

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOBALT (II) Q (Florobenzoat)N.N'- DİETİLNİKOTİNAMİD'İN FARE (*Mus musculus*)
KARACİĞERİ ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

Sinan KORKMAZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

HAZİRAN 2012

KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOBALT (II) Q (Florobenzoat)N.N'- DİETİLNİKOTİNAMİD'İN FARE (*Mus musculus*)
KARACİĞERİ ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

Sinan KORKMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

HAZİRAN 2012

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Sinan KORKMAZ'ın Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'ın danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Kobalt (II) Q (Florobenzoat)N.N'- Dietilnikotinamid'in Fare (*Mus musculus*) Karaciğeri Üzerine Histopatolojik Etkileri” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek ile kabul edilmiştir.

...../...../.....

Adı Soyadı

İmza

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

Üye: Yrd. Doç. Dr. Muhitdin YILMAZ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2012 gün ve/..... Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Muzaffer ALKAN

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada “Kobalt (II) Q (Florobenzoat)N.N'- Dietilnikotinamid'in Fare (*Mus musculus*) Karaciğeri Üzerine Histopatolojik Etkileri” olarak incelenmiştir.

Tez konumun belirlenmesinde ve diğer çalışmalar esnasında her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'a ,Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ'a, Biyolog Onur SEYHAN'a ve çalışmam süresince desteğini hiç esirgemeyen Eşim Ebru KORKMAZ'a teşekkür ederim.

Kars-2012

SİNAN KORKMAZ

İÇİNDEKİLER

KAPAK	ii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1 Kobalt	2
2.1.1. Kobaltın Alaşımaları	3
2.1.2. Kobaltın Kullanım Alanları	3
2.1.3. Kobaltın Canlılar Üzerindeki Etkileri.....	4
2.1.4. Kobalt Eksikliği.....	7
2.2.N.N'- Dietilnikotinamid	8
2.3. Karaciğer	8
2.3.1. Karaciğer Yapısı.....	8
2.3.2.Karaciğer Histolojisi.....	10
2.3.3. Karaciğerin Fonksiyonları	13
2.3.4. Karaciğerin Damarları	14
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1 Hayvan Materyali.....	15
3.2. Çalışma gruplarının oluşturulması	15
3.3. Kobalt toksikasyonunun oluşturulması	15

3.4. Histolojik alışmalar.....	15
3.4.2.Hematoksilen.....	15
3.4.3.Eozin	16
3.4.3.Kapama işlemi.....	16
4.BULGULAR.....	18
4.1.Makroskobik Bulgular.....	18
4.2.Mikroskobik Bulgular	18
5.TARTIşMA VE SONUÇ.....	23
6.KAYNAKLAR.....	25
7.ÖZGEçMİş	29

ÖZET

Bu çalışmada, intraperitoneal yolla çeşitli dozlarda verilen kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid'in fare (*Mus musculus*) karaciğeri üzerine etkileri histopatolojik yöntemle araştırıldı.

Çalışmamızda rastgele seçilen 45-50 günlük 30-35 gram ağırlığında sahip 50 adet erişkin erkek fare (*Mus musculus*) kullanılarak her grupta 10 fare bulunan bir kontrol ve dört deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubundaki hayvanlara serum fizyolojik, deney gruplarına ise sırasıyla 0.1, 0.5, 1 ve 2 mg/kg kobalt intraperitoneal yolla tek doz olarak enjekte edildi.

Çalışma süresi sonunda hayvanlardan eter anestezisi altında karaciğer örnekleri alınarak %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlanarak 3-5µ kalınlığında kesitler alınıp hematoksilin-eozin boyalarıyla boyandı. Bu kesitler ışık mikroskobu altında (Olympus BX51) histopatolojik yönü incelendi.

Işık mikroskop incelemelerinde 1 ve 2 mg/kg dozunda kobalt bileşiği enjekte edilen deney grubundaki hayvanların hücrelerinde daha fazla piknotik görünüm, sitoplazmalarında bozulmalar, nekroz ve hiperemi gibi dejenerasyonlar tespit edildi. Elde edilen verilere göre, kobalt(II) Q (Florabenzoat) N.N'- dinikotinamid'in karaciğer dokusunda dejeneratif bozukluklara neden olma sebebinin, bu dokunun özellikle ağır metallerin toksik etkilerine karşı kobalt gibi ağır metal bağlayıcı proteinleri sentezleyerek detoksifikasyon merkezi olarak işlev görmesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Kobalt, Fare, Histopatoloji, Karaciğer

ABSTRACT

In this study, intraperitoneal route given various doses of cobalt (II), Q (florobenzoat) N, N '-diethylnikotinamid'in mouse (*Mus musculus*) effects on the liver was investigated by histopathologically.

30-35 per day 45-50 grams with our study, 50 randomly selected adult male mouse (*Mus musculus*) using the 10 mice in each group and a control group consisted of four experiments. Saline was administered intraperitoneally to animals in the control group means. Experimental groups, respectively, 0.1, 0.5, 1 and 2 mg / kg of cobalt as a single dose was injected intraperitoneally way.

At the end of the study period liver samples were collected from animals under ether anesthesia were 10% formaldehyde solution for 48 hours. Then the paraffin blocks prepared for routine histological methods whether 3-5 μ thick sections stained with hematoxylin-eosin. These sections under a light microscope (Olympus BX51) and were evaluated histopathologically.

Light microscopy studies 1 and 2 mg / kg dose of test groups were injected with a compound of cobalt more pyknotic cells, appearance, deterioration in the cytoplasm, such as hyperemia degeneration and necrosis were determined. According to the data obtained, cobalt (II) Q (Florabenzoat) N, N '- dinikotinamid'in cause of liver tissue to cause degenerative disorders, the tissue against the toxic effects of heavy metals, particularly heavy metals such as cobalt-binding proteins to function as a synthesis of the detoxification center considered.

Key words: Cobalt, Mouse, Histopathology, Liver

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Co:	Kobalt
nm:	Nanometre
μm :	Mikronmetre
kg:	Kilogram
g:	Gram
μ :	Mikron
cm^3 :	Santimetre Küp
mm^3 :	Milimetre Küp
$^{\circ}\text{C}$:	Santigrat Derece
mg:	Miligram
ml:	Mililitre

Kısaltmalar

T_3 :	Tiriiodotronin
T_4 :	Troksin
H.E:	Hematoxylin Eosin Boyama
Vc:	Vena centralis
N:	Nekroz
Hg:	Hemoglobin
Co_3O_4 :	Kobalt oksit
CoAS_2 :	Smaltit

ŒEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Œekil 1: Karaciğer Histolojisi

12

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
RESİM 4.1: Kontrol grubu karaciğer dokusu	29
RESİM 4.2: 0.1 mg/kg Deney grubu karaciğer dokusu	29
RESİM 4.3: 0.5 mg/kg Deney grubu karaciğer dokusu	30
RESİM 4.4: 1 mg/kg Deney grubu karaciğer dokusu	31
RESİM 4.5: 2 mg/kg Deney grubu karaciğer dokusu	32

1.GİRİŞ

Kobalt, metalik bir element olup Co simgesi ile gösterilir. Kobalt sert, gümüş renginde, davranış ve özellik bakımından nikel ile demire çok benzeyen bir metaldir. Erime noktası 1495 °C ve kaynama noktası da 2967 °C civarındadır. Özgül ağırlığı 8,99 g/cm³ tür. Sertliği, saf demir kadardır. Çekme direnci 25 kg/mm² dir [1.2.3.4]. Periyodik tablonun yedinci grubunda olup, tipik bir geçiş elementidir. Oksidasyon sayısı 2⁺ ve 3⁺ olabilir. Atom numarası 27, atom ağırlığı 58,93'tür [3].

İlk defa Almanya'da 1735'de George-Brant tarafından elde edilmiş ve Almanca ruh-cin veya gulyabani manasına gelen "kobold" kelimesinden türemiştir [2.3.4.5]. En çok Kanada, Zaire ve Zambiya'da üretilir. Sert ve ferromanyetik bir metaldir [3.6].

Günlük besin ihtiyacımızda çok küçük bir yer teşkil eden kobalt, kırmızı kan hücrelerini üretiminin ve sinir düzenlenmesinde kullanılan B₁₂ vitaminin bileşenidir [7.25]. Kobaltın vücuttaki normal miktarı 80-300 µg'dır ve kırmızı kan hücrelerinde, karaciğerde, dalakta, böbrekte, pankreasta depolanır. Et, karaciğer, böbrek, midye, istiridye, süt, balık ve deniz yosunları ve daha düşük miktarda olmakla beraber kara sebzeler (bakla tohumu, ıspanak, lahana, salata, pancar, incir) de kobalt içerir. Diğer taraftan sigara dumanında da kobalt bulunmaktadır. Yapılan bir çalışma da mide, baş-boyun ve meme kanserlerinde radyoterapi öncesi ve sonrası Co düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlılık saptanmıştır. Suda çözünürlüğü olmayan kobalt oksit (Co₃O₄) solunum yolu ile alındığında vücut tarafından çok iyi emilmekte ve hücrelerde birkaç günde çözünerek kana karışmaktadır. Suda çözünür kobalt bileşikleri ağız yolu ile alındığında % 75'i tekrar atılırken geriye kalan kobalt kan, karaciğer, akciğer, böbrek, testisler ve bağırsaklarda toplanmaktadır [7].

Bu çalışmada; kobaltın farklı bir kompozisyonu şeklinde elde edilmiş olarak kullanılan etken maddenin karaciğer fonksiyonları ve yapısı üzerine meydana gelen değişiklikleri ve karaciğer bozuklukları üzerine olan etkileri histopatolojik yöntemlerle incelenmiştir. Kobaltın bilinen özelliklerinin yanında florobenzoat dietilnikodinamitle oluşan bileşiğinin canlı organizmada nasıl bir etki oluşturabileceğini ve bu etkinin olumlu veya olumsuz yönlerini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Kobalt

Metalik bir eser element olup çok az miktarlarda gerekli, temel bir mikro mineraldir [8.9.10]. Co simgesi ile gösterilir. Kobalt sert, gümüş renginde, davranış ve özellik bakımından nikel ile demire çok benzeyen bir metaldir. Erime noktası 1495 °C ve kaynama noktası da 2967 °C civarındadır. Özgül ağırlığı 8.99 g/cm³tür. Sertliği, saf demirinki kadardır. Çekme direnci 25 kg/mm² dir [3.4.9.11].

Periyodik tablonun yedinci grubunda olup, tipik bir geçiş elementidir. Bilinen izotopları 54 Co'dan 64 Co'ya kadar sıralanır. Fakat tabii halde bulunanı 59 Co'dur, diğerleri sunidir. 60 Co, 59 Co'nun nükleer reaktörlerde nötron bombardımanı ile elde edilip, yarılanma süresi 5,3 senedir. Etkileri radyum elementine benzer olup, tıp da radyasyon tedavisinde kullanılır. Keza yiyeceklerin siterilize edilmesinde, radyografide ve radyokimyada kullanılır [3].

Co 59'a Amerika Birleşik Devletleri'nde 1 milyondan fazla işçinin maruz kaldığı tahmin edilmektedir kobalt mesleki olarak maruz kalma solunum yoluyla ağırlıklı olarak oluşur ve çeşitli akciğer hastalıklarına yol açtığı düşünülmektedir [12]. B₁₂ vitaminin bir parçası olarak kullanılan kobalt, aynı zamanda insan beslenmesi için önemlidir [13].

Doğada nikel ve bakır cevherleriyle birlikte başlıca kobaltit (CoASS) ve smaltit (CoAS₂) mineralleri halinde bulunur [3.6.11]. Saf kobalt metal alüminyum, karbon veya hidrojen bileşikleri tarafından azaltarak hazırlanmıştır [4]. En çok Kanada, Zaire ve Zambiya'da üretilir [3.6.14]. Sert ve ferromanyetik bir metaldir [3.6]. Eldeki bilgilere göre kobalt tuzları, milattan 1000 yıl kadar önce pırlanta, porselen, cam, çömlek, çini üretiminde ve mavi renk elde etmede kullanılırdı [4.14]. Et, karaciğer, böbrek, midye, istiridye, süt, balık ve deniz yosunları ve daha düşük miktarda olmakla beraber kara sebzeler (bakla tohumu, ıspanak, lahana, salata, pancar, incir) de kobalt içerir. Diğer taraftan sigara dumanında da kobalt bulunmaktadır [7].

Sınıflandırma

Adı: Kobalt	Periyodik tabloda Grup: 7
Sembol: Co	Grup adı : (yok)
Atom numarası: 27	Periyodik tabloda Dönemi: 4
Atom ağırlığı: 58.933195 (5)	Periyodik tabloda Blok: d-blok
Standart durum: 298 K katı	Renk parlak, metalik, grimsi
CAS Kayıt numarası: 7440-48-4	
CAS: Kimyasal Kuramlar Servisi	
Kobaltın sınıflandırılması [5.14].	

2.1.1. Kobaltın Alaşımları

En önemli kobalt alaşımları: alnico (kobalt, alüminyum, nikel, demir alaşımı), stellite (kobalt, tungsten, krom, molibden), hiperko (kobalt, demir, krom alaşımı), vikalloy (kobalt, demir, vanadyum)'dır. Ayrıca toz halindeki kobalt metali, karbonmonoksit ve karbon dioksidin hidrojenlenerek hidrokarbonlara dönüştürülmesinde katalizör olarak kullanılır [15.16].

2.1.2. Kobaltın Kullanım Alanları

Kobalt, bilhassa elektrolizle, diğer metallerin kaplanmasında kullanılır. Kobalt kaplama, çok parlak ve sert olduğu için nikelajdan daha iyidir. Fakat nikelaj daha ucuz olduğu için tercih edilmektedir. Pırlanta, porselen, cam, çömlek ve çini üretiminde ve mavi renk elde etmede kullanılır [6.17.18.19]. Pembe renkli kobalt bileşiklerinden pembe kağıt üzerinde ısıtıldığında maviye dönüşen görünmez mürekkep olarak da yararlanılabilir [17]. Canlıların beslenmesinde de önem taşımaktadır. Kobalt-60 izotopu, kanser tedavisinde kullanılır [20].

2.1.3. Kobaltın Canlılar Üzerindeki Etkileri

2.1.3.1.Kobaltın Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Toz veya katı haldeki kobalta maruz kalan ağır metal işçilerinde; kalp hipertrofisi ve/veya ventriküllerdeki fonksiyonel bozukluklarla kendini gösteren kardiyomiyopatiye neden olduğunu görmüşler. Fakat insanlarda solunum yoluyla alınan kobaltın oluşan bu kardiyak etkilerine karşılık, kişilerin kobalta maruziyet seviyesi tespit edilememiştir. Yine kobalta inhalasyon yoluyla maruz kalan bir grup işçide, kobaltın neden olduğu interstitial akciğer hastalığına sebep olduğunu tespit etmişler. Rapor edilen ve kardiyak rahatsızlıkları nedeniyle acile alınan iki hasta (maruziyet tarihi belirtilmemiş), tarafından rapor edilen rahatsızlıkların kobalta maruz kalınmasıyla ilgili olabileceğini bildirmişler. Bir çalışmada, kobalta mesleki sebepler dolayısıyla maruz kalan ve kalp yetmezliği sebebiyle hastaneye yatırılan 41 yaşındaki bir hastanın kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve dalaktaki kobalt bileşiklerinin, kontrol grubu adı altındaki diğer iki hastaya göre yüksek olduğunu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ağır metal işinde çalışan 30 kişilik bir işçi grubu ile ilgili bir raporunda kontrol grubu olarak adlandırılan sağlıklı bireylerin akciğer filmleriyle işçi grubunun verileri karşılaştırdığında işçi grubunun tamamında sağ ventrikül enjeksiyonunda önemli bir düşüş olduğunu gözlemlemişler. Kobaltın kalp üzerine yaptığı bu etkiler araştırıldığında; solunum yoluyla alınan kobaltın kalbi de etkileyebildiğini ve kobaltın kardiyomiyopatik bir ajan olduğunu söylemek mümkündür. Hem insan hem de hayvanlarda oral yolla maruz kalınmanın ardından oluşan kardiyomiyopati kobaltın ayırt edici toksik bir etkisidir [21].

2.1.3.2.Kobaltın Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Kobaltın inhalasyon yoluyla alınabildiğinin ve vücutta özellikle kalbe zarar verdiğinin anlaşıldığı süreye kadar gastrointestinal sistem üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır. 104 hafta 1.14 mg/kg kobalt, 13 hafta 11.4 mg/kg kobalt ve 76 mg/kg ya da bu miktardan daha az kobaltın 16 günden az uygulanmasında bile erkek ve dişi farelerin rektum, kolon, çekum, jejunum, ileum, duodenum, mide ve özafaguslarında hiçbir histolojik lezyon tespit edilmemiştir [21].

2.1.3.3.Kobaltın Kas-İskelet Sistemi Üzerine Etkileri:

Erkek ve dişi farelere farklı doz ve sürelerde uygulanan kobaltın kemik ilikleri de dahil sternumda hiçbir dokusal lezyona neden olmadığı tespit edilmiştir [20].

Kobalt ruminantlarda ve atlarda vitamin B12 sentezi için gerekli bir maddedir. Kobalt yetersizliğinde sığır ve koyunlarda üreme performansının düştüğü, ovaryumda işlevsel yetersizlik, gebelik ve yavru verimi oranında düşme gözlemlendiği bildirilmektedir. Derialtı enjeksiyon yoluyla alınan kobalt büyük ölçüde plazma proteinlerine bağlanarak başta böbrekler olmak üzere vücut dokularına yayılır. 25 saat içinde yarı ömrü tamamlanan kobalt idrar yoluyla vücudu terk eder [13].

2.1.3.4.Kobaltın Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri:

Bir çalışmada 82 kişilik bir işçi grubunun inhalasyon yoluyla maruz kaldığı kobalt toksikasyonu sonucu, işçilerin hemoglobin (Hb) ve eritrosit sayısında önemli azalışlar tespit etmişler. Başka bir çalışmada 9 mg/kg Hidrokarbonil kobalta 3 ay boyunca maruz kalan kobay ve ratlarda hemoglobin, monosit ve bazofil miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Yine 1,14 mg/kg kobalt sülfata 13 hafta süre ile maruz kalan ratlarda polistemi rapor edilmiştir [21]. Kobalt eksikliğinde anemi ve ruminantlarda kan glikoz seviyesinde azalma görülür [22].

2.1.3.5.Kobaltın Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etkileri

4 yıl süre ile kobalta maruz kalan bir metal işçisinin otopsisinde ölüm nedeni kardiyomiyopati olarak tanımlanmakla birlikte karaciğerinde hematoma olduğu gözlemlenmiştir. Yine 0,11mg/kg kobalt sülfat erkek ratların böbrek ağırlıklarında önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte farklı doz ve sürelerde kobalta maruz bırakılan farelerle ilgili bir çalışmada yapılan histolojik incelemeler sonucu farelerin böbreklerinde herhangi bir histopatolojik bozukluğa rastlanılmadığı ifade edilmiştir. Benzer şekilde 3 ay boyunca 1 mg/kg kobalt sülfat uygulanan domuzların böbreklerinde hiçbir olumsuzluğa rastlanılmadığı bildirilmiştir [21].

Yılmaz M. ve ark. (2008) yılında yapmış oldukları CoPHB balık çalışmasında kullandıkları kobaltın histopatolojik bulgularında, hepatik kordonlarda ve hepatositlerinde dejenerasyon gözlemlenmiştir, yüksek konsantrasyona maruz kalan balıkların karaciğer bulgularında şiddetin artmış olması ve nekroz alanları tespit

edildiğini bildirmişlerdir. Solungaç lamellerinin ikincil epitel hücrelerinde, dejenerasyon ve ara sıra nekroz lamel her iki grupta da tespit edildi. Bağırsakta villus epitelinin dejenerasyonu ve nekroz sadece CoPHB yüksek konsantrasyona maruz kalan balıklarda gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarında, CoPHB çeşitli organlarda belirgin dejenerasyona neden olduklarını ve balık serum protein düzeyi değiştirdiklerini ve bu nedenle yaşam için tehlikeli olabileceğini düşündüklerini söylemektedirler [23].

Bayram ve ark. (2010) da balıklar üzerinde kobaltın etkisini araştırdıkları çalışmalarında deney grubuna uygulanan kobaltın karaciğer ve bağırsak dokularında doz artışına bağlı olarak artan derecelerde dejenerasyonlar gözlemlenmişler ve kobaltın yüksek konsantrasyonlarının tehlikeli olacağı sonucuna varmışlardır [24].

2.1.3.6.Kobaltın Endokrin Sistem Üzerine Etkileri

Mesleki sebeple kobalt çinko esterine maruz kalan bir grup bayan işçide, triiodotronin (T3) düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, troksin (T4) miktarlarında ise önemli artışlar olduğu bildirilmişler. Bunun aksine Swennen ve ark., (1993) yapmış olduğu bir çalışmada, kobalt tuzu ve kobalt oksidasyonlarına maruz kalan işçilerin T3 seviyelerinde önemli azalışlar kaydedilirken, T4 miktarlarında herhangi bir değişiklik olmadığı ifade edilmiştir [20].

2.1.3.7.Kobaltın Göz Üzerine Etkileri

4 yıl boyunca kobalta maruz kalan bir metal işçisinin yapılan otopsisinde gözlerinde konjunktif hematoma bildirilmekle birlikte, ölüm nedeninin kardiyomyopati olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte farklı konsantrasyonlarda kobalt sülfata akut ve kronik olarak maruz kalan fare ve ratların deri ve gözlerinde herhangi bir histolojik lezyon bildirmemişlerdir [21].

2.1.3.8.Kobaltın Vücut Ağırlığı Üzerine Etkileri

Kobalta (kobalt sülfat halinde) 13 hafta süre ile 11.4 mg/kg ve 16 günden fazla süre ile 19 mg/kg maruz bırakılan fare ve ratlarda rapor edilmiştir. 13 hafta süre ile 11.4 mg/kg kobalt uygulanan erkek ratların kürklerinde döküntüler bildirilmiştir. Ancak bununla birlikte 1,14 mg/kg kobalta kronik olarak maruz kalan fare ve ratların vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. 3 ay boyunca 9mg/kg kobalt

hidrokarbonile maruz kalan köpeklerde kilo kaybı bildirilmekle birlikte, kobay ve sıçanlarda herhangi bir kilo kaybı tespit edilmemiştir. Başka bir çalışmada yine aynı miktardaki kobalt oksit'e yaşam boyunca maruz bırakılan hamsterlerin, vücut ağırlıklarında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir [21].

2.1.3.9.Kobaltın Kanserle Olan İlgisi

Rafine edilmiş ve geliştirilmiş kobalt ve sodyum bulunan bir fabrikadaki 1143 çalışanın ölüm sebepleri incelenmiş ve bu incelemede Fransa Ulusal Ölüm Oranı bilgileri referans olarak kullanılmıştır. Kobalta maruz kalan işçilerde yaygın olarak görülen nonneoplastik akciğer kanseri ölüm oranının % 4,66 olduğu rapor edilmiştir Fransız Ulusal Erkek Nüfusu Oranlarını kullanarak, ağır metal fabrikasında çalışan 709 erkek işçinin ölüm nedenini araştırılmış olup akciğer, bronş ve trakea kanserleri nedeniyle ölenlerin oranında önemli bir artış olduğunu gözlemlemiştir. Bunun nedeninin ise üretilen kobalt metalinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yine mesleki nedenle kobalt ve tungstene maruz kalan farklı sayıdaki metal işçilerinin akciğer kanserinden ölüm oranlarının yüksek olduğu, bunun nedeninin de büyük oranda kobalt toksikasyonundan kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak yapılan başka çalışmada ise yaşamları boyunca belirli aralıklarla kobalt oksite 7,9 mg/kg dozunda maruz kalan hamsterlerde benign veya malign tümör artışına rastlanmadığı ifade edilmiştir [21].

Kobalt içeren implant takılan bölgelerde tümör oluşumuna da rastlanmış ve hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, kobalt metalinin suda çözünür kobalt bileşiklerinin kansere yol açtığı kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışma da mide, baş-boyun ve meme kanserlerinde radyoterapi öncesi ve sonrası Co düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlılık saptanmıştır [7].

2.1.4. Kobalt Eksikliği

Kobalt, B12 vitamininin gerekli bir parçasıdır. Yani yetersiz miktarda kobalt içeren besinlerde B12 vitamini eksikliklerine rastlanır. Ayrıca glutatyon peroksidaz, hemioksijenaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi birçok enzim metallerin toksik etkilerine karşı koruyucudurlar. Örneğin; Bu proteinlerden hemioksijenaz aktivitesi kobaltla belirgin bir artış göstermektedir [25]. Kobalt eksikliği, bir çeşit kansızlık yapar dolayısıyla kullanılan ilaçlarına mutlaka kobalt katılmalıdır. Ancak kobalt

tedavisi, zehirli bir madde olduğu için çok dikkatle sürdürülmelidir. Aşırı miktarlar, özellikle çocuklarda tiroit eksikliği ve kalp yetersizliği gibi tehlikeli durumların ortaya çıkmasına neden olabilir [26].

2.2.N.N'- Dietilnikotinamid

1887 yılında tütünün alkoloidi olan nikotin oksidasyonu sonucu elde edilmiştir. Kırk yıl sonra vitamin olduğu anlaşılmıştır [27]. Dietilnikotinamid renksiz, kendisine has kokusu ve tadı olan kristal bir maddedir. Piridin halkasına sahip olduğundan piridinin karakteristik reaksiyonlarıyla benzerdir [28].

B3 ve PP vitamini olan nikotinamid suda çok kolay çözündüğünden fazlası böbreklerden atılır [29]. B vitaminleri olan nikotinamid ve pantotenik asid biyolojik oksidasyon ve redüksiyon koenzimlerinin yapıtaşlarıdır [30]. N.N'- Dietilnikotinamid; Bira mayası, meyveler, tahıl, sebze ve yeşil bitkiler, karaciğer ve böbrekte zengince bulunur [27.29]. N.N'-Dietilnikotinamid solunum sisteminde teneffüs sitümülatörü olarak kullanılır [31].

2.3. Karaciğer

Karaciğer sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı organdır [32]. Koyu kırmızı-kahverengi görünümünde karın boşluğunun sağ tarafında diyaframın altında abdominal boşluğa yerleşen bir organdır. Karaciğer deriden sonra vücudun en büyük organ ve bezidir. Ağırlığı yaklaşık 1,5 kg'dır. karaciğere kanın % 70-80'i portal venden gelir, geri kalan az bir kısmı hepatik arterle sağlanır. İnce bağırsaklardaki emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşır, sadece kompleks lipitler (şilomikronlar) lenf damarlarıyla taşınır [18]. Karaciğer hücreleri hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyon sahip hücrelerdir [32].

2.3.1. Karaciğer Yapısı

Hilus da kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson Kapsülü) ile örtülüdür. Hilus da, organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar velenfatikler çıkar. Bu damarlar ve kanallar, klasik karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları portal alanlara kadar bağ dokusuyla çevrilmiştir. Bu noktadan itibaren

karaciğer lobüllerindeki hepatositlere ve sinüzoidal endotel hücrelerine destek sağlayan ince bir retiküler lif ağı oluşur [32].

Karaciğer; lobus hepatis dekster, lobus hepatis sinister, lobus quadratus ve lobus caudatus olmak üzere dört lobdan oluşmaktadır. Dördüncü haftadan itibaren gelişmeye başlar ve pre enteron'un kaudal parçasından öne doğru çıkıntı oluşturarak belirginleşir. Karaciğer tomurcuğu septum transversuma kadar uzanmaktadır. Septum transversum kalp taslağı ile mesenter arasında uzanan splanik mezodermal bir kitledir ve diyaframın centrum tendinoumu ile bu bölgedeki mesenterium ventralaeı oluşturur. On ikinci haftadan itibaren, karaciğer hücreleri safra yapımına başlamaktadır. On üçüncü haftadan sonra, ductus choledochus'dan geçerek duodeuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil rengini vermeye baslar Vena umbilicalisten karaciğere akan oksijenli kanın miktarı karaciğer gelişimi için vermektedir. Hemapoietik aktivite gebeliğin son iki ayında yavaş yavaş azalır ve doğumda az sayıda hemapoietik hücre adası kalır. Gebeliğin ilerlemesi ve karaciğerin fetüsteki büyümesine bağlı olarak karaciğer ile ön bağırsak ve karaciğer ile karın ön duvarı arasındaki septum mezodermi gerilerek membranöz bir yapı olarak sırası ile küçük omentum ve falsiform ligament haline gelmektedir. Ayrıca karaciğer yüzeyindeki mezodermde farklılaşarak peritonu oluşturmaktadır. Karaciğerin en küçük yapısal birimi lobüllerdir. Lobül 0.7x 2 mm boyutlarında poligonal bir doku kitlesidir. Bazı bölgelerde lobüller safra kanalları, lenf kanalları, sinirler ve kan damarlarını içeren bağ dokuyla sınırlanmıştır. Bu bölgelere portal alan adı verilmekte olup portal triadları içermektedir. Her bir portal triad da bir venül, bir arteriyol, bir kanal (safra kanalının bir parçası) ve lenfatik damarlar bulunmaktadır. Karaciğerin temel yapıtaşı polihedral yapıda 20–30 µm çapında karaciğer hücresi veya hepatositlerdir. Her bir karaciğer hücresinin yüzeyi diğer hepatositlerin yüzeyi ve disse aralığı boyunca sinüzoidlerin duvarı ile temas halindedir. İki hepatositin bitişik olduğu her yerde hücrelerin arasında tübüler bir aralık bulunur ve bu aralık safra kanalikülü olarak isimlendirilir. Safra kanal sisteminin ilk kısımları olan kanaliküller 1-2 µm çapında tübüler boşluklardır. Bu kanaliküllerin çevresindeki hücre membranları sıkı bağlantılarla sıkıca birleşmişlerdir. Hepatositler arasında hücrelerin fizyolojik aktivitelerinin koordinasyonunda önemli görevlere sahip aralıklı bağlantılar bulunmaktadır. Hepatositin disse aralığına bakan yüzeyinde bu aralığa doğru uzanan çok sayıda mikrovillus bulunmakla beraber bu hücreler ile sinüzoid

duvarının hücreleri arasında her zaman bir boşluk vardır. Hepatositler bir ya da iki yuvarlak nukleusa sahip olup nukleusların bazıları poliploiddir. Hepatositler bol miktarda endoplazmik retikuluma sahiptirler ve bu endoplazmik retikulumlar detoksifikasyon, oksidasyon ve konjugasyondan sorumludurlar. Ayrıca karaciğer hücresinde bol miktarda mitokondri ve lizozom bulunmaktadır [18].

2.3.2.Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilumda, organa portal ven ve hepatic arter girer, sağ ve sol hepatic kanallar ve lenfatikler çıkar. Bu damarlar ve kanallar, klasik karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları (ya da orjin aldıkları) portal alanlara kadar bağ dokusu ile çevrilmiştir. Bu noktadan itibaren karaciğer lobüllerindeki hepatositlere ve sinüzoidal endotel hücrelerine destek sağlayan ince bir retiküler lif ağı oluşur. Karaciğer Lobülü: Karaciğer lobülüslerinin şekillenmesinde, karaciğer dolaşımının rolü büyüktür. Damarlara, safra boşaltım yolları da eşlik eder ve böylece karaciğer mimarisi oluşur. Karaciğerin lobüler yapısının oluşumunda stromanın da rolü büyüktür. Karaciğer kapsülünden (glisson kapsülü) organ içine ilerleyen bağ dokusu, insanda az gelişmiş ise de, bazı hayvanlarda (domuz, deve, lama ve buz ayısı gibi) iyi gelişmiş olup, lobülüs sınırlarını belirler. Damarlar ile stromaya bağlı oluşan bu lobulus kuruluşu klasik lobülüs olarak tanımlanmaktadır [17.33].

Klasik Lobülüs; Bu damar dolaşımı yollarında klasik lobülüs ile ilgili olarak Vena interlobularis ile Arteria interlobularis altıgen'in köşelerini belirlerken, Venulae perilobularis ile arteriolae perilobularis'ler de altıgen kenarları üzerinde seyredir. Klasik lobülüs, karaciğer için her ne kadar bir birim ismi de, bu lobülüs içinde değişik fonksiyonel alanların varlığı da bir gerçektir. Bu tür lobulusta safra akışı sentralden periferine doğru olup, kan akışı da periferden sentrale doğrudur [33].

Portal Lobülüs; İnterlobular aralık veya Vena porta'nın dallarını taşıyan "periportal alan" merkez olmak üzere, komşu lobülüslerin Vena centralis'lerini birleştiren köşeli ve çoğunlukla üçgen şekilli prizmalardan oluşur. Bu tür lobülüs da safra akışı periferden merkeze doğru olup, klasik lobülüsten bir ayrıcalık gösterir. Aynı şekilde, kan da merkezden periferine doğrudur. Bu lobülüs birimi yapısını savunanlar, bu yapının ekzokrin bez yapısına daha uygun olduğunu ileri sürmektedirler. Karaciğer

Acinus'u (Fonksiyonel Birim); İki Vena centralis arasında ve iki komşu lobülüs sınırındaki Venulae perilobularis eksen olmak üzere, belirlenen Karaciğer parankiması, karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi, karaciğer "Acinus"u olarak tanımlanmaktadır. Böylece, iki komşu lobülüs segmentlerini kapsayan karaciğer parankimasının oluşturduğu birimde kan, Venulae ve Arteriolae perilobularis'lerden iki tarafa Vena centralis'lere doğru akmaktadır. Buna uygun olarak da, bu eksen etrafında acinus'ta bir bölgeleme, "Zon"lar oluşur. Eksene (Venulae perilobularis'e) en yakın karaciğer parenkim bölgesi "Zon 1", bunu izleyen bölge "Zon 2" ve "Vena centralis"e komşu acinus bölümü de "Zon 3"ü yapar. Böylece, Zon 1, kandan beslenme bakımından en iyi yaralanan bölgedir. Ayrıca, karaciğer dokusunun regenerasyonu gerektiğinde, bu bölge çok çabuk yenilenir. Buna karşın, Zon 3'e doğru kan daha az besleyicidir ve bu karaciğer dokusunda yenilenme uzun sürer. Diğer bir deyişle, Zon 3 karaciğerdeki bozulmalara az dirençli bir bölgedir. Birbirine komşu olan lobülüsler arasında dar ya da geniş bağ doku (intersitium) bulunur. Bu bağ doku kitlesi Kiernan aralığı ya da Glisson üçgeni veya portal bölge olarak adlandırılır, bu bölgede ya da bu alanda karaciğer üçlüsü (trias hepatis) denilen oluşumları (damarlar, kanallar) bir arada görme olanağı vardır. Bu oluşumlar A. Hepatica, V. İnterlobularis ve V. Biliferus'lardır. V. İnterlobularis olarak adlandırılan damarların büyük çoğunluğu Vena porta'nın kollarıdır. Sublobular venalar ile Vena hepatica'lara lopçukların hemen bitişiğinde değil, biraz daha uzağında rastlanır [32.33].

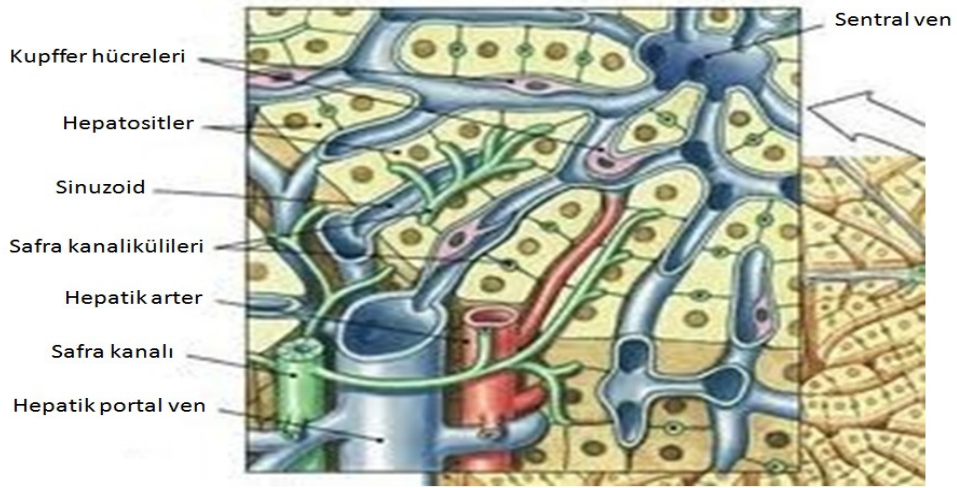
Karaciğer Parenkiması: Hepatosit; Hepatosit'ler poligonal olup, tek veya çift nükleuslu hücrelerdir. Karaciğer parenkimasını, lobulusler içindeki karaciğer hücreleri (Hepatocyt) plakları oluşturur. Karaciğer hücre plakları arasında Sinuzoid'ler bulunur. İki karaciğer hücresi arasındaki aralık ise, içinde safranın aktığı safra kanalcıklarını oluşturur. Hepatocyt'ler sinüzoid içindeki kan ile doğrudan doğruya temasta olmayıp, arada sinüzoidi döşeyen hücreler ile bir aralık "Disse aralığı" bulunur. Karaciğer hücre plaklarının sinüzoid bakan yüzündeki zengin microvilli aracılığı ile alış-veriş yüzeyi genişlemiştir. Karaciğer hücresi organelden zengin olup sitoplazmalarında GER ve SER membranları ile golgi kompleksi, mitokondri, lizozom ve lipofuksin yapıları bulunur. Sinüzoid'ler; lobülüs içi kan dolaşımı ağını oluştururlar. Venula perilobularis'lerden, Vena centralis yönünde akan kan, sinüzoid duvarı aracılığı ile karaciğer metabolizmasına katılır. Sinüzoid

duvarında iki tip hücre bulunur. Bunlardan biri, endotel hücresi; diğeri de retikulo-endotel-sisteme (RES) ait olan “Kupffer” yıldız hücreleridir. Endotel hücreleri çok yassılaşımiş olup, duvarda aralıklar bırakır. Ayrıca, pinositoz veziküllerinden zengindir. Kupffer hücreleri ise, Kupffer’in tanımlamasına göre, “yıldız şekilli” hücreler diye anılmaktadırlar. İleri derecede fagositoz kabiliyetleri olup, sabit makrofajlar grubundan sayılırlar. Kupffer hücreleri sitoplazmalarında fagositoz vakuolleri, kalıntı cisimcikler ve lizozomlar bulunur. Ayrıca, alyuvar ve hemoglobinden kaynaklanan “demir” de inklüzyonlarla birlikte özel demir boyası ile belirtilebilir [33].

Karaciğerde Kan Dolaşımı: Karaciğerde biri fonksiyonel, diğeri arteriel olarak nitelendirilen ikili dolaşım söz konusudur. Fonksiyonel olan dolaşım Vena portae ile başlar ve karaciğere gelen kanın yüzde yetmiş beşi bu yolla gelir. Vena portae, sindirim sisteminden V. Mesenterica inferior ve V. Mesenterica superior ile V. Linealis’ten gelen kanı, besin maddelerinden zengin olarak karaciğere taşır. Ancak bu kan oksijen bakımından fakirdir. Karaciğerin esas kendisine ait besleyici Arteriel dolaşımı, Arteria hepatica ile karaciğere gelir [33].

Karaciğeri hücre plakları arasında sinuzoidler bulunur. Sinuzoidler, lobulus içi kan dolaşımı ağını oluştururlar. Venulae perilobularis’lerden, V. centralis yönünde akan kan, sinuzoid duvarı aracılığı ile karaciğeri metabolizmasına katılır. Sinuzoid duvarında iki tip hücreden biri, endotel hücresi; diğeri de retikulo endotel sisteme (RES) ait olan “Kupffer” yıldız hücreleridir. İleri derecede fagositoz kabiliyetleri olup, sabit makrofajlar grubundan sayılırlar. Kupffer hücreleri sitoplazmalarında fagositoz vakuolleri, kalıntı cisimcikler ve lizozomlar bulunur [17.32].

Hepatik arter ya da karaciğeri atar damarı denilen damar, vücudun ana damarı olan aortadan aldığı oksijenden zengin kanı karaciğere taşır. İkinci damar, tıp dilinde portal ven olarak adlandırılan, kapı toplardamarıdır. Bu damar sindirim sisteminden ve özellikle ince bağırsaklardan gelen sindirilmiş gıdaları karaciğere taşır. Bu kan damarları karaciğeri içinde çok sayıda dallara ayrılır ve kapiler adı verilen kılcal damarlar halinde sonlanırlar [22].



Resim 1. Karaciğer Histolojisi [22].

2.3.3. Karaciğerin Fonksiyonları

*Protein üretilmesi ve depolanması, protein metabolizmalarının birçok yan üretimlerinin tanzimi ve kontrol edilmesi,

*Şekerin depolanması ve gereken şeker miktarının ayarlanması,

*Vücuttaki toksik ve zararlı maddelerin nötralize edilmesi,

*Depo edilmiş yağların kullanılması,

*Kanın pıhtılaşması için gerekli maddelerin üretilmesi,

*Safra ve safra tuzlarının üretilmesi,

*Kırmızı kan hücreleri ve başka kan elamanlarının üretilmesi için gerekli, önemli maddelerin üretimi ve depolanması gibi fonksiyonları yürütür.

Karaciğerin temel fonksiyonları; bağırsaklardan dönen kanın depolanması ve infiltrasyonu (vasküler fonksiyon), vücudun metabolik sisteminin büyük kısmının koordinasyonu ve regulasyonu (metabolik fonksiyon), safra yapılıp safra kanallarıyla gastrointestinal sisteme ulaştırılması (sekretuar ve ekskretuar fonksiyon) olarak özetlenebilir [32.34].

2.3.4. Karaciğerin Damarları

Karaciğer, çok sayıda damarı olan bir organdır. Bununla birlikte, damar sistemi bakımından diğer organlara benzemez. Karaciğerde damarlar: 1. Karaciğere oksijen getiren porta hepatik arter; 2. Karaciğerin fonksiyonel damarı hepatik portal ven; 3. Karaciğerin venöz drenajı hepatik venlerdir. Karaciğere bir dakikada giren 1500 ml kanın %25'i hepatik arter, %75'i ise portal ven yoluyla sağlanır. Hepatik arter tamamen oksijenlenmiş kanı taşır. Portal ve hepatik venöz sistemlerde ven kapakçıkları yoktur [35].

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Hayvan Materyali

Araştırmada toplam 50 adet fare (*Mus musculus*) kullanıldı. Hayvanlar alışma süresince oda ısısında (20–22 °C), 12 saat/12 saat karanlık-ışık periyodunda tutularak standart fare yemi ile *ad libitum* olarak beslendi. Çalışmayla ilgili olarak Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan etik kurul onayı alınmıştır (Etik Kurul Sayı No: 2012-50).

3.2. Çalışma gruplarının oluşturulması

Her grupta 10 adet fare bulunan 1 kontrol ve 4 deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubundaki hayvanlara serum fizyolojik, deney gruplarına ise 5 gün süreyle 0.1, 0.5, 1, 2 mg/kg dozunda madde birer gün ara ile intraperitoneal yolla enjeksiyon yapıldı. Çalışma süresi sonunda hayvanlardan eter anestezisi altında karaciğer örneklere alınarak %10'luk formaldehit solüsyonuna tespit edildi.

3.3. Kobalt toksikasyonunun oluşturulması

Kobalt(II) Q Florobenzoat (N.N' dietilnikotinamid 1M hazırlanarak toksikasyonu oluşturmak için kullanıldı [30].

3.4. Histolojik alışmalar

3.4.1. Rutin işlemler

%10'luk Formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edilen doku örneklere daha rutin histolojik tekniklerle parafin bloklar elde edildi. Daha sonra bütün bloklar 3–5 mikron kalınlığında kesilerek (Leica SM2000R) hematoksilin-eozin boylarıyla boyanarak elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) değerlendirildi..

3.4.2. Hematoksilin

Histolojik preparasyonlar için en çok kullanılan boylardan birisi hematoksilin ve eozin (H-E) boyasıdır. Hematoksilin bazik bir boya olarak kabul edilirse de kendisi bizzat boya değildir. Boya olarak etki etmesi için zincirlerinden birinde bulunan

guoid'in hematein'e okside olması lazımdır [36.38]. Hematoksilen hematein'e okside olması sulu bir solüsyon içinde bir aydan fazla bir zamana ihtiyacı gösterir. Oksidasyon, sodyum iyota veya mecburi klorid ilave etmek lazımdır. Fakat hematein'in ileri bir oksidasyonunda solüsyon boyanma yeteneğini kaybeder. Hematein zayıf, anyon yüklü, kırmızımsı zayıf bir boyadır. Fakat mordant ile kullanılırsa koyu ve devamlı bir boya olur. İzoelektrik noktası takriben 6.5'tur. Hemateinle mordant olarak kullanılan maddeler genellikle aleminum ve demir tuzları, aleminum ve demir şaplar (alum) dır [38.39].

3.4.3.Eozin

Eozin, fluorescein'in tetra bromo türevidir. Zayıf asidik anyonik bir boyadır. Günümüzde Eosin Y şekli (Eosine Yellowish) kullanılmaktadır. Eosin S (C.I.45386) ve Eosin B (C.I.454300) kullanımını sınırlıdır. Eosin Y (Bromoeosine, D&C Red No 22, Tetrabromofluorescein) görünümü yeşil-turuncu toz şeklinde, C.I. adı "Acid Red 87", C.I. 45380, molekül ağırlığı 691.914 gr/mol ve çözünürlük: 40 gr/100 ml su, 2 gr/100 ml etil alkoldür. Eosinle boyamada, nukleusa yaptığı kontrastla beraber parlaklık önemlidir. Normalde sarı-yeşil çözeltisi olan eosine %1 oranında asetik asit ilavesiyle, çözelti kırmızı renge dönüşür. Bu işlem hematoksilenle mavi renge boyanan nukleusa kontrast veren parlak bir zemin oluşturur. Sitoplazmanın yanı sıra bağ dokusu elemanları da eosinle boyanırlar. Eosinin boyama süresi için internal kontrol kullanılır. Doku kesitlerinde eritrositlerin kiremit kırmızısı renkte olması önerilmektedir [38.40].

3.4.3.Kapama işlemi

Preparasyondaki son aşama lam üzerindeki dokuyu üzerine lamel kapatarak yapılan kapama işlemidir. Bu işlem lamın kalıcı olarak kapatılmasına ve mikroskopik olarak incelenmesine izin verir. Lameli sabitlemek için üç tip kapama maddesi kullanılabilir: Doğal reçine, sentetik reçine ve su içerikli media'dır. Doğal reçineler arasında uzun kuruma süresi yüzünden rutin kullanımda pratik olmayan "Kanada Balzami" geçmişte standart olmuştur. Kanada balzami ile kapatılan kesitlerde eozin birkaç yılda solar ve basit anilin boyalarının korunmasında yetersizdir. Ayrıca "Prusya mavisi" reaksiyonlarının erken solmasına sebep olur. Bu sebeplerden dolayı

günümüzde laboratuarlarda hematoksilin eozin boyama ve özel diğer boyamalardan sonra sentetik reçineler kullanılır.(Entellan veya Balzam) [38.41].

4.BULGULAR

4.1.Makroskopik Bulgular

Yapılan deneylerde farelerin enjeksiyonu müddetince bazı fonksiyon bozuklukları, kendi hallerinde büzüşerek bir kenarda sindikleri, kendi aralarında oldukça huzursuz davranışlar sergiledikleri gözlemlendi. Eter anestezi sonrasında açılan hayvanlarda genelinin böbrekleri normalden daha küçülmüş gibi izlenirken, özellikle ardışık olarak gruplarda doz artışıyla birlikte gurupları oluşturan farelerde bu özellik daha dikkat çekmekteydi. Ayrıca karın boşluğundaki organların duruşunda da anomaliler görüldü. Ayrıca karaciğer, bağırsaklar ve diğer organlarda birbirine yapışmış gibi bir durum gösterdi. Deney sonrasında operasyonla açılan hayvanların çeşitli dokuları alınırken, ölen hayvanlardan herhangi doku örnekleri alınmadı.

4.2.Mikroskopik Bulgular

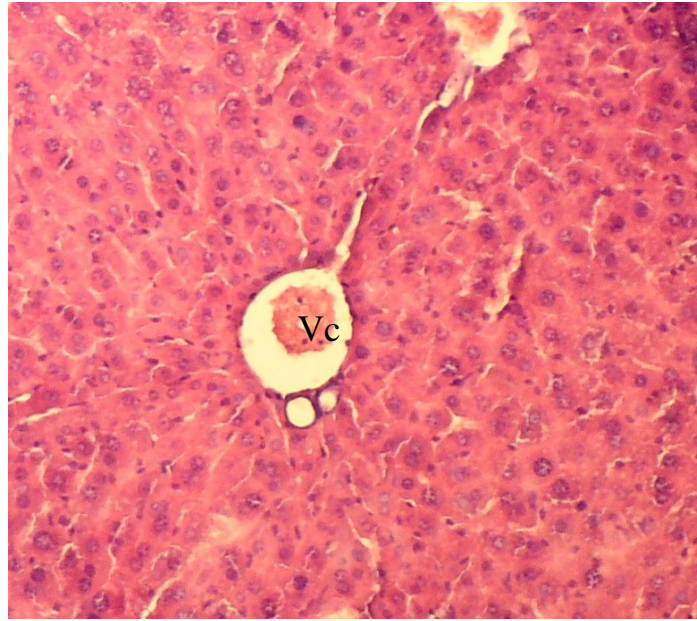
Kontrol grubu karaciğer dokusu, hepatik hücreler normal görünümde izlenmektedir. Vena centralisin ve karaciğerin esas parankimatik elamanı olan hepatik hücrelerin görünümünde bazı preparatlarda H-E boyamanın koyu ve açık oluşuna bağlı olarak farklı renk tonlarında izleniyor olmasına rağmen herhangi bir anomalik izlenmedi.

0.1 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid'in etkisine bağlı olarak alınan örneklerden elde ettiğimiz verilere göre, karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonlarında hafif hidropik dejenerasyonlar gözlenmektedir (Şekil 1).

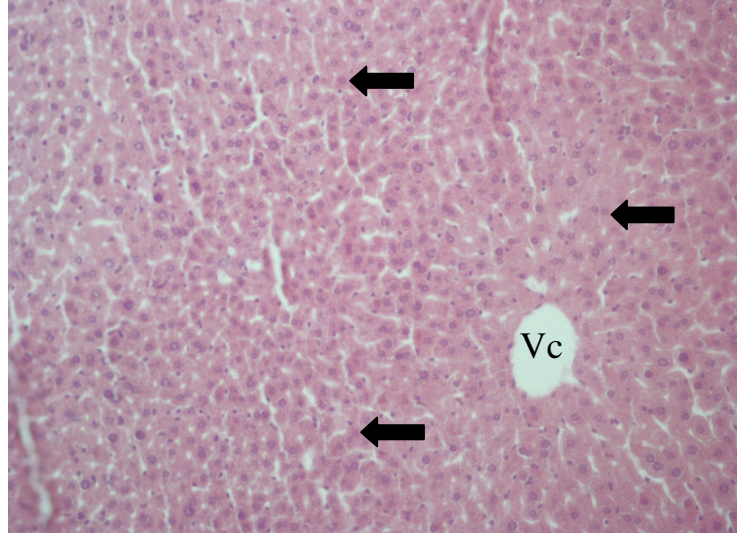
0.5 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid uygulanan farelerden elde ettiğimiz veriler sonucunda karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları. 0.5, mg/kg kobalt uygulanan gruplardaki hayvanların karaciğer dokusunda hafif fokal nekroz alanları, vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar gözlemlendi (Şekil 2).

1 mg/kg kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid uygulanan diğer deney grubunda karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları ve kupfferin yıldız hücreleri iyi şekilde gözlemlendi 1 mg/kg kobalt uygulanan gruplardaki hayvanların karaciğer dokusunda 0.5'e göre daha yoğun fokal nekroz alanları, vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar gözlemlendi (Şekil 3).

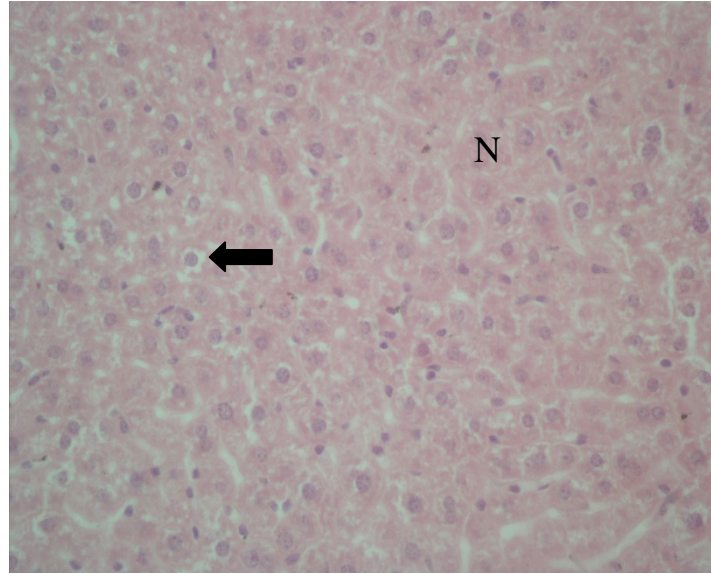
2 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid uygulanan deney grubu karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları. 2 mg/kg kobalt uygulanan gruplardaki hayvanların karaciğer dokusunda ise, hepatik hücrelerde Fokal nekroz alanları, piknotik çekirdekli hepatositler vakuoler ve hidropik dejenerasyon sıklığı gibi bir çok anomalilikler gözlenmektedir Ayrıca yoğun olarak izlenen V. centralisin duvar yapısının bozulması ve hiperemi dikkat çekmektedir. Kupfferin yıldız şekilli hücrelerinde artışlar da iyi izlenmektedir. Bu gruba ait karaciğer kesitlerinde dokudaki remark kordonlarının kaybolduğu, hücreleri düzeninin tamamen bozulduğu, hepatositlere ait çekirdeklerin iri ve küçük pozisyonlarda sıkça izlendiği, çekirdeklerin normal morfolojilerinin bozulduğu ve çekirdeklerin bazı yerlerde tamamen büzüştüğü çekirdeğinin tamamen bozulduğu gözlemlendi(Şekil.4).



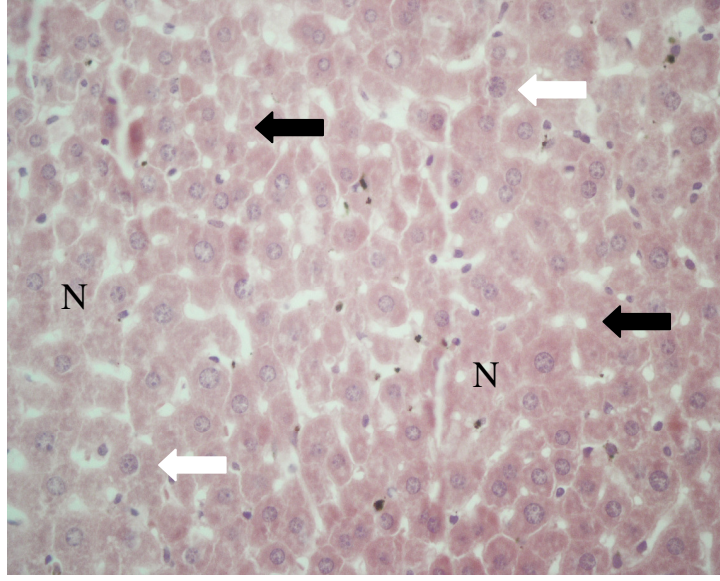
Şekil 1: Kontrol grubu karaciğer dokusu



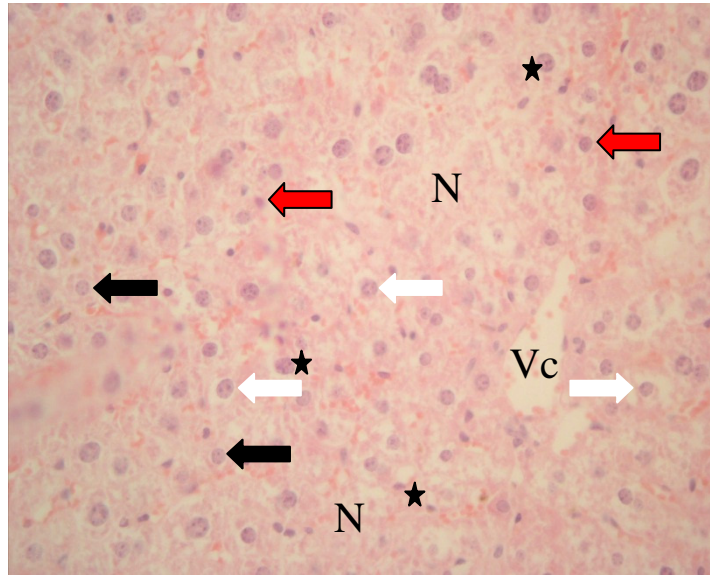
Şekil 2: 0.1 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid uygulanan deney grubu karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonlarında hafif hidropik dejenerasyonlar (Oklar) gözlenmektedir. (Vc); Vena centralis, H-E, 40x



Şekil 3: 0.5 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid deney grubu karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları. 0.5, mg/kg kobalt uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokusunda hafif fokal nekroz alanları (N), vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar(Siyah ok) gözlemlendi. H-E, 40x



Şekil 4: 1 mg/kg d kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid deney grubu karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları. 1 mg/kg kobalt uygulanan gruplardaki hayvanların karaciğer dokusunda 0.5 e göre daha yoğun fokal nekroz alanları (N), vakuolar (beyaz oklar) ve hidropik (siyah oklar) dejenerasyonlar gözlemlendi H-E, 40x



Şekil 5: 2 mg/kg kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid deney grubu karaciğer dokusundaki hepatik hücre kordonları. 2 mg/kg kobalt uygulanan gruplardaki hayvanların karaciğer dokusunda ise, hepatik hücrelerde Fokal nekroz alanları (N), piknotik çekirdekli hepatositler (kırmızı oklar), vakuoler (beyaz oklar) ve hidropik (siyah oklar) dejenerasyon gibi bir çok anomalilikler gözlenmektedir. Ayrıca yoğun olarak izlenen V. centralisin duvar yapısının bozulması ve hiperemi (yıldızlar) dikkat çekmektedir. Kupfferin yıldız şekilli hücrelerinde artışlar da iyi izlenmektedir. (Vc); Vena centralis, H-E, 40x

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Yılmaz M. ve ark. (2008) yılında yapmış oldukları CoPHB balık çalışmasında kullandıkları kobaltın histopatolojik bulgularında, hepatik kordonlarda ve hepatositlerinde dejenerasyon gözlemlemişler, yüksek konsantrasyona maruz kalan balıkların karaciğer bulgularında şiddetin artmış olması ve nekroz alanları tespit edildiğini bildirmişlerdir. Solungaç lamellerinin ikincil epitel hücrelerinde, dejenerasyon ve ara sıra nekroz lamel her iki grupta da tespit edildi. Bağırsakta villus epitelinin dejenerasyonu ve nekrozu, sadece CoPHB yüksek konsantrasyona maruz kalan balıklarda gözlendiğini belirtmişlerdir. Genel olarak, bu çalışmanın sonuçlarında, CoPHB çeşitli organlarda belirgin dejenerasyona neden olduklarını ve balık serum protein düzeyi değiştirdiklerini ve bu nedenle yaşam için tehlikeli olabileceğini düşündüklerini söylemektedirler [23].

Bayram ve ark. (2010) da balıklar üzerinde kobaltın etkisini araştırmak için çalışmalarında deney grubuna uygulanan kobaltın karaciğer ve bağırsak dokularında doz artışına bağlı olarak artan derecelerde dejenerasyonlar gözlemlemişler ve kobaltın yüksek konsantrasyonlarının tehlikeli olacağı sonucuna varmışlardır [24].

Koç ve ark. (2008) de farede kobalt klorid ile ilgili yapmış oldukları çalışmalar da dozaj artışına bağlı olarak karaciğerde hiperemi, dejenerasyon ve sinüzoidal yırtılmalar olduğunu ve ayrıca farelerde serum protein düzeyi değiştirdiklerini belirtmişlerdir [41].

Yine Ersan ve ark.(2008) yapmış oldukları çalışmalar da deney gruplarında Vena centralislerde yaygın hiperemi, geniş nekroz alanları, vakuol oluşumu, hepatositlerde şişme ve V. centralis etrafındaki ışınsal yapının bozulduğunu (dissosiasyon) tespit ettiğini bildirmişlerdir [25].

Bu araştırmada da farelere farklı dozlarda kobalt uygulamasına bağlı olarak nekrotik alanlar, vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar gözlemlenmiş olup, bu veriler yukarı da zikredilen balık ve fare çalışmalarındaki histopatolojik bulgulara benzerlik göstermektedir.

Kobalta maruz kalan işçilerde yaygın olarak görülen nonneoplastik akciğer kanseri ölüm oranının % 4,66 olduğu rapor edilmiştir. Fransız Ulusal Erkek Nüfusu

Oranlarını kullanarak, ağır metal fabrikasında çalışan 709 erkek işçinin ölüm nedenini araştırılmış olup akciğer, bronş ve trakea kanserleri nedeniyle ölenlerin oranında önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun nedeninin ise üretilen kobalt metalinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yine mesleki nedenle kobalt ve tungstene maruz kalan farklı sayıdaki metal işçilerinin akciğer kanserinden ölüm oranlarının yüksek olduğu, bunun nedeninin de büyük oranda kobalt toksikasyonundan kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır [21].

Horowitz, (1988) ağır metal işinde çalışan 30 kişilik bir işçi grubu ile ilgili bir raporunda, işçi grubunun tamamında sağ ventrikül ejeksiyonunda önemli bir düşüş olduğunu gözlemlemiştir. Kobaltın kalp üzerine yaptığı bu etkiler incelendiğinde; solunum yoluyla alınan kobaltın kalbi de etkileyebildiğini ve kobaltın kardiyomiyopatik bir ajan olduğunu söylemek mümkündür. Hem insan hem de hayvanlarda kobalt maruziyeti sonucunda oluşan kardiyomiyopati kobaltın ayırt edici toksik bir etkisidir. Bu araştırmada çalışmanın 3. ve 4. günlerinde 1 mg/kg ve 2 mg/kg dozunda kobalt uygulanan gruplardaki ölümlerin de kobalt'ın kardiyomiyopatik etkisiyle olabileceğini belirtmişlerdir.

Sonuç olarak elde edilen verilere göre kobalt (II) Q (florobenzoat) N.N'-dietilnikotinamid uygulamasının çalışmamız da, karaciğer dokusunda toksik etki göstererek çeşitli hasarlara neden olabileceği düşünülmektedir. Bu reaksiyonların olması literatürlerde belirtilen çalışmalarla uygunluklar gösterdiğini söyleyebiliriz. Ancak konuyla ilgili daha kapsamlı ve kontrollü çalışmalar yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

6.KAYNAKLAR

[1] Crawshaw M., Caldow, G.: “Trace element disorders in beef cattle”, ISSN. 0142 7695 (2005).

[2] Hartmann P:“Inventaire des radioexpositions [in French]. *EDF - Service de radioprotection*”, 17(Radiotoxicologie):2-5 (2000).

[3] <http://www.superbilgiler.com/kobalt-nedir-hakkinda-bilgi.html> (Erişim tarihi: 2011).

[4] <http://www.evs.anl.gov/pub/doc/Cobalt.pdf> (Erişim tarihi: 2005).

[5] <http://www.Türkçe bilgi .com> (2) (Erişim tarihi: 2011).

[6] <http://www. webelements.com/cobalt/> (Erişim tarihi: 2011).

[7] Emre, Ö., “Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Bazı İz Element, Mineral Madde ve Ağır Metallerin (Cr, Al, Se,Pb, Cd, Mn, Cu, Mg, Zn, Co ve Ca) Saptanması”, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2011).

[8] Stangl, G.I., Frieder I. Schwarz, F.I., and Kirchgessner,“M.moderate long-term cobalt-deficiency affects liver, brain and erythrocyte lipids and lipoproteins of cattle. *Nutrition Research*”, Vol. 19, No.3, pp.415-427 (1999).

[9]Araya, J., Maruyama, M., Inoue, A., Fujita, T., Kawahara, J., Sassa, K., Hayashi, R Kawagishi, Y., Yamashita, N. Sugiyama, E., and Kobayashi,“M.Inhibition of proteasome activity is involved in cobalt-induced apoptosis of human alveolar macrophages: *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*”, 283:L849-L858 (2002).

[10] <http://www.sifavi.com/Mineraller/kobalt.html> (Erişim tarihi: 2011).

[11] <http://www.evs.anl.gov/pub/doc/Cobalt.pdf> (Erişim tarihi: 2012).

[12] Malard, V., Berenguer, F., Prat, O., Ruat, S., Steinmetz, G., Quemeneur, “E.: Global gene expression profiling in human lung cells exposed to cobalt”, *BMC Genomics*, 8:147 (2007).

- [13] <http://www.provet.com.tr/prospektus/161.pdf> (Erişim tarihi: 2012).
- [14] <http://www.radiochemistry.org/Periodictable/list1.html>. May 24 (Erişim tarihi: 2011).
- [15] <http://cygm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/kimya/moduller/Metaller.pdf> (Erişim tarihi: 2011)
- [16] Davies, M.B.: Cobalt 1994, Coordination Chemistry Reviews 164, 27-160 (1997).
- [17] <http://www.saglikbilimi.com/embriyoloji-ve-anatomi-fizyoloji/> (Erişim tarihi: 2011).
- [18] ernate route to the JBC: <http://intl.jbc.org> (Erişim tarihi: 2012).
- [19] C. Lavoie, C. Cabral, Jr., F.M.d.Heurle, J.Jordan-Sweet, and J.M.E. Harper Effects of Alloying Elements on Cobalt Silicide Formation www.elsevier.com (Erişim tarihi: 2012).
- [20] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bilgipaket/periodik/kullanim2.html> (Erişim tarihi: 2011).
- [21] Köksoy, S): “Farelerin karaciğer, kalp ve böbreklerinde kobaltın indüklediği oksidatif hasara karşı likopenin koruyucu rolü”, KAÇ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.(2008).
- [22] <http://www.kimyacini.com/biyoelementler.html> (Erişim tarihi: 2011).
- [23] Yılmaz, M., Ersan, Y., Karaman, M., zen, H., Koç, E and Necefoğlu, H.: “Toxic effects of cobalt parahydroxybenzoate on tissue histopathology and Serum proteins in *capoeta capoeta capoeta*”, Fresenius Environmental Bulletin Vol.17 no.9a, (2008).
- [24] Bayram, Y., Yılmaz, M., Ersan, Y., Koç, E., Baysal, A.: “Toxic Effects of Cobalt II Chloride on Tissue Histopathology and Serum Proteins in *Capoeta capoeta capoeta*” (Guldenstaedt 1772) Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 16 (Suppl-B): s,259-263 (2010).

[25] Ersan, Y., Koç, E., Necefoğlu, H., Kırpık M.A.: “Kobalt *p*-hidroksibenzoat dietilnikotinamid’in erişkin fare karaciğeri üzerine etkileri”, Fen ve Mühendislik bilimleri dergisi Cilt: 1 Sayı:1 1-4 (2008).

[26] <http://www.genetikbilimi.com/genbilim/madenler.htm> (Erişim tarihi: 2011).

[27] Tsivadze A.Yu, Tsintsadze G., et al., Koord. Khim., pp.3-567p (1977).

[28] Elvehjem, C.A.et al., 1937 Relation of nicotinic acid and nicotinic acid amid to canine block tangua.j.Amer.chem.Soc.59, p (1976).

[29] Tsivadze A.Yu, Tsintsadze G., *et al.*, Koord. Khim.,9, pp.1212-1220 (1975b).

[30] Hökelek T., Necefoğlu H.: Diaquabis(nicodinamide) bis (phydroxybenzoato) cobalt(II), Acta Cryst., C55, pp.1438-1440 (1999a).

[31] Edebalı S.,:“Çinko *p*-Floro ve *p*-Bromobenzoatların Nikotinamid, İzonikotinamid ve *N,N'*- Dietilnikotinamid komplekslerinin sentezi ve özellikleri” Yüksek Lisans tezi Kafkas Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalı (2007).

[32] Junqueira,L.C., Carneiro, J., Kelley R.O.: Basic Histology. Çeviri Editörü: Yener, A. lange medikal book, eight edition, Barış Kitap Evi (2009).

[33] <http://Veterinerhekimiz.com> & Veterinarium.com (Erişim tarihi: 2012).

[34] Gürbüz, H.: Karaciğerin Damar Sistemi, The Vascular System of the Liver Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 21(1-3):31-35 (2004).

[35] Batman F, Arslan S.: Karaciğer fizyolojisi ve fonksiyon testleri. Sayek Temel Cerrahi 2. Baskı, Ankara Güneş Yayınevi, 1205-17 (1996).

[36] Bancroft JD. Theory and practice of histological techniques, 3rd ed., London, Churchill Livingstone (1990).

[37] http://members.pgoline.com/_bryand/StainsFile/index.html (Erişim tarihi: 2012).

[38] http://tr.wikipedia.org/wiki/Hematoksilen_-_Eozin_Boyama (Erişim tarihi: 2012).

[39] Ekicioğlu, G., Özkan, N., Şalvaazar, E.: Hematoksilen-Eozin (hematoxylin-eosin) (H&E), Aegean Pathology Journal, 2 58-61 (2005).

[40] http://www.turkpath.org.tr/files/8_boyama_kapama_ZK.pdf.(Erişim tarihi: 2011).

[41] Koç. E., Ersan. Y., Yılmaz. M., Necefoğlu. H., Bozukluhan. Ö.F., Doğan. O., Karaman. M., Özen. H.: Effect of cobalt (II) chloride hexahydrate on liver histopathology and proteins of serum and liver in adult mouse., Cell and Tissue Biology research., Vol.1., 2008 supplement.

7.ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Kars'ın Susuz ilçesine bağlı Ortalar köyünde dünyaya geldim. İlk ve Ortaokulu Kars ilinde, lise eğitimini Erzincan'ın Tercan Sağlık Meslek Lisesinde tamamladım. Daha sonra 2003 yılında Kafkas Üniversitesi Laboratuvar bölümünü ardından da aynı üniversitenin Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü 2008 yılında bitirdim.

Kars Devlet Hastanesinde 2002 yılında sağlık memuru olarak göreve başladım ve halen aynı hastanede görev yapmaktayım. Ulusal Sağlık Çalışanları Derneği kurucu üyesi ve başkan yardımcısı görevini yürütmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım.