

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

SODYUM PERKLORATIN *POECILIA*
SPHENOPS
(MOLİ BALIĞI) KARACİĞER
VE TİROİD HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Burcu KOLBAŞI (TEKKAN)

Biyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı Kodu: 401.04.00
Sunuş Tarihi: 21.08.2008

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ

Bornova – İZMİR
2008

Burcu KOLBAŞI (TEKKAN) tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “**Sodyum Perkloratın *Poecilia sphenops* (Moli Balığı) Karaciğer ve Tiroid Histolojisi Üzerine Etkileri**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 21.08.2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ

Raportör Üye: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fevzi KIRKIM

ÖZET**SODYUM PERKLORATIN *POECILIA SPHENOPS*
(MOLİ BALIĞI) KARACİĞER VE TİROİD
HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

KOLBAŞI (TEKKAN), Bureu
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ
21 Ağustos 2008, 79 sayfa

Bu çalışmada, kullanım alanı çok geniş olan, ancak çevreye karşı büyük tehdit oluşturan maddelerden biri olan perklorat tuzlarının çevre sağlığına olan etkilerini bir model organizma, Moli balığı (*Poecilia sphenops*), üzerinde göstermek amaçlanmıştır.

Söz konusu canlının tiroid dokusunda perklorat konsantrasyonu artışına çoğunlukla paralel olarak folikül hücrelerinde hipertrofi ve hiperplazi, kolloid sıvısında azalma ve/veya heterojen görünüm ile yeni damar oluşumları ve folikülleri çevreleyen damarlarda genişleme gözlenmiştir.

Karaciğer dokusunda gözlenen değişimler ise melanomakrofaj merkezlerindeki hücre sayılarında artış; sinüoitlerde ve hepatopankreasta kanlanma; hepatositlerde yağlanma; nukleus şekillerinde bozulma; nekroz ve fibröz doku oluşumudur.

Perkloratlarla ilgili genel bilgilere paralel olarak sodyum perklorat öncelikle tiroid bezinde bozulmalara yol açmış, bu paralelde karaciğerde bazı histopatolojik değişimler izlenmiş ve sonuçlar ayrıntılarıyla tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Poecilia sphenops*, sodyum perklorat, tiroid, karaciğer, ekotoksikoloji

ABSTRACT

**THE EFFECTS OF SODIUM PERCHLORATE ON
THYROID AND LIVER HISTOLOGY OF *POECILIA
SPHENOPS* (MOLLY FISH)**

KOLBAŞI (TEKKAN), Burcu

M.Sc. in Biology

Supervisor: Doç. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ

21 August 2008, 79 pages

In this study, it is aimed to research the effects of perchlorate salts, which is one of the chemicals that are widely used but also possess a threat to the environmental health, on a model organism, Molly fish (*Poecilia sphenops*).

In the thyroid tissue of the subject organism, hypertrophy and hyperplasia in follicle cells, depletion and/or heterogeneity in colloid and new vessel formation together with a widening of existing vessels were observed.

Changes in the liver tissue are; increase in the number of cells in melanomacrophage centers, infiltration in sinusoids and in hepatopancreas, steatosis, deformation in nucleus shapes, necrosis and fibrosis.

Parallel to the general information on perchlorates, thyroid is mainly affected by sodium perchlorate exposure and some histopathological changes were observed in the hepatic tissue, respectively. The results were discussed in detail.

Key words: *Poecilia sphenops*, sodium perchlorate, thyroid, liver, ecotoxicology

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince her aşamada bana en doğru yolu gösterdiği ve beni her konuda sonsuz desteklediği için değerli hocam Doç. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ'ye; Zooloji Anabilim Dalı'nın tüm imkânlarından yararlanmama olanak sağlayan sayın Prof. Dr. Gürsel ERGEN'e; Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU'ya; fotoğraf çekimleri sırasındaki desteğinden ötürü sayın Doç. Dr. Bayram GÖÇMEN'e; laboratuvar çalışmalarında bana fikirleriyle destek veren Dr. Özlem ÇAKICI, Dr. Gamze TURGAY Araş. Gör. Özlem ÖNEN ve yüksek lisans öğrencisi Meryem ERSEYİS'e; bu çalışmayı 2007 – FEN – 034 numaralı proje kapsamında destekleyen E.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığı'na; her zaman desteklerini hissettiğim ailem ve eşim Semih KOLBAŞI'ya teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	15
2. 1. Materyal.....	15
2.1.1. Deney Hayvanları.....	15
2.1.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Madde.....	16
2.2. Metod.....	17
2.2.1. Ortam koşulları.....	17
2.2.2. Perklorat uygulaması.....	18
2.2.3. Histolojik incelemeler.....	19
3. BULGULAR.....	20
3.1. Genel Değerlendirme.....	20
3.2. Tiroid.....	21
3.2.1. Kontrol grubu.....	21
3.2.2. 1 ppm deneme grubu.....	24
3.2.3. 5 ppm deneme grubu.....	25
3.2.4. 25 ppm deneme grubu.....	27
3.2.5. 125 ppm deneme grubu.....	30
3.3. Karaciğer.....	32

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

3.3.1. Kontrol grubu	32
3.3.2. 1 ppm deneme grubu.....	35
3.3.3. 5 ppm deneme grubu.....	37
3.3.4. 25 ppm deneme grubu.....	39
3.3.5. 125 ppm deneme grubu.....	42
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	46
4.1.Genel Değerlendirme.....	46
4.2.Tiroid.....	50
4.3.Karaciğer.....	54
5. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	79

1. GİRİŞ

Çevre kirliliği her geçen gün doğal yaşamı daha fazla tehdit eder boyutlara ulaşmaktadır. Bu konuya, özellikle de küresel ısınmaya dikkat çekilmesi ile birlikte çevreyi kirletmekte olan kimyasal maddelere olan ilgi de artmıştır. Çevre kirleticileri arasında çok göz önünde bulunan kimyasal ve biyolojik maddelerin yanında, etkisi kamuoyu tarafından çok fark edilmediği halde kullanım alanı çok geniş olan, ancak çevreye karşı büyük tehdit oluşturan maddeler de mevcuttur. Bu çalışmada, böyle maddelerden biri olan perklorat tuzlarının çevre sağlığına olan etkilerini model organizma olabileceği düşünülen *Poecilia sphenops* (Valenciennes, 1846) üzerinde göstermek amaçlanmıştır.

1997 yılında su kaynaklarında saptanmasıyla, perklorat tuzlarının fizyolojik etkileri yoğun olarak incelenmeye başlamıştır (Urbansky 1998, LANL 2003). Bu süre içinde yapılan çalışmalar sonucu perklorat bileşikleri A.B.D.'de EPA (Environmental Protection Agency) kirletici listelerindeki yerini almıştır.

50 yıldan fazla süredir sanayide kullanılan perkloratlar az miktarda da olsa doğal olarak bulunabildiği gibi insanlar tarafından da üretilir. İnsan eliyle üretilen perkloratın büyük bir kısmı roket yakıtı olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında çeşitli patlayıcıların, mermilerin ve havai fişeklerin yapımında, ayrıca boya ve hava yastığı üretimi gibi sektörlerde perkloratlardan yararlanılmaktadır. Etkilerinin ortaya konulmaya başlamasıyla birlikte özellikle A.B.D’de çok geniş tartışmalara yol açmış; EPA, FDA (Food and Drug Administration), OCA (Organic Consumers Association) ve birçok sivil toplum örgütü perklorat kullanımının sınırlandırılması için kampanyalar başlatmıştır.

Perkloratın esas hedef dokusunun tiroid bezi olduğu bilinmektedir. Tiroid bezi yetişkinlerde metabolizma hızının düzenlenmesinde görev yapar. Çocuklarda ise metabolizma hızının düzenlenmesine ek olarak, büyümenin ve sinirsel gelişimin istenilen seviyede gerçekleşebilmesi için hayati öneme sahiptir. Özellikle hamilelerde tiroid fonksiyonlarının bozulması, fetüsün gelişimini olumsuz yönde etkileyecektir (Haddow et al., 1999; Braverman and Utiger, 2000; Glinoeer ,2000; Klein et al., 2001).

Çeşitli türlerde yapılmış olan çalışmalarda, perkloratların tiroid bezi üzerine etkisi ortaya konmuş ve tiroid hormonlarının temel bileşeni olan iyodür alımını engellediği saptanmıştır (EPA, 2002). Perkloratın omurgalılarda tiroid bezinin yapısı ve çalışmasına etkisine ilişkin çok sayıda çalışma mevcuttur (York et al., 2001, 2005; Thuett et al., 2002; Goleman et al., 2002a, 2002b; Patino et al., 2003; McNabb et al., 2004; Bradford et al., 2005; Crane et al., 2005; Mukhi et al., 2005; Tietge et al., 2005; Hu et al., 2006; Liu et al., 2006; Theodorakis et al., 2006). Omurgalılar üzerinde perklorat etkilerine ait bilgiler, genellikle uzun zamanda düşük konsantrasyon kullanılarak yapılan kronik etki denemelerinden çok, kısa zamanlı ve akut toksisite çalışmalarından sağlanmaktadır. Perkloratın ikincil sağlık etkilerine dair bir çalışma bulunmamaktadır (Urbansky, 1998; NAS, 2005) ve *P. sphenops*'da histopatolojik etkisine dair bir araştırmaya da rastlanmamıştır.

Sunulan araştırmada, *P. sphenops*'da sodyum perkloratın (NaClO_4) tiroid üzerine yaptığı etkilerden hareketle, karaciğer üzerine de etkisi olup olmadığı ele alınmıştır. Söz konusu kimyasalın çeşitli türlerde ve çeşitli dokularda gösterdiği etkilerin bilinmesi, genel etki

mekanizmasının ortaya konmasına katkıda bulunabilecek ve çevresel etkileri konusunda ayrıntılı bilgiler verebilecektir.

Perklorat; potasyum, sodyum, amonyum perklorat gibi tuzların iyonlaşmış formudur ve suda çok iyi çözünür. Bulunduğu ortamda uzun süre sabit kalabilir. Potasyum perklorat uzun süre tıpta hipertiroid tedavisinde kullanılmıştır. Günümüzde daha çok fişeklerde ve otomobil hava yastıklarında kullanılmaktadır. Sodyum perklorat sıvı patlayıcıların üretiminde, amonyum perklorat ise yaygın şekilde roket, füze ve havai fişek yapımında kullanılmaktadır (Soldin et al., 2001).

Yüksek konsantrasyonlarda ilk olarak 1990'ların başında Kaliforniya'daki su kuyularında tespit edilen perkloratların tiroid bezi tarafından iyodür alımını inhibe ettiği bilinmektedir. Perkloratlar tiroid folikül epitel hücrelerinde iyot alımından sorumlu olan sodyum iyodür simporterini (NIS) adlı taşıyıcı proteine bağlanarak iyot alımını engeller. Bilinen tüm etkilerinin, bu proteinin inhibe edilmesi, dolayısıyla da tiroid hormonu üretiminin engellenmesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Wolff, 1998).

Perklorat tiroid bezi tarafından iyoda benzer şekilde depolanır fakat tiroid bezi ya da çevredeki dokular tarafından metabolize edilemez. Sıçanlar ve insanlarda yapılan çalışmalar perkloratın çoğunluğu idrar yoluyla olmak üzere (>%90) hızlı bir şekilde elimine edildiğini ve bu süreçte herhangi bir değişime uğramadığını göstermiştir (Anbar et al.,1959; Eichler and Hackenthal, 1962). Aşağı omurgalılardaki eliminasyonuna dair bilgi yoktur.

Perkloratın asıl hedef dokusu olan tiroid bezi çok sayıda foliküllerden oluşur. Foliküllerin içini dolduran kolloidi oluşturan başlıca madde, molekülü içinde tiroid hormonlarını da tutan büyük bir glikoprotein olan tiroglobulindir (Tg) (Barrington, 1964; Zoeller, 2003). Tiroid hormonları tiroglobuline bağlı olarak folikül içindeki kolloidde depolanır. Bu depo vücudun 1-3 aylık ihtiyacını karşılamaya yeterlidir. Bu hormonlar tiroglobulinden ayrılarak serbest hormon şeklinde kana salgılanır ve tamamına yakını plazma proteinlerine bağlanır.

Tiroid hormonlarından tetrayodotironin (tiroksin) veya T₄, iki adet tirozin aminoasitine toplam 4 tane iyot atomunun bağlanmasıyla oluşur. Triiyodotironin veya T₃; tiroksinden sadece 1 adet daha az iyot atomu içerir. T₃, tiroid

hormonlarının hedefi olan hücrelerde, T_4 'den 1 adet iyot atomunun çıkarılmasıyla oluşur; bu işlem özgün bir enzim olan deiyodinaz yardımıyla gerçekleşir. Tiroksin ve triiyodotironin sekresyonunun artmasıyla metabolizma hızı % 60-100 oranında artabilir. Salgının ortadan kalkması ise metabolizma hızını normalin % 40 altına düşürür.

Tiroid hormonlarının oluşumu eksojen iyot alımına bağlıdır. Gastrointestinal yolla alınan iyot iyodür halinde hücreler arası mesafeye geçer. Bunun 4/5'i idrarla atılır. Kalan 1/5'i geçici olarak tiroid bezi tarafından tutulur. Tiroid hücrelerinin bazal membranı iyodürü hücre içine taşıyan özel bir yeteneğe sahiptir. Bu olaya iyot tutulması denir. İyodür (I) ve sodyum (Na) iyonları hücrelere basolateral membranda yer alan sodyum (Na) / İyodür (I) simporteri (NIS) tarafından taşınır. NIS iyodüre karşı yüksek afinite gösterir. Aynı zamanda iyodüre benzer şekil ve elektrik yüküne sahip diğer iyonları da taşıyabilir. Bu iyonlara iki örnek; perklorat ve tiyosiyanattır. NIS'in bu moleküllere afinitesi, iyodüre karşı gösterdiğinden yüksektir. Bu nedenle bu moleküller tiroid hücrelerine iyodürün girişini bloke edebilirler. Bu durum hücrelerde iyodür konsantrasyonunun azalmasına ve T_4 / T_3 hormonlarının üretimi için gerekli olan iyodürün yeterince bulunamamasına

yol açar . Perklorat tiroid bezinin iyodür alımını engelleyince azalan tiroid hormon üretimi negatif feed back mekanizmasının devreye girmesine neden olur. Böylece hipofiz bezi daha fazla TSH (Tiroid Uyarıcı Hormon) salgılar. Bu durum, tiroid foliküllerinde kolloid azalması, foliküler hipertrofi, foliküler hiperplazi ve foliküler lümen boyutunda azalma gibi değişimlere yol açar (Despopoulos, 1997; EPA, 2002; LANL, 2003). Ayrıca, perkloratın tiroid foliküllerinde anjiyogenesise sebep olduğu da gösterilmiştir (Patiño, 2003; Karayazı, 2005).

Tiroidin metabolizmayı düzenleyici temel organ olmasından hareketle tiroid fonksiyonlarını bozan herhangi bir durumun, karaciğer, böbrek, kalp gibi organları da etkileyeceği çıkarımı yapılabilir. Perkloratların böbrek yapısında da değişikliklere yol açtığına dair bulgular mevcuttur (Capps, 2003; Cheng et al., 2007). Ancak kalp ve karaciğer üzerine etkisi detaylı bir şekilde incelenmiş değildir. Perkloratların karaciğerde oluşturabilecekleri düşünülen etkiler çerçevesinde öncelikle tiroid-karaciğer etkileşimlerinin gözden geçirilmesi yerinde olacaktır.

Normal durumda tiroid bezi her gün 110 nmol T₄, 10 nmol de T₃ salgılar (Larsen, 1975). Bilindiği üzere serbest T₃

ve T_4 hedef hücre zarlarından geçerek nuklear T_3 reseptörüne bağlanırlar. T_3 'ün nuklear reseptöre afinitesi T_4 'e kıyasla 10 kat daha fazladır. Bu nedenle, çok daha yüksek miktarlarda üretiliyor olsa bile T_4 esas hormon olmayıp, esas hormon olan T_3 için bir öncül molekül ve depo maddesi konumundadır ve sitoplazmada depolanmaktadır. Hücre kendi programı ve gereksinimleri doğrultusunda T_4 'ten T_3 elde eder. T_4 'ün biyolojik olarak aktif hale gelebilmesi için iyot uzaklaştırılması ve T_3 'e dönüştürülmesi gerekir (Hassi et al., 2001).

Tiroid hormon metabolizmasını düzenleyen üç enzim grubu vardır. Bunlar tip I (D_1), tip II (D_2) ve tip III (D_3) deiyodinazlar olarak isimlendirilirler ve T_4 'ün T_3 'e aktive edilmesi ile T_4 'ün rT_3 'e (reverse T_3) deaktive edilmesinde ve rT_3 'ün T_3 ve T_2 'ye çevrilmesinde görevlidirler.

Tip I deiyodinaz (D_1) çoğunlukla karaciğer ve böbrekte bulunur (Sanders et al., 1997) ve T_3 'ün tiroid dışındaki üretiminin % 30 ila % 40'ından (12 nmol) sorumludur. Tip II deiyodinaz (D_2) ise hipofiz bezinde, merkezi sinir sistemi ile iskelet kaslarında bulunur (Leonard et al., 2000) ve tiroid dışı T_3 üretiminin % 60-70'inden (30 nmol) sorumludur. Her iki enzim grubu da T_3 ve T_4 'ü inaktive edebilseler de, asıl

inaktivasyon sistemi tip III deiyodinaz olan D_3 üzerinden çalışır. D_3 enzim sistemi de yine karaciğer, ayrıca deri ve merkezi sinir sisteminde ve fetüsü annenin tiroid hormonlarından korumak üzere (Darras et al., 1999) plasentada da bulunur. D_3 sistemi T_4 'ü rT_3 'e, T_3 'ü de T_2 'ye çevirir. Bu maddelerin her ikisi de inaktif metabolitlerdir (Bianco et al., 2002).

Her üç deiyodinaz enzimi de *Tilapia sp.* gibi teleostlarda belirlenmiştir. Power et al. (2001), diğer teleostlarda da üç deiyodinaz olabileceğini; ancak bunların aktivitelerinin memelilerdeki ile özdeş olmadığını öne sürmektedir.

Karaciğer, deiyodinasyondaki enzim sistemlerinin üretim merkezlerinden başlıcası olmasının yanı sıra tiroid hormonlarının taşınması ve metabolizmasında da çok önemli görevler üstlenmektedir. Radyoaktif iyodür (I^{131}) ile yapılan çalışmalara göre karaciğer her seferinde plazmadaki T_4 'ün % 5-10'unu dışarı atar. T_3 ve T_4 'ün hepatosit zarı boyunca stereospesifik bir taşıma mekanizması tarafından taşındığı belirlenmiştir. Hücre içindeki serbest hormon miktarı plazmadakine oranla yüksektir. Bu nedenle sözkonusu süreç enerjiye gereksinim gösterir (Hennemann et al., 2001).

Dolaşımdaki T_3 ve T_4 'ün yaklaşık %70'i tiroksin bağlayıcı globuline (TBG), %5'i prealbumine ve az bir kısmı albumine bağlı olarak taşınır ve bu şekilde hormonların %99'undan fazlası dolaşıma katılmış olur. Böyle bir taşınma mekanizması tiroid hormonlarının hedef dokulara varmadan önce metabolize edilerek vücuttan atılmasını önlemektedir (Christian and Trenton, 2003). Karaciğer, lipofilik tiroid hormonlarına bağlanan bu proteinleri de üretir. Plazmada serbest haldeki hormonlar, proteine bağlanmış hormonlarla denge halindedir ve hormonun biyolojik aktivitelerini gerçekleştiren, bu serbest kısımdır. T_3 ve T_4 'ün plazmadaki miktarı belli değerler arasında sabit olduğu için dokular aynı konsantrasyondaki hormona maruz kalırlar. Ancak farklı dokulardaki hormon miktarı, o dokudaki taşıma ve deiyodinaz aktivitesi ile bağlantılı olarak değişir (Bianco et al., 2002). Balıklarda tiroid hormonlarının taşınmasında lipoproteinler de önemli rol oynar (Power et al., 2001).

Kısaca tiroidin hedef dokulara etkisi sadece hormonlarının sentez ve salınma miktarlarına ve bu bağlamdaki deiyodinasyona değil, ayrıca taşınmaya, T_3 'ün nuklear reseptörlere bağlanması uzantısında da reseptör dağılımına ve çalışmasına bağlıdır.

Malik ve Hodgson (2002), normal büyüme, gelişim ve hücre içi enerji metabolizması için çok önemli olan tiroid fonksiyonlarının, normal bir tiroid-karaciğer ekseninin oluşmasına bağlı olduğunu rapor etmekte; tiroid ve karaciğerin intrasellüler sinyal iletimi çerçevesindeki ilişkilerini, normal ve kronik hastalık durumlarında tiroid metabolizmasını ve tiroid hastalıklarında ortaya çıkan karaciğer anomalilerini geniş bir derlemeyle sunmaktadırlar.

Tiroid bezi ve karaciğerin karşılıklı etkileşimlerini belirlemeye yönelik olarak özellikle memelilerde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Etkileşimin ilk örneği tiroid hormonlarının öncül maddesi olan tirozinin, dışarıdan besinlerle alınabileceği gibi, karaciğerde fenilalaninin değişime uğraması sonucu da oluşturulabilmesidir. Sindirim kanalında proteinlerin sindirimi sonucu serbest hale geçen tirozin, karaciğerde zehirsizleştirildikten sonra idrarla atılır.

Hipotiroidi ve hipertiroidi, tiroid işlevlerini etkileyen iki farklı olgu olarak çok değişik araştırmalarda ele alınmıştır. Sıçanlarda hipotiroidi safra akımını yavaşlatıp (Layden and Boyer, 1976) safrayla atılan bilirubin miktarını azaltırken (Van Steenberg et al., 1989); karaciğerin üre sentezleme kapasitesini artırmaktadır (Marti et al., 1988).

Hipertiroidizm ise bazal metabolizma hızını ve hepatik oksijen kullanımını artırmaktadır (Iossa et al., 1992).

Hipotiroidi ve hipertiroidi, karaciğer glikojen metabolizmasında da etkilidir. Holness ve Sugden (1987), yine sıçanlarda hipertiroidizm durumunda karaciğerde glikojen sentezinin bloke edildiğini ortaya koymuşlardır.

Demartino ve Goldberg, (1978), sıçanlarda tiroid bezinin salgıladığı hormonların karaciğer ve iskelet kaslarındaki lizozomal enzim aktivitesini kontrol ettiğini öne sürmüşlerdir. Akut ya da kronik karaciğer hastalığı olan insanlarda ise serum T₄ ve TBG seviyelerinde artma olduğu tespit edilmiştir (Babb, 1984; Huang, 1990).

Bu bilgilere rağmen, memelilerde hipertiroidi durumunda karşılaşılan karaciğer hasarının, daha ziyade kalp yetmezliği, dengesiz beslenme, enfeksiyon gibi nedenlerle oluşan ikincil bir sorundan kaynaklandığını öne süren raporlar da bulunmaktadır (Klion et al.,1971; Sheridan , 1983; Sellin and Vasilopoulou-Sellin, 2000; Özdemir, 2005).

Teleostlarda tiroid-karaciğer etkileşimleri konusunda yeterli bilgi bulunmadığı gibi, karaciğer metabolizması ve zehirsizleştirme (detoksifikasyon) mekanizmaları

konusundaki bilgiler de ancak son yıllarda artış göstermektedir (Boyuneğmez, 2004, Romao et al., 2006; Weismann and Miller, 2006; Park et al., 2007; Wahbi and El-Greisy, 2007). Toksik kirleticilerin etkilerini belirlemek üzere teleostlarda kullanılan başlıca biyoişaretleyiciler oksidatif stres, nörotoksisite, DNA eklentileri ve Faz I-II olmak üzere biyodönüşüm enzimleridir. Oksidatif stres için antioksidan enzimler olan süperoksit dizmutaz ve katalaz; nörotoksisite için asetilkolin esterase; biyodönüşüm enzimleri olarak da Faz I'de karma işlevli oksidazlar (MFO) grubundan sitokrom P450; Faz II' de ise transferaz enzimleri değerlendirilmektedir. Çeşitli balık türlerinin karaciğerinde P450 grubuna giren özellikle 7-etoksiresorufin O-deetilaz = EROD enziminin miktarındaki artış, sudaki iz organik bileşikleri ve özellikle klorofenollerini izlemek için kullanılmaktadır (Connell et al., 1999; Boyuneğmez, 2004). Karaciğerde sentezlenen EROD, poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorlu bifeniller (PCB), dioksinler gibi toksik kimyasallara maruziyet durumunda ortaya çıkabilen kanserleşme olgularıyla doğrudan bağlantılıdır. Toksik kimyasallara maruz kalan balıklarda genel sağlık tablosu bozulmakta, üreme işlevleri ve steroid hormon metabolizması ciddi ölçüde etkilenmektedir.

Bütün bu veriler, teleostlarda tiroid-karaciğer ilişkisinin daha ayrıntılı araştırmalara konu olacak kadar ilginç olduğunu düşündürmekte ve perkloratlar hakkında son yıllarda giderek yoğunlaşan çalışmalar, konunun farklı türlerde ayrıntılı araştırılmasının yararlı olacağını ortaya koymaktadır.

Bu çerçevede sunulan araştırmada birincil hedef, perkloratın tiroid bezine olan etkisini bu konuyla ilgili olarak üzerinde araştırma yapılmamış bir tür olan *P. sphenops*'da ortaya koyabilmektir. Bu temel hedefin yanısıra, karaciğerin metabolizmadaki çok önemli işlevlerinden hareketle tiroid-karaciğer histopatolojilerinin olası bağlantıları ayrıca değerlendirilmeye çalışılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2. 1 Materyal

2.1.1.Deney hayvanları

Bu çalışmada ergin erkek siyah moli balıkları (*P. sphenops*) kullanılmıştır.

Sınıflandırma (Myers et al., 2008) :

Ordo: Atheriniformes

Subordo: Cyprinodontoidei

Familya: Poeciliidae

Genus: *Poecilia*

Species: *sphenops*

Çeşitlilik göstermekle birlikte renkleri genellikle parlak siyahtır. Canlı doğuran bir türdür. 21 – 27° C sıcaklık ve 7,5 – 8,2 pH değerine sahip tropik tatlı sularda yaşar. Solucanlar, krustaseler, böcekler ve çeşitli bitkilerle beslenir.

Dişilere oranla daha ince yapılı olan erkeklerde anal yüzgeç bir kopulasyon organı (gonopodium) olarak evrimleşmiştir. Gonopodium hemen her doğrultuda hareket edebilir ve spermleri spermatofor adlı keselerde depolar.

Çalışmada bu türün seçilmiş olmasının başlangıç nedenleri şunlardır:

- Ticari olarak çok kolay temin edilebilmektedir.
- 1–10 cm arasındaki boyuyla küçük ve akvaryumda kolay beslenebilen bir türdür.
- Gebelik süresi kolayca takip edilebilmektedir.

Bu nitelikleriyle sadece ekotoksikolojik araştırmalar için değil, gelişim biyolojisi araştırmaları için de gerçekten uygun bir organizmadır.

2.1.2.Deneyde kullanılan kimyasal madde

Deneylerde, perklorat tuzları arasında hakkında en az bilgi bulunanlarından biri olan ve Exper Ltd. Şirketinden temin edilen sodyum perklorat 1 – hidrat (Panreac Quimica SA – PA 134387, CAS 7791–07–03) kullanılmıştır. Molekül formülü $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; molekül ağırlığı 140,46 gramdır.

2.2. Metot

2. 2. 1. Ortam koşulları

Çalışmada dişi cinsiyet hormonları etkisinden kaçınabilmek amacıyla erkek balıklar kullanılmış ve ticari akvaryumculardan temin edilen 25 adet ergin erkek siyah moli, 15 gün süre ile 20 litrelik (15 x 25 x 35 cm) ve dinlendirilmiş şebeke suyu içeren beş akvaryuma eşit sayıda olmak üzere konularak ortama alişmaları sağlanmıştır.

Su parametreleri řu şekilde belirlenmiştir: Fransız sertliği 31,0–32,0; tuzluluk % 0,1; pH 7,5 – 7,9; serbest klorür 0,6 mg/lt; sodyum 18 mg/lt; alüminyum $0,030 \pm 0,008$ mg/lt; demir $0,08 \pm 0,055$ mg/lt.

Denemeler Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne ait bir laboratuarda, Temmuz ayında gerçekleştirilmiştir. Deneme süresinde su sıcaklığı 24 ± 2 °C olarak ayarlanmış, suyun buharlaşmasını önlemek amacıyla akvaryumların üzerleri cam kapaklarla örtülmüş ve 15 saat aydınlık, 9 saat karanlık doğal fotoperiyod uygulanmıştır. Balıklar günde bir kez moli balığına uygun olarak seçilmiş ticari balık yemi (Sera – San) ile beslenmiştir.

2. 2. 2. Perklorat uygulaması

Denemelerde kullanılmak üzere sodyum perklorat konsantrasyonu 1000 ppm olacak şekilde stok solusyon hazırlanmıştır. Kontrol dışındaki akvaryumlara sırası ile 1, 5, 25 ve 125 ppm'lik perklorat konsantrasyonları uygulanmıştır. Akvaryum suları haftada bir kere yenilenip ölçümler yapılarak gerekli sodyum perklorat miktarları eklenmiştir. 10 gün boyunca belirtilen konsantrasyonlara maruz bırakılan hayvanlar histolojik incelemeye alınmıştır.

Uygulama süresince deneme grubu balıklarıyla aynı temperatür ve fotoperiyotta tutulan, aynı şekilde beslenen kontrol grubu balıklarına sadece su değiştirme işlemi uygulanmıştır.

2. 2.3. Histolojik incelemeler

Deneme ve kontrol grubu balıkların tiroid histolojisinin incelenmesi için baş kısımları 48 saat, karaciğer histolojisinin incelenmesi için ise karaciğerleri 24 saat süreyle Bouin eriyiğinde tespit edilerek doku örnekleri dehidrasyon ve şeffaflaştırmayı takiben parafin içine gömülmüştür. 5 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen – Eosin ile boyanıp ışık mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

3. BULGULAR

3.1 GENEL DEĞERLENDİRME

Deneme süresinde uygulama gruplarında 25 ppm perklorat uygulamasından altı gün sonra bir adet balık ölümü kaydedilmiş ve bu düşük mortalite değerlendirmeye alınmamıştır. Uygulama süresinde örneklerin genel görünüm ve davranışları sürekli olarak gözetim altında tutulmuştur. Buna göre balıkların genel görünümünde ve pigmentasyonlarında herhangi bir farklılık ortaya çıkmamıştır.

Ancak, dış görünümde hiçbir değişim göstermeyen örneklerde, özellikle en yüksek konsantrasyon uygulaması yapıldıktan sonra bazı davranış bozuklukları izlendiğini hemen vurgulamak gerekir. Bu değişimler özellikle uygulama süresinin son günlerinde çok daha belirgin olmak kaydıyla, balıklarda artan hareketlenme ve saldırgan davranışlar olarak tanımlanabilir.

3.2. TİROİD

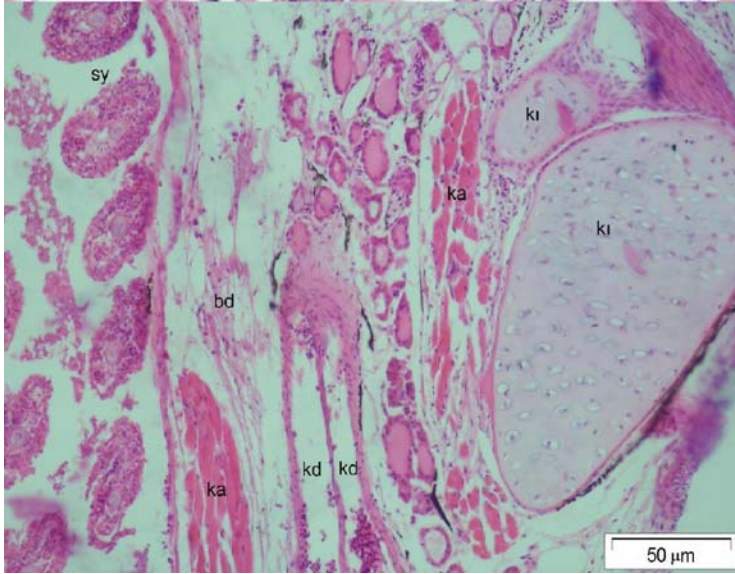
P. sphenops'da tiroid folikülleri diğer teleostlarda olduğu gibi kapsülsüz ve dağınık halde, çoğunlukla farinkste, solungaç yaylarına yakın konumlanmış durumdadır.

3.2.1. Kontrol grubu

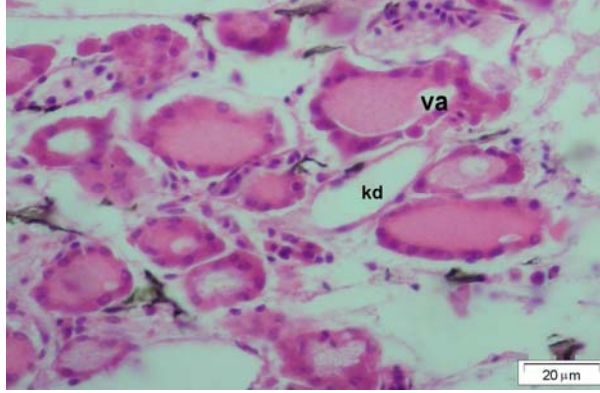
Kontrol grubunda yapılan histolojik incelemelere göre, tiroid folikülleri solungaç yaylarına yakın konumda ve bağ dokusuna gömülmüş olarak; kıkırdak dokusu ve kaslar arasında, damarların uzun eksenleri boyunca yerleşmiş durumdadır (Şekil 3.2.1.1). Damarlarda genişleme görülmemektedir.

Foliküller, çoğu oval veya yuvarlak olmak üzere değişik şekillerde izlenirler. Aralarına küçük kan damarları girmiş durumdadır. Az sayıda olmak kaydıyla düzensiz biçimde de olabilirler. Boyutları değişkendir. Kolloid sıvısı, renk tonlarında farklılıklar bulunmakla birlikte çoğunlukla homojen görünümde, bazen folikül lümeninde vakuoller yer alır (Şekil 3.2.1.2).

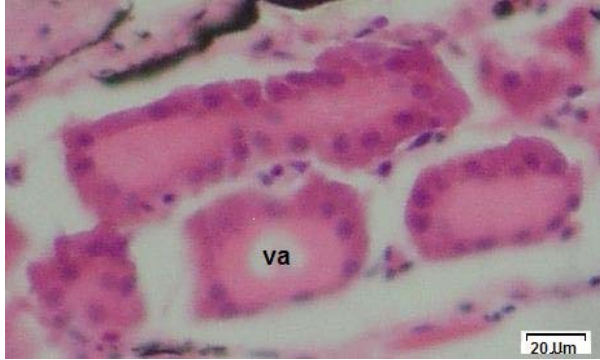
Folikül epitel hücrelerinin sınırları kolayca ayırt edilememekle birlikte, koyu renkli boyanan nukleusların şeklinden yola çıkılarak genellikle kübik, bazen yassı oldukları anlaşılmaktadır (Şekil 3.2.1.2). Sınırları nispeten daha belirgin olan kübik hücrelerin yuvarlak şekilli, iri nukleusları ortada konumlanmıştır, nukleoluslar gözlenmemektedir (Şekil 3.2.1.3). Kolloid sıvısı renk tonlarında farklılıklar göstermekle birlikte çoğunlukla homojen görünümündedir, içerisinde bazen vakuol bulunabilir (Şekil 3.2.1.2 ve 3.2.1.3).



Şekil 3.2.1.1. Kontrol grubu. Solungaç yayları (sy) ve kan damarları (kd) ile yakın ilişkili olacak biçimde konumlanmış çok sayıda, değişik şekilli foliküller ile yakınında yerleşmiş bağ dokusu (bd), kıkırdak (k1) ve çizgili kaslar (ka).



Şekil 3.2.1.2. Kontrol grubu. Aralarında yerleşen küçük ve az sayıda kan damarları (kd) ile değişken boyutlardaki foliküllerde epitelin ve kolloid sıvısının görünümü ve vakuol (va)

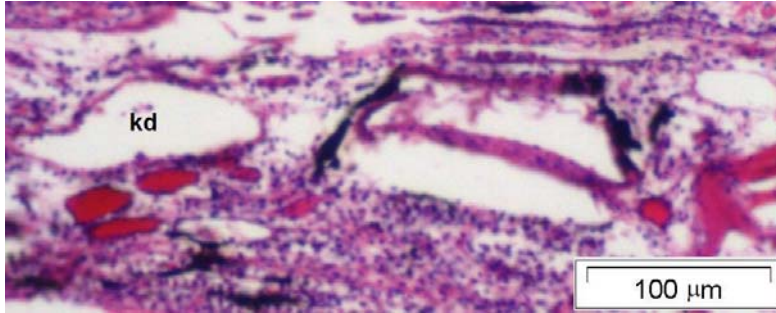


Şekil 3.2.1.3. Kontrol grubu. Folikül epitelinde ayrıntılı görünüm ve vakuol (va).

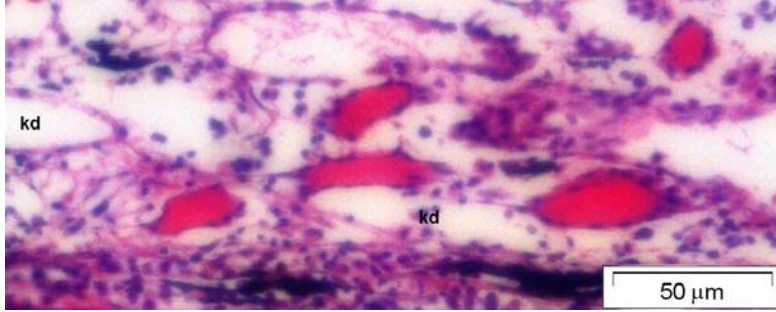
3.2.2. 1 ppm deneme grubu

Kontrol grubuna oranla oldukça azalmış gibi görünen foliküllerin aralarına yerleşmiş durumdaki kan damarları kontrol grubundakilere oranla biraz daha geniştir (Şekil 3.2.2.1. ve 3.2.2.2).

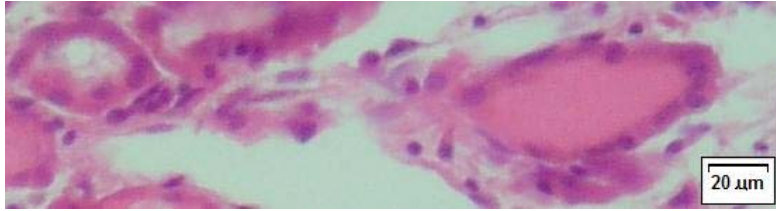
Nukleus şekillerinden yola çıkılarak yapılan değerlendirmede folikül epitel hücrelerindeki belirgin yassılaşıma dikkat çekmektedir. Kolloid sıvısı yine homojen ve oldukça koyu renklidir, bazı foliküller vakuol içermektedir (Şekil 3.2.2.3).



Şekil 3.2.2.1. 1 ppm deneme grubu. Kan damarlarına (kd) yakın şekilde konumlanmış az sayıda folikül.



Şekil 3.2.2.2. 1 ppm deneme grubu. Az sayıda ve küçük foliküllerin çevresindeki damarlarda (kd) genişleme



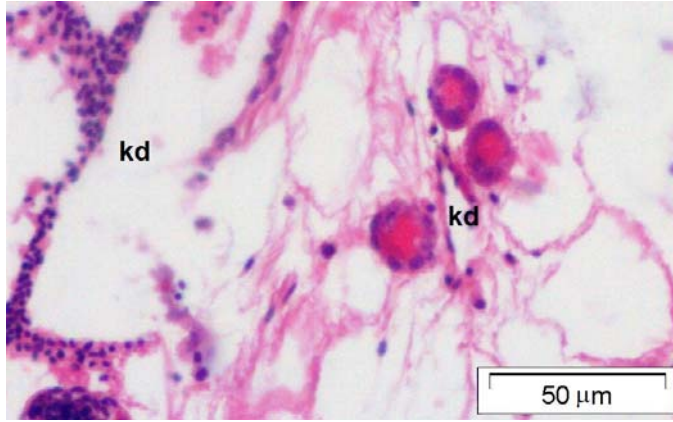
Şekil 3.2.2.3. 1 ppm deneme grubu. Folikül epitelinde belirgin yassılaşıma, koloidal sıvıda sağdaki folikülde homojen, soldakinde vakuoler görünüm.

3.2.3. 5 ppm deneme grubu

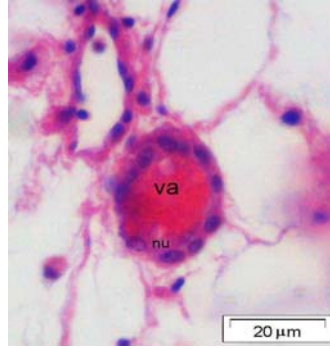
Folikül sayılarındaki belirgin azalma devam etmekte, ayrıca damarlar genişlemeyi sürdürmektedir (Şekil 3.2.3.1).

Epitel hücreleri genellikle yassı şekildedir. Bazılarında nukleolus kolaylıkla seçilebilmektedir. Küçük vakuoller

içerebilen kolloid sıvısı yine koyu renkli ve homojen görünümlüdür (Şekil 3.2.3.2).



Şekil 3.2.3.1. 5 ppm deneme grubu. Az sayıda, küçük foliküllerin çevresinde genişleyen damarlar (kd).



Şekil 3.2.3.2. 5 ppm deneme grubu. Yassı görümlü folikül epitel hücrelerinde nukleolus (nu) ve koyu renkli kolloid sıvısında vakuol (va).

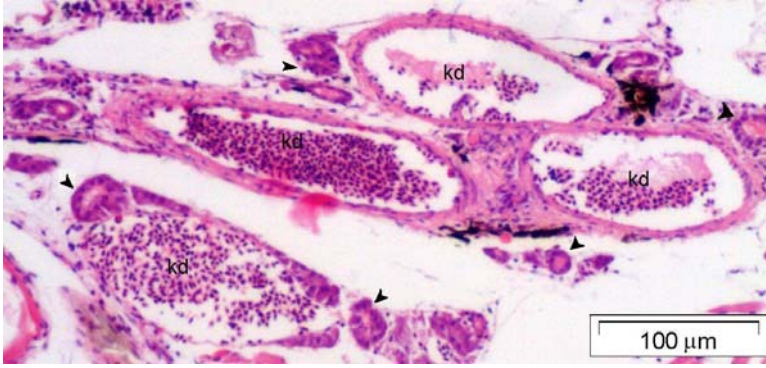
3.2.4. 25 ppm deneme grubu

Bütün deneme grupları içinde en dramatik değişiklik bu grupta meydana gelmiştir. Tiroid folikülleri çevresindeki damarlarda çok belirgin genişleme, özellikle büyük damarların fazlalaşmasıyla birlikte çarpıcı biçimde gözlenmektedir. Kontrol grubunda ve önceki deneme gruplarında bu grupta izlendiği kadar fazla sayıda büyük damar bulunmamaktadır. Bir diğer dramatik değişim folikül sayılarında izlenmektedir. 1 ve 5 ppm deneme gruplarında çok az sayıda folikül varken, bu grupta folikül sayıları, kontrol grubundaki sayılara erişememekle birlikte artmıştır (Şekil 3.2.4.1).

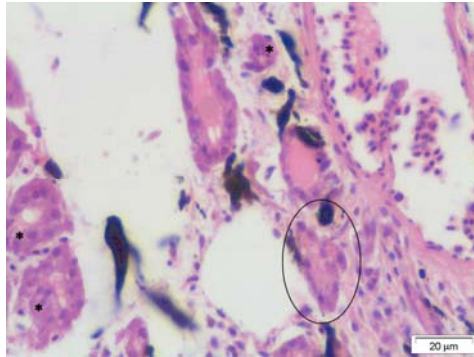
Foliküller genelde yuvarlak, bazen oval şekillidir. Folikül epitelinde genel anlamda bir hipertrofi (Şekil 3.2.4.5) izlenmekte, buna bazı foliküllerdeki tipik bozulma eşlik etmektedir. Öyle ki, bazı foliküllerde epitel – kolloid ayrımı dahi yapılamaz (Şekil 3.2.4.2). Bazı foliküllerde epitel hücre sayısının hiperplazi işareti olarak arttığı gözlenmektedir (Şekil 3.2.4.3).

Kolloid sıvısının görünümü, bu gruptaki önemli histopatolojik bulgulardan bir diğeridir. Folikül epitelinde

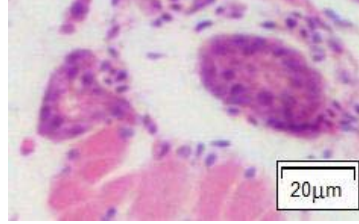
hipertrofinin doğal sonucu olarak, diğer gruplara ve özellikle kontrol grubuna kıyasla kolloid sıvısının kapladığı alan azalmış görülmektedir (Şekil 3.2.4.2). Vakuol artışıyla beraber izlenen bir heterojenite ve dalgalı görünüm dikkat çekmektedir (Şekil 3.2.4.4).



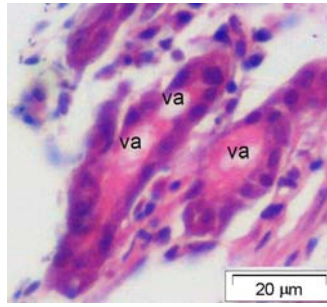
Şekil 3.2.4.1. 25 ppm deney grubu. Belirgin biçimde genişlemiş kan damarları (kd) ve okla işaretlenmiş, önceki deneme gruplarına göre sayıları artmış olan küçük foliküller.



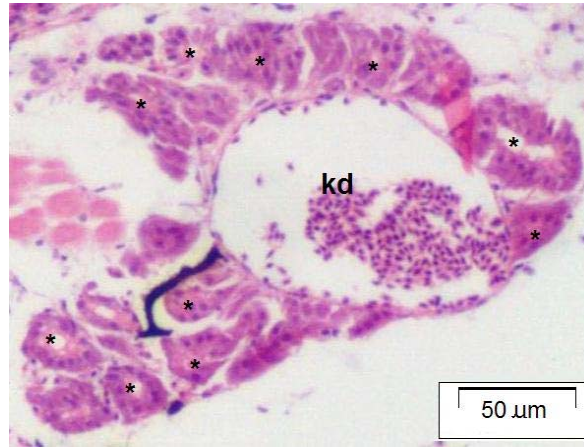
Şekil 3.2.4.2. 25 ppm deneme grubu. Folikül epitelinde hipertrofi (*) ve koloidal alanın azalması; daire içerisine alınmış folikülde çok belirgin bozulma.



Şekil 3.2.4.3. 25 ppm deneme grubu. Folikül epitelinde hipertrofi.



Şekil 3.2.4.4. 25 ppm deneme grubu. Dalgalı ve heterojen görünlü kolloid sıvısında vakuoller (va).



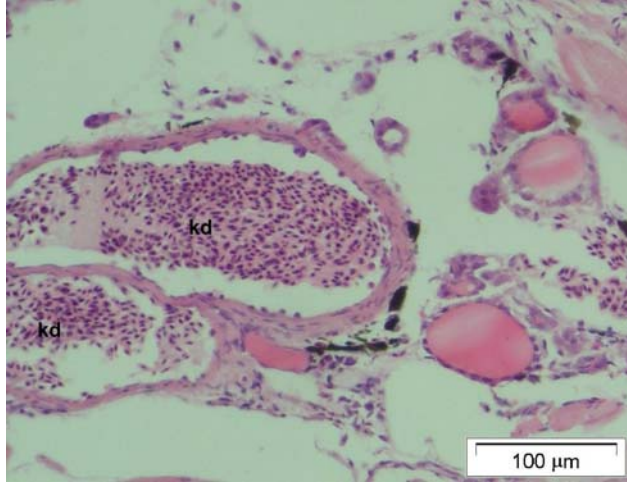
Şekil 3.2.4.5. 25 ppm deneme grubu. Oldukça genişlemiş bir damarı çevreleyen çok sayıda folikülde hipertrofi (*)

3.2.5. 125 ppm deneme grubu

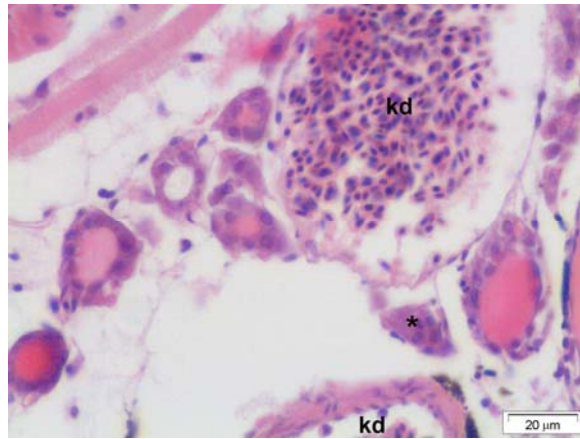
Bu grupta folikül sayıları 1, 5 ve 25 ppm deneme gruplarında görülenlere oranla daha fazla olmakla beraber yine kontrol grubundakine erişememektedir. 5 ve 25 ppm deneme gruplarındaki gibi bu grupta da kontrol grubunda izlenmeyen genişlemiş damarlar bulunmakta (Şekil 3.2.5.1), ayrıca yeni kolateral oluşumları izlenmektedir (Şekil 3.2.5.2).

Değişik boyutlardaki foliküllerde epitelin görünümü de değişkendir. Bazı foliküllerde yassı epitel izlenirken diğer bazılarında kübik ve sınırları belirsiz folikül epiteli tipiktir. Epitelde bozulmanın bir diğer işareti, adeta çok tabakalı bir görünümle kendisini belli eden hiperplazidir (Şekil 3.2.5.3).

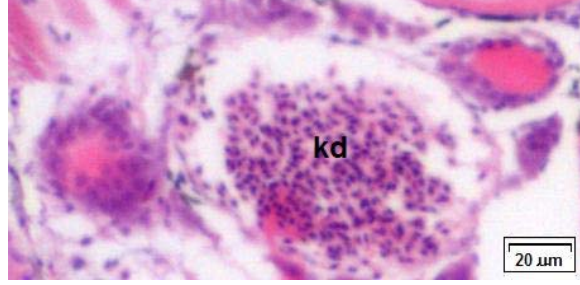
Heterojeniteden ziyade renk geçişleri ortaya çıkan kolloid sıvısı açık-koyulu bir görünüm vermektedir (Şekil 3.2.5.2).



Şekil 3.2.5.1. 125 ppm deneme grubu. Genişlemiş damarlara (kd) yakın konumda foliküller.



Şekil 3.2.5.2. 125 ppm deneme grubu. Foliküllerin yakınındaki genişlemiş kan damarı (kd) ve bir kolateral oluşumu (*).



Şekil 3.2.5.3. 125 ppm deneme grubu. Ortada genişlemiş bir kan damarı (kd) ile sol ve sağında epitelinde bozulma izlenen iki folikül. Özellikle soldaki folikülde epitelin adeta çok katlıymış gibi görünmesiyle tipik hiperplazi.

3.3. KARACİĞER

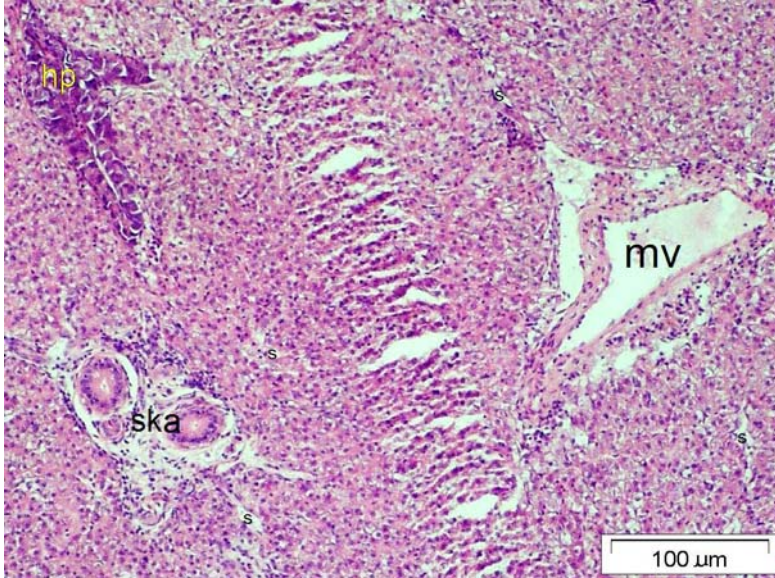
Karaciğer karın boşluğunda midenin üstünde, safra kesesinin hemen yanında uzanır. Diseksiyon sırasında bezin oldukça büyük üç loptan oluştuğu görülmüştür.

3.3.1. Kontrol grubu

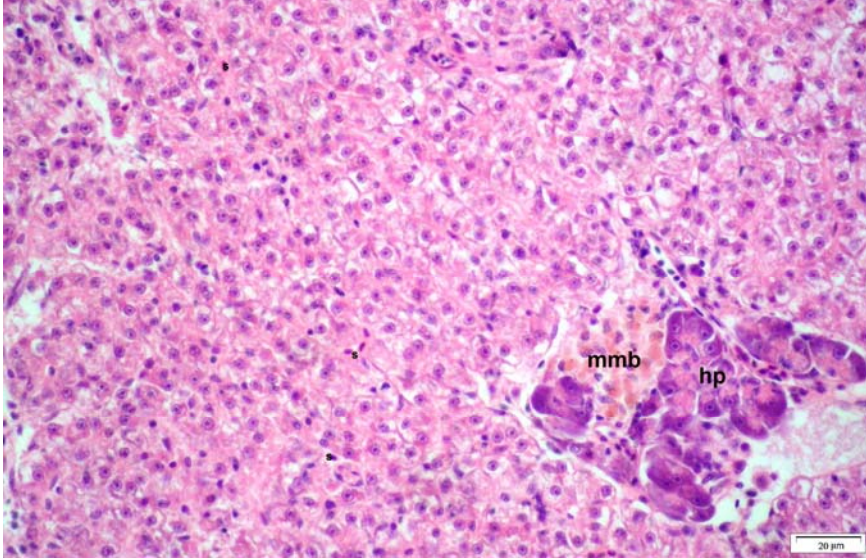
Karaciğer parankiması birbirinden sinüzoidlerle ayrılan çokgen şekilli, bazıları çift nukleuslu karaciğer parankima hücrelerinden (hepatositlerden) meydana gelir. Parankimada merkezi venler çevresinde lobüler bir düzenleme yoktur, hücrelerin kordon şeklindeki yaplanması da izlenemez. Sinüzoidler geniş ve belirgin değildir, ancak kan damarları ve safra kanalları kolayca ayırt edilir.

Pankreas asinuslarının karaciğer dokusu içine dağılması sonucu ortaya çıkan hepatopankreas yapısı tipik biçimde izlenmektedir (Şekil 3.3.1.1).

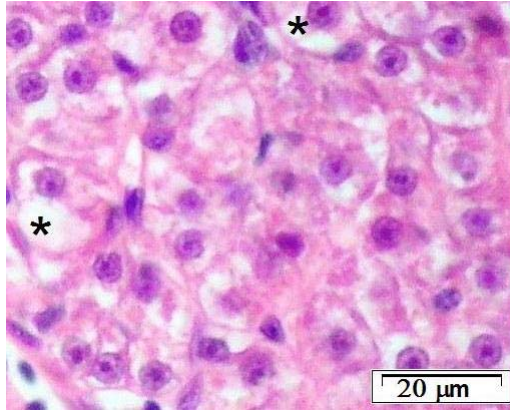
Karaciğerde ayrıca yer yer koyu sarı-kahverengi arası melanomakrofaj bölgeleri görülmektedir (Şekil 3.3.1.2). Hepatosit sitoplazmaları granüler yapıdadır, nukleuslar belirgindir (Şekil 3.3.1.2 ve 3.3.1.3) ve çoğunda merkezi yerleşimli, koyu mavi renkteki nukleoluslar rahatça ayırt edilir. Bazı örneklerde hepatositlerde az miktarda yağlanma görülmüştür (Şekil 3.3.1.3).



Şekil 3.3.1.1. Kontrol grubu. Karaciğer parankimasında merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), safra kanalları (ska) ve hepatopankreas (hp) yapısı.



Şekil 3.3.1.2. Kontrol grubu. Hepatositlerde belirgin nukleuslar, hepatopankreas yakınında (hp) melanomakrofaq birikimi (mmb) ve sinüzoidler (s)

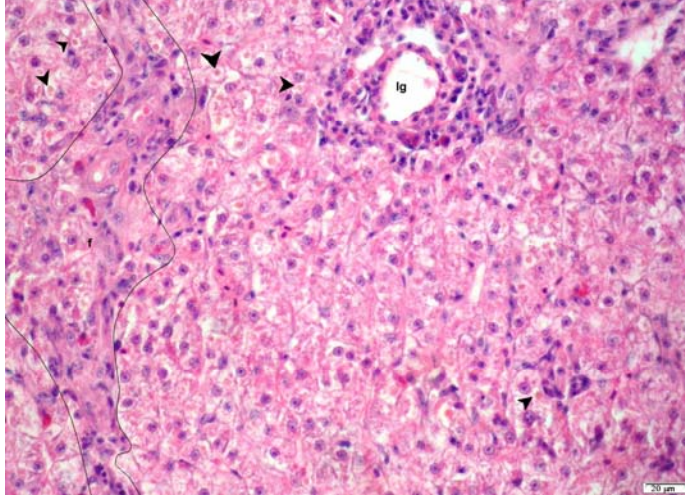


Şekil 3.3.1.3. Kontrol grubu. Çokgen şekilli ve granüler sitoplazmalı hepatositlerin belirgin nukleusları ve merkezi yerleşimli, koyu mavi renkteki nukleoluslar; bazı hücrelerde yağlanma (*).

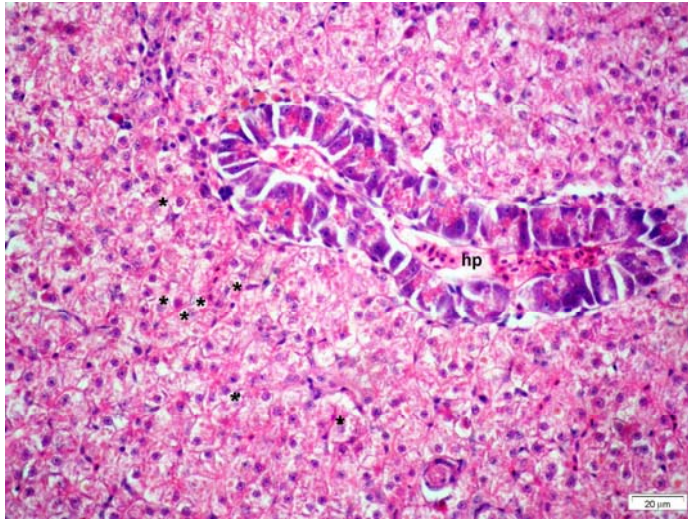
3. 3. 2. 1 ppm deneme grubu

Bu grupta göze çarpan ilk değişiklik, geniş alanlarda izlenen fibroz doku oluşumudur. Az miktarda yağlanma bu grupta da görülmekte, ayrıca lipid granülomları oldukları düşünülen yapılar bulunmaktadır (Şekil 3.3.2.1). Sinüzoidlerde ve eozinofilik görünümlü hepatopankreas içinde bir miktar kanlanma vardır. Hepatositlerde yer yer nekroz izlenmekte (Şekil 3.3.2.2), doku genelinde yoğun şekilde safra pigmentlerine rastlanmaktadır (Şekil 3.3.2.1 ve 3.3.2.3).

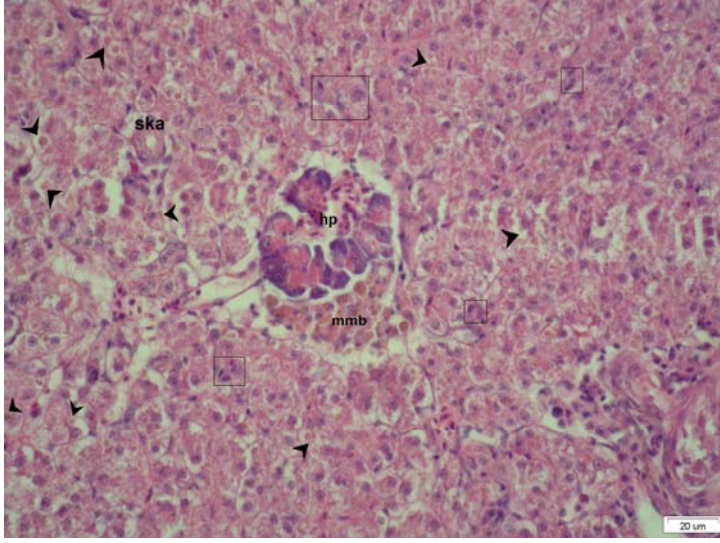
Hücre şekilleri ve sitoplazma bütünlüğü korunuyor olmasına karşın, bazı hepatositlerin nukleuslarında yarım ay biçimli tipik piknotik görünüm gözlenmektedir. Hepatositlerde ayrıca safra granülleri belirgindir. Hepatopankreas asinüsleri çevresinde melanomakrofaj birikimleri ve genelde bol miktarda safra pigmenti göze çarpmaktadır (Şekil 3.3.2.3).



Şekil 3.3.2.1. 1 ppm deneme grubu. Sınırları elle çizilmiş olan fibroz gerçekleşmiş geniş bir bölge(f) yakınında lipid granulomu (lg) ve okla işaretlenen yaygın safra pigmentleri.



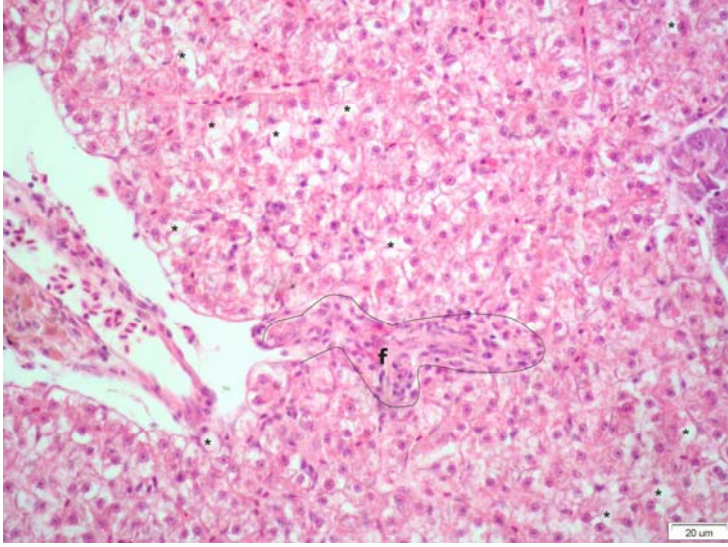
Şekil 3.3.2.2. 1 ppm deneme grubu. Eozinofilik görünümlü hepatopankreasta (hp) kanlanma ve nekrotik hepatositler (*)



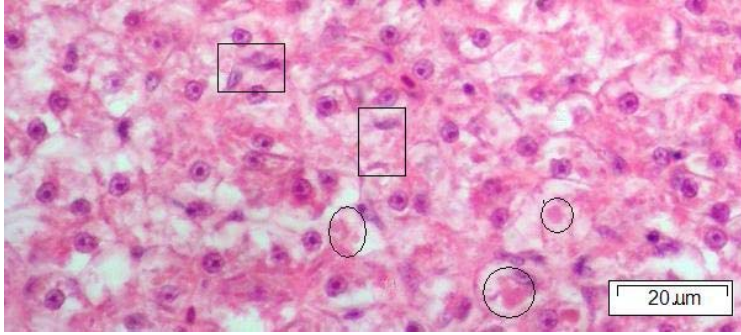
Şekil 3.3.2.3. 1 ppm deneme grubu. Dikdörtgen içerisinde piknotik nükleuslar, hepatositlerde safra granülleri, hepatopankreas (hp) çevresinde melanomakrofaj birikimi (mmb), safra kanalı (ska) ve okla işaretlenen yaygın safra pigmentleri.

3. 3. 3. 5 ppm deneme grubu

Yer yer fibroz doku oluşumu izlenen bu grupta hepatositlerdeki yağlanma önceki gruplara oranla daha belirgindir ve piknotik nükleuslarla kendini gösterecek şekilde olmak üzere deformasyonlar vardır (Şekil 3.3.3.1 ve 3.3.3.2). Doku genelinde deforme olan hücrelerin kalıntıları oldukları düşünülen eozinofilik birikimler dikkat çekmektedir (Şekil 3.3.3.2)



Şekil 3.3.3.1. 5 ppm deneme grubu. Hepatositlerde belirgin yağlanma (*), merkezi ven yakınında sınırları elle çizilmiş fibroz doku oluşumu (f).

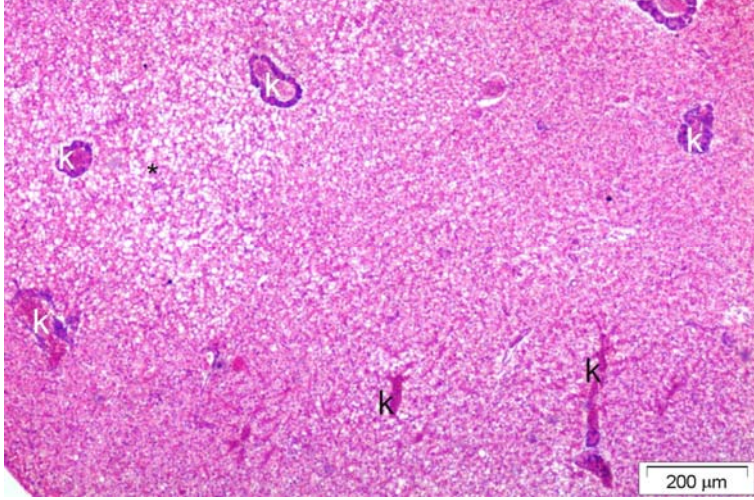


Şekil 3.3.3.2. 5 ppm deneme grubu. Dikdörtgen içerisinde piknotik nukleuslar ve daire içerisinde eozinofilik birikimler.

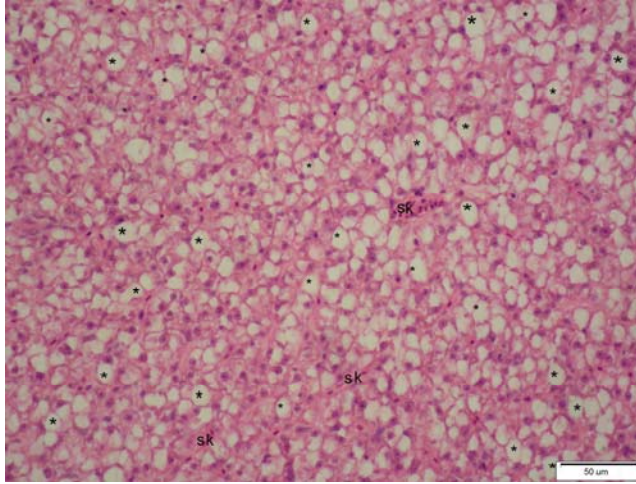
3. 3. 4. 25 ppm deneme grubu

Doku genelinde hepatositlerde çok yoğun bir yağlanma, safra kanallarında, hepatopankreas içinde, hepatositlerde ve sinüzoidlerde yoğun kanlanma söz konusudur (Şekil 3.3.4.1, 3.3.4.2 ve 3.3.4.3). Nukleus deformasyonları bağlamında en sık izlenen olgu karyolizisdir ve parankimada ayrıca monositler bulunmaktadır (Şekil 3.3.4.4).

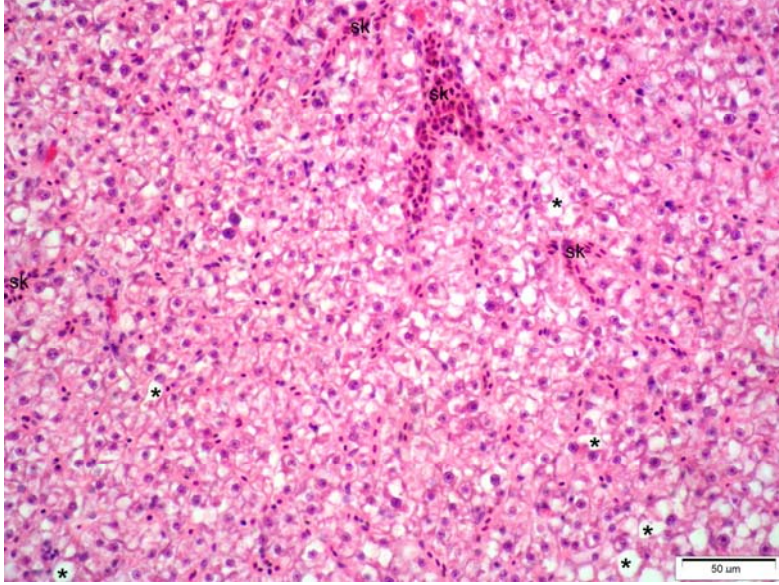
Hepatopankreas asinuslarının bazılarında nukleuslar ayırt edilememektedir. Bu tip asinusların yakınında nekrotik bölgeler ve melanomakrofaj birikimleri görülmektedir (Şekil 3.3.4.5).



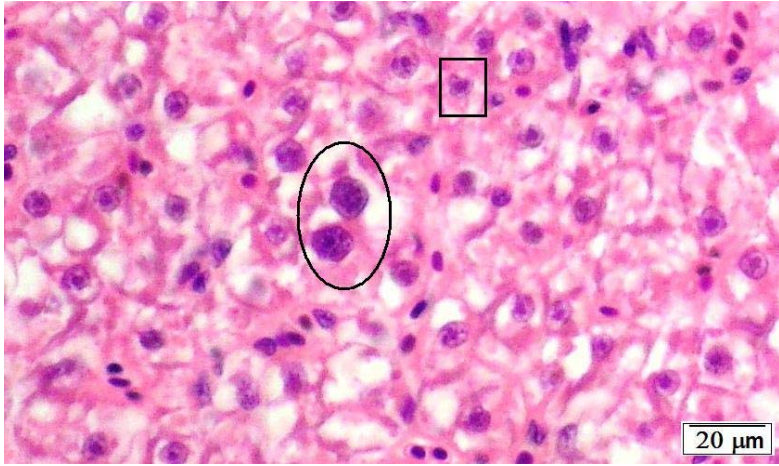
Şekil 3.3.4.1. 25 ppm deneme grubu. Doku genelinde yoğun yağlanma (*) ve kanlanma (k)



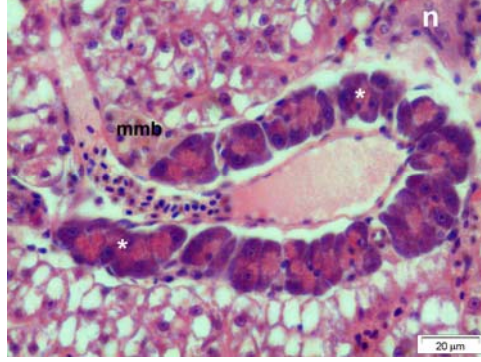
Şekil 3.3.4.2. 25 ppm deneme grubu. Hepatositlerde çok yoğun yağlanma (*) ve sinüzoidlerde kanlanma (sk)



Şekil 3.3.4.3. 25 ppm deneme grubu. Sinüzoidlerde yoğun kanlanma (sk), ve hepatositlerde çok yaygın yağlanma (*).



Şekil 3.3.4.4. 25 ppm deneme grubu. Dikdörtgen içerisindeki hepatosit nukleusunda karyolizis ve daire içerisinde parankimada iri monositler.



Şekil 3.3.4.5. 25 ppm deneme grubu. Hepatopankreasta nukleusları ayırt edilemeyen hücreler (*), nekroz (n) ve melanomakrofaj birikimi (mmb).

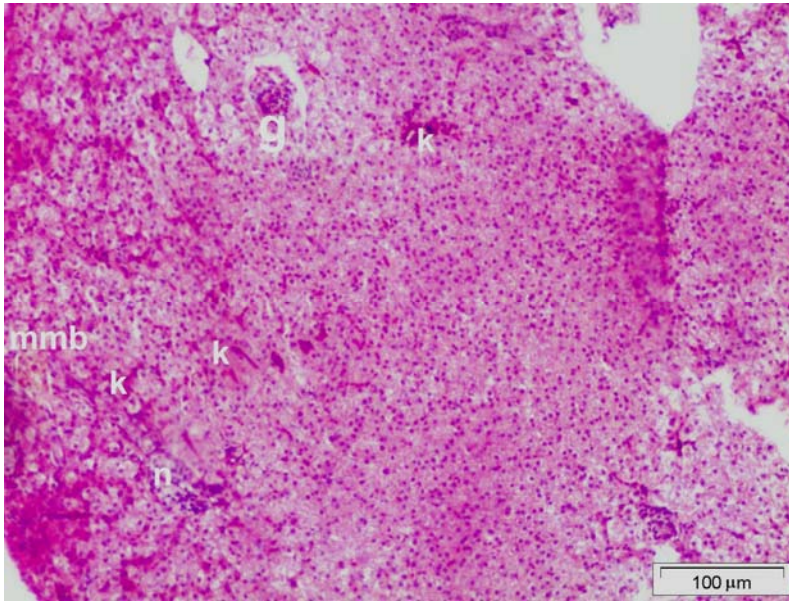
3. 3. 5. 125 ppm deneme grubu

Bu grupta karaciğer yağlanması 25 ppm deneme grubuna oranla azalmış olmasına karşın, dokuda ilk bakışta göze çarpan nekrotik bölgelerle belirgin bir bozulma söz konusudur. Yer yer granulomlara rastlanmaktadır. Doku genelinde büyük oranda kanlanma mevcuttur ve kanama odakları izlenmektedir. Melanomakrofaj bölgeleri bu grupta da çok sayıdadır (Şekil 3.3.5.1).

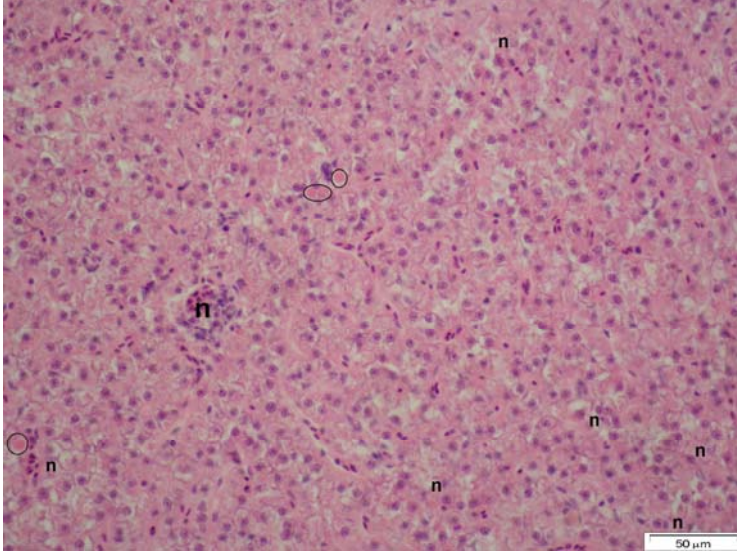
Hepatositlerde nuklear bozulma önceki gruplara oranla belirgin olarak fazladır. Hücrelerde sitoplazma sınırları belirgin değildir. Hipertrofik hücrelerde yer yer nukleuslar kaybolmuştur. Bazı hücrelerde damla tarzında pembe renkte

eozinofilik birikimler görülmektedir (Şekil 3.3.5.2 ve 3.3.5.3).

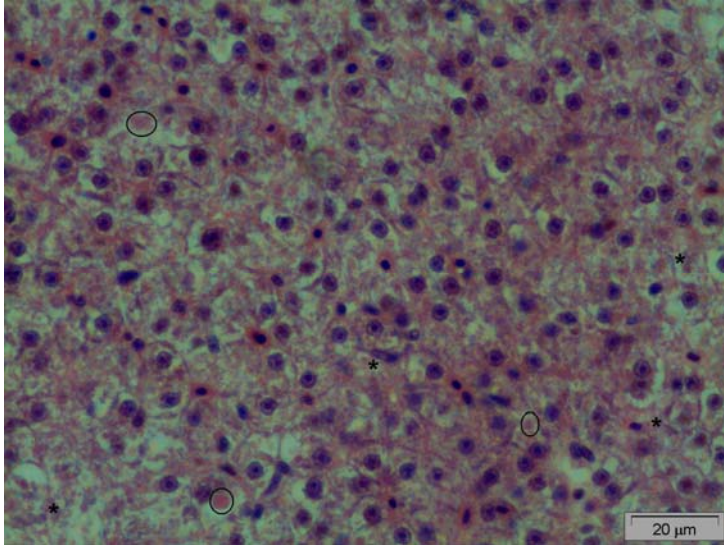
Sinüzoidlerde ve hepatopankreasta kanlanma söz konusudur (Şekil 3.3.5.4 a ve b).



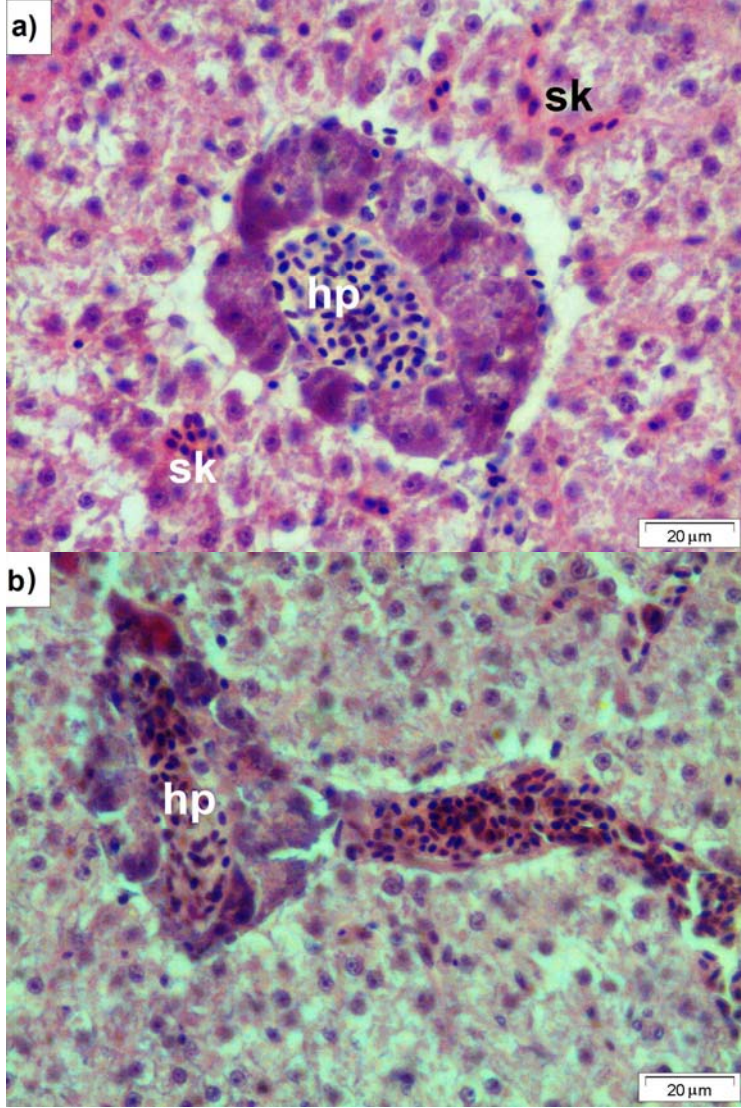
Şekil 3.3.5.1. 125 ppm deneme grubu. Parankimada granulom (g), nekroz (n), kanama odakları (k) ve melanomakrofaj birikimi (mmb).



Şekil 3.3.5.2. 125 ppm deneme grubu. Parankimada yaygın nekrotik alanlar (n) ve daire içerisinde eozinofilik birikimler.



Şekil 3.3.5.3. 125 ppm deneme grubu. Hepatositlerde çeşitli şekillerde bozulma (*) ve daire içerisinde eozinofilik birikimler.



Şekil 3.3.5.4. 125 ppm deneme grubu. a) sintüzoidlerde (sk) ve b) hepatopankreasta (hp) kanlanma.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1. Genel Değerlendirme

Çevre kirleticileri arasında çok bilinen ve etkileri geniş ölçüde tartışılan kimyasal ve biyolojik maddelerin yanında, etkisi kamuoyu tarafından çok fark edilmediği halde kullanım alanı çok geniş olan, ancak çevreye karşı büyük tehdit oluşturan maddeler de mevcuttur. Bunlarda biri olan perklorat tuzları, özellikle savunma sanayindeki geniş kullanım alanları nedeniyle üzerinde son derece kısıtlı araştırmalar yapılabilen kimyasallardır.

Perkloratların insan üzerindeki etkilerini bulmaya yönelik çalışmalar, bazı dokulardaki perklorat birikiminin hesaplanması ve tiroid hormonu ölçüleriyle mümkün olmaktadır. Ancak insanlar üzerindeki etkilerin doğrudan ortaya konabileceği araştırmalar elbette ki etik nedenlerle yapılamayacağından, model organizma kullanımı yoluna gidilmektedir.

Primer üretim merkezleri olan organizmaların yaşadığı sucül ortamlarda ekotoksikolojik araştırmalar geniş ölçüde ilgi toplamakla beraber, perkloratların sucül omurgalılar

üzerindeki etkilerine ilişkin çalışmaların pek çoğu, bu bileşiklerin ekosistemdeki varlığını saptamaktan öteye geçmemiştir. Perklorat bileşiklerinin tatlı su ekosistemlerinin anahtar bileşenlerinden olan teleostlar üzerinde etkisini belirten az sayıda rapor bulunmaktadır.

Bu çalışmada model organizma olarak kullanılmış olan *P. sphenops* üzerinde yapılmış herhangi bir ekotoksikolojik araştırmaya rastlanmamıştır. Bir tatlı su teleostu olarak *P. sphenops*'un, giriş bölümünde de belirtildiği gibi, deneysel çalışmalarda kullanıma son derece uygun bir tür olduğu rahatça söylenebilir. Akvaryumda rahatlıkla yetiştirilebilen ve kolaylıkla çoğaltılabilen bir türdür. Boyutlarının küçüklüğü çok sayıda örnekle çalışılmasını mümkün kılar. Bakımı son derece kolay ve masrafsızdır. Çok kolay ve çok sayıda yavrular. Dişilerde gebelik durumunda anal yüzgecin hemen önünde bir karaltı görülür ve bu karaltının büyüklüğüne bakılarak gebeliğin hangi aşamada olduğu rahatlıkla takip edilebilir. Bu özellikleriyle gelişim biyolojisi alanında çalışmalar için gayet uygun bir tür olduğu söylenebilir.

P. sphenops'un, canlı doğuran bir tür olması sebebiyle, yumurta bırakan teleostlara oranla memeli

çalışmalarına model oluşturma niteliğinin daha yüksek olduğunu ayrıca not etmek gerekir. Gözlemlerimiz doğrultusunda söz konusu türün su sıcaklığı, sertliği ve mineral içeriğindeki değişimlere karşı son derece dayanıklı olduğunu da ayrıca vurgulamak gerekir. Bu nitelikleri *P. sphenops*'u *Danio rerio* gibi üzerinde fazlaca çalışılan türlere iyi bir alternatif haline getirmektedir.

Ekotoksikolojik açıdan en önemli husus ise, sunulan araştırmada ortaya konulmuş olduğu üzere türün, kimyasal uygulamaları gibi olumsuz çevre koşullarına karşı oldukça dayanıklı olmasıdır. Denemelerde sadece bir balık ölümü gerçekleşmiş ve bu olgu rastlantısal olarak değerlendirilmiştir.

Daha önce de belirtildiği gibi perkloratın memeli tiroidi üzerindeki etkileri oldukça iyi bilinmekle beraber, teleost tiroidindeki etkilerine yönelik az sayıda araştırma vardır ve ayrıca teleostlarda karaciğer üzerindeki olası etkilerine dair bir araştırmaya da rastlanmamıştır. Toksik maddelerin metabolizasyonu ve vücuttan atılma süreçlerindeki yaşamsal görevleri, özellikle etki mekanizmaları tam olarak ortaya koyulamayan perklorat gibi maddeler açısından karaciğeri çok önemli bir konuma getirmektedir. Memelilerde tiroid ve

karaciğer ilişkilerine dair genel bilgiler bulunmakla beraber teleostlara ilişkin yeterli bilgi yoktur ve sunulan çalışmada bütün bu nedenlerle öncelikle tiroid ve ikincil olarak da karaciğer histopatolojisi araştırılmıştır.

Tiroidi etkilediği net olarak bilinen, karaciğer üzerindeki etkileri ise bazı hayvan sınıflarında hiç bilinmeyen perklorat gibi bir kimyasalın, başta sinir sistemi ve nöroendokrin sistem olmak üzere diğer organ ve sistemleri de etkileme olasılığının yüksek olduğu düşüncesine varılabilir. Özellikle en yüksek konsantrasyonun uygulandığı balıklarda denemelerin son günlerinde gözlenen saldırgan davranışların, bu yöndeki düşüncemizi destekler nitelikte olduğu söylenebilir. Bu durumun net olarak belirlenebilmesi için davranışla ilgili daha ayrıntılı gözlemler ve beyin-hipotalamus-hipofiz başta olmak üzere nöroendokrin sistem üzerinde bazı araştırmalar yapılmasının yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu genel değerlendirmeler uzantısında, sunulan araştırmanın ana eksenlerini oluşturan tiroid ve karaciğere ilişkin sonuçların ayrı başlıklarda ele alınması yoluna gidilmiştir.

4.2. Tiroid

Giriş bölümünde ayrıntılarıyla not edildiği üzere, folikül epitelinde yer alan sodyum – iyodür simporterine bağlanıp foliküllerin iyodür alımını inhibe ederek tiroid işlevlerini bozan (Siglin et al., 2000; Yu et al., 2002) perkloratların teleostlar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yapılan araştırmalar, genelde bu maddelerin ekosistemde ya da canlı dokularındaki birikimini ölçmeye yöneliktir. Bu çalışmalarda çoğunlukla amonyum ve potasyum perklorat kullanılmış, sunulan tezin çalışma materyali olan sodyum perkloratın etkisine yönelik olarak çok sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılabilmektedir (Karayazı, 2005; Liu, 2006).

P. sphenops'da tiroid folikülleri kapsülsüz ve dağınık halde, çoğunlukla farinkste, solungaç yaylarına yakın konumlanmış durumdadır ve tiroid yapılaşması diğer teleostlarla büyük ölçüde benzerlik taşımaktadır (Karayazı, 2005; Geven et al., 2007).

Mukhi ve arkadaşları *D. rerio* (2005) tiroid bezinde perklorat toksisitesinin belirlenmesine yönelik anahtar göstergeler olarak; vücut büyüklüğü, hayvanın kondisyon

durumu, dolaşımdaki T₄ miktarı, kolloidal T₄ halkasının immünohistolojik duyarlılığının düşmesi, folikül epitel hücre hipertrofisi, kolloid sıvısında azalma ve folikül yakınındaki damarlarda anjiyogenesis olmak üzere yedi parametre rapor etmişlerdir. Sunulan tez çalışmasında biyokimyasal ve immünohistolojik yöntemler kullanılmadığından, söz konusu parametrelerden sadece histolojik olanlar, yani hipertofi, kolloid sıvısı görünümü ve anjiyogenesis dikkate alınmış, bazı kesitlerde çok belirgin olarak izlenen hiperplazi de bunlara eklenmiştir.

Bu parametreler dışında vurgulanması gereken bir diğer gözlem kontrol ve uygulama gruplarındaki folikül sayılarıdır. Sunulan araştırmanın sınırlarını zorlamamak amacıyla folikül sayısına yönelik herhangi bir istatistiksel değerlendirme yapılmamakla beraber, 1 ve 5 ppm deneme gruplarında folikül sayısının kontrol grubu örneklerine göre azaldığı rahatça söylenebilir.

Bu gruplarda göreceli olarak az sayıdaki foliküllerin çevresindeki damarlarda gözlenen belirgin genişleme, azalan folikül sayısı uzantısında sentez ve salgılanma miktarlarının azaldığı düşünülen tiroid hormonlarından optimal düzeyde yararlanmaya yönelik bir değişim olarak yorumlanabilir.

Bilindiği üzere toksik maddelere maruziyette önce uyum mekanizmaları devreye girmekte, yüksek doz-kısa süre veya düşük doz-uzun süre uygulamalarında da oluşan hasarın belli ölçülerde onarımı sağlanabilmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000).

25 ve 125 ppm perklorat konsantrasyonuna maruz kalan örneklerde bu değişimi izleyen tablo ise ilginç bir durumu işaret etmektedir. Söz konusu deneme gruplarının folikül sayılarında 1 ve 5 ppm konsantrasyon uygulanan gruplara göre izlenen göreceli artışın ve ayrıca, 25 ppm'de gözlenen çarpıcı bozulmanın 125 ppm'de gözlenememiş olmasının ilk bakışta onarım mekanizmalarının devreye girmesinden kaynaklandığı düşünölmüşse de, folikül şekillerinde ve kolloid sıvısında görölen değişimler, özellikle de 125 ppm uygulama grubundaki belirgin hiperplazi tartışılır niteliktedir.

Hiperplazik epitel hücrelerine ilişkin çelişik bulgular bulunmakla beraber (Mukhi et al., 2005) özellikle 125 ppm grubunda izlenen belirgin hiperplazi daha önce rapor edilenlere (van Putten et al., 1983; York et al., 2001) uygundur.

Hiperplazi esas anlamda bir histopatoloji olmakla beraber, hücre sayılarındaki artış paralelinde hormon sentez ve salgılanma miktarının da artabileceği düşünüldüğünde bir uyum-onarım mekanizması olarak da öne sürülebilir. Ancak bu varsayım onarım mekanizmasının varlığını kanıtlamak için yeterli değildir ve hiperplazinin histopatolojik niteliği de göz ardı edilemez. Kısaca, onarım mekanizmalarına ilişkin olarak çok sayıda ara konsantrasyon uygulamaları ve biyokimyasal çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Kontrol grubunda ve 1 ppm perklorat konsantrasyonu uygulanan grupta yassı şekilde izlenen folikül epitel hücrelerinin diğer bütün uygulama gruplarında kübik hale gelmesi, tipik hipertrofi göstergesidir. Hipertrofik epitel hücrelerine ilişkin bulgular literatür bilgileriyle uygunluk göstermektedir (Patino et al., 2003; Liu et al., 2006).

Mukhi ve arkadaşları (2005) histolojik parametreleri arasında en duyarlı olanı anjiyogenesis olarak rapor etmişlerdir. Teleostlarda anjiyogenesis ilk olarak *Salmo gairdnerii*'de bildirilmiştir (van Putten et al.,1983). Bu çalışmada % 0,03'lük potasyum perklorat uygulanan balıklarda tiroid folikülleri çevresinde kan sirkülasyonunda artış olarak tanımlanan anjiyogenesisin, *D. rerio*'da (Patino

et al., 2003) 667 ppm'lik amonyum perklorat uygulaması sonucunda ortaya çıktığı ve 18 ppm'de sekiz hafta tutulan balıklarda da arttığı belirtilmektedir. Karayazı (2005) yine aynı türde 200 mg/L perklorat uygulamasında belirgin anjiyogenesis bildirmekte, Liu (2006) 90 µg/L'lik perklorat uygulamasına ait sonuçlarla bunu doğrulamaktadır.

Çalışmamızda en düşük konsantrasyon olan 1ppm'lik uygulama sonucunda anjiyogenesis izlenmesi, bu belirtecin en azından sodyum perklorat için gerçekten de duyarlı bir histopatolojik parametre olduğunu ortaya koymaktadır.

4.3. Karaciğer

Metabolik faaliyetlerin ve detoksifikasyon süreçlerinin temel organı olarak karaciğer, metabolizmadaki her türlü değişimden ve toksik maddelere maruziyetten en çok etkilenen organlardan biridir. Omurgalıların en alt grubunu oluşturan teleostlarda bu organ sadece sucul ekosistem kirliliğinin duyarlı bir göstergesi değil, karmaşık metabolik işlevleri uzantısında beslenme değişimlerinin de belirtecidir.

Kötü beslenme nedeniyle karaciğerde yağlanma ve tümör oluşumu görülmektedir (Kranz and Dethlefsen, 1990; Weisman and Miller, 2006).

Çevre kirliliği bağlamında birçok toksik madde ve toksin karaciğerde biyolojik olarak daha az zehirli maddelere dönüştürülür ve safra kesesi yardımıyla dışarı atılır. Bazı toksik maddeler ise depolanır, hatta daha da zehirli kimyasallar haline getirilir (Buhler and Williams, 1988).

Sürekli artan çevre kirliliği uzantısında dünyanın çok farklı bölgelerinde yapılan ve karaciğer dokusunun incelendiği araştırmalarla benzer sonuçlara varılmaktadır. Örneğin Peters et al.(1987) Elbe Nehrinden (Çek Cumhuriyeti) topladıkları *Platichthys flesus*, *Gymnocephalus cernua* ve *Osmerus eperlanus* türlerinin karaciğerlerinde aşırı büyüyen hepatositler (hepatositomegali), sinüzoidlerde kanlanma, nekroz, fibroz doku oluşumu, yağlanma ve melanomakrofaj birikimleri olarak not ettikleri bozulmaları nehirdeki kirlenmenin göstergesi olarak değerlendirmişlerdir.

Nil Nehrinde İskenderiye kentinin endüstriyel atıklarının döküldüğü bölgelerdeki *Siganus rivulatus*

karaciğerlerinde melanomakrofaj birikimi artmıştır (Wahbi and El-Greisy, 2007).

Brezilya'nın güneyindeki Londrina kentinin temel su kaynağı olan Cambé çayından alınan *Prochilodus lineatus* karaciğer, solungaç ve böbreklerinin incelendiği çalışmada da sitoplazmada eozinofilik yığınların oluşması ve nukleus şekillerinde bozulma, hipertrofi ve vakuolizasyon, ayrıca melanomakrofaj birikimi ve nekroz görülmüştür (Camargo and Martinez, 2007). Memelilerle yapılan sayılamayacak kadar çok çalışmada da benzer bulgular elde edilmektedir. Özetle, çalışmamızda sunulan bulguların hemen hepsi kontaminant olarak değerlendirilebilecek kimyasal uygulamalarının sonucunda ortaya çıkabilmektedir. Ancak özel toksik madde olarak perklorat ele alındığında herhangi bir rapora ulaşılabilmesi, bulguların karşılaştırılmasını olanaksız hale getirmekte ve sadece uygulama gruplarımız arasında yapılabilecek bir değerlendirmeye imkân tanımaktadır.

Genel olarak bakıldığında teleost karaciğer yapısının memelilerden oldukça farklı olduğu söylenebilir. Lobüler yapıdaki memeli karaciğerinde hepatositler düzgün sıralar

halinde yerleşmiştir, teleostlarda ise düzgün dizilimli hücreler ve belirgin merkezi venler gözlenmemektedir.

P. sphenops karaciğeri üç lopludur. Kontrol grubunda izlenen az miktarda yağlanma, suni yemle beslenen birçok balık türünde görülebileceği için (Spisni et al., 1998) dikkate değer bir bulgu olarak ele alınmamıştır. Ancak artan konsantrasyon gruplarında, özellikle de 25 ppm deneme grubunda olağanın çok üstünde vakuolizasyonla belirlenen ciddi bir yağlanma söz konusudur. Artan yağlanma, karaciğerde metabolizmanın bozulması sonucu fazla miktarda trigliserit biriktiğinin göstergesi olarak değerlendirilmekte ve *Anguilla anguilla* üzerinde yapılan araştırmalarda (Pacheco and Santos, 2002), sudaki kontaminasyondan kaynaklanan bir karaciğer hasarı olarak öne sürülmektedir. Sunulan araştırmanın bulguları bu görüşü destekler niteliktedir.

Geniş ölçüde kabul gördüğü üzere teleost karaciğer dokusunda Kupffer hücrelerinin bulunmadığı (Sato and Yamamoto, 1983) bildirilmekle beraber, bu hücrelerden söz eden bazı raporların (Cengiz ve Ünlü, 2006) varlığı ilginçtir. Konuyla ilgili çok daha ayrıntılı ince yapı ve immün sitokimya araştırmalarına ihtiyaç olduğu açıktır. Bu

araştırmalarda değişik teleost türleri kullanılmasıyla net sonuçlara ulaşılana kadar, terminolojik bir uyumsuzluğun varlığından söz etmek en doğrusudur, ancak en azından bazı teleostların karaciğerinde Kupffer hücrelerinin yerini bağışıklık sistemi elemanları olarak melanomakrofaj merkezleri almış gibi görölmektedir. Sarı-kahverengi hücre yığınları olarak izlenen bu makrofaj kümelerinin kendilerine özgü renkleri hemoglobinin metabolizmal bir ürünü olan hemosiderin iğeriklerinden kaynaklanır (Christiansen et al., 2006)

Melanomakrofajlar teleost örneklerinin sağlık durumunun önemli bir göstergesi olarak kabul edilir, sayıları bazı enfeksiyonlar sonucunda ya da dengesiz beslenme yahut yaşlanma gibi başka faktörler uzantısında artabilir (Roberts, 1975; Agius, 1979; 1985; Ferguson, 1989; Blazer et al., 1994; Montero et al., 1999; Agius and Roberts, 2003). Bu bağışıklık sistemi elemanları elbette ki sucul ekosistemlerdeki kimyasal madde etkilerinin bir göstergesi olarak kabul edilirler (Wolke et al., 1985).

P. sphenops melanomakrofajlarına ilişkin gözlemlerimiz bu değerlendirmeyi onaylayacak niteliktedir.

Artan konsantrasyon paralelinde melanomakrofaj kümelerindeki hücre sayısı da artmaktadır.

Toksik maddelere maruziyet başta olmak üzere çeşitli nedenlerle hasar gören karaciğerde onarım amacıyla fibröz doku oluşumu olarak tanımlayabileceğimiz fibrozis, *P. flesus*, *G. cernua* ve *O. eperlanus* (Peters et al., 1987); *Pomatocentrus pavo* (Weismann and Miller, 2006) türlerinde de rapor edilmiştir. *P. sphenops*'da 1 ppm olarak belirlenen en düşük perklorat konsantrasyonunda fibrozis görülmesi dikkate alınarak, karaciğerde perklorat uygulamasının en düşük dozlarda bile dokuda hasara yol açtığı söylenebilir. Ancak bu söylem yanıltıcı olabilir, çünkü en yüksek konsantrasyonda fibrozise rastlanmaması dikkat çekicidir. Bu durum, perkloratın göreceli olarak düşük konsantrasyonlarda bile hasar oluşturduğu ve karaciğerde onarımın hemen başladığı şeklinde yorumlanabileceği gibi, çok yüksek konsantrasyonlarda dokunun yenileyemeyecek kadar bozulduğunu da gösteriyor olabilir.

Karaciğerin metabolizma sonucu oluşturduğu artık maddeleri safra salgısı ile dışarı attığı bilinmektedir. Sunulan çalışmada 1 ppm'lik konsantrasyondan başlayarak bütün deneme gruplarında yoğun safra pigmenti, ayrıca

hepatositlerde granüler birikim gözlenmiştir. Hepatosit sitoplazmalarında turuncu – kahverengi granüller şeklinde kendini gösteren bu oluşumlar, safranın karaciğerden tam olarak atılmadığına ilişkin kanıtlar olarak değerlendirilmiş (Pacheco and Santos, 2002) ve safra birikiminin karaciğer metabolizmasındaki hasardan kaynaklandığı bildirilmiştir. (Fanta et al., 2003).

1 ppm deneme grubunda görülen önemli bir değişiklik, lipid granulomlarının meydana gelmesidir. Granulomlar, çoğunluğu makrofaj olmak üzere iltihabi bağışıklık hücrelerinden ve ekstraselüler matriksten oluşmuş nodüllerdir. Genellikle lenfosit kümeleri veya fibroz doku ile çevrelenmiş durumdadırlar (Porter et al., 2003).

Sinüzoidlerde tüm deneme gruplarında izlenen kanlanma olgusu, birçok farklı çalışmada hepatoselüler hasarın bir göstergesi olarak vurgulanmaktadır (Peters et al., 1987; Kranz and Dethlefsen, 1990; Romano et al., 2006). Gerçekten de, perklorat uygulaması sonucu gözlenen en dikkat çekici değişim hepatosit nükleus ve sitoplazmalarındaki bozulmadır. 5 ve 25 ppm uygulamalarından başlayarak izlenen piknotik ve karyolitik nükleuslar bu bozulmanın tipik görünümüdür ve

konsantrasyon artışına paralel olarak daha sık rastlanan olgulardır. Özellikle 125 ppm uygulamasında hücre bütünlüğü bozulmuş, hücre zarı ayırt edilemez duruma gelmiştir. Organofosfat kirleticilerin uygulanması sonucunda *Corydoras paleatus* (Fanta et al., 2003) ve *Prochilodus lineatus* (Camargo and Martinez, 2007) hepatositlerinde de benzer bozulmalar olduğu bildirilmiştir.

Sunulan çalışmada uygulanan en yüksek perklorat konsantrasyonuna maruz kalan örneklerde izlenen değişimler, karaciğerin detoksifikasyon mekanizmalarındaki çok önemli rolünü bir kez daha ortaya koymaktadır. Karaciğerin detoksifikasyon enzimleri ürettiği ve bu enzim sistemlerinin balıklarda memelilere oranla daha az gelişmiş olduğu bilinmektedir. Ancak çalışmamızda kullanılan türün 125 ppm gibi oldukça yüksek bir konsantrasyona gösterdiği dayanıklılık, balıklarda enzim sistemlerinin sanılandan daha gelişmiş olduğuna dair bir fikir vermektedir. Elbette ki karaciğerin rejenerasyon yeteneği dolayısıyla daha yüksek bir dozda da bir ölçüde kendini onarabilmesi mümkündür. Fakat bunun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğinin belirlenmesi için çevrede genellikle rastlanmayacak, ancak deneysel olarak nitelendirilebilecek yüksek dozlarla çalışılması da uygun olacaktır.

Bu noktada vurgulanması gereken en önemli husus, herhangi bir teleost türünde perklorat maruziyeti ve karaciğer arasındaki ilişkilere dair ulaşılabilen literatürdeki verilerin, perkloratın karaciğer de dahil bazı doku ve vücut bölgelerindeki alım ve birikim miktarlarına ilişkin (Park et al., 2007) biçimde ve çok sınırlı olmasıdır. Karaciğer metabolizması ve zehirsizleştirme mekanizmaları konusundaki bilgiler de ancak son yıllarda artış göstermekte ve özellikle enzim sistemlerine ağırlık vermektedir (Boyuneğmez, 2004, Romao et al., 2006; Weismann and Miller, 2006; Park et al., 2007; Wahbi and El-Greisy, 2007). Giriş bölümünde de belirtildiği üzere, perklorat uygulanmasıyla karaciğer histopatolojisi arasındaki dolaylı ya da doğrudan ilişkilerin araştırıldığı herhangi bir çalışma raporu bulunmamaktadır.

Bu nedenle, tiroid-karaciğer etkileşimlerinin teleostlarda genel metabolizma ve zehirsizleştirme mekanizmaları üzerinden değerlendirilmesi, ancak enzim sistemlerine ilişkin verilerin varlığı durumunda anlamlı olacaktır. Tez çalışmasının sınırlarını zorlamamak bakımından herhangi bir enzim çalışması yapılmamıştır. *P. sphenops* karaciğerinde izlediğimiz değişim perkloratın doğrudan etkisi olarak oluşabileceği gibi, tiroiddeki

bozulmadan kaynaklanan ikincil bir etki olarak da yorumlanabilir ve enzim çalışmalarıyla desteklenmeden bu konuda net bir sonuca ulaşılamaz. Konuya dair bu aşamada söylenebilecek tek kesin sonuç, tiroid foliküllerinde en çarpıcı değişim 25 ppm'lik perklorat uygulamasında izlenirken, karaciğerde en çarpıcı değişimin 125 ppm'lik uygulamada gözlenmiş olmasıdır. Buna göre perkloratın öncelikli hedef dokusu olan tiroide oluşturduğu yapı-işlev bozukluklarının genel metabolizma hızını ve bu doğrultuda da zehirsizleştirme metabolizmasını değiştirebileceği düşünülmektedir. Karaciğerin oransal olarak daha yüksek konsantrasyondan ve daha geç etkilenmesi, kimyasallara karşı dayanıklılığının ve rejenerasyon yeteneğinin tiroide oranla çok daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır, ancak konuyla ilgili net yorum için kesinlikle enzim çalışmalarına gereksinim ve bu çalışmaların da konsantrasyon-zaman ekseninde planlanmasının ön koşul olduğu bir kez daha vurgulanmalıdır.

Karaciğer enzim metabolizması düşünüldüğünde ise, karşılıklı etkileşim bağlamında karaciğer yapısında oluşan değişimlerin de tiroid hormonlarının deiyodinasyonunu ve taşınmasını etkileyeceği hemen akla gelmektedir, ancak bu

konunun da düşük doz-uzun süre bağlamında ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agius, C.**, 1979, The role of melano-macrophage centres in iron storage in normal and diseased fish, *J. Fish Dis.*, 2:337-343.
- Agius, C.**, 1985, The Melano-Macrophage Centres of Fish: A Review, *Fish Immunology*, Ed: Manning, M. J., Tatner, M. F., Academic Press, London, 85-105.
- Agius, C., Roberts, R. J.**, 2003, Melano-macrophage centres and their role in fish pathology: Review, *J. Fish Dis.*, 26: 499-509.
- Anbar, M., Guttman, S., Lweitus, Z.**, 1959, The mode of action of perchlorate ions on the iodine uptake of the thyroid gland, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 7:87-96.
- Babb R.R.**, 1984, Associations between diseases of the thyroid and the liver, *Am. J. Gastroenterol.* 79: 421-3.
- Barrington, E. J. W.**, 1964, *The Hormones of The Thyroid Gland, Hormones And Evolution*, Princeton, N.J, Van Nostrand, 67-96.
- Bianco, A. C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M. J., Larsen, P. R.**, 2002, Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases, *Endocr. Rev.* 23:38-89.
- Blazer, V. S., Facey, D. E., Fournie, J. W., Courtney, L. A., Summers, J. K.**, 1994, Macrophage aggregates as indicators of environmental stress, modulators of fish immune responses, *SOS Publications*, Ed: Stolen, J. S., Fletcher, Fair Haven, New Jersey, (1): 169-185.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Boyuneğmez, T.**, 2004, Biochemical monitoring of toxic and carcinogenic organic pollutants along the İzmir bay after the great canal project and possible health effects, Master's thesis, Middle East Technical University, 170 pp.
- Bradford, C. M., Rinchar, J., Carr, J. A., Theodorakis, C.**, 2005, Perchlorate affects thyroid function in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) at environmentally relevant concentrations, Environ. Sci. Technol. 39: 5190–5195.
- Braverman, L. E., Utiger, R. D.**, 2000, Introduction to hypothyroidism, Werner & Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text. Eds: Braverman L.E, Utiger R.D., 8th. ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins, 719–720.
- Buhler, D. R., Williams, D. E.**, 1988, The role of biotransformation in the toxicity of chemicals, Aquat. Toxicol. 11: 19-28.
- Camargo, M. M. P., Martinez, C. B. R.**, 2007, Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream, Neotropical Ichthyology, 5(3): 327 – 336.
- Capps, T.**, 2003, Ammonium perchlorate-induced lesions in zebrafish kidneys, M.S. Thesis. Environmental Toxicology, Texas Tech. University, 48p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cengiz, E.İ., Ünlü, E.**, 2006, Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21: 246–253.
- Cheng, Q., Smith, E. E., Liu, F., Gentle, A., Hooper, M.J., Anderson, T.A.**, 2007, Effects of perchlorate on sodium-iodide symporter and pendrin gene expression in deer mice, *Env. Tox.* 22(4): 390 – 398.
- Christian, M. S. and Trenton, N. A.**, 2003, Evaluation of thyroid function in neonatal and adult rats: the neglected endocrine mode of action, *Pure Appl. Chem.*, 75: 2055- 2068.
- Christiansen, J. L., Grzybowski, J. M., Kodama, R. M.**, 2007, Melanomacrophage aggregations and their age relationships in the yellow mud turtle, *kinosternon flavescens* (kinosternidae) *Pigment Cell Research*, 9(4):185 – 190.
- Connell, D. W., Lam, P., Richardson, B., Wu, R.**, 1999, *Introduction to Ecotoxicology*, Blackwell Science Ltd.-Hong Kong, 180 p.
- Crane, H. M., Pickford, D. B., Hutchinson, T. H., Brown, J. A.**, 2005, Effects of ammonium perchlorate on thyroid function in developing fathead minnows, *Pimephales promelas*, *Environ. Health Perspect.* 113:396–401.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Darras V.M., Hume, R., Visser, T.J.**, 1999, Regulation of thyroid hormone metabolism during fetal development, *Mol. Cell Endocrinol.*, 151:37–47.
- Demartino, G.N., Goldberg, A.L.**, 1978, Thyroid hormones control lysosomal enzyme activities in liver and skeletal muscle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA: Cell biology*, 75(3): 1369 – 1373.
- Despopoulos, A., Selbernagl, S.**, 1997, Tiroid Hormonları, Renkli Fizyoloji Atlası. Prof. Dr. H. Çavuşoğlu (Der.), 4. Edisyon, Nobel & Yücel Yayınları, İstanbul, 250 - 253.
- Eichler, O., Hackenthal, E.**, 1962, Secretion and metabolism of perchlorate measured with $^{36}\text{ClO}_4$ Naunyn Schmiedebergs, *Arch. Exp. Pathol. Pharmakol.*,243:554–565.
- Fanta, E., Rios, F. S., Romão, S., Vianna, A. C. C. , Freiburger, S.** , 2003, Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food, *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 54: 119-130.
- Ferguson, H. W.**, 1989, Systematic Pathology of Fish. A Text And Atlas Of Comparative Tissue Responses In Diseases Of Teleosts, Ed: Iowa State University Press/ Amess Iowa, 263 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Geven, E. J. W., Nguyen, N.K., van den Boogaart, M., Spanings, F. A. T., Flik, G., and Klaren, P. H. M.,** 2007, Comparative thyroidology: thyroid gland location and iodothyronine dynamics in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) and common carp (*Cyprinus carpio* L.), J. of Experimental Biol., 210: 4005–4015.
- Glinoeer, D.,** 2000, Thyroid disease during pregnancy, Werner & Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text (Eds: Braverman L.E, Utiger R.D., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1013–1027.
- Goleman, W.L., Carr, J.A., Anderson, T.A.,** 2002a, Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit thyroid function and alter sex ratios in developing *Xenopus laevis*, Environ. Toxicol. Chem., 21:590–597.
- Goleman, W. L., Urquidi, L. J., Anderson, T. A., Smith, E. E., Kendall, R. J., Carr J. A.,** 2002b, Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit development and metamorphosis in *Xenopus laevis*, Environ. Toxicol. Chem., 21: 424–430.
- Haddow, J. E., Palomaki, G. E., Allan, W. C., Williams, J. R., Knight, G. J., Gagnon, J.,** 1999, Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child, N. Engl. J. Med., 341:549–555.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hassi, J., Sikkila, K., Ruukonen, A., Leppaluoto, J.,** 2001, The pituitary-thyroid axis in healthy men living under subarctic climatological conditions, *J. Endocrinol.*, 169:195–203.
- Hennemann, G., Docter, R., Friesema, E. C., de Jong, M., Krenning, E. P., Visser, T. J.,** 2001, Plasma membrane transport of thyroid hormones and its role in thyroid hormone metabolism and bioavailability, *Endocr. Rev.*, 22:451–76.
- Holness, M. J. and Sugden, M. J.,**1987, Hepatic carbon flux after re-feeding hyperthyroidism blocks glycogen synthesis and the suppression of glucose output observed in response to carbohydrate re-feeding, *Biochem. J.*, 247:627-634.
- Huang, M. J., Liaw, Y. F.,** 1990, Thyroxine-binding globulin in patients with chronic hepatitis B virus infection: different implications in hepatitis and hepatocellular carcinoma, *Am. J. Gastroenterol.*, 85: 281-284.
- Iossa, S., Liverini, G., Barletta, A.,** 1992, Relationship between the resting metabolic rate and hepatic metabolism in rats: effect of hyperthyroidism and fasting for 24 hours, *J. Endocrinol.*, 135: 45–51.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Klein, R. Z., Sargent, J. D., Larsen, P. R., Waishren, S. E., Haddow, J. E., Mitchell, M. L.,** 2001, Relation of severity of maternal hypo-thyroidism to cognitive development of offspring, *J. Med. Screen.*, 8:18–20.
- Klion, F. M., Segal, R., Schaffner, F.,** 1971, The effect of altered thyroid function on the ultrastructure of the human liver. *Am. J. Med.*, 50: 317- 324.
- Kranz, H., Dethlefsen, V.,** 1990, Liver anomalies in dab *Limanda limanda* from the southern North Sea with special consideration given to neoplastic lesions, *Dis. of Aquat. Org.*, 9: 171 – 185.
- Karayazi, Ö.,** 2005, Sodyum perkloratın *Danio rerio* (Zebra balığı) tiroid folikül histolojisi üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 106 s.
- Larsen, P. R.,** 1975, Thyroidal triiodothyronine and thyroxine in Graves' disease: correlation with presurgical treatment, thyroid status, and iodine content, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41:1098–1104.
- Layden, T. J, Boyer, J. L.,** 1976, The effect of thyroid hormone on bile salt-independent bile flow and Na⁺, K⁺-ATPase activity in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi, *J. Clin. Invest.*, 57: 1009-1018.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Leonard, D. M., Stachelek, S. J., Safran, M., Farwell, A. P., Kowalik, T. F., Leonard, J. L.,** 2000, Cloning, expression, and functional characterization of the substrate binding subunit of rat type II iodothyronine 59-deiodinase, *J. Biol. Chem.*, 275:25194–25201.
- Liu, F. J., Wang, J. S., Theodorakis, C. W.,** 2006, Thyrotoxicity of sodium arsenate, sodium perchlorate, and their mixture in zebrafish *Danio rerio*, *Environ. Sci. Technol.*, 40:3429–3436.
- Los Alamos National Laboratory (LANL),** 2003, Perchlorate Issues Update, LA- CP- 03- 0441, New Mexico, 1-34.
- Malik, R., Hodgson, H.,** 2002, The relationship between the thyroid gland and the liver (review), *Q. J. Med.*, 95: 559-569.
- Marti, J., Portoles, M., Jimenez-Nacher, I. , Cabo, J. , Jorda, A.,**1988, Effect of thyroid hormones on urea biosynthesis and related processes in rat liver, *Endocrinology*, 123:2167-2174.
- McNabb, F. M., Jang, D. A., Larsen, C. T.,** 2004, Does thyroid function in developing birds adapt to sustained ammonium perchlorate exposure? *Toxicol. Sci.*, 82:106–113.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Montero, D., Blazer, V. S., Socorro, J., Izquierdo, M. S., Tort, L.**, 1999, Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles, *Aquaculture*, 179: 523-534.
- Mukhi, S., Carr, J. A., Anderson, T. A., Patinˆo, R.**, 2005, Novel biomarkers of perchlorate exposure in zebrafish, *Environ. Toxicol. Chem.*, 24:1107–1115.
- Myers, P., Espinosa, R., Parr, C. S., Jones, T., Hammond, G. S., Dewey, T. A.**, 2008, The Animal Diversity Web (online). Available at: <http://animaldiversity.org>
- National Academy of Sciences (NAS)**, 2005, Health Implications of Perchlorate Ingestion, National Academies Press. Washington D.C. Available at: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=11202
- Özdemir, S.**, 2005, Tiroid ve Karaciğer, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 36 (4): 206 – 212.
- Pacheco, M. and Santos, M. A.**, 2002, Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.), *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 53: 331-347.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Park, J. W., Bradford, C. M., Rinchard, J., Liu, F., Wages, M., Waters, A., Kendall, R. J., Anderson, T. A., Theodorakis, C. W.**, 2007, Uptake, elimination, and relative distribution of perchlorate in various tissues of channel catfish, *Environ. Sci. Technol.* 41(21): 7581 – 7586.
- Patinó, R., Waincott, M. R., Cruz-Li, E. I., Balakrishnan, S., Mc Murry, C., Blazer, V. S., Anderson, T. A.**, 2003, Effects of ammonium perchlorate on the reproductive performance and thyroid follicle histology of zebrafish, *Environ. Toxicol. Chem.*, 22, 1115–1121.
- Peters, N., Köhler, A., Kranz, H.**, 1987, Liver pathology in fishes from the lower Elbe as a consequence of pollution, *Dis. of Aquat. Org.*, 2: 87 – 97.
- Porter, N., Beynon, H. L., Randeve, H. S.**, 2003, Endocrine and reproductive manifestations of sarcoidosis, *Quart. J. Med.*, 96:553–561.
- Power, D. M., Llewellyn, L., Faustino, M., Nowell, M. A., Björnsson, B. Th., Einarsdottir, I. E., Canario, A. V. M., Sweeney, G. E.**, 2001, Thyroid hormones in growth and development of fish., *Toxicol. and Pharmacol.*,130: 447-459.
- Roberts, R.**, 1975, Melanin-containing cells of teleost fish and their relation to disease, *The Pathology Of Fishes*. Eds: Ribelin, E., Migaki, G., The University of Wisconsin Press, 399-441.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Romano, S., Donatti, L., Freitas, M. O., Teixeira, J., Kusma, J.,** 2006, Blood parameter analysis and morphological alterations as biomarkers on health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*, Brazil. Archives of Biol. and Tech., 49: 441 – 448.
- Sanders, J.P., Van Der, G. S., Kaptein, E., Darras, V. M., Kuhn, E. R., Leonard, J. L., Visser, T. J.,** 1997, Characterization of a propylthiouracil-insensitive type I iodothyronine deiodinase, Endocrinol., 138:5153–5160.
- Sato, H. and Yamamoto, T.,** 1983, Fine structure of the sinusoidal wall in the liver of fresh-water catfish (*parasilurus asotus*), with special reference to the smooth muscle cells, Arch. Histol. Jap., 46(1):125-130.
- Sellin, J. H., Vasilopoulou-Sellin, R.,** 2000, The gastrointestinal tract and liver in hypothyroidism, Eds: Brauerman, L.E, and Utiger, R.D. Werner&Ingbar's the Thyroid: A fundamental and clinical text. 8th ed. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins, 795–799.
- Sheridan, P.,** 1983, Thyroid hormones and the liver, Clin. Gastroenterol., 12: 797 – 818.
- Siglin, J. C., Mattie, D. R., Dodd, D. E., Hildebrandt, P. K., Baker, W. H.,** 2000, A 90-day drinking water toxicity study in rats of the environmental contaminant ammonium perchlorate, Toxicol. Sci., 57: 61-74.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Soldin, O. P., Braverman, L. E., Lamm, S. H.**, 2001, Perchlorate clinical pharmacology and human health: a review, *The Drug Monit.*, 23:316–331.
- Spisni, E., Tugnoli, M., Ponticelli, A., Mordenti, T., Tomasi, V.**, 1998, Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts, *J. of Fish Diseases*, 21 (3):177–184.
- Şener, S., Yıldırım, M.**, 2000, *Veteriner Toksikoloji, Teknik Yayıncılık. İstanbul, 343 s.*
- Theodorakis, C. W., Rinchar, J., Park, J. W., McDaniel, L., Liu, F., Carr, J. A., Wages, M.**, 2006, Thyroid endocrine disruption in stonerollers and cricket frogs from perchlorate-contaminated streams in east-central Texas, *Ecotoxicol.*, 139: 59–69.
- Thuett, K. A., Roots, E. H., Mitchell, L. P., Gentles, B. A., Anderson, T., Kendall, R. J., Smith, E. E.**, 2002, Effects of in utero and lactational ammonium perchlorate exposure on thyroid gland histology and thyroid and sex hormones in developing deer mice (*Peromyscus maniculatus*) through postnatal day 21, *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 65: 2119–2130.
- Tietge, J. E., Holcombe, G. W., Flynn K. M., Kosian, P. A., Korte, J. J., Anderson, L. E., Wolf, D. C., Degitz, S. J.**, 2005, Metamorphic inhibition of *Xenopus laevis* by sodium perchlorate: effects on development and thyroid histology, *Environ. Toxicol. Chem.*, 24: 926–933.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Urbansky, E. T.**, 1998, Perchlorate chemistry: implications for analysis and remediation, *Bioremed. J.*, 2: 81- 95.
- U. S. Environmental Protection Agency (EPA)**, 2002, Perchlorate Environmental Contamination: Toxicological Review and Risk Characterization, NCEA- 1- 0503, External Review Draft, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC.
- Van Steenberg, W., Fevery, J., De Vos, R., Leyten, R., Heirwegh, K. P., De Groot, J.**, 1989, Thyroid hormones and the hepatic handling of bilirubin. I. Effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on the hepatic transport of bilirubin mono- and diconjugates in the Wistar rat, *Hepatology*, 9: 314-21.
- Wahbi, O. M., El-Greisy, Z. A.**, 2007, Comparative impact of different waste sources on the reproductive parameters and histology of gonads, liver and pituitary gland of *Siganus rivaltus*, *J. App. Sci. Res.*, 3 (3): 236 – 244.
- Weisman, J. L., Miller, D. L.**, 2006, Lipoid liver disease and steatitis in captive sapphire damselfish *Pomacentrus pavo*, *Acta Ichthyol. et Piscatoria*, 36 (2): 99 – 104.
- Wolff J.**, 1998, Perchlorate and the thyroid gland, *Pharmacol Rev.*, 50:89–105.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wolke, R. E., George, C. J., Blazer, V. S.,** 1985, Pigmented macrophage accumulations (mmc; pmb): possible monitors of fish health, Parasitology and pathology of marine organisms of the World Ocean, NOAA Tech. Rep. NMFS 25. Ed: William J. Hargis, Jr. 93-97.
- York, R. G., Brown, W. R., Girard, M. F., Dollarhide, J. S.,** 2001, Oral (drinking water) developmental toxicity study of ammonium perchlorate in New Zealand white rabbits, Int. J. Toxicol., 20: 199–205.
- York, R. G., Lewis, E., Brown, W. R., Girard, M. F., Mattie, D. R., Funk, K. A., Strawson, J. S.,** 2005, Refining the effects observed in a developmental neurobehavioral study of ammonium perchlorate administered orally in drinking water to rats. I. Thyroid and reproductive effects, Int. J. Toxicol., 24(6): 403 - 418.
- Zoeller, R. T.,** 2003, Challenges Confronting Risk Analysis of Potential Thyroid Toxicants, Risk Analysis, 23: 143- 162.

ÖZGEÇMİŞ

Burcu KOLBAŞI (TEKKAN), 25.04.1979 tarihinde Ankara'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1997 yılında Ortadoğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünü kazandı ve 2002 yılında mezun oldu. 2005 – 2006 öğretim yılında başladığı Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde, Yüksek Lisans öğrenimini sürdürmektedir.