzoidler arasında dar bir aralık (Disse aralığı) bulunur (Şekil 2.3).



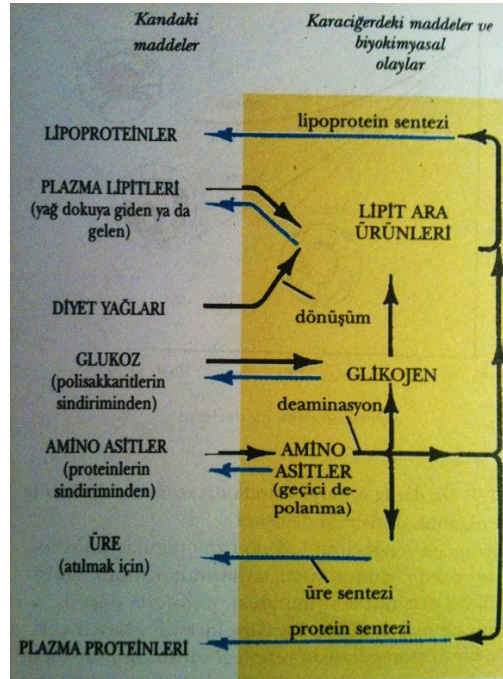
Şekil 2.3 Sinüzoidler ve disse aralığı (www.vetmed.vt.edu/education/curriculum)

Disse aralığı, karaciğer parankim hücreleri ile sinüzoidler arasında yoğun madde geçişinin gerçekleştiği bir aralıktır. Kan ile hepatosit arasındaki madde alışverişi bu boşluklarda gerçekleşir. Madde geçişine uygun hücreler arası matriks, kollagen lifleri ve retikulum liflerini içerir. Disse aralığında yağ depolayan hücreler (İto hücreleri) bulunur. Bu hücrelerde yağda eriyen A vitamini depolanır (Aksoy 1977, Yurdakul vd. 2005).

Kupffer hücreleri hepatositlere yakın komşulukta, sinüzoidlere yerleşmiş hücrelerdir. Çok sayıda yalancı ayak şeklinde belirgin uzantılara sahip hücrelerdir. Bu uzantılar hücreye yıldız şeklinde bir görünüm kazandırmaktadır. Hücre uzantıları sinüzoidin karşı tarafındaki hepatositlere ve diğer Kupffer hücrelerine doğru uzanmaktadır. Çekirdekleri büyük ve merkezi yerleşmiştir. Sitoplazmalarında primer ve sekonder lizozomlar ve çekirdeğe yakın yerleşimli Golgi aparatı bulunmaktadır (Çetin vd. 2008).

Hepatositler, karaciğer dokusunun kendisine özgü işlevlerini yapan hücrelerdir. Hepatositler, bir hücrede bulunabilecek bütün organellere sahiptir ve özellikle granüllü endoplazmik retikulumları iyi gelişmiştir. Hepatositler, karaciğere kan yoluyla gelen maddeleri, çeşitli biyokimyasal işlemlerden geçirerek molekül yapılarının değişmesine neden olur. Bu işlemlerin hücrede gerçekleştiği yer çoğunlukla granüllü endoplazmik retikulumdur. Hepatosit, kendisi için gerekli proteinlere ek olarak, salgılamak üzere çeşitli plazma proteinlerini de (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüllü endoplazmik retikulum keselerine bağlı ribozomlarda gerçekleşir. Genellikle hepatosit proteinleri salgı granülleri halinde sitoplazmada depolanmaz, sürekli olarak kan dolaşımına verilir (Olson 1984, Aytekin ve Solakoğlu 2006).

Karaciğer, derişimleri çok yükseldiği zaman fazla şekerleri, yağları ve amino asitleri kandan uzaklaştırır. Dolaşımdaki miktarları çok düştüğü zaman ise onları tekrar kana verir. Karaciğer lipoproteinleri, plazma lipitlerini ve plazma proteinlerini sentezler. Karaciğer bir çok maddeyi etkisiz hale getirir ve üreyi oluşturur (Şekil 2.4), (Demirsoy vd. 2004).



Şekil 2.4 Karaciğerdeki kimyasal yollar (Demirsoy vd. 2004)

### 2.2.1 Karaciğerin görevleri

Karaciğerin birçok görevi vardır. Bunlardan bazıları:

1. Yeni alyuvarları yapar ve yaşlılarını ortadan kaldırır. Yaşlanan alyuvarlar karaciğerde tahrip edilerek hemoglobinden safra pigmentleri ve yeni alyuvarların hemoglobini yapılıır. Kansızlık halinde alyuvarları meydana getirir. Sinüslerin çeperindeki retikülo-endotel hücreleri ile yeni alyuvarları yapar, Kupffer hücreleri ile parçalar.
2. Plazma proteinlerinin oluşumunda görevlidir. Gama globulinlerin bir bölümü dışında hemen hemen bütün plazma proteinleri karaciğer hücrelerinde yapılırlar. Plazma proteinlerinin azalması karaciğer hücrelerinde mitozu hızlandırarak karaciğerin büyümesine yol açar.
3. Safraı üretir ve salgılar. Safra artık maddelerin kokuşmasını önler ve zararlı bakterilerin üremesine engel olabilecek antiseptik bir görev yapar.
4. Karbonhidrat metabolizmasını düzenler. İnsulin yardımıyla kandaki glukozu glikojen şeklinde depolar, gerektiğinde glukagon yardımıyla glikojeni tekrar yıkarak kana verir. Glikozun depolanandan fazlasını başka besinlere (yağ) dönüştürür.
5. Vitamin üretir ve depolar. Provitamin halindeki karoteni A vitaminine dönüştürür (Kupffer hücrelerinde yapar). A, D, E ve K vitaminleri ile demir ve bakır gibi bazı minarelleri depolar.
6. Protein metabolizmasını düzenler. Proteinlerin yapısında yer alan 20 çeşit amino asidin 12 çeşidini sentezler ve depolar. Fazla proteini yağlara çevirir.
7. Yağ metabolizmasını düzenler. Karbonhidrat ve proteinlerin fazlasını yağa çevirir, yağları depolar.
8. Üre sentezini gerçekleştirir. Dokularda amino asitlerin yıkımıyla oluşan ve çok zehirli bir madde olan  $\text{NH}_3$ 'ü daha az zararlı üreye dönüştürülür.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  ile birleşir.

9. Pıhtılaşmada rol oynar. Kanama sırasında fibrinojeni, pıhtılaşmayı sağlayan protrombini ve diğer pıhtılaşma faktörlerini üreterek kana verir. Kanın damar içerisinde pıhtılaşmasını engelleyen heparini meydana getirir.

10. Toksik maddeleri etkisiz hale getirir. Besinlerle ve kanla gelen toksik (zehirli) maddeleri parçalar (Kupffer hücreleri).

11. Karaciğer hücreleri ısı üreterek kana verirler ve vücut ısısının düzenlenmesine etki ederler.

12. Karaciğer hücreleri lenf ve antikorların büyük bir kısmının yapımını üstlenerek savunmaya katkıda bulunurlar (Demirsoy vd. 2004, www.biyolog.com), (Şekil 2.5).

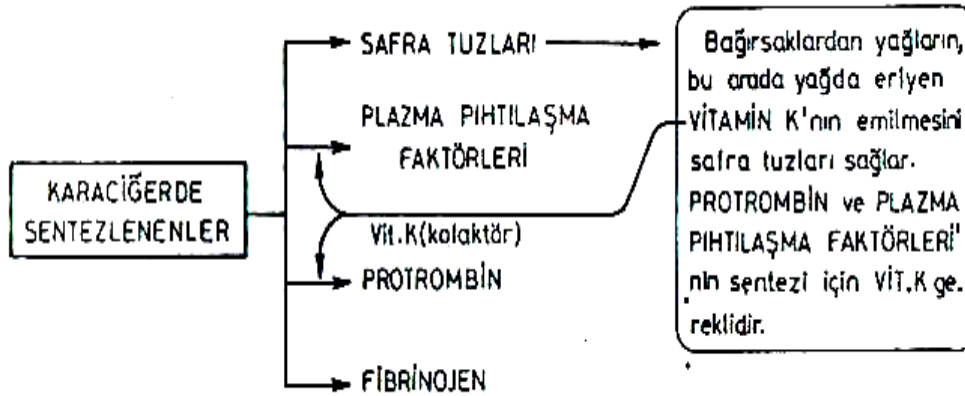


Şekil 2.5 Karaciğerin görevleri (<http://www.karacigernakliturkiye.com>)

### 2.2.2 Kan pıhtılaşması ile karaciğerin ilişkisi

Kan ile taşınan koagülasyon maddelerinin çoğu karaciğerde yapılır. Bu maddeler fibrinojen, protrombin, akseleratör globulin, pıhtılaşma faktörü VII ve birçok diğer önemli koagülasyon faktörleridir. Karaciğerde depolanan K vitamini, kanın pıhtılaşma faktörlerinden II, VII, IX ve X'un üretiminde kullanılır. K vitamini yokluğunda bu maddelerin konsantrasyonu çok düştüğünden pıhtılaşma hemen hemen tamamen ortadan kalkar (Hadler ve Bukle 1992).

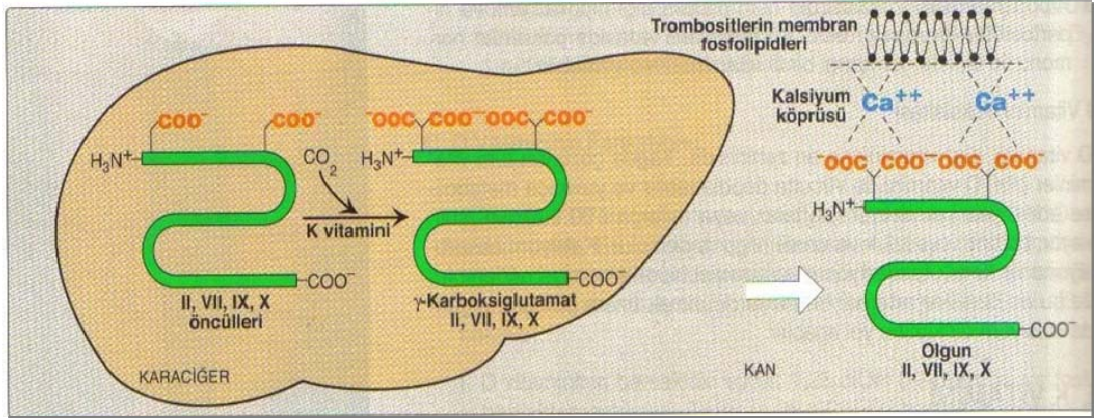
Karaciğerde plazma proteinlerinin yapım hızı günde maksimum 15-50 gram olabilir. Bu nedenle vücutta plazma proteinlerinin yarısı kaybolda bile bu bir iki haftada yerine konabilir. Plazma proteinlerinin azalması karaciğer hücrelerinde mitozu hızlandırarak karaciğerin büyümesine yol açar. Bu sırada kanda plazma proteinlerinin konsantrasyonu normale ulaşana kadar proteinler hızla karaciğerden kana verilir (Çavuşoğlu 1996), (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Kan pıhtılaşmasında karaciğerin görevi (Noyan 1997)

### 2.3 K Vitamini (Naftokinonlar)

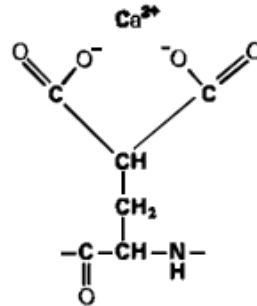
K vitamini bağırsaktaki bakteriler tarafından üretilir ve karaciğer tarafından depolanır. K vitamini yağda çözündüğü için bağırsaklarda emildikten sonra lipitlerle birlikte lenf ve kan dolaşımına katılır. K vitamini, karaciğerde, kanın pıhtılaşma faktörlerinden faktör II (protrombin), faktör VII (prokonvertin), faktör IX (plazma tromboplastin komponenti) ve faktör X'un (Stuart faktörü) oluşmasında gereklidir. Bu faktörler inaktif ön maddeler (zimojenler) olarak sentez edilirler. Biyolojik olarak aktif hale çevrilmeleri K vitamini varlığına bağlıdır (Altınkurt 1981), (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Pıhtılaşma faktörlerinin K vitamini ile sentezlenmesi (Ulukaya 2007)

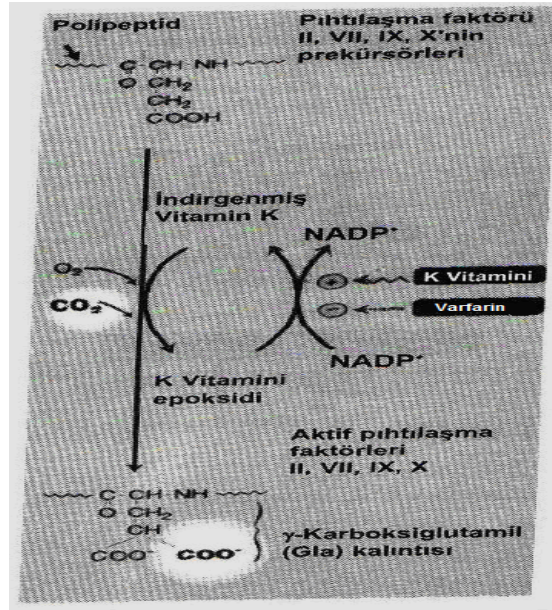
K vitamini, K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerinin (II, VII, IX, X) amino ucunda yer alan spesifik glutamik asite bir karboksil grubu ekleyen hepatik bir enzim olan  $\gamma$ -karboksilazın kofaktörüdür. Pıhtılaşma faktörlerinin  $\text{Ca}^{++}$ 'a ve fosfolipit membranlara bağlanabilmeleri için, bu faktörlerin  $\gamma$ -karboksilasyonu gereklidir.

K vitamininin en iyi incelenen fonksiyonu, protrombin (faktör II) sentezini etkilemesidir. Protrombin (faktör II) karaciğerde sentez edildikten sonra glutamik asit kalıntıları (Şekil 2.8), K vitaminine bağımlı spesifik bir karboksilaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonda  $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntısına dönüştürülür (Dikmen ve Özgünen 2004), (Şekil 2.9).



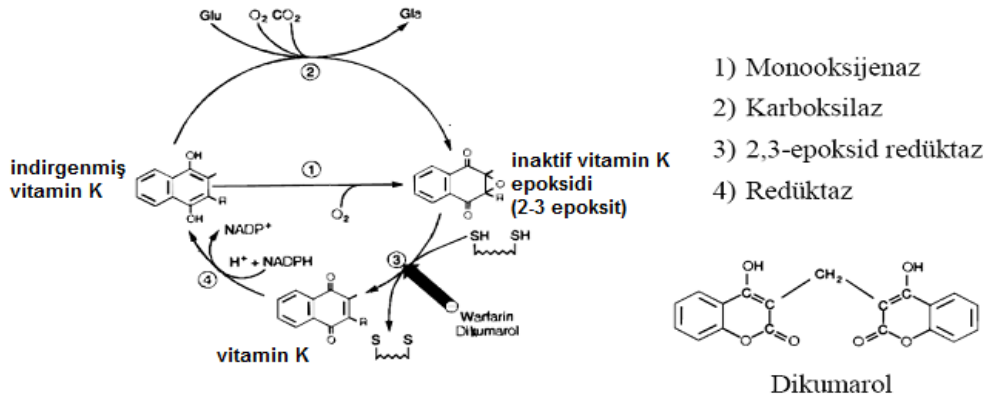
Şekil 2.8  $\gamma$ -karboksi glutamik asit formülü (www.mustafaaltinisik.com)

Protrombinde (faktör II)  $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılarında 10 tane bulunur. Bunlar, protrombinin biyolojik rolü için gerekli bir protein fosfolipit kalsiyum etkileşimi ile kalsiyumun şelatlanmasını sağlarlar (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Protrombindeki glutamik asit kalıntılarının  $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılara dönüştürülmesi (Zergeroğlu ve Zergeroğlu 2001)

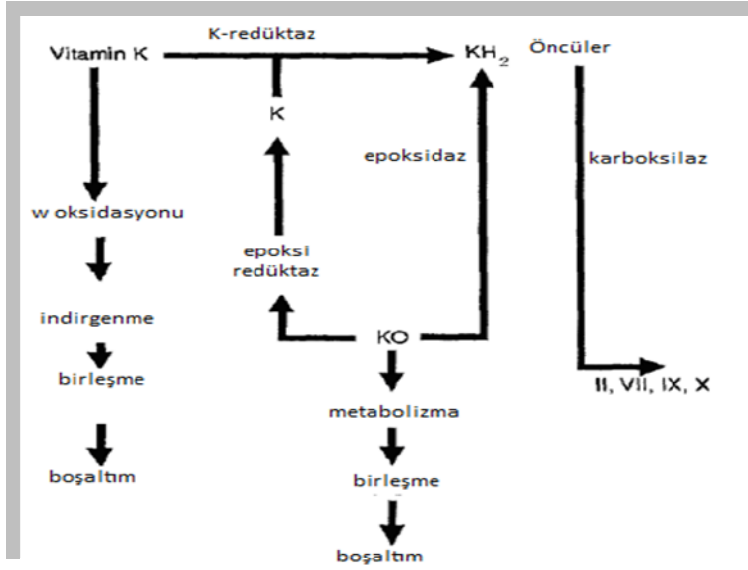
Protrombindeki glutamik asit kalıntılarının  $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılara dönüştürülmesi, moleküler oksijen, karbondioksit ve K vitamininin hidrokinon şeklinin varlığına gereksinim gösterir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 K vitamini hidrokinonunun protrombindeki glutamik asit kalıntılarının  $\gamma$ -karboksi glutamik asit kalıntılarına dönüştürülmesindeki rolü ve dikumarol yapısı (www.mustafaaltinisik.com)

K vitamini antagonisti 4-hidroksi dikumarin (dikumarol) tipi ilaçlar, K vitamininin yerini tutarak K vitamini hidrokinonunun rejenere olduğu döngüde görevli 2,3-epoksid redüktazı inhibe ederler ve döngüyü kırarlar; K vitamini hidrokinonunun rejenere olmasını ve dolayısıyla pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX ve X'un aktiflenmesini önlerler ve böylece antikoagulant etki gösterirler (www.mustafaaltinisik.com).

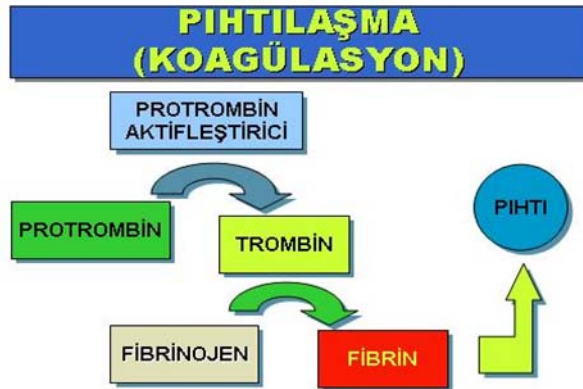
K vitamini antagonistleri, koroner damarların trombozu tehlikesindeki gibi kanın pıhtılaşma kabiliyetinin azaltılmasının istendiği hallerde tedavi amacıyla antikoagülant olarak kullanılırlar. K vitamininin tedavide önemli bir yararı, dikumarol tipi ilaçlar ile zehirlenmeye karşı antidot olmasıdır. K vitamininin kinon şekilleri, inhibisyona uğramış 2,3-epoksid redüktazı devre dışı bırakarak K vitamininin aktif hidrokinon şekillerinin potansiyel bir kaynağını sağlarlar. Bu nedenle kumarin ilaçlarına karşı antidot olarak kullanılırlar. Kumarin etkisi ile protrombin zamanı uzar ve uzamış olan protrombin zamanı, karaciğer fonksiyonu normal ise K vitamini uygulandıktan 12-36 saat sonra normale döner (Ulukaya 2007), (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 K vitamininin fizyolojik etkisi ve metabolizma arasındaki ilişki (Park 1979)

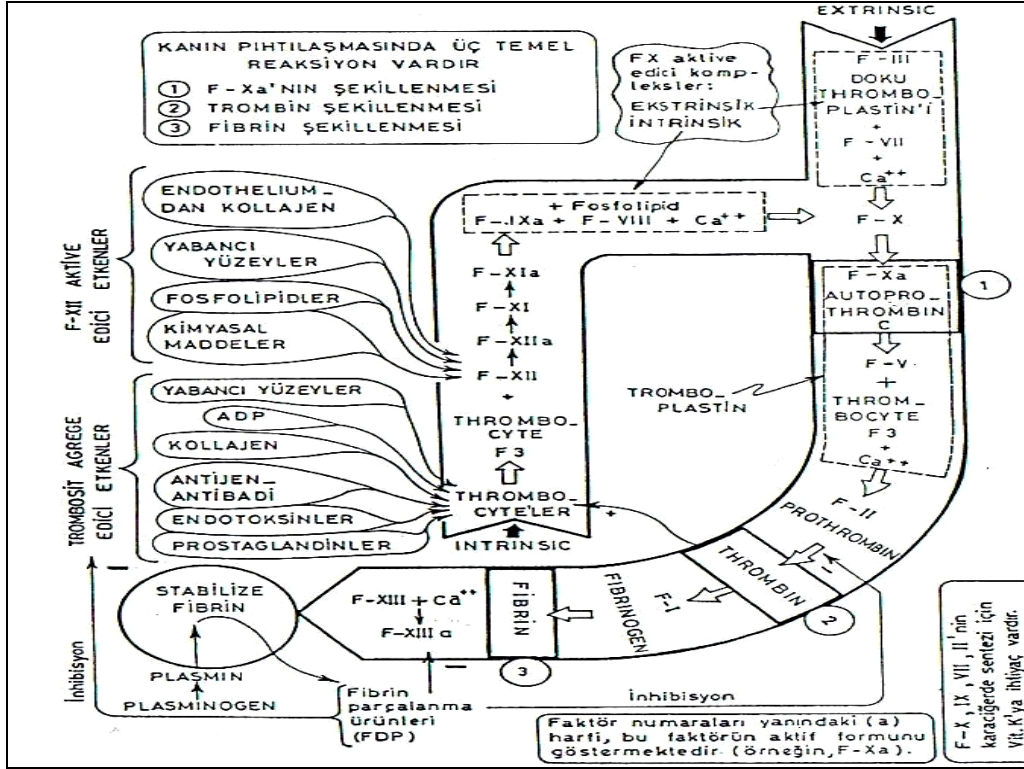
## 2.4 Pıhtılaşma mekanizması

Kanın pıhtılaşmasındaki ana olay, çözünebilir plazma proteini olan fibrinojenin çözünemeyen iplikçikler halindeki fibrine dönüşmesidir (Noyan 1997, Dikmen ve Özgünen 2004), (Şekil 2.12).



Şekil 2.12 Genel kan şeması (acilveilkyardim.com)

Bu olayda daha önce inaktif olup uyarılma ile aktif hale dönüşen plazma proteinleri önemli rol oynar. Damarda yaralanmaya neden olan bir doku hasarında kanın pıhtılaşma mekanizması kısaca şöyle işler: Hasarlı bölgede damarın iç yüzünü döşeyen endotel hücrelerinden pek çok kimyasal faktör (ADP, doku faktörü ve prostasiklin) ve lokal hormonlar (endotelinler) salgılanır. Salgılanan endotelin, damarın büzülmesi için damar duvarındaki düz kasları, onarımı hızlandırmaları amacıyla bölünmeleri için endotel hücrelerini, düz kas hücrelerini ve fibroblastları uyarır. Damarların negatif yüklü iç yüzü, kesilmeyle pozitif yüke dönüşür ve damar yapışkan olur. Yaklaşık 30 dakika kadar süren bu ilk pıhtılaşma evresine damar evresi denir. Damarın elektrik yükündeki değişme, trombositlerin hızlı bir şekilde gidip o bölgeye yapışmasına neden olur ve böylece trombosit evresi denen ikinci bir evre başlar. Trombosit agregasyonu hasar oluşuktan 12 saniye sonra başlar. Hasarlı bölgeye gelen trombositler aktive olur. Aktive olan trombositlerden hızlı bir şekilde sentezlenen pek çok faktör (ADP, tromboksan, serotonin, kalsiyum iyonları ve diğer faktörler) salgılanır. Trombosit, mast hücreleri ve bazofillerden salınan serotonin, kesiğin bulunduğu yerdeki kan damarlarının büzülmesine yol açar. Trombositler yalancı ayaklarını hasara uğramış endotel hücrelerinin aralarına sokarak, oluşturdukları kütlelerin zedelene bölgeye daha sağlam bir şekilde tutunmasına neden olur. Zedelene yerdeki trombosit tıpası oldukça yumuşaktır. Bu haliyle kan basıncına ve dış etkilere fazla dayanamaz. Dayanıklı duruma gelmesi gerekir. Bunun için çeşitli pıhtılaşma faktörleri (faktör III, IV, V, VII, VIII, IX, X ve XII) devreye girer. Kanın pıhtılaşması sırasında ilk meydana gelen tromboplastindir. Tromboplastin hem kan pulcuklarından hem de yaralanmış dokudan (doku tromboplastini “faktör III”) salınır (Akay 2006), (Şekil 2.13).

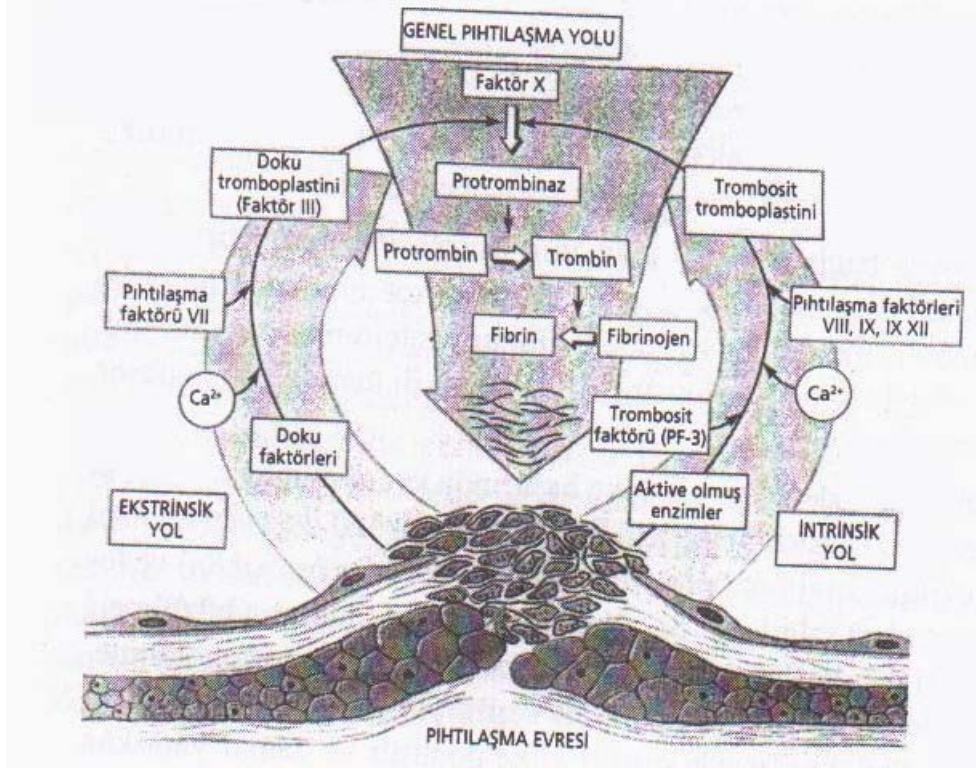


Şekil 2.13 Kanın pıhtılaşma reaksiyonları (Noyan 1997)

Tromboplastin iki yoldan meydana gelir;

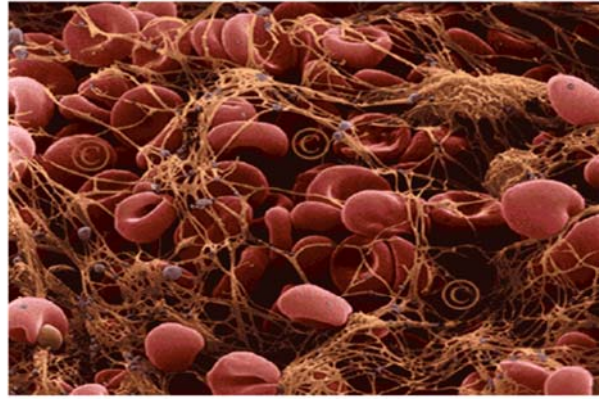
- Ekstrinsik sistem (yaralanmış dokudan)
- İntrinsik sistem (kandaki mevcut maddelerden)

Kanda bulunan bazı faktörlerin etkisiyle inaktif şekilden aktif şekle dönüştürülür. Tromboplastin, faktör X ile protrombinazı uyarır. Bu da kalsiyum iyonlarının varlığında karaciğerde yapılan ve kana verilen bir  $\alpha$ -globulin olan protrombinin trombine çevirir. Trombin yine kalsiyum iyonları varlığında karaciğerde yapılarak kana verilen fibrinojeni fibrine dönüştürür (Noyan 1997, Akay 2006), (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 Genel pıhtılaşma yolu (Akay 2006)

Fibrin ince iplikçikler halinde bir ağ oluşturur. Bu iplikçikler çok yapışkandır; birbirlerine, kan hücrelerine ve dokuya yapışarak hemostazı sağlar. Fibrin iplikçikleri, aralarında tutunmuş kan hücreleri ve trombositler pıhtıyı meydana getirir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15 Pıhtılaşmış bir kanda fibrin arasında alyuvarlar (fenokulu.net)

Pıhtı oluştuktan bir saat sonra yavaş yavaş sıkışmaya başlar ve başlangıçtaki hacminin yarısı kadar küçülür. Bu arada içte kalan serum da dışarı çıkarılır. Trombosit sayısı az olan kanın pıhtısı iyi sıkışmaz. Pıhtının sıkışması, trombositlerdeki aktin ve miyozin filamentlerinin polimerizasyonu ile sağlanır (Demir 2006).

## 2.5 Difenacoum

### 2.5.1 Antikoagülant rodentisitler

Antikoagülant rodentisitler birinci ve ikinci nesil olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Birinci nesil: Warfarin, Chlorophacinone, Diphacinone, Coumatetryl, Pindone

İkinci nesil: Difenocoum, Bromadiolone, Flocoumafen, Brodifacoum

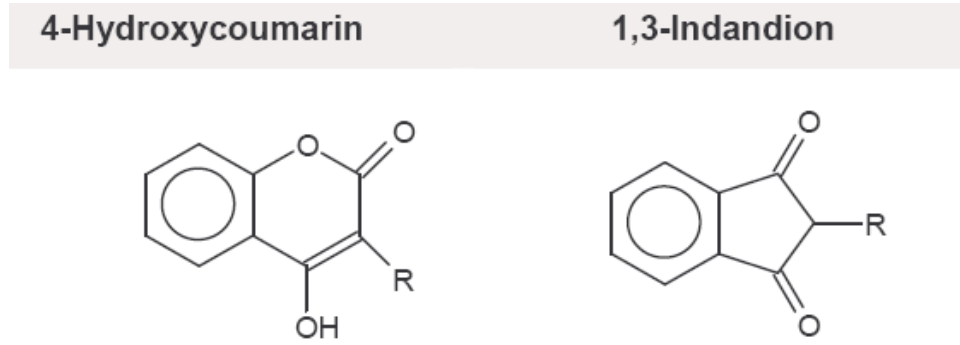


Şekil 2.16 Çeşitli fare zehirleri (granül, mum blok, pasta, sıvı olarak) (<http://www.deanpestcontrol.com/product.asp>)

Warfarin gibi birinci nesil antikoagülantlar 1950'lerden itibaren yaklaşık ilk 10 yıl başarıyla kullanılmıştır. Ancak daha sonra rodentlerde bu rodentisitlere karşı bir direnç geliştirdiği tespit edilmiştir (Yalınz ve Tokcan 2006).

Difenacoum'un da yer aldığı ikinci nesil antikoagülanların geliştirilmesiyle dirençli populasyonların kontrolü sağlanmıştır. İkinci nesil antikoagülan rodentisitlerden difenacoum, flocoumafen ve brodifacoum diğerlerine göre daha toksiktir ve tek doz yeterli olabilmektedir (Guthrie 1972).

Rodentisit olarak kullanılan en önemli bileşikler 4-hidroksikoumarin yapısındaki warfarin, difenacoum, bromadiolone, flocoumafen, brodifacoum ve coumatetralil; indandion yapısındaki diphacinone, pindone ve chlorphacinone'dir (Çetin ve Aksu 2000), (Şekil 2.17).



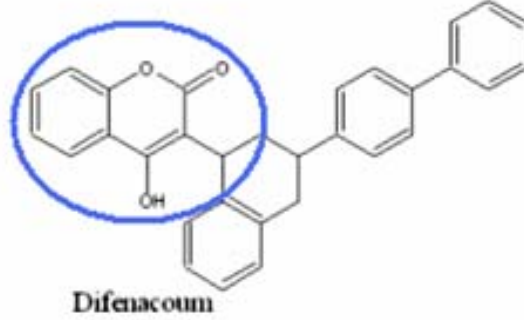
Şekil 2.17 4-Hidroksikoumarin ve 1,3 İndandion yapıları (Grobosch vd. 2005)

Warfarin (% 0.025 ve % 0.5 konsantrasyonlarında), süperwarfarin olarak adlandırılan brodifacoum ve difenacoum ile chlorphacinone (% 0.005 ila % 2 konsantrasyonlarında) preparatları şeklinde rodentisit olarak satılır (www.sizce.biz/DEPO/Dersler/.../kim.svs.aj.ve\_pestisitler.doc).

### 2.5.2 Difenacoum'un tanımı

Difenacoumun rodentisit özelliği 1975 yılında keşfedilmiştir. Rodentisit olarak üretilen yemlerde bulunma oranı genellikle %0,005'tir. Bilinen isimleri Compo, Diphenacoum,

Matrak, Neosorexa, Rastop, Ratak, Ratrick ve Silo'dur. IUPAC isimlendirmesi ise 3-(3-biphenyl-4-yl-1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthyl)-4-hydroxycoumarin'dir (WHO 1995). Molekül formülü: C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> tür. Hidroksikoumarin kimyasal ailesinin üyesidir (Sethi 2005), (Şekil 2.18).



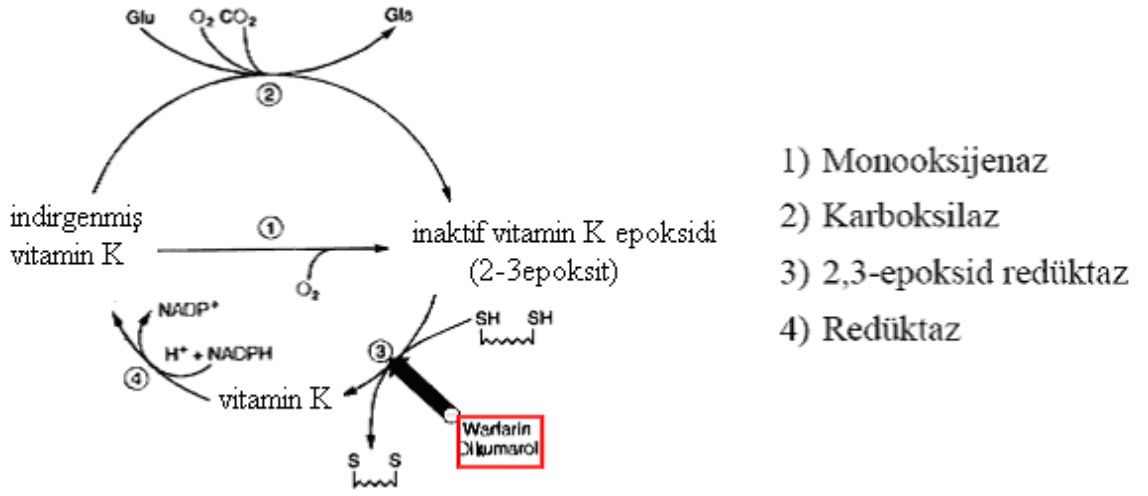
Şekil 2.18 Difenacoum'un moleküler yapısı (Sethi 2005)  
(halka içinde 4-hidroksi kumarin yapısı gösterilmiştir.)

Difenacoum suda düşük çözünürlük ve düşük seviyede uçuculuk gösterir. Molekül ağırlığı 444 g/mol, erime noktası 216<sup>0</sup>C'dir. Suda çözünürlüğü 20<sup>0</sup>C 0,031 mg/L, buhar basıncı ise 20<sup>0</sup>C de 1,2x10 mmHg'dir. Buhar basıncı düşük olduğu için atmosfere girişi beklenmez. Oral olarak alındığında sıçanlarda lethal dozu (L50) vücut ağırlığına göre 1,8 mg/kg, tavşanlarda 2,0 mg/kg, memelilerde ise 50-100 mg/kg'dır. Dermal olarak alındığında ise sıçan ve tavşanlarda 50 mg/kg'dan fazladır (Norström vd. 2008).

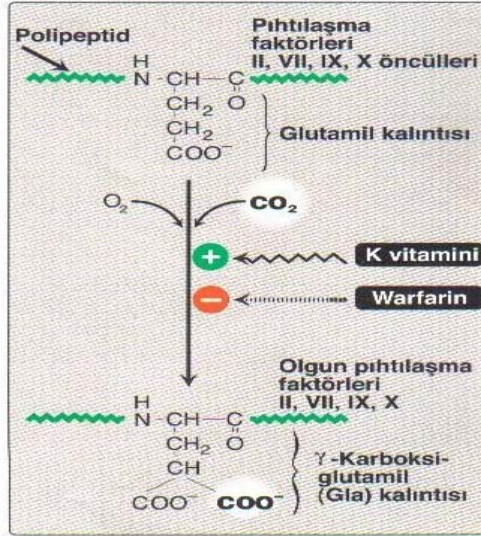
Difenacoum'un karaciğer ve böbrekte yarılanma ömrü 118-120 gün iken pankreasta yarılanma ömrü daha uzundur (182 gün). Antidotu K1 vitamini'dir (Sethi 2005).

### 2.5.3 Difenacoum'un etki mekanizması

Protein yapısındaki pıhtılaşma faktörlerinin çoğunun karaciğerde sentezlenebilmeleri için kofaktör olarak K vitamini gereklidir. Bu faktörler K vitaminine bağımlı posttranslasyonel modifikasyona uğrarlar ve glutamik asit bileşenleri karboksillenerek γ-karboksi glutamik aside çevrilir (Şekil 2.19, Şekil 2.20).



Şekil 2.19 4-Hidroksikumarin (dikumarol) türevlerinin pıhtılaşma faktörlerinin yapımı sırasında K vitamini epoksidinin K vitaminine dönüşünü engellemesi (mustafaaltinisik.com)



Şekil 2.20 Glutamatın karboksilasyonu ile  $\gamma$ -karboksiglutamat oluşumu (Ulukaya 2007)

Bu reaksiyon K vitaminine bağımlı karboksilaz glutamik asidin yeni COOH grubunu oluşturmak için CO<sub>2</sub>'yi kullanır ve kofaktör olan indirgenmiş K vitamini, K vitamini epoksid redüktazı yardımıyla epoksitten tekrar elde edilir. Dikumarol türevleri bu enzimi

inhibe eder.  $\gamma$ -karboksiglutamil bileşeni kalsiyum iyonu bağlar ve hücre membranı ile etkileşim için mutlaka bulunması gereklidir. Dikumarol etkisi,  $\gamma$ -karboksiglutamil yan zinciri bulunmayan, inaktif pıhtılaşma faktörlerinin yapımı ile sonuçlanır. Dikumarol türevlerinin etkileri bunların organizmaya alınmasından 8-12 saat sonrasına kadar gözlenmez. Dikumarol türevlerinin antikoagülant etkileri K vitamini ile önlenebilir. Ancak K vitamininin düzeltici etkisi 24 saat sonra ortaya çıkar. Dikumarol türevleri varlığında, pıhtılaşma faktörleri üretilmekte; ancak  $\gamma$ -karboksilaz ile fonksiyonel formlarına dönüşmeleri inhibe edilmektedir (Zergeroğlu ve Zergeroğlu 2001, Dikmen ve Özgüven 2004).

Mosterd ve Thijssen (1991) brodifacoum'un sıçan karaciğerindeki K vitamini döngüsüne ve kan pıhtılaşması üzerine etkisini 30 gün boyunca incelemişlerdir. Tek oral doz brodifacoum uygulanmasından sonra PCA 3-4 gün boyunca %35 düşmesi gözlenmiştir. Bu sürenin sonunda yeniden aynı seviyeye ulaştığı görülmüştür. K vitamini epoksi-redüktaz enziminin ise 2-7 gün arasında %25 azaldığı gözlenmiştir.

İndandione türevlerinden diphacinone ve pindone, kumarin türevlerinden warfarin ve brodifacoum'un sıçan karaciğerlerindeki birikme süreleri araştırılmıştır. Sıçanlara LD<sub>15</sub> antikoagülantlar uygulanmıştır. 24 hafta sonunda sıçanlardan alınan karaciğer örnekleri incelendiğinde pindone ve diphacione kalıntıları bir hafta sonunda yok denecek kadar az miktarda gözlenmiştir. Warfarin ve brodifacoum'un ise 12 hafta sonunda bile kalıntıları görülmüştür. Bu çalışmada kumarin türevi olan antikoagülantlar indandion türevleri antikoagülantlara göre etkili olduğu tespit edilmiştir (Fisher vd. 2003).

Fransa'da yapılan bir araştırmaya göre evcil kedi ve köpeklerle 1-4 yaş aralığındaki çocukların rodentisitlere kazara maruz kalma oranı çok yüksek bulunmuştur. Çocuklarda bu oran %41 iken evcil hayvanlarda %85'tir (Berny vd. 2010).

Albert vd. (2009) ikinci nesil antikoagülantların hedef olmayan omurgalılardaki etkilerini incelemişlerdir. İkinci nesil antikoagülantlar uzun yarı ömürlü ve toksik

maddelerdir. Rodentisitlere maruz kalan rodentlerle beslenen 3 baykuş türünün (peçeli baykuş, çizgili baykuş ve büyük boynuzlu baykuş) karaciğerlerinde antikoagülant kalıntılarının varlığını tespit etmişlerdir.

Shore vd. (1999) İngiltere’de ikinci nesil antikoagülantların hedef olmayan omurgalılarıdaki etkilerini incelemişlerdir. Kışın tarla fareleriyle beslenen sansarlar da ikinci nesil antikoagülantlardan etkilenmiştir. Yapılan çalışmada sansarların %26’sının karaciğerinde ikinci nesil antikoagülant rodentisitlerin kalıntılarının bulunduğu saptanmıştır.

Lund (1981), birçok rodent türüyle yaptığı çalışmasında bir günlük %0,025 warfarin, %0,005 difenacoum, %0,005 brodifacoum içeren yemlerle beslenme sonucu brodifacoum ile en fazla mortalite, warfarin ile en düşük mortalite gözlenmiştir. Buna sebep olarak rodentlerin warfarine karşı direnç gösterdikleri düşünülmektedir.

Redfern ve Gill (1978) sıçanlarla yaptıkları çalışmada sıçanların difenacouma karşı dirençsiz olduklarını ortaya koymuşlardır.

VKORC1 geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu canlılarda antikoagülant rodentisitlere karşı direncin meydana geldiği pek çok araştırmada ortaya konmuştur (Ishizuka vd. 2008, Endepols vd. 2011).

Çeşitli antikoagülant rodentisitlere tek oral uygulamayla maruz kalan farelerin karaciğerlerinde ve plazmalarında 21 gün sonra bulunan antikoagülant rodentisit miktarına göre yarı ömür tespit edilmiştir. Bunun sonucunda ise birinci nesil antikoagülant rodentisitlerin yarı ömürlerinin ikinci nesile göre çok daha az olduğu tespit edilmiştir (Vandenbroucke vd. 2008).

Rowe vd. (1981) Difenacoum ve Bromadiolone ile yaptıkları çalışmada bu iki maddenin *Mus musculus* üzerine hemen hemen eşit etkilerinin olduğunu ve aynı derecede mortaliteye sebep olduğunu ortaya koymuşlardır.

Antitrombotik bir ilaç olarak kullanılan Warfarin tedavisinde gıda etkileşmesi sonucu warfarinin etkilerinin değiştiği araştırılmıştır. Warfarin gıda etkileşmesi 3 farklı şekilde ortaya çıkmaktadır:

-Çok yüksek oranda K vitamininden zengin diyetle beslenmesine bağlı gelişen kazanılmış, geçici warfarin direnci,

-Yüksek oranda K vitamini diyetine bağlı düşük antikoagülant etki,

-Düşük oranda K vitamini diyetine bağlı yüksek antikoagülant etki ortaya çıkmaktadır (Göz 2005).

Ganser vd. (2003), *Nerodia fascita fascita* türü su yılanının kronik dozda iz elementlerle (arsenik, kadmiyum, selenyum, strontiyum, vanadiyum) işlem gördüğünde karaciğer sinüzoidlerinde fibrozis ve sinüzoidlerde kollagen lif artışı gözlemişlerdir.

Zararsız vd. (2005), yaptıkları çalışmada formaldehitin sıçan karaciğerinde oluşturduğu hasarlarını incelemişlerdir. Sıçanların karaciğerinde genişlemiş sinüzoidlerin kanla dolu olduğunu gözlemişlerdir.

Arıcı (2008), ilaçların yan etkilerine bağlı olarak karaciğer hücrelerinde apoptozis ve nekrozun meydana geldiğini belirtmiştir.

Karaciğerle ilgili bu çalışmalar göz önünde bulundurularak, bu tez çalışmasında Difenacoum'un sıçan karaciğer hücrelerine etkileri TEM düzeyinde incelendi.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Deney hayvanları**

Çalışmada kullanılan erkek sıçanlar Refik Saydam Hıfzıssıhha Müdürlüğü Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden alındı. Ağırlıkları 200-250 g olan toplam 20 adet sıçanın 5 tanesi kontrol grubu 15 tanesi de Difenacoum muameleli grup olarak değerlendirildi. Deneylere başlamadan önce sıçanlar yedi gün karantinaya alındı (Hadler ve Bukle, 1992). Hayvanların her biri ayrı kafeslerde olmak üzere uygun laboratuvar şartlarında (12 saat aydınlık-12 saat karanlık fotoperiyotta, % 65 nispi nemde ve oda sıcaklığında) tutuldu (Mosterd ve Thijssen 1991).

#### **3.2 Hayvanlara Difenacoum'un uygulanması**

DMSO/polietilenglikol-400/su (0.02ml/1ml/1ml) çözeltisiyle hazırlanan Difenacoum'un 0.8 mg/kg'lık tek dozu sıçanlara oral yoldan gastrik gavaj ile verildi. Aynı zamanda kontrol grubu hayvanlara 1ml/kgBW DMSO/polietilenglikol-400 /su bir defa verildi (Mosterd ve Thijssen, 1991). Difenacoum uygulanan sıçanlardan 1 gün (24 saat), 4 gün ve 7 gün sonra eter anestezisi altında karaciğer dokuları alındı. Kontrol grubu hayvanlardan da Difenacoum'un deney grubu hayvanlarına uygulanmasından 7 gün sonra eter anestezisi altında karaciğer örnekleri alındı (Hadler ve Bukle 1992).

#### **3.3 Elektron mikroskobu**

Kontrol grubu ve Difenacoum uygulanan sıçanlardan eter anestezisi altında alınan karaciğer örnekleri aşağıdaki işlemlerden geçirilerek elektron mikroskobunda incelenmeye hazırlandı:

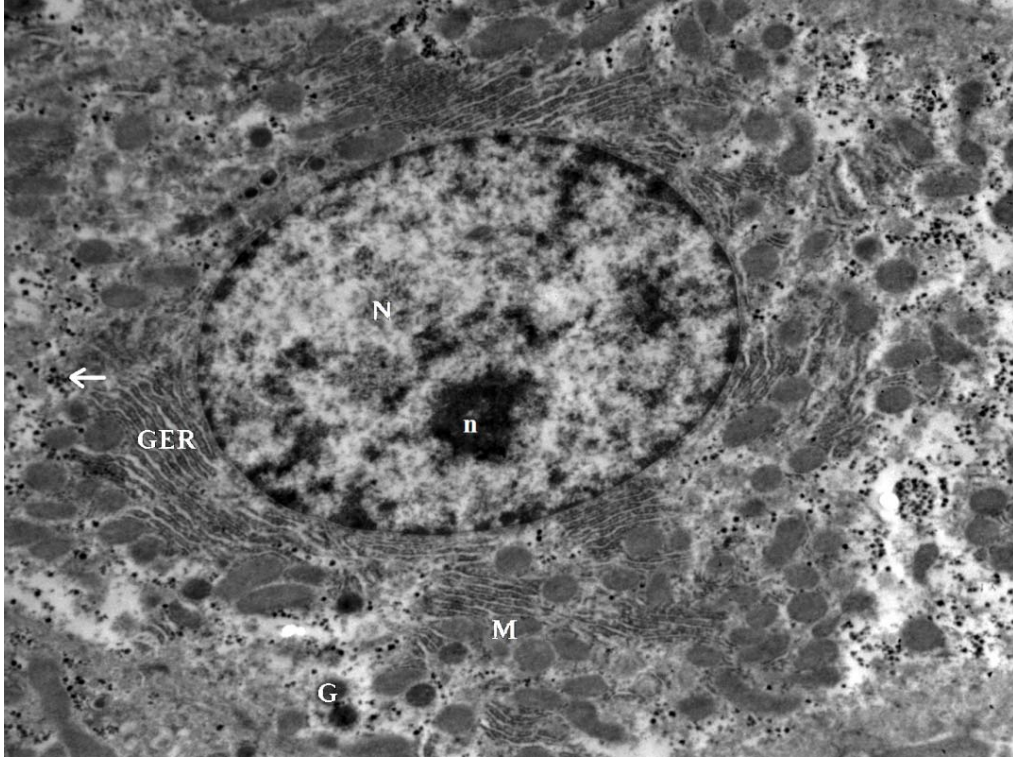
- i. Deney hayvanlarından alınan örnekler, 0.1 M Sodyum fosfat tamponunda, pH 7.4te yıkandı.

- ii. Yıkanan örneklerin %2.5' luk Gluteraldehitte (0.1 M Sodyum fosfat tamponunda hazırlanmış) ilk tespiti yapıldı (2 saat, +4 °C'de).
- iii. İlk tespit işleminden sonra örnekler aynı tampon ile yıkandı (1 saatte 3 kez solüsyon değişimi yapılarak yıkandı).
- iv. Örneklerin, % 1'lik Osmium tetroksit çözeltisi ile ikinci tespiti yapıldı (1 saat, +4 °C'de).
- v. Osmium tetroksit çözeltisi ile yapılan tespitten sonra örnekler, Sodyum fosfat tamponu ile 1 saat yıkandı.
- vi. Fiksasyon işlemlerinden sonra, örnekler çeşitli derecelerdeki alkol serilerinde (%70'lik, %80'lik, %90'lık %100'lük) 5'er dakika bekletilerek dehidre edildi.
- vii. Dehidrasyondan sonra, gömme ortamına geçiş aşamasında,  
3 hacim Propilen oksit+1 hacim Glauert'in (1958) Araldit CY212 gömme ortamı,  
1 hacim Propilen oksit+1 hacim Araldit CY212 gömme ortamı ve  
1 hacim Propilen oksit+3 hacim Araldit CY212 gömme ortamı karışımında 30'ar dakika bekletildi.
- viii. Örnekler Araldit CY212 gömme ortamına alınıp 12 saat 45 °C'de ve 12 saat 65 °C'de bekletildi.
- ix. Gömme ortamında bloklanmış örneklerden ultramikrotomla yarı ince ve ince kesitler alındı.
- x. Bakır gritler üzerine alınan ince kesitler %2'lik Uranil asetat ve Kurşun sitrat ile boyandı (Hayat 2000). Kesitler elektron mikroskopunda (Jeol 100CXII) 80 kV'de incelendi.

#### 4. BULGULAR

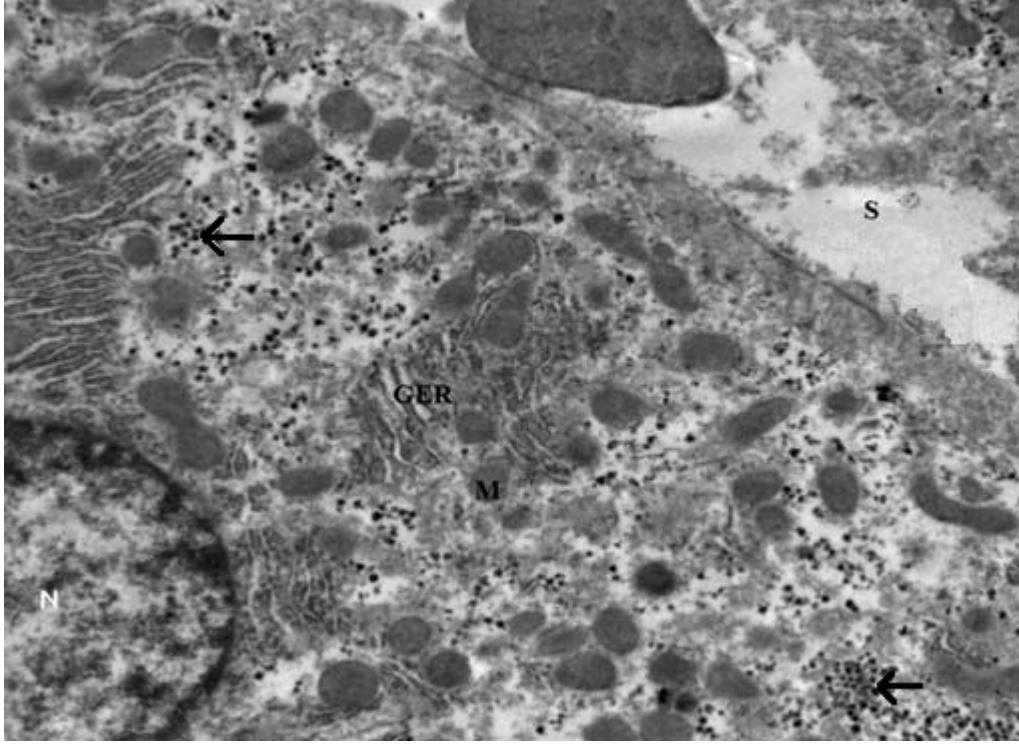
Yapılan tez çalışmasında Difenacoum uygulanan sıçanların karaciğer hücreleri elektron mikroskobu düzeyinde incelendi.

Kontrol grubundaki hücrelerin normal bir yapıya sahip olduğu anlaşıldı. Hücrelerdeki çekirdeklerin yuvarlak veya oval şekilli olduğu, kromatin materyalinin homojen olarak dağıldığı ve belirgin nükleolus yapısının olduğu gözlemlendi. Hücrelerin sitoplazmalarında bol sayıda mitokondri, GER keseleri ve glikojen tanecikleri tespit edildi (Şekil 4.1).



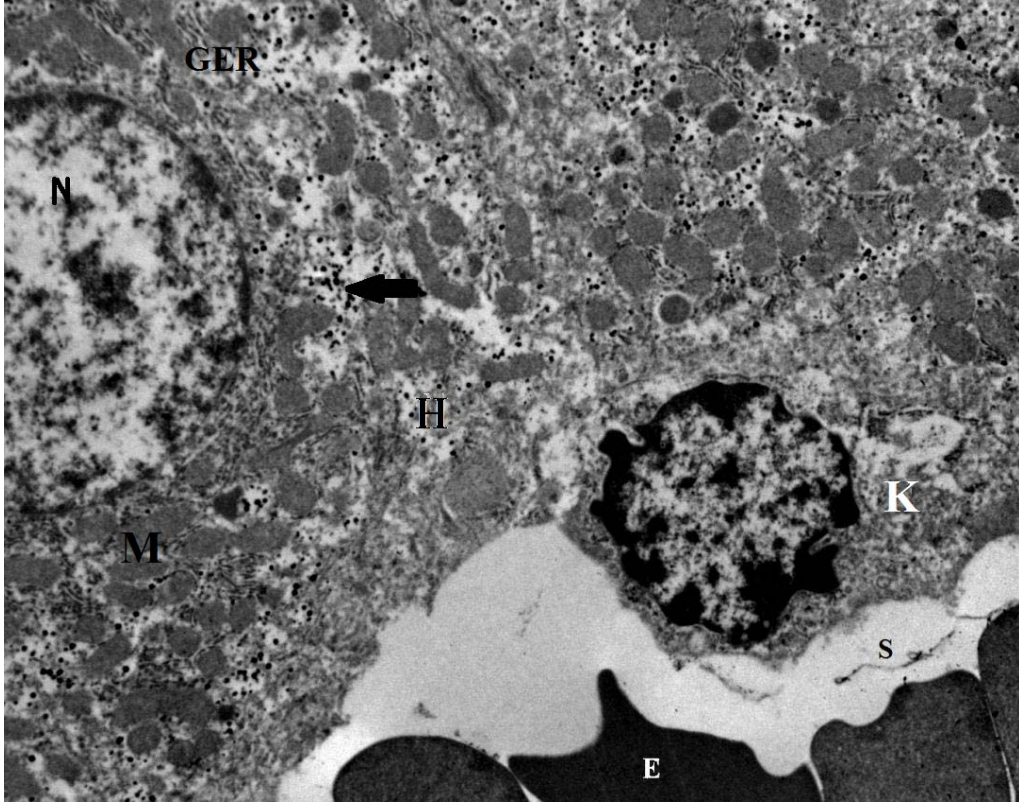
Şekil 4.1 Kontrol grubuna ait bir karaciğer hücresi  
M. Mitokondri, GER. Granüllü Endoplazmik Retikulum, N. Nukleus, n. Nükleolus, G. Granül, Glikojen (→). x 10000.

Deneylerde kullanılan kontrol grubu sıçanların karaciğerlerindeki sinüzoidlerin düzenli bir yapıya sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2).

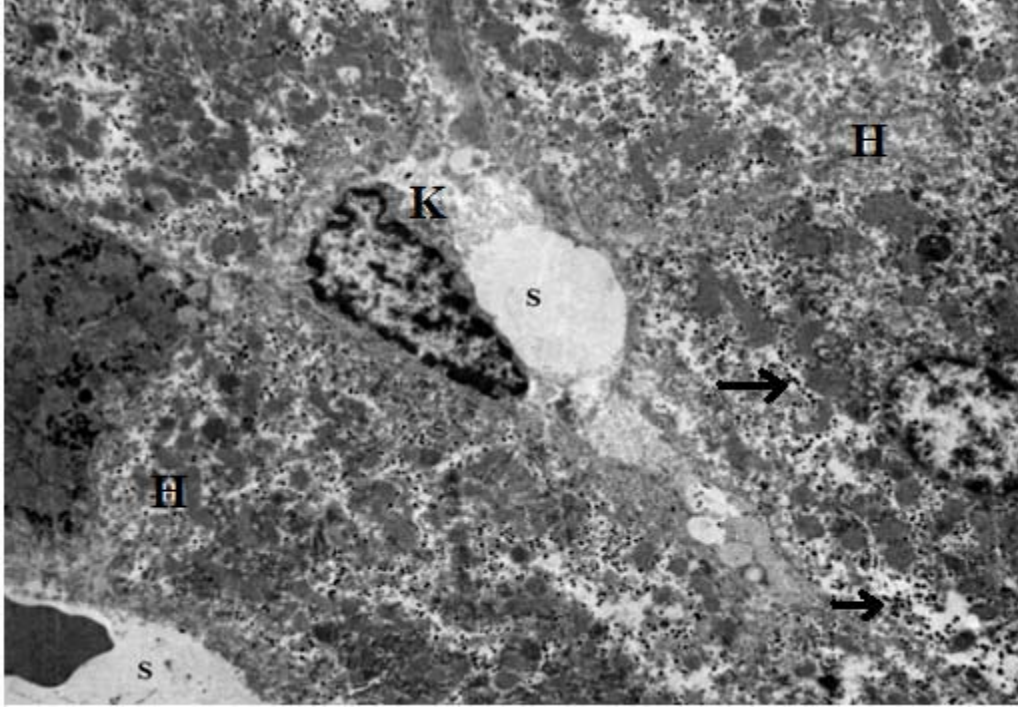


Şekil 4.2 Kontrol grubu sıçanların karaciğerine ait ve sinüzoidde yakın bir hepatosit  
M. Mitokondri, N. Nukleus, GER. Granüllü Endoplazmik Retikulum, S. Sinüzoid, Glikojen (→).  
x 10000.

Difenacoum uygulanmasından 24 saat sonra hayvanlardan alınan karaciğer örneklerindeki hepatositlerin kontrol grubundaki hepatositlerle aynı yapıda olduğu ve belirgin bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda mitokondri organeli ve bunların arasına yerleşmiş GER keseleri ile tek tek yerleşmiş glikojen tanecikleri gözlemlendi. Karaciğer örneklerinde aynı zamanda düzgün, yuvarlak veya oval şekilli ve içerisinde homojen dağılmış kromatin materyaline sahip çekirdeklere rastlandı. Sinüzoidlerin içinde Kupffer hücreleri de gözlemlendi. Bol miktarda glikojen taneciklerine rastlandı. (Şekil 4.3, 4.4).

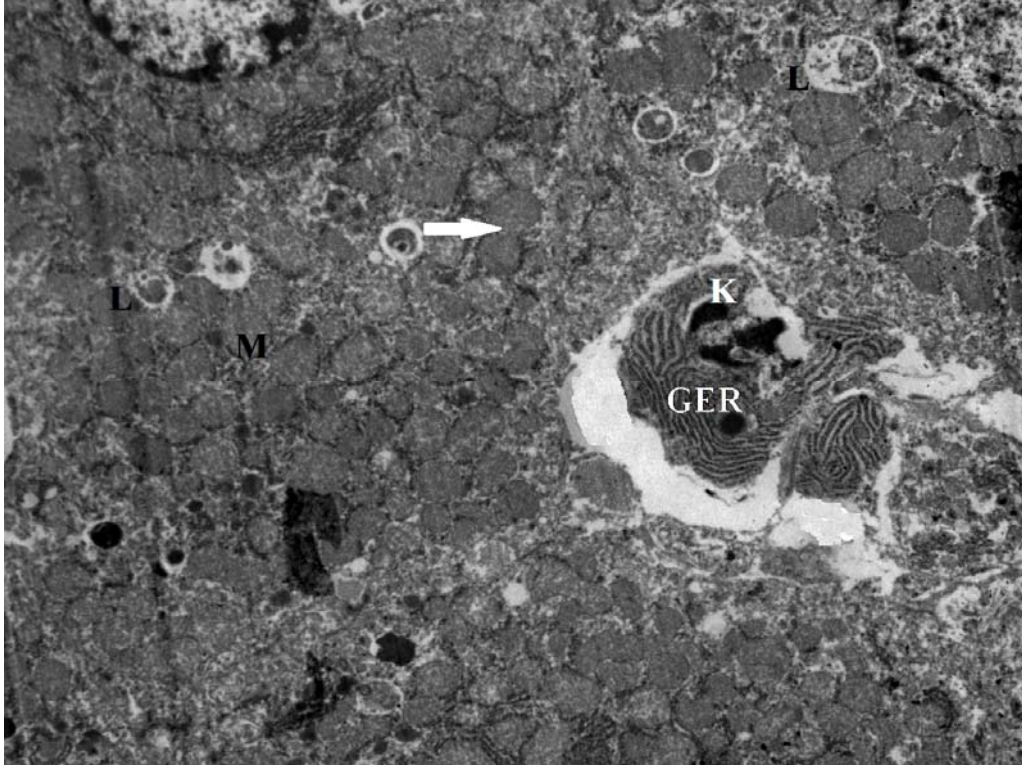


Şekil 4.3 Deneşlerde 24 saat Difenacoum uygulanan sıçanların karaciğer örneği  
H. Hepatosit, N. Nukleus, GER. Granüllü Endoplazmik retikulum, S.Sinüzoid, K. Kupffer hücresi,  
E. Eritrosit, M. Mitokondri, Glikojen tanecikleri (➡). x 10000.



Şekil 4.4 Difenacoum uygulanmış (24 saat) karaciğer örneğinde düzgün yapılı iki sinüzoid arasındaki hepatositler  
S. Sinüzoid, H. Hepatosit, K. Kupffer hücresi, Glikojen tanecikleri (→). x 5800.

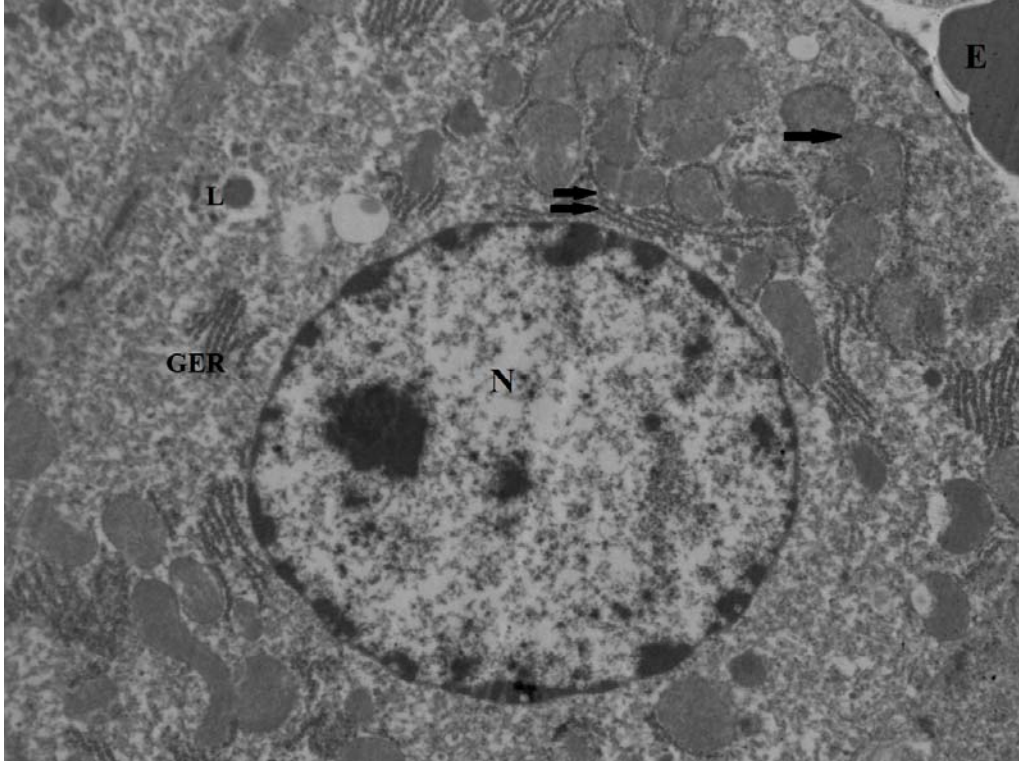
Yapılan çalışmalarda difenacoum uygulanmasından dört gün sonra sıçanların karaciğerlerinde hasarların olduğu tespit edildi. Karaciğer örneklerinde hepatositlerin sitoplazmalarında kontrol grubuna göre lizozomal yapıların ortaya çıktığı, glikojen taneciklerinin kaybolduğu, mitokondrilerin hacimce genişledikleri ve membran füzyonları gözlemlendi. Sinüzoidlerdeki Kupffer hücrelerinde çekirdeğin şekil değiştirdiği, endoplazmik retikulum keselerinin sitoplazmayı tamamen doldurduğu ve üzerindeki ribozomların arttığı gözlemlendi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Difenacoum'un dört gün sonunda karaciğere verdiği hasarlar

L. Lizozom, K. Kupffer hücresi, GER. Granüllü Endoplazmik Retikulum, M. Mitokondri, Mitokondrilerde membran füzyonu (→). x 5800.

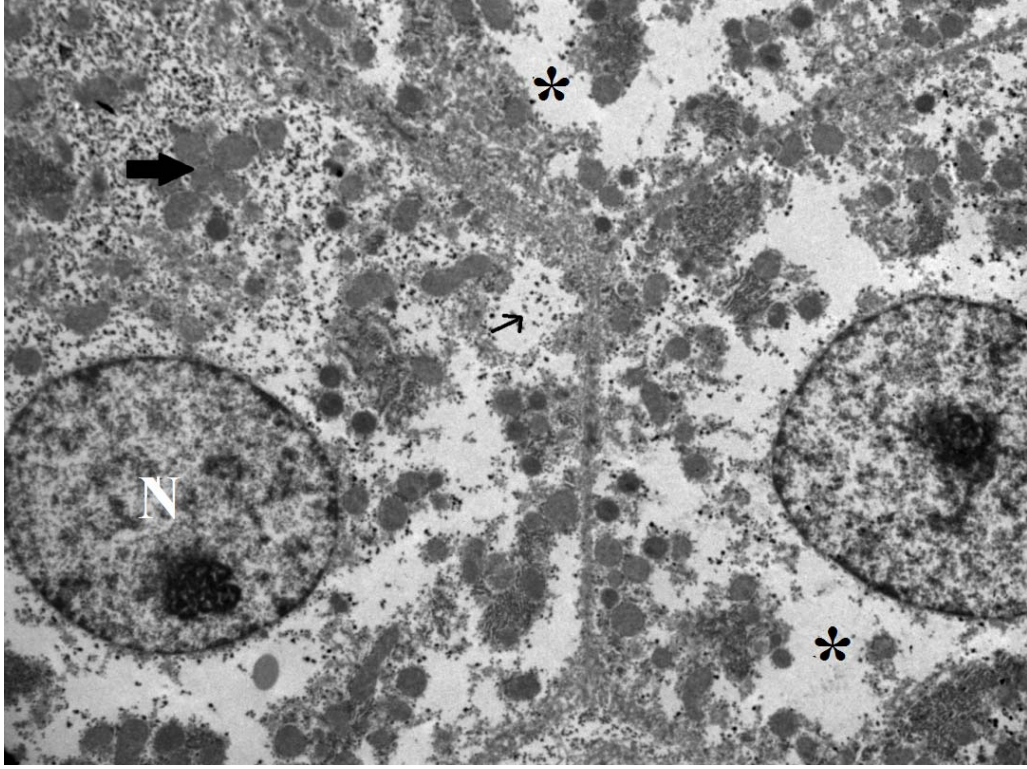
Yine bir başka kesitte hepatositlerin sitoplazmalarında yer alan mitokondrilerde membran füzyonu ve mitokondrilerin aralarında endoplazmik retikulum keselerinin yer aldığı gözlemlendi. Hücrelerin sitoplazmalarında lizozomal yapıların varlığı bir kez daha tespit edildi. Çekirdek yapısında herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Dört günlük Difencoum'lu karaciğer hücresi

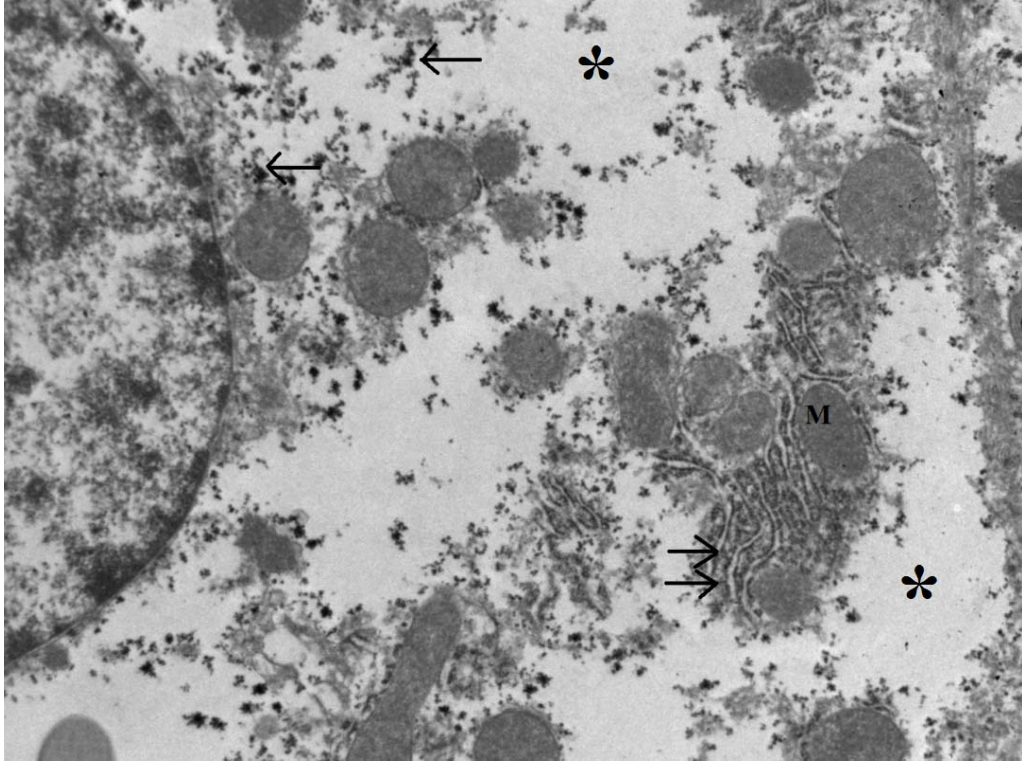
L. Lizozom, N. Nukleus, E. Eritrosit, GER. Granüllü Endoplazmik Retikulum, Mitokondrilerde membran füzyonu (→), Mitokondrilerle temas eden granüllü endoplazmik retikulum keseleri (⇔). x 10000.

Difenacoum uygulanmasından yedi gün sonra sıçanların hepatositlerinde kontrol grubuna göre fokal nekrotik alanlar ilk dikkati çeken özellik idi. Bazı hücrelerin sitoplazmalarında küçük yapılı mitokondrilerin ve glikojen taneciklerinin bulunduğu gözlemlendi (Şekil 4.7).



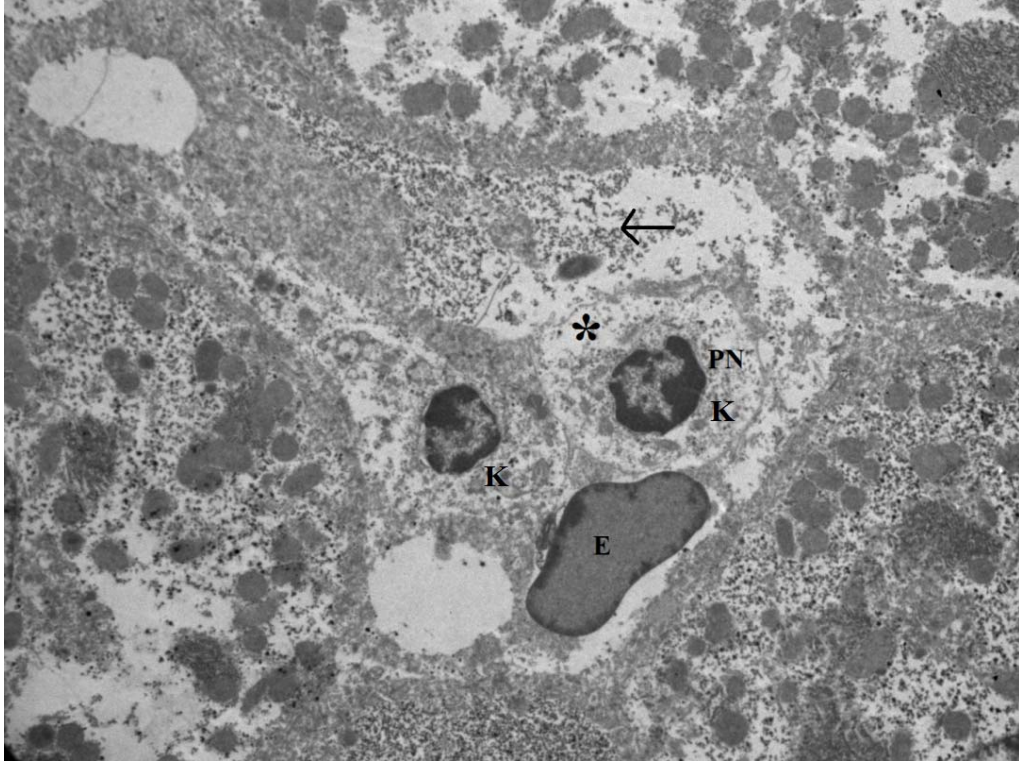
Şekil 4.7 Yedi gün sonunda Difenacoum uygulanmış karaciğer hücreleri  
N. Nukleus, Hacı küçülmüş mitokondriler(➡), Fokal nekrotik alan (\*), Glikojen tanecikleri (→).  
x 5800.

Bir başka karaciğer örneğinde ise fokal nekrotik alanların yanı sıra hücrelerin sitoplazmalarında madde birikimi, devamlılığı olmayan GER keselerine ve aralarında mitokondrilere rastlandı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Dejenere olmuş yedi günlük Difenacoum'lu karaciğer hücresi  
M. Mitokondri, Fokal nekrotik alan (\*), Madde birikimi (→), Devamlılığını kaybetmiş granüllü endoplazmik retikulum (⇨). x 10000.

Difenacoum'un ağır hasarlarından biri de sinüzoidlerdeki madde birikintileri ve bunun yanı sıra hücrelerdeki ince yapısal değişikliklerdir. Sinüzoidlerde bulunan hücrelerde fokal nekrotik alanlar, piknotik hücre çekirdekleri ve hasara uğramış eritrositlere rastlandı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Yedi gün Difenacoum uygulanmış sıçan karaciğerindeki sinüzoid yapısı  
E. Hasara uğramış eritrosit, PN. Piknotik Nukleus, K. Kupffer hücresi, Fokal nekrotik alan (\*),  
Sinüzoidde madde birikimi (→). x 5800.

## 5. TARTIŞMA

Sıçan karaciğer hücrelerine Difenacoum'un etkileri TEM'de incelendi. Hücrelerde görülen başlıca morfolojik değişim sitoplazmik materyal kaybıdır. Bunun yanı sıra sinüzoidlerde madde birikintileri de dikkat çekti.

Antikoagülant rodentisit olan Difenacoum'un sıçan karaciğerine etkisi ile ilgili elektron mikroskobu çalışmalarına rastlanmadı. Bu nedenle tez çalışmasının bulguları biyosidal ürünlerin karaciğer ve diğer organların hücrelerine etkilerinden elde edilen bulgularla karşılaştırıldı.

Çömlekçioğlu vd. (2000), yaptıkları çalışmada pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinin karaciğerinde büyük oranda olmasa da dejeneratif bozukluklar oluştuğunu, bunun sonucunda harap olan karaciğer hücrelerinden enzimlerin kana salındığını ve serumdaki aktivite artışının bundan kaynaklandığını ortaya koymuşlardır.

Kimyasal maddelerin toksik dozuna bir kere veya 24 saat içinde birçok kere maruz kalma sonucunda akut zehirlenme görülür. Pestisitlerin akut etkileri irritasyon, dermatit, sistemik absorbasiyona bağlı ölüm olabilmektedir (Avcil vd. 2006).

Ganser vd. (2004), iz elementlerin kontaminasyonu sonucu su yılanının karaciğer sinüzoidlerinde bizim çalışmamızda olduğu gibi madde birikintisi ve bol miktarda glikojen taneciklerinin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hepatositlerde lipit damlacıklarının bol miktarda olduğu, hücrelerin apoptozise uğradığı ve sinüzoidlerde kollagen lif artışının meydana geldiğini öne sürmüşlerdir.

Bir insektisit olan diazinonun 15 mg/kg/gün dozda verilmesinden sonra sıçan karaciğerine etkileri araştırılmıştır. Hücrelerin mitokondrilerinde aşırı şişme, piknotik çekirdek, sitoplazmada vakuolizasyon meydana geldiği gözlenmiştir (Ulusoy vd. 2004). Dördüncü ve yedinci günde disekte edilen sıçan karaciğer örneklerinden hepatositlerin mitokondrilerinin şişerek birbirleriyle temas etmesi, piknotik çekirdek gibi bulgular Ulusoy ve arkadaşlarının (2004) bulgularıyla paralellik gösterdi.

Tanrıverdi (2005), hepatotoksin bir kimyasal olan CCl<sub>4</sub> ile oluşturulmuş karaciğer hasarını incelemiştir. Hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, yağlı dejenerasyon, piknotik nükleuslar bulunduğunu; mitokondrilerin, GER ve DER membranlarının genişlediğini, mitokondrilerde matriks ve krista kaybını, sitoplazmada glikojen dağılımının azaldığını, nükleusun membran bütünlüğünün kaybolduğunu gözlemiştir. Sinüzoid ve santral venler etrafında artan kollajen liflerin olduğunu da belirtmiştir. Çalışmada piknotik nükleuslar, GER keselerinin genişlemesi, nükleusun membran bütünlüğünün kaybolduğu gibi bulgular Tanrıverdi'nin (2005) bulgularıyla benzerlik gösterdi, ancak difenacoum sitoplazmada glikojen taneciklerinin azalmasının aksine glikojen tanelerinin artmasına sebep oldu.

Bir başka çalışmada organiklorlu insektisit olan endosulfanın oluşturduğu oksidatif hasar sıçanların böbrek ve karaciğerlerinde histolojik yönden araştırılmıştır. Sıçanların karaciğerinde, vakuoler dejenerasyonlar, sinüzoidlerde dilatasyon ve Kupffer hücre proliferasyonu gözlenmiştir (Karaöz vd. 2001). Zararsız ve arkadaşları (2005), formaldehitin sıçan karaciğerinde anormalliklere sebep olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada karaciğer sinüzoidlerinin genişlediğini ve kan ile dolduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca portal alan ve vena centralis etrafında mononükleer hücrelerin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada da Difenacoum'un etkisine bağlı olarak özellikle yedinci gün örneklerindeki Kupffer hücrelerinin bulunması ve sinüzoidlerde hasara uğramış eritrositlerin bulunması kanamanın işareti olarak Karaöz ve arkadaşlarının (2001) ve Zararsız ve arkadaşlarının (2005) bulgularıyla benzer durumdadır.

Revathi ve Yogananda (2006), bromadiolone ile yaptıkları çalışmada bromadiolone'nin *Mus musculus*'un hematolojisi, böbreği ve karaciğeri üzerine etkisini araştırmışlardır. Karaciğerin belirgin olarak soluk renkte olduğunu rapor etmişlerdir. Karaciğer dokusunda sitoplazmik vakuolleşme, nekroz ve toksik atık birikimi olduğunu belirtmişlerdir. Difenacoum uygulanmasından dört ve yedi gün sonra karaciğer dokusunun soluk renkte olması ve karaciğer hücrelerinde ortaya çıkan nekroz ve toksik atık birikimi Revathi ve Yogananda'nın (2006) bulgularıyla benzerlik gösterdi.

İnsanların ve hedef olmayan hayvanların antikoagülant rodentisitlere kazara maruz kalması sonucu K vitamini döngüsünün inhibe olması, anemi, hipoproteinemi, hipoalbuminemi, hiperglisemi, bilirubinemi gibi hastalıklar; tromboplastin, protrombin aktif pıhtılaşma zamanlarının uzaması, kalpte ve solunum yollarında hasarlar, akciğerde ödem, taşikardi, hemoraji, deride, mukozada, gözde hipemi gibi tanılar konulmuş ve bazı hastalarda burun, kulak kanamaları, vajinal kanamalar gözlenmiştir (Valchev vd. 2008). Difenacoum uygulanmasından dört ve yedi gün sonra deney hayvanlarında burun ve kulak kanamaları gözlendi. Bu durum Valchev ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla benzerlik gösterdi.

Arıcı (2008), insan karaciğerinde aşırı dozda ilaç alınmasına bağlı olarak sinüzoidlerde Kupffer hücrelerinin bulunduğu işaret etmiştir. Difenacoum'un dördüncü ve yedinci günde karaciğer sinüzoidlerinde Kupffer hücrelerinin bulunması insan karaciğeriyle benzer özelliktedir. Bu durum karaciğer hasarına karşı vücudun immünolojik reaksiyon gösterdiğini düşündürülebilir.

Uzunhisarcıklı (2008), organofosfatlı bir insektisit olan methyl parathionun ratlarda hepatotoksik etkisini incelemiş ve hepatositlerdeki mitokondrilerde şişme, bazı mitokondrilerin kristalarında erime, matrikslerinde çözülme, piknotik çekirdek, sitoplazmada lipit granülü artışı, endoplazmik retikulumda sisterna genişlemesi ve otofajik vakuollerini tespit etmiştir. Çalışmada kullanılan Difenacoum'un etkileri olarak dördüncü gün sonunda mitokondrilerde şişme, endoplazmik retikulum keselerinin genişlemesi, yedinci gün sonunda sinüzoidlerde bulunan hücrelerde piknotik çekirdekler görülmesi benzer bulgulardır.

Binev vd. (2011), antikoagülant rodentisit olan bromadilone'nin sülünlerde akut zehirlenmesi ile ilgili morfolojik bir çalışma yapmışlardır. Zehirlenme sırasında sülünlerde bitkinlik, iştahsızlık, solunum güçlüğü ve gagadan sulu kan geldiğini gözlemişlerdir. Difenacoum uygulanan sıçanlarda iştahsızlık, halsizlik ve solunum güçlüğü yedinci günde rastlandı.

Yapılan araştırmalarda birçok pestisitın organ hücrelerinde organel bozukluklarına sebep olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmadan elde edilen bulguların Difenacoum ile yapılan araştırmalara kaynak olacağı ve toksikolojik çalışmalara yön vereceği düşünülmektedir. Ayrıca kazara bu maddeyle temas eden insanların karaciğerinde ne gibi bozukluklara neden olacağının bilinmesi açısından da bu çalışmanın önemli olabileceği tahmin edilmektedir.

## KAYNAKLAR

Akay, M.T. 2006. Genel Histoloji. Palme Yayınları, s.127-129, Ankara.

Aksoy, F. 1977. Karaciğerin histolojisi. Türk Patoloji Dergisi, 4(3); s.153-155.

Albert, C.A., Wilson, L.K., Mineau, P., Trudeau, S and Elliott, J.E. 2009. Anticoagulant rodenticides in three owl species from Western Canada, 1988-2003. Arch Environ Contam Toxicol., Vol.58 (2); pp.451-459.

Altinkurt, O. 1981. Farmakoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Cilt 54; 199 s., Ankara.

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.acilveilkyardim.com](http://www.acilveilkyardim.com). Erişim Tarihi: 27.09.2011

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.amatortv.com/fareler.htm](http://www.amatortv.com/fareler.htm). Erişim Tarihi: 13.02.2012

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.biyolog.com](http://www.biyolog.com). Erişim Tarihi: 19.04.2012

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.karacigernakliturkiye.com](http://www.karacigernakliturkiye.com). Erişim Tarihi: 17.11.2011

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.turkkaracigervakfi.org](http://www.turkkaracigervakfi.org). Erişim Tarihi: 15.09.2012

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.sizce.biz/DEPO/Dersler/kim.svs.aj.ve\\_pestisitler.doc](http://www.sizce.biz/DEPO/Dersler/kim.svs.aj.ve_pestisitler.doc).  
Erişim Tarihi: 04.10. 2011

Anonim. 2011. Web Sitesi: [www.mustafaaltinisik.com](http://www.mustafaaltinisik.com). Erişim Tarihi: 27.09. 2011

Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.deanpestcontrol.com/product.asp](http://www.deanpestcontrol.com/product.asp). Erişim Tarihi:  
27.09.2011

Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.genome.csdb.cn](http://www.genome.csdb.cn). Erişim Tarihi: 04.05.2012

Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.malaysiapest.blogspot.com](http://www.malaysiapest.blogspot.com). Erişim Tarihi:  
04.05.2012

Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.mus-musculus.com](http://www.mus-musculus.com). Erişim Tarihi: 04.05.2012

Anonymous. 2011. Web Sitesi: [www.vetmed.vt.edu/education/curriculum](http://www.vetmed.vt.edu/education/curriculum). Erişim  
Tarihi: 15.09.2012

- Arıcı, S. 2008. Toksik hepatit, Pamukkale Tıp Dergisi, 1(2); s.113-119.
- Avcil, H., Kaptanoğlu, M. ve Akova, R. 2006. Van ili çevre durumları raporu. Van Valiliği İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, s.168-170, Van.
- Aytekin, Y. ve Solakoğlu, S. 2006. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, s.332-344, İstanbul.
- Berny, P., Velardo, J., Pulce, C., D'Amico, A., Kammerer, M. and Lasseur, R. 2010. Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved. Clinical Toxicol., Vol. 48; pp.935-941.
- Binev, R.G., Valchev, I., Groseva, N., Lazarov, L., Hristov T. and Uzunova, K. 2011. Morphological investigations of experimental acute intoxication with the anticoagulant rodenticide bromadiolone in pheasants. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., Vol. 38(2); pp.161-173, İstanbul.
- Çavuşoğlu, H. 1996. Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, 886 s. İstanbul.
- Çetin, A., Öztürk, F., Gül, M., Eşrefoğlu, M. ve Otlı, A. 2008. Sıçanların sindirim ve solunum sistemlerindeki makrofajların histolojik yapıları. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 15(4); s.225-231, Malatya.
- Çetin, Ö. ve Aksu, H. 2000. Gıda işletmelerinde rodent problemi ve mücadele yöntemleri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 26 (1); s.11-25.
- Çömlekçioğlu, Ü., Mazmancı, B. ve Arpacı, A. 2000. Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. Turk J. Biol., Cilt 24; s.461-466.
- Demir, R. 2006. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Palme Yayınları, s.457-459, Ankara.
- Demirsoy, A., Türkan İ. ve Gündüz, E. 2004. Genel Biyoloji, Cilt II. Palme Yayıncılık, s.886-887. Ankara.
- Dikmen, N., ve Özgünen, T. 2004. Harper'ın Biyokimyası, Nobel Tıp Kitabevleri, s.649-652. İstanbul.

- Endepols, S., Klemann, N., Song, Y. and Kohn, M.H. 2011. Field trials to assess resistance to warfarin and difenacoum of house mice in relation to the occurrence of variants in the *vkorc1*-gene before and after the treatments. 8th European Vertebrate Pest Management Conference, pp.70-72, Germany.
- Fisher, P., O'Connor, C., Wright, G and Eason, C.T. 2003. Persistence of four anticoagulant rodenticides in the livers of laboratory rats. DOC Science Internal series 139. Department of Conservation, pp.5-18, Wellington.
- Ganser, L.R., Hopkins, W.A., O'Neil, L., Hasse, S., Roe, J.H. and Sever, D.M. 2003. Liver histopathology of the southern watersnake, *Nerodia fasciata fasciata*, following chronic exposure to trace element-contaminated prey from a coal ash disposal site, *Journal of Herpetology*, 37(1); pp.219-226.
- Göz, M. 2006. Warfarin-gıda etkileşmesi: Olgu sunumu ve literatürün gözden geçirilmesi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 14(4); s.320-324.
- Grobosch, T., Angelow, B and Lampe, D. 2005. Akute intoxication mit coumatetralyl. *Kasuistik aus dem Arbeitskreis Klinische Toxikologie*, 72(1); pp.46-55.
- Guthrie, R.K. 1972. Food Sanitation. The Avi Publishing Com. Inc., Westport, Connecticut.
- Hadler, M.R. and Buckle, A.P. 1992. Forty five years of anticoagulant rodenticides – past, present and future trends. *Vertebrate Pest Conference Proceedings collection, Proceedings of the Fifteenth Vertebrate Pest Conference*, pp. 149-155.
- Hayat, M.A. 2000. Principle and Techniques of Electron Microscopy. Biological applications. 4<sup>th</sup>Ed. Vol.1 Edward Arnold Publish, 313 p. USA.
- Ishizuka, M., Tanikawa, T., Tanaka, K.D., Heewon, M., Okajama, F., Sakamoto, K.Q. and Fujita, S.S. 2008. Pesticide resistance in wild mammals- Mechanism of anticoagulant resistance in wild rodents. *J. Toxicol. Sci.*, 33(3); pp.283-291.
- İnal, T. 1990. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset, İstanbul.

- İnal, T. 1992. Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü (İkinci baskı). Final Ofset, İstanbul.
- Karaöz E., Etyemez, Tuncer., Akdoğan, M., Gökçimen A., Öncü, M. ve Akalın, F.E. 2001. Sıçan karaciğer ve böbrek dokularında endosulfan toksisitesinde oksidatif hasarın rolü; histolojik ve biyokimyasal bir çalışma. Türkiye Klinikleri J Med Sci, Cilt 21; s.1-10.
- Kaya, S., Pirinççi, İ., Traş, B., Ünsal, A., Bilgili, A., Akar, F., Doğan, A. ve Yarsan, E. 2002. Veteriner hekimliğinde toksikoloji. Medisan Yayınevi, s.385-410, Ankara.
- Lund, M. 1981. Comparative effect of the three rodenticides warfarin, difenacoum and brodifacoum on eight rodent species in short feeding periods. J. Hyg., Camb, Vol. 87; pp.101-107, Great Britain.
- Mosterd, J.J and Thijssen, H.H.W. 1991. The long-term effects of the rodenticide, brodifacoum, on blood coagulation and vitamin K metabolism in rats. Br. J. Pharmacol., Vol. 104; pp.531-535.
- Norström, K., Remberger, M., Kaj, L., Potter A., Cousins A.P and Brorström-Lunden, E. 2008. Results from the Swedish National Screening Programme 2008 Subreport 3. Biocider: Difenacoum. Organization: IVL Swedish Environmental Research Institute Ltd. IVL report B1877, pp.1-17.
- Noyan, A. 1997. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan A.Ş., s.721-728, Ankara.
- Olson, R. E. 1984. The function and metabolism of vitamin K. Annu. Rev. Nutr., Vol. 4; pp.281-337.
- Park, B.K., Leck, J.B., Wilson, A.C., Serlin, M.J. and Breckenridge A.M. 1979. A study of the effect of anticoagulants on (3H) vitamin K metabolism and prothrombin complex activity in the rabbit. Biochem Pharmacol., Vol.28; pp.1323-1329.
- Redfern, R. and Gill, J.E. 1978. The development and use of a test to identify resistance to the anticoagulant difenacoum in the Norway rat (*Rattus norvegicus*). J. Hyg., Camb., Vol. 81; pp.427-431, Great Britain.

- Revathi, K. and Yogananda, M. 2006. Effect of bromadiolone on haematology, liver and kidney in *Mus musculus*. J. Environ. Biol., 27(1); pp.135-140, India.
- Rowe, F.P., Plant, C.J. and Bradfield, A. 1981. Trials of the anticoagulant rodenticides bromadiolone and difenacoum against the house Mouse (*Mus musculus* L.). J. Hyg. Camb., Vol. 87; pp.171-177, Great Britain.
- Sethi, P. 2005. Notice Difenacoum. Commonwealth of Australia Gazete, Vol.6; 17p.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Freestone, P. 1999. Exposure of non-target vertebrates to second-generation rodenticides in Britain, with special reference to the polecat *Mustela putorius*. New Zealand J. Ecol., Vol.3; pp.199–206.
- Tanrıverdi, G. 2005. Karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi (basılmamış). İstanbul Üniversitesi, 70s., İstanbul.
- Ulukaya, E. 2007. Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri, s.387-388, İstanbul.
- Ulusoy, Y., Toprak, B., Uzunhisarcıklı, M. ve Öğütçü, A. 2004. Diazinonun sıçan hepatositleri üzerine etkisinin elektron mikroskobu ile incelenmesi. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 15(1-2); s.29-36.
- Uzunhisarcıklı, M. 2008. Methyl parathion'un ratlarda hepatotoksik etkisi ve vitamin e ve vitamin c'nin rolü. Doktora tezi (basılmamış). Gazi Üniversitesi, 111 s., Ankara.
- Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V. and Nikolov, Y. 2008. Anticoagulant rodenticide intoxication in animals - a review. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 32(4); pp.237-243.
- Vandenbroucke, V., Bousquet-Melou, A., DeBacker, P. and Croubels, S. 2008. Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. J. Vet. Pharmacol. Therap., Vol. 31; pp.437-445.

- World Health Organization. 1995. Difenacoum. Health and Safety Guide No. 95. Companion volume to Environmental Health Criteria 175: Anticoagulant Rodenticides IPCS International Programme on Chemical safety, Geneva.
- Yalınız, H ve Tokcan, A. 2006. Antitrombotik ve Trombolitik Ajanlar: Tarihçe. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi A.B.D., Arşiv, s.217-232, Adana.
- Yurdakul, U., Uçankuş, N.L., Ömeroğlu, S. ve Hatipoğlu, M.T. 2005. Değişik Yaş Gruplarındaki Sıçan Karaciğer Dokusunda Bağ Dokusu Liflerinin Dağılımı. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, Cilt 3; s.15-20.
- Zararsız, İ., Sarsılmaz, M., Sönmez, M.F., Köse, E., Yılmaz, H.R. ve Ozan E. 2005. Kadavra tespitinde kullanılan formaldehitin sıçan karaciğerinde oluşturduğu hasar ve buna omega-3 yağ asitlerinin etkisi. Fırat Tıp Dergisi, 10(3); s.103-107.
- Zergeroğlu, S ve Zergeroğlu, A.M. 2001. Farmakoloji. Güneş Kitabevi, s.197-200, Ankara.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ebru DEMİREL

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 07.07.1986

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Fethiye Kemal Mumcu Anadolu Lisesi (2004)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2009-Kasım 2012)