http://fbe.trakya.edu.tr/tujs
Trakya Univ J Sci, 10(2):189-196, 2009
ISSN 1305–6468
DIC: 272ZDAET1120911091209

Araştırma Makalesi / Research Article

ETİLENDİAMİN DİHİDROKLORİD'İN (EDA-2HCl) SIÇANLARDA KARACİĞER VE BÖBREK DOKULARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Zeynep Dilek ADA, Ayşegül ÇERKEZKAYABEKİR[1]
[1]Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Edirne
e-mail: akaboglu@trakya.edu.tr

Alınış: 11 Şubat 2009
Kabul Ediliş: 13 Temmuz 2009

Özet: *Etilendiamin dihidroklorid (EDA-2HCl, 50 mg/kg/gün) on gün boyunca Wistar albino sıçanlara intramuskular (i.m.) enjeksiyon yoluyla verildi ve vücut ağırlıklarındaki değişim, karaciğer ve böbrek dokularındaki histopatolojik değişiklikler incelendi. Buna göre; vücut ağırlığında anlamlı bir değişim gözlenmedi ($p<0,05$). Karaciğerde; ven endotel hasarı, mononüklear hücre infiltrasyonu, hepatositlerde membran hasarı, hipertrofi, nukleus ve sitoplazma kaybı, piknotik nukleuslar, sitoplazmik vakuolizasyon ve genel anlamda dokuda bütünlük kaybı meydana geldiği belirlendi. Böbreklerde; Bowman kapsülünün parietal ve viseral yaprakları arasında mesafe artışı, glomerulusda atrofi, glomerulus kaybı, tübülleri astarlayan epitelde membran hasarı, epitel hücrelerinde nukleus ve sitoplazma kaybı, hipertrofi, sitoplazmik vakuolizasyon, piknotik nukleuslar, tübül lümeninde dejeneratif nukleuslar ve sitoplazmik kalıntılar gözlendi. Ayrıca hepatositlerde ve böbrek tübül hücrelerinde bazal membranda kalınlaşma meydana geldiği tespit edildi.*
Anahtar Kelimeler: *Böbrek, etilendiamin dihidroklorid, histopatoloji, karaciğer*

.

The Investigation of Effects of Ethylenediamine Dihydrochloride (EDA-2HCl) on Liver and Kidney in Rats

Abstract: *Ethylenediamine dihydrochloride (EDA-2HCl, 50 mg/kg/day) was given by intramuscular (i.m.) injection to Wistar albino rats for ten days and change in body weight, the histopathologically effects on liver and kidney were examined. Thus, gains in body weight was not changed significantly ($p<0,05$). It was observed that endothelial degeneration of vein, mononuclear cell infiltration, degeneration of hepatocyte membrane, hypertrophy, loosing of cytoplasm and nucleus, vacuolization in cytoplasm, picnotic nucleus in hepatocytes and loss of integrity in the tissue were observed in liver. Increasing of distance between parietal and visceral layer of Bowman capsule, atrophy in Glomerulus, loosing of Glomerulus, degeneration of membrane in epithelia of tubules, loosing of nucleus and cytoplasm in epithelial cell, hypertrophy, vacuolization in cytoplasm, picnotic nucleus, degenerative nucleus and cytoplasmic residues in tubule lumen were observed in kidney. Besides, thickening of basal membrane of hepatocytes in liver and epithelia of tubules in kidney were determined.*

Keywords: *Ethylenediamine dihydrochloride, histopathology, kidney, liver*

GİRİŞ

Etilendiamin dihidroklorid (EDA-2HCl; $C_2H_8N_2.2HCl$; 1,2-diaminoetan dihidroklorit, MW; 133,02) endüstride yaygın kullanılan önemli bir kimyasaldır (Hermansky ve Ark., 1999). EDA-2HCl; fungusit, insektisid, polyamide çamsakızı, şelatlayıcı ajan, korozyon inhibitörü, zemin kaplamalarında yapıştırıcı olarak, tekstil kumaş boyası bileşenlerinde, fotoğrafçılık banyo kimyasallarında, metal işçilikte, boyalarda buhar sızdırmazlığı ve kapatıcılığı için, asfalt malzemelerinde, veterinerlikte üriner sistem tedavisinde ve tıpta astım tedavisi ilaçlarının formulasyonunda kullanılır (Sittig, 1985; DePass ve Ark., 1987; Leung, 1994; Budavari ve Ark., 1996; Hermansky ve Ark., 1999; Leung, 2000). Etilendiamin; alkilenaminlerin en düşük moleküler ağırlıklı üyesidir (Leung, 1994). EDA'nın sıçanlarda (oral) LD_{50} dozunun 637-1850 mg/kg, LC_{50} değerinin (solunum) >29 mg/L, tavşanlarda (dermal) LD_{50} değerinin 560 mg/kg olduğu bildirilmiştir (SIDS, 2001).

EDA-2HCl'in tahriş edici bir ajan olduğu, göz hasarına sebebiyet verdiği (Yang ve Ark., 1983), solunum ve deri hassasiyetine neden olabildiği (Leung, 1994) rapor edilmiştir. EDA'nın alerjik işarete, tahrişe, merkezi sinir sisteminde değişimlere neden olduğu (Dubinina ve Ark., 1997), EDA ile çalışan işçilerde bronşial astım gözlendiği (Ng ve Ark., 1991) ve EDA'ya maruz kalan genç işçilerde, akciğerlerde sıvı toplanması ve çizgili kaslarda bozukluk meydana geldiği bildirilmiştir (Su ve Ark., 2000).

EDA-2HCl'in sıçanlar ve fareler üzerine toksik etkilerinin araştırıldığı kısa ve uzun dönem besleme çalışmalarında (7 gün, 2.70 gr/kg/gün ve 3 ay 0, 0.05, 0.25, 1.00 gr/kg/gün), vücut ağırlığında ve bazı organ ağırlıklarında azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Yang ve Ark., 1983). EDA-2HCl'in etkisi ile (0.5, 0.15, 0.05, 0 gr/kg/gün) vücut ağırlığında azalma ile birlikte, karaciğer ağırlığında azalma, böbrek ağırlığında artış meydana geldiği, ancak EDA-2HCl'in üreme üzerine toksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Yang ve Ark., 1984). Hermansky ve Ark., (1999) ise 2 yıllık uzun dönem besleme çalışmalarında (0, 0.02, 0.10, 0.35 gr/kg/gün) vücut ağırlığında azalma, böbrek ve karaciğer ağırlığında artış tespit etmişlerdir.

Ayrıca EDA-2HCl'in toksik etkisi ile klinik kimyasal parametrelerde, hematolojik değerlerde ve üre analizi değerlerinde değişikliklerin meydana geldiği, karaciğerde hepatositlerde pleomorfizm gözlendiği (Yang ve Ark., 1983; Hermansky ve Ark., 1999), hepatositlerde nukleus büyüklüğü ve nukleus şeklinde varyasyonlar ile karakteristik mikroskobik lezyonların meydana geldiği, en yüksek dozda özellikle 12, 18, ve 24. aylarda rinit ve trakeit geliştiği bildirilmiştir (Hermansky ve Ark., 1999).

EDA-2HCl'in sıçanlarda karsinojenik olmadığı gösterilmiş, ancak kronik toksik etkilerinin varlığına dikkat çekilmiştir. Erkek ve dişi sıçanlarda özellikle yüksek doz verilen gruplarda kronik nefropati insidansında artış gözlendiği ve bunun muhtemel ölüm nedeni olduğu bildirilmiştir (Hermansky ve Ark., 1999).

EDA-2HCl'in mutajenik olmadığı ovaryum gen mutasyon testi ve kardeş kromatit değişimi testi ile gösterilmiş (Slesinski ve Ark., 1983) ayrıca teratoloji çalışmalarında yapısal anormalliklere neden olmadığı (DePass ve Ark., 1987; Price ve Ark., 1993) bildirilmiştir. Leung (1994) de Ames/Salmonella testi ile EDA'nın mutajenik olmadığını rapor etmiştir.

Kütle spektrofotometresi ve infra-red spektroskopisi ile yapılan çalışmalar, EDA-2HCl'in temel metabolitinin N-asetiletilendiamin olduğunu göstermiştir (Yang ve Tallant, 1982; Leung, 2000). Oldukça hızlı bir eliminasyon ile 24 saat içinde dozun % 70'nin idrarla, % 4-13'nün feçesle vücuttan atıldığı bildirilmiştir (Leung, 2000). Farmakokinetik ve metabolik özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda, EDA-2HCl'in bağırsaktan kolayca absorbe edildiği ve plazmadaki maksimum konsantrasyonuna 1 saat içinde ulaştığı bildirilmektedir (Leung, 2000). Radyoaktif işaretli EDA-2HCl türevlerinin takibi ile EDA'nın hedef organlarının, karaciğer ve böbrek olduğu gösterilmiştir (Leung, 2000).

Yapılan literatür araştırmasında EDA-2HCl'in kronik ve uzun dönem besleme çalışmalarında, eşeye bağlı olarak toksik etkilerde herhangi bir değişiklik rapor edilmemiştir (Peters, 1982; Yang ve Ark., 1983; Leung, 1994; WHO, 1999; SIDS, 2001). Bu nedenle mevcut çalışmada yaygın bir kullanım alanı olan EDA-2HCl'in, 50 mg/kg/gün dozunun dişi sıçanlarda akut toksik etkileri, hedef organlar olan karaciğer ve böbrek dokularında mikroskobik düzeyde incelenmiştir.

Materyal ve Metod

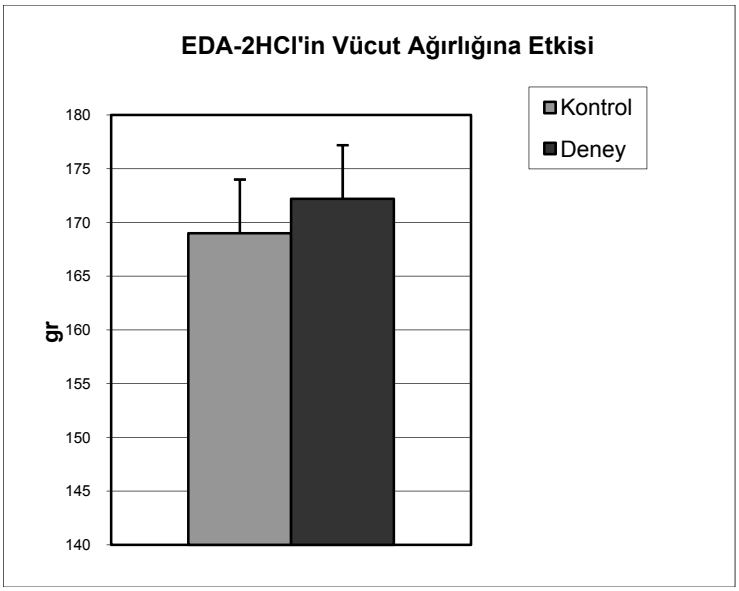
Bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları biriminden temin edilen dişi Wistar albino (165 ± 10 gr) sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar 22 ^{o}C oda ısısında, % 50 nem ve düzenli olarak 12-24 saat aydınlık-karanlık periyodunda muhafaza edildi. 20 adet dişi sıçan; 10 kontrol, 10 doz grubu olacak şekilde iki gruba ayrıldı.

Etilendiamin dihidroklorid'in (EDA-2HCl) (Cat No: 195804, Aldrich, St. Louis, Amerika) 50 mg/kg dozu (SIDS, 2001), Wistar albino sıçanlara intramuskular enjeksiyon yoluyla verildi. Kontrol ve deney grubundaki hayvanlar standart pellet yem (% 21 protein içeren) ve çeşme suyu ile beslendi. 10 günlük deney sonrası, vücut ağırlıkları ölçülerek 5-10 mg/kg Rompun (Ksilazine hidroklorid, % 2'lik, Bayer, İstanbul) ve 50-70 mg/kg Ketasol (% 10'luk, Richterpharma, Avusturya) enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Karaciğer ve böbrek dokuları alınarak, Bouin içinde 24 saat fikse edildi ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 4.5-5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilin-Eosin ve periyodik asit shift (PAS) ile boyandı. Olimpus marka fotomikroskopla fotoğraflanarak, bulgular değerlendirildi.

İstatiksel değerlendirme için verilerin normal dağılıma uygunlukları, tek örnek Kolmogorov Smirnov testi ile belirlendi. Daha sonra gruplar arası kıyaslamalar *t*-testi ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak aritmetik ortalama ± SS değerleri verilip, tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak seçildi.

Bulgular

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



Şekil 1. EDA-2HCl'in vücut ağırlığı üzerine etkisi, $p<0.05$; istatiksel olarak anlamlı, standart sapma (± SS) grafik üzerinde hata çubuğu olarak gösterilmiştir.

EDA-2HCl'in vücut ağırlığına etkisi;

50 mg/kg/gün EDA-2HCl uygulanan dişi Wistar albino sıçanlar ve kontrol grubu, 10 günlük deney süresinin başında ve sonunda vücut ağırlıkları yönünden incelendi ve EDA-2HCl'e maruz kalan sıçanların ağırlıklarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p<0.05$) gözlendi (Şekil 1).

EDA-2HCl'in karaciğer üzerine etkileri;

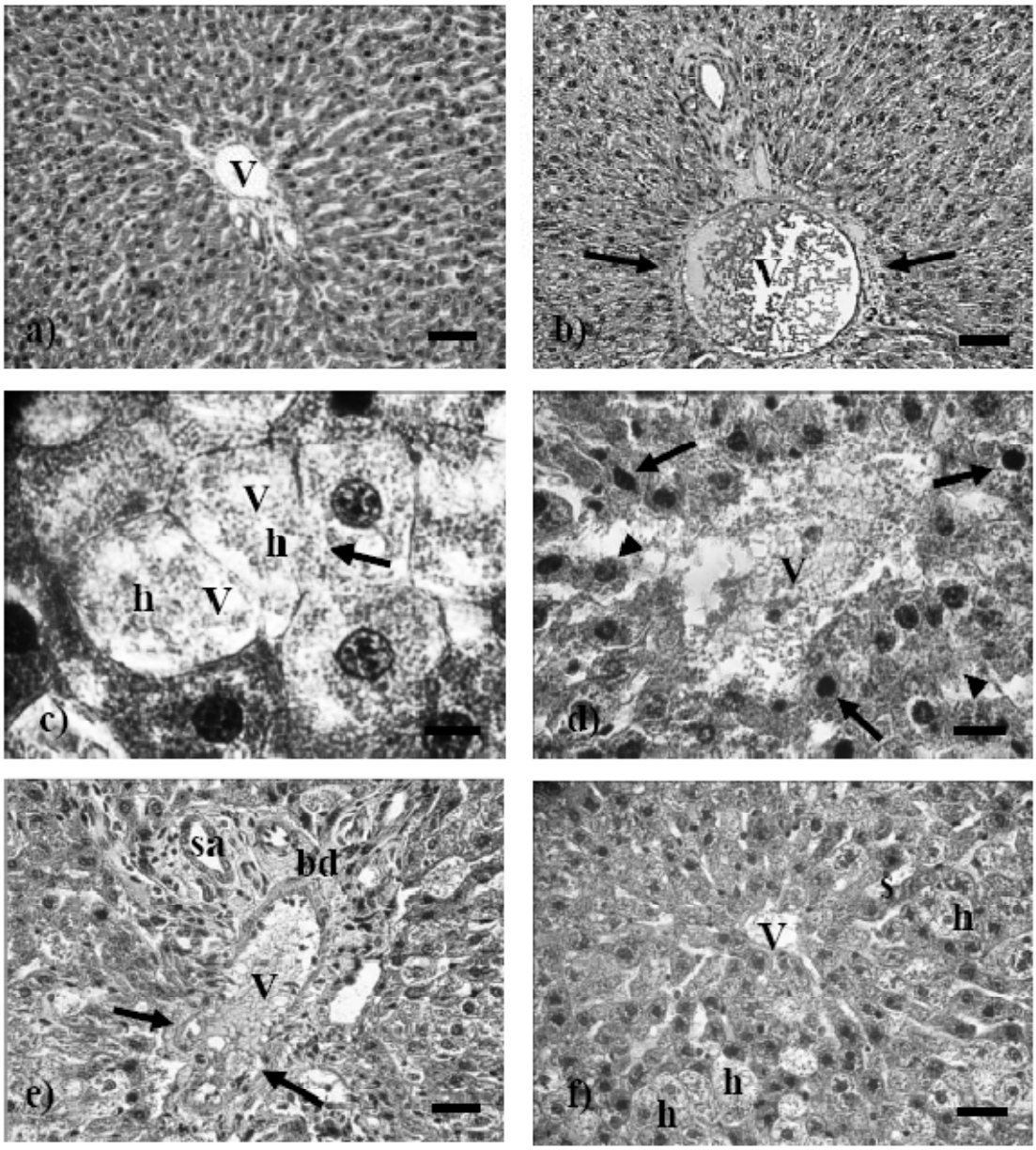
Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde (Şekil 2a) dokunun genel histolojik yapısının korunduğu, deney grubunda (50 mg/kg/gün EDA-2HCl) ise çeşitli nekrotik değişikliklerin meydana geldiği ve dokuda bütünlük kaybının gerçekleştiği (Şekil 2b) gözlendi. Doz grubunda EDA-2HCl etkisi ile hepatosit membranlarında hasar meydana geldiği belirlendi (Şekil 2c ve 2d). Venlerde endotel hasarı (Şekil 2d) ve bağ doku içine mononuklear hücre infiltrasyonun gerçekleştiği gözlendi (Şekil 2e). Aynı zamanda venlerin etrafında nekrotik değişim ve piknotik nukleuslar (Şekil 2d ve 2e), doku genelinde yaygın şekilde hipertrofik hepatositler (Şekil 2e ve 2f), bunların bazılarında nukleus kaybı, beraberinde sitoplazma kaybı ve vakuolizasyon (Şekil 2c ve 2f) meydana geldiği tespit edildi.

PAS boyama sonucunda, kontrol grubu ile kıyaslandığında bağ dokunun genel yapısının korunduğu ancak hepatositlerde bazal membranda kalınlaşma meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4b). Hepatositlerde zimojen granüllerin korunduğu ve kontrol grubu ile aynı olduğu gözlendi (Şekil 4b).

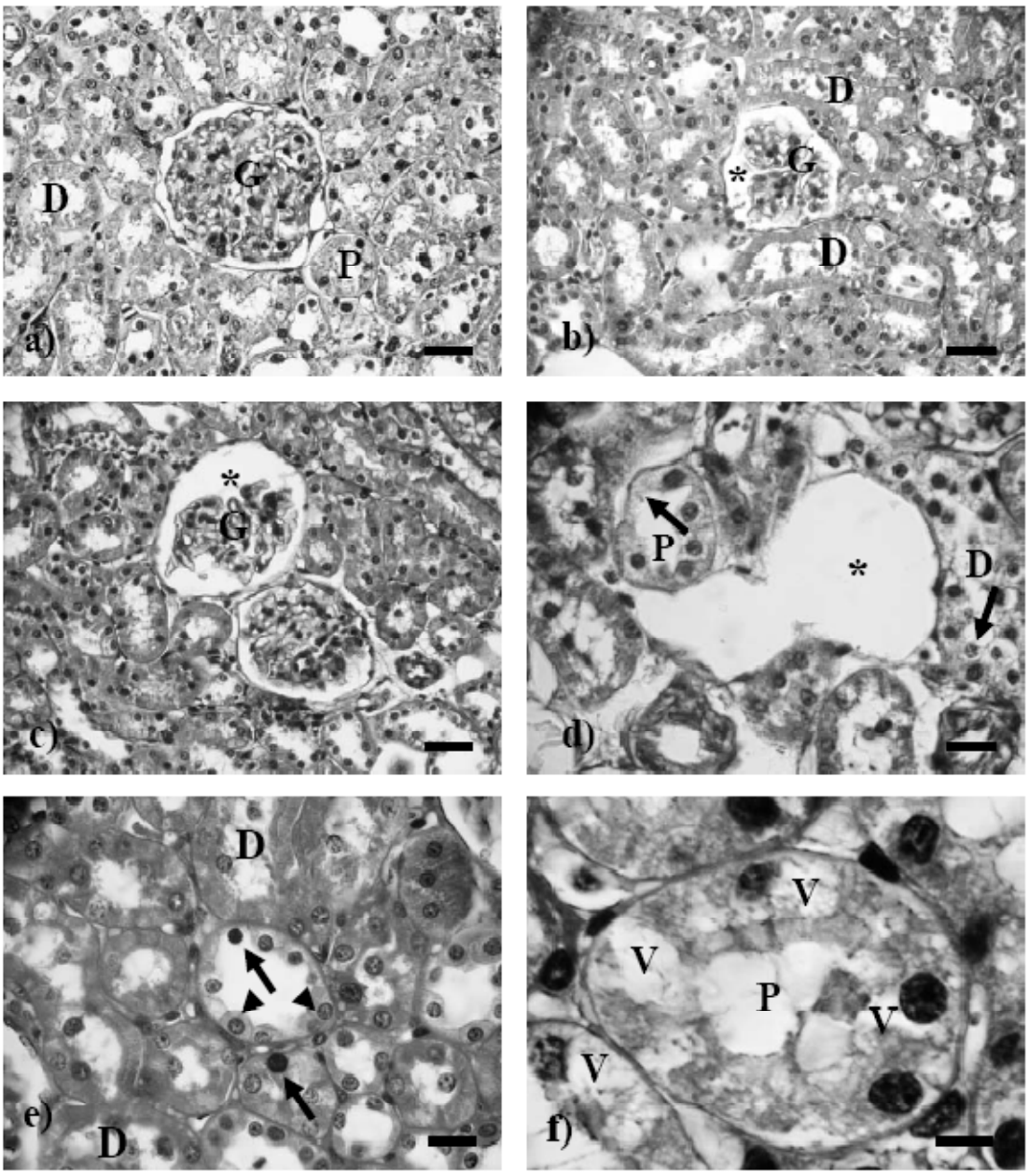
EDA-2HCl'in böbrek üzerine etkileri;

Kontrol grubuna ait böbrek kesitlerinde genel histolojik yapının korunduğu (Şekil 3a) ancak doz grubunda EDA-2HCl etkisi ile dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği belirlendi. Korteks bölgesinde, glomeruluslarda atrofi ve Bowman kapsülünün parietal ve viseral yaprakları arasında mesafe artışı (Şekil 3b ve 3c) meydana geldiği tespit edildi. Bazı bölgelerde glomerulusunu kaybetmiş Bowman kapsülleri gözlendi (Şekil 3d). Korteks bölgesinde proksimal ve distal tübülü astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği (Şekil 3d, 3e ve 3f), epitel hücrelerinde nukleus ve sitoplazma kayıplarının olduğu, tübül lümeninde dejeneratif hücrelerden kaynaklanan nukleuslar ve sitoplazmik kalıntıların bulunduğu (Şekil 3e ve 3f) tespit edildi. Aynı zamanda tübülü astarlayan epitel hücrelerinin bazılarında piknotik nukleus, hipertrofi (Şekil 3e ve 3f) ve sitoplazmik vakuolizasyon (Şekil 3f) gözlendi. Medulla bölgesinde ise kontrol grubundaki genel histolojik yapının korunduğu ve dejeneratif bir değişikliğin meydana gelmediği belirlendi.

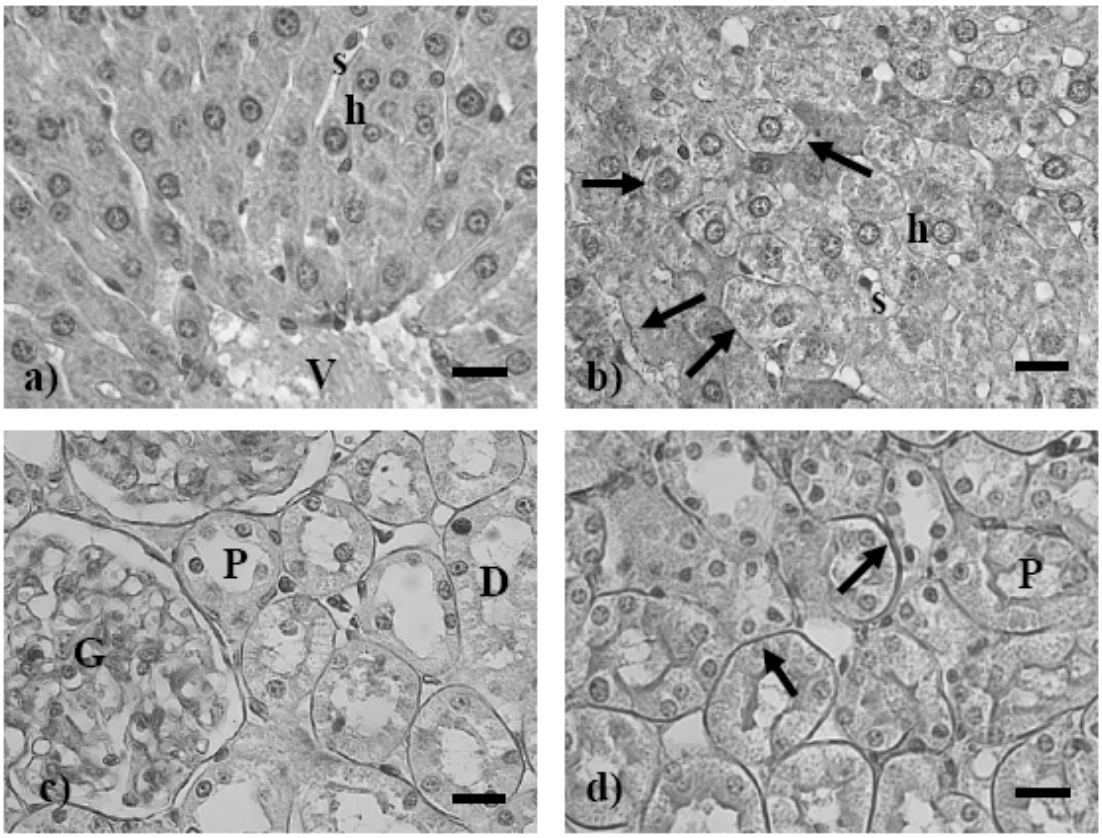
PAS boyama sonucunda, bağ dokunun genel anlamda normal olduğu belirlendi. Ancak böbrek tübüllerini astarlayan epitel hücrelerinde bazal membranda kalınlaşma meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4d). Böbrek tübüllerinin epitel hücrelerinde sitoplazma içinde zimojen granüllerin korunduğu ve kontrol grubu ile aynı olduğu gözlendi (Şekil 4d).



Şekil 2. a) Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu, V: venül, (bar=200 µm), b) 50 mg/kg EDA-2HCl grubuna ait karaciğer dokusu, V: ven, ven etrafında dejenerasyon (oklar), (bar=500 µm), c) h: hipertrofik hepatositler, V: vakuolizasyon ve sitoplazma kaybı, hepatosit membran hasarı (ok), (bar=30 µm), d) V: ven endotelinde şiddetli hasar ve bütünlük kaybı, piknotik nukleus (oklar), hepatosit membranlarında hasar (okbaşı), (bar=50 µm), e) V: venül, sa: safra kanalı, endotel hasarı (oklar), bd: bağ doku, (bar=100 µm), f) V: venül, S: sinüzoid, h: hipertrofik hepatositler, (bar=100 µm), Hematoksilin- Eosin.



Şekil 3. a) Kontrol grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulus, D: distal tübül, P: proksimal tübül, (bar=100 μm), b) 50 mg/kg/gün EDA-2HCl grubuna ait böbrek dokusu, G: Glomerulusta atrofi, *: Bowman kapsülünün parietal ve viseral yaprakları arasında mesafe artışı, D: distal tübül epitelinde dejenerasyon, (bar=100 μm), c) G: Glomerulusta atrofi, *: Bowman kapsülünün parietal ve viseral yaprakları arasındaki mesafe artışı, (bar=100 μm), d) *: Glomerulus kaybı, proksimal (P) ve distal (D) tübül epitellerinde dejenerasyon, membran hasarı, nukleus ve sitoplazma kaybı (oklar), (bar=50 μm), e) piknotik nukleus, membran hasarı ve sitoplazma kaybı (oklar), D: distal tübülde epitel dejenerasyon, hipertrofik epitel hücreleri (okbaşı), (bar=50 μm), f) P: proksimal tübülde epitel dejenerasyonu ve bütünlük kaybı, V: vakuolizasyon, (bar=30 μm), Hematoksilin-Eosin.



Şekil 4. a) Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu, V; ven, h; hepatosit, s; sinüzoid, (bar=50 µm), b) EDA-2HCl grubuna ait karaciğer dokusu, h; hepatosit, s; sinüzoid, basal membran kalınlaşması (oklar), (bar=50 µm), c) Kontrol grubu böbrek dokusu, G; glomerulus, P; proksimal tübül, D; distal tübül, (bar=50 µm), d) Doz grubu böbrek dokusu, P; proksimal tübül, bazal membran kalınlaşması (oklar), (bar=50 µm), PAS.

Tartışma ve Sonuç

Günümüzde gelişen endüstri ile birlikte çevresel kirlilik artarken, buna bağlı olarak kirliliğin insan sağlığına olan etkileri önlenemez hale gelmektedir. Bu kimyasalların doğrudan ya da dolaylı yoldan alımı insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Alkilenaminler, endüstriyel uygulamada geniş bir kullanım alanına sahip kimyasal bileşenlerdir (Hermansky ve Ark., 1999). Bu çalışmada da alkilenaminlerin, en düşük moleküler ağırlıklı üyesi olan EDA-2HCl'in 50 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozu, on gün süreyle intramuskular enjeksiyon yoluyla Wistar albino sıçanlara verilerek, karaciğer ve böbrek dokularındaki histopatolojik etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda vücut ağırlıklarında EDA-2HCl etkisi ile anlamlı bir değişikliğin meydana gelmediğini tespit ettik (Şekil 1). EDA-2HCl'in toksik etkilerinin araştırıldığı uzun dönem besleme çalışmalarında, vücut ağırlıklarının azaldığı (Yang ve Ark., 1983, 1984, Hermansky ve Ark., 1999) bildirilmiştir. DePass ve Ark. (1987) EDA-2HCl'in teratolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, vücut ağırlığında ve diyet tüketiminde azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde EDA-2HCl'in akut etkilerinin araştırıldığı 7 günlük kısa dönem besleme çalışmasında farelerde, besin tüketiminin azaldığı bildirilmiştir (Yang ve Ark., 1983). EDA'nın diyete ilave edildiği subkronik ve kronik çalışmalarda da su ve besin tüketiminin azaldığı ve bunun da muhtemelen EDA'nın tahriş edici yapısı ve yüksek pH değerinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (SIDS, 2001). EDA'nın uzun dönem besleme çalışmalarında diyete eklenmesi, diyetin tadını değiştirmek suretiyle diyet tüketiminde azalmaya sebep oluyor olabilir.

Çalışmamızda EDA-2HCl'in 50 mg/kg/gün dozu intramuskular enjeksiyonla uygulanmıştır. Dolayısı ile besin tüketiminin, EDA-2HCl'in tahriş edici etkisi yada yüksek pH değerinden etkilenmesi söz konusu değildir.

Mikroskobik inceleme sonunda, EDA-2HCl etkisi ile karaciğer dokusunda nekrotik değişikliklerin meydana geldiği ve buna bağlı olarak dokuda genel bir bütünlük kaybının oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 2b). Doz grubunda hepatosit membranlarında hasar meydana geldiği (Şekil 2c), doku genelinde hipertrofik hepatositlerin bulunduğu (Şekil 2f) tespit edilmiştir. Dokudaki membran hasarı ve hipertrofi, nekrotik değişimin temel göstergeleridir. Dejeneratif süreçten birincil derecede membranların etkilenmesi sonucu, hücre içindeki lizozomal enzimler serbestleşmiş, hatta hasar görmüş hücre membranını da aşarak hücreler arası alana dâhil olmuş olabilir. Bu durum dokudaki genel nekrotik değişimi açıklayabilir. Bizim çalışmamızda ayrıca, nekrotik değişimi doğrulayacak şekilde, hipertrofik hepatositlerde nukleus ve sitoplazma kaybı ile birlikte, sitoplazmik vakuolizasyon gözlenmiştir (Şekil 2c ve 2f). Bu durum hücre içinde bir bütünlük kaybının gerçekleştiğini ve buna bağlı olarak hücre metabolizmasının negatif yönde etkilendiğini göstermektedir. Hepatositlerdeki, nukleus ve sitoplazma kaybı protein sentezi sürecinde birincil öneme sahip olan nukleus-sitoplazma ilişkisinin bozulduğuna işaret etmektedir. Yang ve Ark. (1983), araştırmaları sonucunda, EDA-2HCl'in etkisi ile nukleus şekil ve hacminde değişimler ile multinukleuslu hepatosit sayılarında artış ve hepatositlerde orta düzeyde dejenerasyon meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Özellikle portal alanlardaki venlerde gözlenen endotel hasarı EDA'nın membranlara olan birincil etkisinin bir sonucu olarak gerçekleşmiştir (Şekil 2e). Damar bütünlüğünün bozulması ve damar çevresindeki hepatositlerde piknotik nukleus gözlenmesi (Şekil 2e), enzimatik lizize bağlı nekrotik değişimin bir başka göstergesidir. Gerek hipertrofik hücrelerdeki nukleus kaybı (karyoliziz), gerekse piknotik nukleuslar, hepatositlerde nukleus metabolizmasının bozulduğuna işaret eder.

Portal venlerden bağ doku içine doğru mononuklear hücre infiltrasyonunun gerçekleşmesi (Şekil 2e), EDA etkisine karşı koruyucu bir cevap olarak kabul edilebilir. Kan yoluyla karaciğere gelen EDA-2HCl'in öncelikle portal venler etrafında inflamatuar cevabı başlatmıştır. Damar endotelindeki hasarın da inflamasyonu hızlandıran bir faktör olduğu düşünülebilir. Ancak inflamatuar hücrelerin hafif bir ödem ile bağ doku içinde odak oluşturmaksızın yaygın şekilde görülmeleri, inflamatuar sürecin, başlangıç aşamasında olduğunu düşündürmektedir. Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute-NCI) raporunda da EDA-2HCl'in etkisi ile karaciğerde inflamasyon meydana geldiği, doku genelinde nekroz, hepatositomegali ve hiperplazi gözlendiği bildirilmiştir (NCI, 1979). Hermansky ve Ark., (1999), karaciğerde inflamasyon gözlememekle birlikte, besin içeriğinde bulunan EDA-2HCl'in solunması sonucu üst solunum yollarında inflamasyon (trakeit ve rinit) gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Böbrek dokusunda da, doz grubunda EDA-2HCl'in etkisi ile çeşitli dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği belirlenmiştir. Yaptığımız mikroskobik inceleme sonunda, sıçan böbrek dokusunda; korteks bölgesinde EDA-2HCl'in etkisi ile glomeruluslarda atrofi ve Bowman kapsülünün viseral ve parietal yaprakları arasında mesafe artışı meydana getirdiği gözlenmiştir (Şekil 3b ve 3c). Bazı bölgelerde glomerulusunu kaybetmiş Bowman kapsülleri, sadece viseral yaprağın epiteli ile takip edilebilmiştir (Şekil 3d). Bu dejeneratif değişiklikler EDA-2HCl'in membranlar üzerine negatif etkisinin göstergesidir. Kan yoluyla dokuya ulaşan EDA-2HCl'in öncelikle glomerular damar sisteminde hasar meydana getirmiş, atrofi hatta glomerulus kaybı gibi sonuçlar doğurmuştur. EDA-2HCl'in büyük oranda idrar yoluyla vücut dışına atıldığı daha önceki çalışmalarla bildirilmiştir (Leung, 2000). Bu nedenle böbrek dokusunda meydana getirdiği bu hasarlar, genel anlamda böbreklerin filtrasyon fonksiyonunda bir gerileme olduğunu düşündürmektedir. Hermansky ve Ark., (1999), EDA-2HCl'in etkisi ile böbreklerde kronik nefropati meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yüksek doz gruplarındaki ölümlerin nedeninin, EDA-2HCl'in etkisi ile gelişen kronik nefropati olduğunu ifade etmişlerdir. Biz de çalışmamızda EDA-2HCl'in akut etkisi olarak, böbreklerde fonksiyon bozukluğuna işaret eden bulgular gözlemledik. NCI raporunda da EDA-2HCl'in etkisi ile böbreklerde tübüler epitelial hiperplazi meydana geldiği ifade edilmiştir (NCI, 1979). EDA etkisi ile böbreklerde, uterusta ve gözlerde histopatolojik lezyonların gözlendiği, bu lezyonların böbreklerde nekrozla birlikte tübüler epitelin dejenerasyonu ve rejenerasyonu ile karakteristik olduğu bildirilmiştir (Peters, 1982). Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) çerçevesinde yapılan uzun dönem (90 gün) gavaj çalışmasında, EDA'nın sıçanlarda 100-1600 mg/kg dozları, farelerde 25-400 mg/kg dozları denenmiştir. 200 mg/kg ve üzeri dozlarda böbrek tübüllerinde genişleme ve nekroz meydana geldiği bildirilmiştir. 100 mg/kg dozunda ise böbreklerde negatif bir etki gözlenmediği ifade edilmiştir (WHO, 1999). 12 günlük kısa dönem gavaj çalışmasında da benzer şekilde 100 mg/kg EDA dozunda böbrek hasarı gözlenirken, 50 mg/kg dozunda hasar meydana gelmediği bildirilmiştir (WHO, 1999). Bizim çalışmamızda ise korteks bölgesinde, tübülleri astarlayan epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde membran hasarı meydana geldiği (Şekil 3e ve 3f) tespit edilmiştir. Bu durum yine EDA-2HCl'in membranlara verdiği hasarın bir uzantısıdır. Epitel hasarına bağlı olarak hücrelerde nukleus ve sitoplazma kayıplarının olduğu, nukleusların ve sitoplazmik kalıntıların tübül lümenine atıldığı gözlenmiştir (Şekil 3e). Bu durum membran hasarı ile birlikte tübülün epitel bütünlüğünün bozulduğunu göstermektedir. Böbrek tübülleri, glomerular filtrat hacminin azaltıldığı, geri emilimin yapıldığı fonksiyonel birimlerdir. Vücudun su ve elektrolit dengesinin korunmasında geri emilimin önemi büyüktür. Bu nedenle tübül bütünlüğünün bozulması, böbreğin geri emilim fonksiyonunda da bir gerilemenin olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca tübülü astarlayan epitelial hücrelerin bazılarında hipertrofi, piknotik nukleus

(Şekil 3e ve 3f) ve sitoplazmik vakuolizasyon (Şekil 3f) gözlenmiştir. Membran hasarı ile birlikte bu bulgular da nekrotik değişimin göstergeleridir. Benzer şekilde karaciğerde olduğu gibi EDA-2HCl'in etkisi ile nukleus-sitoplazma ilişkisi bozulmuş, lizize bağlı olarak nekroz gelişmiştir.

Karaciğer ve böbrekte PAS boyama sonucunda bağ dokunun genel yapısının korunduğu ancak hepatositlerde ve tübül epitel hücrelerinde bazal membranda kalınlaşma meydana geldiği gözlendi (Şekil 4b ve 4d). Bu kalınlaşma EDA-2HCl'in etkisine karşı hücrelerin adaptif bir cevabı alarak kabul edilebilir.

Elde ettiğimiz mikroskobik bulgularla, EDA-2HCl'in 50 mg/kg/gün (i.m.) dozunun, sıçanlarda karaciğer ve böbrek dokularında akut nekrotik değişimler meydana getirdiğini tespit ettik. Bu nedenle yaygın bir kullanım alanına sahip olan EDA-2HCl'in toksik etki mekanizmasının daha ayrıntılı çalışmalarla araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Teşekkür

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje No: 795) tarafından desteklenmiştir. Çalışmada deney hayvanlarının takibi, deneyin sağlıklı şekilde yürütülmesi ve sonlandırılmasındaki katkılarından dolayı Veteriner Hekim Ziya ÇUKUR'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

BUDAVARI S, O'NEIL MJ, SMITH A, HECKELMAN PE, KINEARY JF. The Merck Index, 12th ed. p.646, Merck & Co, Whitehouse Station, NJ, 1996.

DEPASS LR, YANG RSH, WOODSIDE MD. Evaluation of the teratogenicity of ethylenediamine dihydrochloride in Fischer 344 rats by conventional and pair feeding studies. *Fundamental and Applied Toxicology*. 9: 687-697, 1987.

DUBININA ON, GALEEVA LR, TRUBNIKOVA LI, TKACHEVA SG. Experimental studies on possible correction of MPEL of ethylenediamine in the workplace air. *Meditsina Truda İ Promyshlennaia Ekologiia*. 1: 38-41, 1997.

HERMANSKY SJ, YANG RSH, GARMAN RH, LEUNG HW. Chronic toxicity and carcinogenicity studies of ethylenediamine dihydrochloride by dietary incorporation in Ficher 344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 37: 765-776, 1999.

LEUNG HW. Evaluation of the genotoxic potential of alkyleneamines. *Mutation Research*. 320: 31-43, 1994.

LEUNG HW. Pharmacokinetics and metabolism of ethylenediamine in the Swiss Webster mouse following oral or intravenous dosing. *Toxicology Lett*ers. 117: 107-114, 2000.

NCI (National Cancer Institute) Technical Report Series No 168. Bioassay of N- (1-Naphthyl) Ethylenediamine dihydrochloride for possible carcinogenicity, *Carcinogenesis*. 1-104, 1979.

NG TP, LEE HS, LEE FY, WANG YT, TAY VL, TAN KT. Occupational asthma due to ethylenediamine. *Ann Acad Med Singapore.* 20: 399-402, 1991.

PETERS A.C. Report on prechronic studies of ethylenediamine acute, repeated dose and subchronic in rats. Battele Contract NO1 CP 95653-02 to *National Toxicology Program*. 1982.

PRICE CJ, GEORGE JD, MARR MC, MYERS CB, HEINDEL JJ, SCHWETZ BA, Developmental toxicity evaluation of ethylenediamine (EDA) in New Zealand white (NZW) rabbits. *Teratology*. 47: 432- 437,1993.

SIDS (Screening Information Data Set) Initial Assessment Report Ethylenediamine Cas No: 107-15-3 *United States/ICCA* (Concise International Chemical Assessment Documents), 1-166, 2001.

SITTIG M. Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens, second ed. Noyes Publications, Park Ridge, NJ, pp. 420-421,1985.

SLESINSKI RS, GUZZIE PJ, HENGLER WC, WATANABE PG, WOODSIDE MD, YANG RSH. Assesment of genotoxic potential of ethylenediamine in vitro and in vivo studies. *Mutation Research*. 124: 299-314, 1983.

SU TC, LIN PH, CHIU MJ, CHU TS, CHANG MJ, WANG JD, CHENG TJ. Dimethylacetamide, ethylenediamine and diphenylmethanediisocyanate poisoning manifest as acute psychosis and pulmonary edema: treatment with hemoperfusion. *Journal of Toxicolog,. Clinical Toxicology*, 38: 429-33, 2000.

WHO (World Health Organization). 1,2-Diaminoethane (Ethylenediamine). *Concise International Chemical Assessment Document*. 15: 1-34, 1999.

YANG RSH, TALLANT MJ. Metabolism and pharmacokinetics of ethylenediamine in the rat following oral, endotracheal or intravenous administration. *Fundamental and Applied Toxicology*. 2: 252-260, 1982.

YANG RSH, GARMAN RH. MARONPOT RR, MCKELVEY JA, WEIL CS, WOODSIDE MD. Acute and subchronic toxicity of ethylenediamine in laboratory animals. *Fundamental and Applied Toxicology*. 3: 512-520, 1983.

YANG RSH, GARMAN RH, WEAVER EV, WOODSIDE MD. Two generation reproduction study of ethylenediamine in Fischer 344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*. 4: 539-546, 1984.