



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİSPHENOL A'NIN RAT SİNDİRİM KANALINDAKİ MAST
HÜCRELERİNİN DAĞILIMI VE HETEROJENİTESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Veteriner Hekim Halil Cumhur YILMAZ
TIP HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mecit YÖRÜK

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİSPHENOL A'NIN RAT SİNDİRİM KANALINDAKİ MAST
HÜCRELERİNİN DAĞILIMI VE HETEROJENİTESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Veteriner Hekim Halil Cumhur YILMAZ
TIP HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mecit YÖRÜK

VAN-2021

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TDK-2019-8358 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY



ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Bisphenol A'nın Rat Sindirim Kanalındaki Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi Üzerine Etkileri*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Halil Cumhur YILMAZ

Tarih: 27/07/2021

İmza:

TEŞEKKÜR

Akademik hayatıma başladığım günden beri anabilim dalı başkanım ve danışmanım olan değerli hocam Prof. Dr. Mecit YÖRÜK' e hayatın içinde ve doktora eğitimimde olan maddi ve manevi bütün desteklerinden dolayı en içten duygularıyla şükranlarımı sunuyorum. Doktora eğitimimin çeşitli aşamalarında bana yaptıkları katkılardan dolayı hocalarım Prof. Dr. Hüseyin KARADAĞ, Prof. Dr. Nihat MERT, Prof. Dr. Zabit YENER, Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ, Prof. Dr. Sıddık KESKİN ve Doç. Dr. Neşe ÇÖLÇİMEN' e de teşekkür ederim. Tez çalışmama maddi katkılarından dolayı Van YYU Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)' a da teşekkür ederim.

Annem, babam ve canım eşime ithaf ettiğim bu tez çalışmasının her aşamasında bana olan destek ve inançlarından dolayı onlara da kalben teşekkür ederim.

ÖZET

Yılmaz HC, Bisphenol A'nın Rat Sindirim Kanalındaki Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi üzerine Etkileri, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2021. Bisphenol A (BPA) dünya genelinde plastik ürünlerinde çok yaygın olarak kullanılan kimyasal bir bileşendir. Bu çalışmanın amacı insanların gündelik hayatlarında oldukça sık olarak maruz kaldığı BPA'nın mast hücrelerinin heterojenite ve dağılımı üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Çalışma için 24 adet erkek Wistar Albino sıçan (rat) 4 gruba (Kontrol, Sham, 25mg/kg ve 50 mg/kg) ayrıldı. Bu grupların hepsine günlük standart diyet uygulanırken sham grubuna mısır yağı, diğer iki gruba ise (25mg/kg ve 50mg/kg) mısır yağı içerisinde çözündürülmüş olarak BPA 30 gün süre ile gavaj yoluyla verildi. İnhalasyon anestezik ile uyutulan deney hayvanlarından alınan sindirim kanalı doku örnekleri Basic Lead Acetate (BLA) ve Carnoy tespit solüsyonları kullanılarak tespit edildi. Ardından rutin doku takibi yapılarak paraplast ile bloklandılar. Bloklardan alınan 5-7 µm kalınlığındaki kesitler toluidine blue (TB) ve alcian blue-safranin O 8GX (AB/SO) kombine boyaları kullanılarak boyandı. TB ile boyanan kesitlerde mast hücrelerinin sayımı ve istatistiksel analizleri yapıldı. Analiz sonuçlarına göre BLA tespit solüsyonunda daha fazla sayıda mast hücresi gözlemlenirken, BPA uygulanan gruplarda mast hücre sayılarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. AB-SO 8GX kombine boyama sonuçlarında ise sindirim kanalının incelenen neredeyse her kesitinde AB (+), S (+) ve mix (+) mast hücrelerine rastlandı. Ancak S (+) ve mix (+) Mast hücrelerinin sayıları genel olarak bakıldığında AB (+) mast hücrelerine oranla oldukça düşüktü. Yine bu boyama metodu neticesinde BPA uygulanan gruplar da dahil olmak üzere yapılan semikantitatif değerlendirmelerde bir fark tespit edilemedi. Sonuç olarak BPA'nın mast hücrelerinin heterojenitesine bir etkisi istatistiksel olarak tespit edilemese de dağılımlarına etkisi olduğu gözlemlendi. Bundan dolayı daha ileri çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bisphenol A(BPA), Heterojenite, Mast hücresi, Sindirim kanalı

ABSTRACT

Yilmaz HC, The Effects of Bisphenol A on the Distribution and Heterogeneity of Mast Cells in Rat Digestive Tract, University of Van Yuzuncu Yil, Institute of Health Science, Medical Faculty, Departman of Histology and Embryology, Ph.D Thesis, Van, 2021. Bisphenol A is a chemical component used in plastic products around the world. The aim of this study is to examine the effects of this chemical compounds to which humans are frequently exposed in everyday life, on the heterogeneity and distribution of mast cells. For the study, 24 male Wistar albino rats were divided into 4 groups (control, sham, 25 mg / kg and 50 mg / kg BPA treated). While all of these groups were on a standard daily diet, corn oil was given to the sham group, and BPA (25 mg / kg and 50 mg / kg) dissolved in corn oil was administered to two other groups by gavage for 30 days. Gastrointestinal tissue samples taken from animals anesthetized with inhalation anesthesia were fixed using BLA and Carnoy fixation. Then, following routine tissue follow-up, they were blocked with Paraplast. Sections (5-7 µm) taken from the blocks were stained using toluidine blue and Alcian-safranin blue O8GX combined dyes. Counting and statistical analysis of the mast cells in the TB-stained sections were performed. According to the results of the analysis, a higher number of mast cells was observed in the BLA fixation solution, while the increase in the number of mast cells was statistically significant in the groups treated with BPA. In the combined AB-SO 8GX staining results, AB (+), S (+) and Mix (+) mastocytes were found in almost all sections of the digestive tract. However, the number of S (+) and Mix (+) mast cells was generally low compared to AB (+) mast cells. As a result of this staining process, again, no difference was found in the semi-quantitative evaluations performed including the groups treated with BPA. Although BPA does not affect the heterogeneity of mast cells, it does affect their distribution. Therefore, It is assumed that further studies will need to be carried out.

Key Words: Bisphenol A(BPA), Digestive tract, Heterogeneity, Mast cell

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Etik Beyan	III
Teşekkür	IV
Özet	V
Abstract	VI
İçindekiler	VII
Simgeler ve Kısaltmalar	IX
Şekiller Listesi	X
Tablolar Listesi	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mast Hücreleri	3
2.1.1. Mast Hücrelerinin Mikroskopik yapısı	4
2.1.2. Mast Hücrelerinin Kökeni	5
2.1.3. Mast Hücrelerinin Önemi ve Granül İçerikleri	6
2.1.4. Mast Hücrelerinin Sınıflandırılması	8
2.1.5. Mast Hücrelerinin Tespit ve Boyanma Özellikleri	10
2.2. Bisphenol A	12
2.2.1. Maruz Kalma, Emilim ve Riskleri	12
2.2.2. Çevresel Östrojen BPA ve Sağlık Üzerine Etkileri	14
2.3. Şıcanların (Rat) Sindirim Kanalının Histolojik Yapısı	17
2.3.1. Özefagus (Yemek Borusu)	17
2.3.2. Ventriculus (Mide)	18
2.3.3. İnce Bağırsak Bölümü	19
2.3.4. Kalın Bağırsak Bölümü	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Hayvan Temini ve Maruziyet Çalışması	21
3.2. Işık Mikroskopik İnceleme	22
3.3. Hücre Sayımları ve İstatistiksel Analizler	22
4. BULGULAR	24
4.1. Misroskopik Bulgular	24

4.1.1. Özefagus (Yemek Borusu)	31
4.1.2. Ventriculus (Mide)	31
4.1.3. İnce Bağırsak Bölümü	31
4.1.4. Kalın Bağırsak Bölümü	32
4.2. İstatistiksel Analizler	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61
EKLER	62
Ek 1. Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Başvuru Onay Belgesi.....	62
Ek 2. Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kesin Sonuç Onay Belgesi.....	63
Ek 3. Tez Orijinallik Raporu.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

AB-SO	: Alcian Blue-Safranin O
BLA	: Basic Lead Acetate
BMMC	: Bone Marrow Derived Mast Cell
BPA	: Bisphenol A
CTMC	: Connective Tissue Mast Cell
E2	: Östradiol 2
EDC	: Endocrine Disrupting Chemical
EFK	: Eozinofil Kemotaktik Faktör
ER α-β	: Östrojen Reseptörü α - β
GI	: Gastrointestinal
Ig E-M-G	: İmmunoglobulin E-M-G
MCC	: Mast Cell Chymase
MCT	: Mast Cell Triptase
MCTC	: Mast Cell Triptase-Chymase
MMC	: Mucosal Mast Cell
NFK	: Nötrofil Kemotaktik Faktör
SCF	: Stem Cell Factor
TB	: Toluidine Blue

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	İleum mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	25
Şekil 2.	İleum mast hücreleri. Carnoy, Toluidine blue.....	25
Şekil 3.	Jejunum metakromazi gösteren mast hücreleri. BLA, toluidine blue.....	26
Şekil 4.	Duedonum metakromazi gösteren mast hücreleri. Carnoy, toluidine blue.....	26
Şekil 5.	Duedonum AB (+) mast hücreleri. BLA, Alcian Blue safranin o.....	27
Şekil 6.	Jejunum AB (+) mast hücreleri. Carnoy, Alcian blue safranin o.....	27
Şekil 7.	Özefagus S (+) mast hücreleri. BLA, Alcian blue safranin o.....	28
Şekil 8.	Sekum S (+) mast hücresi. Carnoy, Alcian blue safranin o.....	28
Şekil 9.	Sekum AB (+) ve Mix (+) mast hücreleri. BLA, Alcian blue safranin o.....	29
Şekil 10.	Mide Mix (+) mast hücresi. BLA, Alcian blue safranin o.....	29
Şekil 11.	Sekum L.propiya mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	30
Şekil 12.	Jejunum L.propiya mast hücreleri. Carnoy, Toluidine blue.....	30
Şekil 13.	Özefagus submukoza mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	33
Şekil 14.	Mide L.proriya S (+) mast hücreleri. Carnoy, Alcian blue safranin o.....	33
Şekil 15.	Jejunum L.propiya mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	34
Şekil 16.	Duedonum L.propiya mast hücreleri. Carnoy, Alcian blue safranin o.....	34
Şekil 17.	Duedonum L.propiya mast hücreleri. BLA, Alcian blue safranin o.....	35
Şekil 18.	Sekum L.propiya mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	35
Şekil 19.	Kolon L.propiya mast hücreleri. BLA, Toluidine blue.....	36

Şekil 20.	Sekum L.propiya ve submukoza AB (+), S (+) ve Mix (+) mast hücreleri. Carnoy, Alcian blue safranin o.....	36
Şekil 21.	Kolon Submukoza mast hücreleri. Carnoy, Toluidine blue.....	37
Şekil 22.	Kolon submukoza mast hücresi. BLA, Toluidine blue.....	37
Şekil 23.	Tespit solüsyonlarına göre ortalama mast hücresi sayıları.....	41
Şekil 24.	BLA tespitinde organlara göre mast hücrelerinin ortalama Sayıları.....	42
Şekil 25.	Carnoy tespitinde organlara göre mast hücrelerinin ortalama Sayıları.....	43
Şekil 26.	BLA ve Carnoy tespit solüsyonlarında Mast hücrelerinin deney gruplarındaki ortalama sayıları.....	44

TABLÖLAR

Tablo 1.	Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	39
Tablo 2.	Mast hücrelerinin AB-SO boyamasındaki semikantitatif değerlendirme sonuçları.....	40



1. GİRİŞ

Bisphenol A (BPA) dünya genelinde oldukça geniş bir üretim ağında kullanılan, geniş kullanım alanları olduğu kadar zararlı olduğu düşünülen bir kimyasaldır. Plastik üretiminde çokça tercih edilen bu kimyasal madde östrojen reseptörlerine bağlanarak canlı vücudunun hormonal metabolizmasını etkilemesinden dolayı Endokrin Bozucu Kimyasallardan (EDC) biri olarak sınıflandırılmaktadır. Bilinen etkileri sadece bununla kalmayıp hastalık oluşturma, var olan hastalıkların ilerlemesine neden olma, doku ve organ hasarlarına neden olma, gelişim bozukluklarına sebebiyet verme, immun sistemi doğrudan etkileme gibi birçok sağlık sorunu da oluşturduğu bilinmektedir.

Günümüz dünyasında yiyecek ve içecek kaplarının ucuz olmasından dolayı plastik maddelerden yapılması da BPA' nın yayılımını oldukça arttırmaktadır. Söz konusu kaplardan normal oda koşullarında bile yiyecek ve içeceklere sızabilmesi de bir başka endişe kaynağıdır. Çünkü bu sayede kolayca canlı metabolizmasına erişmiş olur. Bu aşamadan sonra bahsi geçen zararlı etkileri ve daha fazlasını oluşturması da mümkün olmaktadır.

Her yıl tonlarca plastik maddenin üretiminde kullanılan BPA sadece insanları ve karada yaşayan hayvanları değil deniz canlılarını ve bitkileri de oldukça fazla etkilemektedir. Yiyecek ve içecek kaplarında sıkça kullanılması BPA' nın vücuda alınmasında ana rotanın sindirim kanalı olmasına sebebiyet verir. Ancak bu kimyasalın inhalasyon ya da temas yoluyla vücuda alınabileceği de unutulmamalıdır.

Canlılarda sindirim kanalı dış ortama açık olmasından dolayı etkenlerin vücuda kolayca girebilmesine sebep olmaktadır. Ancak sindirim kanalının anatomik ve histolojik özellikleri bu etkenleri etkisiz hale getirebilmek için özelleşmiş bir yapıya da sahiptir. Ağız ile başlayıp anüs ile sonlanan boru şeklindeki bu kanal ürettiği enzimler ve özelleşmiş yapıdaki hücreleri ile oldukça güçlü savunma mekanizmaları oluşturur. Yine immun sistem de sindirim yoluyla vücuda giren etkenlere karşı oldukça önemlidir. Bu sistemi oluşturan hücrelerden biri de mast hücreleridir. Mast hücreleri içerdikleri granüller ve vücuttaki hemen hemen her dokuda bulunmalarından dolayı dış etkenlere

karşı oldukça önemli görevleri olan hücrelerdir. Genel olarak alerji ve yangı olaylarındaki fonksiyonları ile bilinen mast hücreleri birçok farklı görevi de yerine getirebilmektedirler. Oldukça zengin içeriğe sahip granüllerinde Histamin, Heparin, Lökotrienler, Prostaglandin, Triptaz, Kimaz gibi birçok mediatör bulunur. Tüm bunların yanında fagositoz yapabilmeleri ve diğer immun sistem hücrelerini uyarabilmeleri de dış etkenlere karşı mücadelede önemlidir. Oldukça özelleşmiş olan mast hücreleri iri olmaları, boyanma ve tespit özellikleri, metakromazi göstermeleri, farklı çeşitlerinin bulunması gibi özellikleriyle de diğer hücrelerden ayrılırlar.

Yapılan literatür taramalarında BPA' nın sindirim kanalına ve mast hücreleri üzerine etkileri bakımından oldukça sınırlı bilgiye ulaşılmıştır. Yapılan bu çalışmada BPA' nın sindirim kanalındaki mast hücrelerinin heterojenite ve dağılımı ışık mikroskopik ve istatistiksel bulgular ile ortaya konmaya çalışılmıştır. BPA'nın sindirim kanalı, immun sistem ve özellikle mast hücreleri üzerine etkileri anlamında ileride yapılabilecek bilimsel çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Mast Hücreleri

Mast hücreleri 170 yıl önce tanımlanmış olsa da vücuttaki fizyolojik rolleri bir sır olarak kalmıştır. Muhtemelen antik çağlardan beri koruyucu mekanizmaların bir parçası olan bu hücrelerin aslında orijinal fonksiyonları parazitlere, bakterilere karşı bir savunma ya da genel bir inflamasyonun indükleyicisi olmalarıdır. Zaman içerisinde ise doku onarımı ve yaralanma sonrası yeniden şekillenme, anjiyogenez ve diğer biyolojik işlevleri yerine getirebilen karmaşık bir hücre şekline doğru farklılaşmış oldukları düşünülmektedir (Ribatti, 2019).

Mast hücreleri bağışıklık sisteminin önemli efektör hücrelerinden biridir. Son çalışmalar hem sağlık hem de hastalık durumlarında immunomodülatör rollere sahip olduklarını göstermektedir (Wernersson ve Pejler, 2014). Mast hücreleri memeli ve memeli olmayan omurgalılarda hemen hemen tüm vaskülarize dokularda mevcuttur. Mast hücreleri ile ilgili ilk araştırma 1863 yılında kurbağaların mezenterinde granüler hücreleri fark eden Von Recklinghausen tarafından yapılmıştır. Bu keşif kesin olarak herhangi bir türdeki mast hücrelerinin ilk gözlemidir (Ribatti, 2018). 1878 yılında ise Dr. Paul Ehrlich tarafından iri-besili hücreler anlamında ‘Mastzellen’ olarak isimlendirilmişlerdir (Welle, 1997). 1876 yılında Ackroyd’un metakromatik terimini ilk kez kullanmasının ardından ise 1879 yılında yine Dr.Paul Ehrlich bazofilik metakromatik granülleri gözlemleyerek 2 tip mast hücrelerini tanımlamıştır (Ribatti, 2018). Erlich’in çalışmalarından sonra William B. Hardy iki tip granüler bazofil hücreyi 1985’te “iri granüllü bazofil hücreler” ve “splanchnic bazofil hücreler” olarak isimlendirmiştir. Bu hücreler yıllar sonra Enerback’in tanımladığı sırasıyla bağ dokusu tipi ve mukozal tip mast hücrelerinin alt gruplarına karşılık geldiği anlaşılmaktadır. (Ribatti, 2019).

Yıllar içerisinde tespit ve boyanma özellikleri (Enerback, 1966a, 1966b), kökenleri (Kitamura ve ark., 1977) gibi araştırmalar yapılarak mast hücreleri hakkındaki bilgi birikimi oldukça genişletilmiştir. Günümüzde Mast hücresi ile ilgili olarak

bilinenler Von Reclinghausen ve Paul Erlich'in gözlemlediklerinin çok ötesine ulaşmıştır.

2.1.1 Mast Hücrelerinin Mikroskopik Yapısı

Mast hücreleri belirgin sitoplazmik granüller içeren doku hücreleridir. Alerjik reaksiyonlarda önemli bir role sahiptirler. Doğuştan ve edinsel bağışıklık, yara iyileşmesi, fibrozis, tümörler ve otoimmün hastalıklar gibi patofizyolojik durumlarda da yer alırlar (Puxeddu ve ark., 2003).

Mast hücrelerinin büyüklükleri bulundukları dokuya göre değişebilir ve genellikle yuvarlak veya oval şekilli olan bu hücreler iğ şeklinde de olabilirler (Ertuğrul ve ark., 2018). Oldukça büyük polimorfik, yuvarlak veya oval bir çekirdeğe sahiptirler (Ertuğrul ve Kurtdede, 2017). Sitoplazmalarında 50-200 adet büyük granül bulunur (Krystel-Whittemore ve ark., 2016). Hücre merkezine yerleşen çekirdekleri iridir ve mikroskobik görünümüleri bazofilik karakterli granüller ile örtülmüş şekilde olabilir (Ergün, 2016; Ertuğrul ve Kurtdede, 2017). Bu granüller 0.3-0.5 µm çapında ünit membranlar ile sarılmışlardır (Uslu ve Yörük, 2008).

Yaklaşık 20-30 µm çapındaki bu hücrelerin hücre yüzeylerinde mikrovillus ve kıvrımlar elektron mikroskop incelemelerinde görülebilir. Sitoplazmalarında az miktarda granülsüz endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar ve iyi gelişmiş golgi aygıtı bulunur (Ergün, 2016; Uslu ve Yörük, 2008). Ribozomlarda sitoplazmalarında yaygın olarak bulunur diğer organelleri ise iyi gelişmemiştir (Tung, 1991; Uslu ve Yörük, 2008).

Mast hücreleri uzun ömürlü, aylarca hatta yıllarca hayatta kalabilen hücrelerdir. Kökenlerinden itibaren farklılaşmalar geçirmelerine rağmen uygun sinyallere yanıt olarak çoğalabilirler (Abraham ve St. John, 2010).

Genel olarak mast hücreleri vücudun dış ortamla ilişkide olduğu deri, solunum ve sindirim sistemleri gibi antijenlerin vücuda girebileceği yerlerde yoğunlaşmışlardır

(Ertuğrul ve ark., 2017). Bu durum mast hücrelerinin yabancı madde girişine karşı vücudun önlem almasına yardımcı olan ilk hücrelerden biri olmasından ileri gelmektedir (Welle, 1997). Mast hücrelerinin hedef yerlerine göç edebilmeleri için integrinler, adezyon molekülleri, kemokinler, sitokinler ve büyüme faktörlerinin koordineli etkileri gereklidir (Krystel-Whittemore ve ark., 2016).

Bulundukları organlar özellikle akciğer, deri, barsak, nazal mukoza, uterus, tuba uterina, meme paransimi ve midedir (Uslu ve Yörük, 2008). Daha çok bağ dokusundaki küçük çaplı kan damarları ve sinirlerin yakınlarında gruplaşan bu hücreler için merkezi sinir sisteminde bulunmamaları ise önemli bir istisnadır (Ergün, 2016; Uslu ve Yörük, 2008).

Merkezi sinir sistemini saran zarlarda bu hücrelerin bulunmasına karşın sistemi oluşturan organların içine giren küçük çaplı kan damarları çevresinde bulunmaması mast hücrelerinden kaynaklı alerjik reaksiyonların, dolayısıyla ödemin önüne geçilerek bu organlarda yıkıcı etkiler yaratmasından kaçınmak olarak açıklanmaktadır (Ergün, 2016)

Mast hücreleri hemen hemen tüm vaskülarize dokularda, memeli ve memeli olmayan omurgalılarda bulunur. Vücuttaki sayıları çok fazladır. Öyle ki bir vücuttaki mast hücreleri birlikte gruplandırılmış olsalardı dalak büyüklüğünde bir organı oluşturabilecekleri tahmin edilmektedir (Ribatti, 2018).

2.1.2 Mast hücrelerinin kökeni

Mast hücrelerinin kökeni uzun süre tartışma konusu olarak kalmıştır. Öncülerinin lenfositler, multipotent progenitör hücreler ve miyeloid hücreler olduğu öngörülmüştür (da Silva ve ark., 2014). Morfolojik ve fizyolojik benzerlikleri nedeniyle bazofiller de öncü hücreler olarak düşünülse de mast hücrelerinin hematopoetik kökenli diğer hücrelerin aksine kan dolaşımında değil yerleştikleri organlarda olgunlaşmalarını tamamladıkları bilinmektedir (Barrett ve Metcalfe, 1984; da Silva ve ark., 2014).

Hematopoetik kökenlerine dair ilk bulgular 1977 yılında Kitamura ve ark. tarafından fareler üzerinde yapılan deneyler ile öne sürüldü. Bu çalışma da bej (C57BL) farelerden alınan kemik iliği vahşi tip (C57B1) farelere nakledildiğinde farelerin dokularında bej fare kemik iliğinden gelen anormal büyüklükte granüllere sahip doku mast hücreleri ortaya çıktı (Kitamura ve ark, 1977). Bu bulgular mast hücre popülasyonu eksik farelerde vahşi tip farelerden kemik iliği ile yeniden oluşturulabildiğinin de güçlendirilmiş oldu (Kitamura ve ark, 1978). İnsan mast hücrelerinin hematopoetik kökeni ise lösemik bir hastanın kemik iliği transplantasyonundan 198 gün sonra donörün kemik iliğinden izole edilen mast hücrelerinin genotipini göstermesi ile doğrulandı (da Silva ve ark., 2014).

Kemik iliğindeki öncü hücrelerinden granülsüz olarak kan dolaşımına geçen mast hücreleri oradan bağ dokusuna göç ederek burada kök hücre faktörü (Stem Cell Faktör-SCF) ve interlökin (IL-3) etkisiyle farklılaşarak karakteristik yapıları olan granüllü hücrelere dönüşürler (Ertuğrul ve ark., 2017).

2.1.3 Mast Hücrelerinin Önemi ve Granül İçerikleri

Mast hücre granülleri temel olarak önceden hücre içerisinde sentezlenip depolanan ve uyarımdan sonra sentezlenen olmak üzere 2 gruba ayrılır (Ertuğrul ve ark., 2017). Mast hücrelerinin immünolojik aktivitesi ise bu maddelerin serbest bırakılması ile açıklanır (Welle, 1997). Bu serbest bırakılma yani aktivasyon güneş ışığı gibi fizyolojik faktörler, sitokinler gibi immünolojik faktörler veya nöropeptitler gibi nörolojik faktörlerin etkisi ile olabilmektedir. Ayrıca sıcaklık değişiklikleri ile de aktive olabilecekleri bildirilmektedir (Ertuğrul ve ark., 2018). Mast hücrelerinin fizyolojik ve patofizyolojik olaylara ve özellikle de infeksiyöz ajanlara karşı savunmaya katıldıklarına dair çok sayıda kanıt vardır (Malaviya ve Abraham, 2001; Marshall, 2004; Moon ve ark., 2010).

Yüzeylerinde plazma hücrelerinin salgıladığı IgE adı verilen antikorların bağlanabilmesi için özel reseptörler (Fc) bulunur (Ergün, 2016). IgE antikorları plazma hücreleri tarafından CD4+Th2 hücrelerine yanıt olarak üretilir. Plazma hücreleri IgM ve

IgG antikorlarını üretirken IL-4 gibi sitokinler ile etkileştiklerinde IgE antikorlarını üretmeye başlarlar. IgE'ler çoğunlukla mast hücrelerindeki Fc reseptörlerine bağlı olarak bulunur. Çok az bir kısmı kan dolaşımında serbest haldedir. Bir antijen mast hücresiyle temas ettiğinde iki veya daha fazla Fc reseptörüne bağlı olan IgE'yi çapraz bağlar ve bu sayede mast hücre granüllerinin salınımı aktive edilmiş olur. IgE için Fc reseptörü IgG'den 100 kat daha büyük bir affiniteye sahiptir. Bu nedenle IgE mevcut antijen olmadığında bile mast hücresindeki Fc reseptörüne bağlı olarak bulunur. Sonuç olarak bu durum mast hücresinin bir antijene tepkisini çok hızlı hale getirir (Krystel-Whittemore ve ark., 2016).

Mast hücre granüllerinin sekresyonu aşırı duyarlılık, alerji ve anafilaksiye yol açabilir (Ergün, 2016). Söz konusu granüller içerisinde önceden üretilip depolanan maddeler arasında biyolojik aminler, histamin ve serotonin, proteoglikanlar, heparin, kondroitin sülfat E, hidrolazlar, oksidatif enzimler, kemotaktik faktörler (Eozinofil kemotaktik faktör-EFK, Nötrofil kemotaktik faktör-NFK), proteinazlar, kimaz, triptaz, karboksipeptidaz ve katepsin G bulunur. Mast hücrelerinin aktive edilmesi ile sentezlenen mediatörler arasında ise prostoglandin D2(PGD2), lökotrien C4(LTC4), trombosit aktive edici faktör ve daha az ölçüde lökotrien B4 (LTB4) bulunmaktadır (Welle, 1997).

Kemirgen mast hücrelerinin bazı sitokinler (bunlara IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 dahildir), interferon- γ (IFN- γ), dönüşüm büyüme faktörü-a (TGF-a), tümör nekroz faktörü-a(TNF-a), makrofaj inflamatuvar protein 1(MIP-1), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ürettiği de gösterilmiştir. İnsan mast hücrelerinin de TNF-a, IL-4, IL-5, IL-6 üretilip aynı zamanda depoladığı bildirilmiştir (Welle, 1997).

Mast hücrelerinin vücuda giren ajanlara karşı savunma mekanizmaları taşıdıkları bu granüllerden ibaret değildir. Ayrıca fagositoz yapan diğer hücrelerden az olmakla birlikte fagositoz aktivitelerinin bulunduğu, fagositozla bakteri öldürebildikleri ve aynı zamanda antijenleri işleyerek diğer savunma hücrelerine sundukları da bilinmektedir (Ertugrul ve ark., 2018).

Gastrointestinal sistem vücuttaki en büyük mast hücresi popülasyonunu barındırır. Bu oldukça özelleşmiş hücre tipi, fenotipini ve fonksiyonunu, içinde bulunduğu gastrointestinal ortama adapte edebilmektedir. Mast hücreleri, yüzeylerinde bulundukları reseptörlerin çeşitliliği sayesinde dış ve iç uyaranlara tepki verirler. Yine bu hücreler ürettikleri farklı kimyasal araçlar vasıtasıyla efektör ve düzenleyici görevler yürütürler. Mast hücreleri, epitel fonksiyonunu ve bütünlüğünü hem doğuştan gelen hem de adaptif mukozal bağışıklığı düzenledikleri ve bağırsağın işleyişinin anahtarı olan nöroimmün etkileşimleri sürdürdükleri için bağırsak bariyerinin temel unsurlarıdır. Lümen antijenlerinin mukozaya artan geçişiyle bağırsak bariyeri bozulur, bu da mukozal mast hücre aktivasyonunu, inflamatuvar yanıtları ve mast hücresi-enterik sinir etkileşimini daha da kolaylaştırır (Albert-Bayo ve ark., 2019).

Mast hücreleri bağırsak homeostazının en önemli düzenleyicileri arasındadır ve işlevleri patojenlerin temizlenmesinden bağırsak epitel yapısının korunmasına kadar çok çeşitli stratejik yönleri kapsar. Bağırsak mukozal mast hücrelerinin büyük çoğunluğu sinirlerle doğrudan temas halindedir ve bu temas bağırsağın fizyolojik ve patolojik yanıtını kontrol eden entegre nöroimmün ağı temsil eder (Frossi ve ark., 2018).

2.1.4 Mast Hücrelerinin Sınıflandırılması

Mast hücreleri orijinleri, yerleşim yerleri, kullanılan tespit solüsyonlarına verilen cevap, taşıdığı glikozaminoglikanların türü, intragranüler serin proteazlarının türü, histokimyasal farklılıklar, fonksiyonel kriterler ve hücrelerin morfolojik özellikleri gibi unsurlar göz önüne alındığında bağ doku mast hücresi (Connective Tissue Mast Cell-CTMC) ve mukozal mast hücresi (Mucosal Mast Cell-MMC) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Ertugrul ve ark., 2018; Enerback (1966a) mukozalardaki küçük ve az granül içerenleri mukozal mast hücresi ya da atipik olarak, diğer yandan daha iri olanları ise tipik ya da bağ doku mast hücresi olarak isimlendirmiştir (Karaca ve Yörük, 2005).

Mast hücrelerinin iki grubunun histamin ve lipid mediatörleri salgılama yetenekleri farklılık gösterir. Aktive olunca mukozal mast hücreleri az miktarda

histamin ve çok miktarda sisteinil lökotrienleri serbest bırakırken, bağ doku mast hücreleri çok miktarda histamin ve prostaglandin D2'yi serbest bırakırlar (da Silva ve ark., 2014).

Büyüme faktörleri ve sitokinler mast hücre gelişimini ve olgunlaşmasını etkiler ve sonuç olarak mast hücre fenotiplerine katkıda bulunurlar. Bu nedenle mast hücrelerinin olgun fenotipini mikro ortamların belirlediği düşünülmektedir (da Silva ve ark., 2014). Bunun yanı sıra mast hücre alt gruplarının fenotipte mukozal mast hücrelerinden bağdoku mast hücrelerine veya bağ doku mast hücrelerinden mukozal mast hücrelerine mikro ortam içerisindeki faktörlerin etkisiyle dönüşebileceği de gösterilmiştir (Welle, 1997).

İnsanlarda kemirgenlere benzer şekilde farklı proteaz içeriklerine göre iki ana mast hücre grubu belirlenmiştir. Biri kemirgenlerin mukozal mast hücrelerinin karşılığı olarak sadece triptaz içeren (Mast Cell Triptaz-MCT) diğeri ise bağ dokularında bulunanların karşılığı olarak triptaz, kimaz, katepsin G ve karboksipeptidaz içeren (Mast Cell Triptaz,Chymase- MCTC) mast hücre grubudur (Puxeddu ve ark., 2003). Bununla birlikte, günümüzde her iki mast hücre alt tipinin değişken miktarlarının herhangi bir doku içerisinde mevcut olabileceği de bilinmektedir (Church ve Levischaffer, 1997).

İnsanlardaki mast hücrelerinin sınıflandırılmasında üçüncü bir tip daha bulunur. Bu mast hücreleri granüllerinde sadece kimaz taşırlar ve kimaz mast hücreleri (Mast Cell Chymase- MCC) olarak isimlendirilirler (Puxeddu ve ark., 2003; Ergün, 2016).

Bir diğer sınıflandırma ise konakçı savunmada birincil rolü olan 'bağışıklık sistemi ile ilgili' mast hücreleri ve immünolojik koruma yerine anjiyogenez ve doku yeniden şekillendirilmesinde işlev gören 'bağışıklık sistemi ile ilgisi olmayan' mast hücreleri olarak yapılmaktadır. Bununla birlikte her iki tipinde Fc reseptörüne sahip olduğu ve bu nedenle IgE'ye bağlı reaksiyonlarda tam olarak katılabileceği de unutulmamalıdır (Church ve Levischaffer, 1997).

2.1.5. Mast Hücrelerinin Tespit ve Boyanma Özellikleri

Mast hücreleri eğer özel tespit solüsyonları kullanılmazsa doku kesitlerinde granüllerini koruyamayıp eridiklerinden tanınamazlar (Ergün, 2016). Örneğin formaldehitin %10'lük solüsyonu ile tespitinden sonra intestinal mast hücreleri hiçbir boyama yöntemiyle boyanamamaktadır (Karaca ve Yörük, 2005).

Formol içeren tespit solüsyonları mukozal mast hücrelerinin belirlenmesinde olumsuz etki etmektedir. Fakat bağ dokusu mast hücreleri formol içeren tespit solüsyonları ile de tespit edilebilmektedir (Uslu ve Yörük, 2013).

Bağ dokusu mast hücreleri %10 nötr tamponlu formalin ile de fiksasyondan sonra boyanırken mukozal mast hücreleri sadece carnoy (Etanol+kloroform+asetik asit) gibi aldehit olmayan fiksatifler kullanılarak tespit edilmeleri halinde boyanabilirler (Tikoo ve ark., 2018). Tespit solüsyonları boyamadan sonra belirlenen mast hücrelerinin sayısı üzerine kritik bir etki gösterir. Örneğin insan jejunumunun biyopsi örneklerinde Astra-blue/safranin ile boyanan örneklerin formol salin fiksatifindeki ortalama mukozal mast hücre sayısı 40 iken Carnoy ile tespit edilen numunelerde bu sayının 268 olduğu gösterilmiştir (Strobel ve ark., 1981).

Carnoy ve BLA (Basic Lead Acetate)'nın herhangi bir ışık mikroskopik çalışma için mast hücrelerinin tespit edilmesinde kullanılması önerilmektedir. Carnoy ve BLA tespitli dokularda mast hücreleri son derece iyi korunmuş ve boyamalarda tespit edilmiştir (Strobel ve ark., 1981).

Metakromatik boyama mast hücrelerinin saptanmasında önemli bir yere sahiptir. En sık kullanılan metakromatik boyamalardan biri mast hücre granüllerini mordan-kırmızıya boyayan toluidine mavisidir (Ribatti, 2018; Rağbetli, 1989).

Metakromazi hücrelerin boyandıkları boyanın renginden farklı bir renkte görünmesidir (Ergün, 2016). Metakromazi boya moleküllerinin polimerizasyonunu indükleyen doku polyanyonlarının varlığına bağlıdır. Bu polimerizasyonu indüklemek

için negatif yüklü gruplar arasında yaklaşık 0,5 nm'lik bir mesafenin gerekli olduğu gösterilmiştir. İşlem boyanın absorpsiyon spektrumunda daha kısa dalga boylarına bir kayma gösterir. Bu da boyanın maviden mor, kırmızı veya turuncuya doğru renk değişikliğine sebep olur (Ribatti, 2018). Mast hücreleri de granüllerinde glikozaminoglikanlar içerdiği için toluidine mavisi, metilen mavisi, tionin vb. bazik boyalarla boyandıklarında metakromazi gösterirler (Karaca ve Yörük, 2005).

Uzun yıllardır mast hücreleri dokularda tanımlanmasına ve morfolojileri ile hücre içi yapılarının değerlendirilmesine izin veren boyalarla incelenmektedir. Dokulardaki mast hücreleri hematoksilin&eoizin (H&E), giemsa, leder, toluidine mavisi, grünwald ya da kimaz-triptaz antikorları kullanılarak yapılan immunohistokimyasal boyalar ile belirlenmektedir. H&E boyamasında bu hücreler pembe sitoplazmalı ve içerisinde çok soluk pembe granüller şeklinde görülürler ve bu yöntemin ayırıcı tanıda güvenilir olmadığı bildirilmektedir (Tikoo ve ark., 2018).

Mast hücrelerinin dokularda tespiti için en yaygın olarak kullanılan boyalar toluidine blue ve alcian blue/safranin O boya kombinasyonlarıdır. Heterojeniteyi belirlemek için kullanılan alcian blue/safranin O boyasında; alcian blue ile hem mukozal hem de bağ doku mast hücreleri alcian blue (+) boyanırken, safranin O ile sadece bağ doku mast hücreleri safranin O (+) boyanmaktadır (Uslu ve Yörük, 2013).

Heterojenite yalnızca boyama türü ve tespit türü ile değil hücrenin bulunduğu yer ile de belirlenebilmektedir. Heterojeniteyi belirlemede insanlarda mast hücrelerinde bulunan kimaz ve triptazında varlığı etkili olmaktadır (Uslu ve Yörük, 2013).

Berberin sülfat floransı, mast hücrelerindeki salgı aktivitesini incelemek için kullanılan bir başka boyadır. Berberin zayıf florensansı olan ancak heparin ile güçlü bir floresan kompleksi oluşturan ve böylece mast hücreleri veya mast hücre granülleri içerisinde ki heparinin sitoflorometrik ölçümleri için kullanılabilen bir boyadır (Tikoo ve ark., 2018).

2.2 Bisphenol-A

Bisphenol A (BPA), fenoller grubunda sınıflandırılmış organik bir bileşiktir. Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliğine (UIPAC) göre adı 4,4-dihidroksi-2,2-difenilpropane (Cas.no:80-05-7)'dir (Mikołajewska ve ark., 2015).

2.2.1. Maruz Kalma, Emilim ve Riskleri

İlk olarak 1891 de sentezlenen BPA monomerleri iki kısım fenol ve bir kısım aseton ile bir yoğunlaşma reaksiyonu sonucu üretilir (O'Brien, 2013). BPA yiyecek ve içecek kapları için polikarbonat plastikte ve metal kutuların astarındaki epoksi reçinlerde kullanılabilen bir kimyasaldır (Bodin ve ark., 2014).

BPA çevre ve tüketici ürünlerindeki yaygın kullanımı nedeniyle önemli bir halk sağlığı tehlikesi oluşturmaktadır (Li ve ark., 2011). Bisphenol A gıda saklama kapları, su şişeleri, yiyecek ve içecek kutularının iç kaplaması, elektronik cihazlar, termal kağıtlar, tıbbi cihazlar ve birçok insanın maruz kaldığı diş tedavisinde kullanılan malzemeler olmak üzere geniş bir ürün yelpazesinde bulunur (Özaydın ve ark., 2018). Tüm bunların yanı sıra bebekler için kullanılan biberonlar ve emzikler, çocuk oyuncakları da dahil olmak üzere gözlükler, lensler, kompakt diskler, pencere panelleri gibi birçok ürünün imalatında da kullanılmaktadır (Mikołajewska ve ark., 2015).

2009 yılında BPA'nın yıllık üretim maliyetinin 6 milyon pound olduğu ve 100 tondan fazlasının atmosfere salındığı düşünülmekteydi (O'Brien, 2013). Çok yüksek miktarlarda üretilen bu kimyasal normal koşullar altında kullanıldığı kaplardan yiyecek ve içeceklere sızabilmektedir. Yüksek sıcaklıklar da (Kaynatma, Isıtma) maruz kalma ve nüfuz oranını büyük ölçüde artırır (Braniste ve ark., 2010). BPA yutulması, solunması veya dermal temas yoluyla insan vücuduna girebilmektedir (Mikołajewska ve ark., 2015). Ancak yiyecek ve içecek kaplarına sızabildiğinden dolayı asıl maruziyet sindirim sistemi yoluyla olmaktadır (Szymanska ve ark., 2018).

BPA monomerleri ester bağlarının hidrolizi yoluyla polimerlerden kolayca ayrılır. BPA depolimerizasyonu oda sıcaklığı ve nötr Ph gibi normal koşullar altında meydana gelebilirken yüksek sıcaklıklar, düşük veya yüksek Ph, tekrarlanan yıkama ve ürünlerin genel kullanımları sızan BPA monomerlerinin miktarını artırır (O'Brien, 2013).

Yapılan araştırmalar Bisphenol A'nın vücuda girdiğinde gastrointestinal sistemde hızla emildiğini, karaciğer ve bağırsaklarda metabolize edildiğini göstermektedir (Mikołajewska ve ark., 2015). Vücuda alınmış olan BPA'nın %28'inin öncelikle glukuronid olarak idrarla atıldığı, sıçan karaciğer mikrozomlarında UDP-Glukuronosiltransferaz ve UGT2B1 izoformu ile glukuronidleştirildiği ve karaciğerdeki BPA'nın ana metabolitinin sıçan safra kanalına atılan glukuronid olduğu bildirilmektedir. Ayrıca sıçan ince bağırsağına atılan bisphenol A glukuronidinin bakteriyel H-glukuronidaz (H-gaz) ile dekonjuge edildiği ve sekum ile kolonda yeniden emiliminin sağlandığıda gösterilmiştir (Sakamoto ve ark., 2002).

Sindirim yoluyla alınmış olan BPA'nın çoğu yaklaşık 6 saat içerisinde Bisphenol A glukuronid ve Bisphenol A sülfat olarak idrarla atılır. 24 saat içerisinde ise yüksek oranda vücuttan elemine edilmiş olur. Ancak hamile kadınlar, bebekler ve çocuklar BPA'ya karşı savunmasızdırlar. Özellikle 6 aylığa kadar yeni doğan ve bebekler ile çocukların glukuronidizasyon aktivitesi düşüktür. Biraz daha büyümüş olan çocukların ise yetişkinlere yakın bir glukuronidizasyon aktivitesi bulunmaktadır. Hamile kadınlar doğrudan risk altında değildir çünkü metabolik yetenekleri bozulmaz. Ancak hamilelikte fetüs gerçek bir maruz kalma riski taşımaktadır (Mikołajewska ve ark., 2015).

Koruyucu bir önlem olarak ABD çevre koruma ajansı ve Avrupa gıda güvenliği ajansı 50µg/kg/gün'lük tolere edilebilir bir alım miktarı belirlemişlerdir. Bu alım miktarı daha sonraları 4 µg/kg/gün seviyesine indirilmiştir (Koike ve ark., 2018). 2010 yılında Kanada BPA'nın toksik bir madde olduğunu ilan eden ilk ülke oldu ve tüm bebek maması kaplarından çıkarılmasını sağladı. Daha öncesinde Danimarka'da yasaklanmış ancak o sıralarda toksik bir madde olarak ilan edilmemiştir. 2011 yılında

tüm Avrupa ülkelerinde bebek maması kaplarında BPA yasaklandı. Buna rağmen birçok plastik yiyecek ve içecek kabı hala BPA içermektedir (Rogers ve ark., 2013).

2.2.2 Çevresel Östrojen BPA ve Sağlık Üzerine Etkileri

Çevresel östrojenler, östrojen reseptörlerine bağlanan, östrojenik eylemleri taklit eden ve insan sağlığına olumsuz etkileri olabilecek çeşitli kimyasal gruplardır (Sakamoto ve ark., 2002).

Kimya endüstrisi tarafından ve günlük yaşamda yaygın olarak kullanılan bir bileşik olan Bisphenol A'nın insan meme kanseri hücreleri üzerinde östrojen olarak hareket ettiği, hücre çoğalmasını uyardığı ve in vitro progesteron reseptörlerini indüklediği gösterilmiştir (Inoue ve ark., 2001). BPA östrojen reseptörlerine bağlanma kabiliyeti nedeniyle endokrin bozucu kimyasallar (EDC-Endocrine disrupting chemical)'dan biri olarak sınıflandırılır (Xu ve ark., 2016). Önceki çalışmalar esas olarak bu maddenin östrojene yapısal benzerlikleri nedeniyle canlı organizmalar üzerinde çeşitli olumsuz etkilere sahip olabileceğini göstermiştir. BPA östrojen reseptörlerine yüksek affiniteli bağlanma gösterir ve her şeyden önce üreme sistemi ve metabolizma üzerine olumsuz etkilere sahip olabilir. Doğum öncesi ve erken yaşam dönemlerinde BPA'ya kısa bir süre maruz kalmanın bile üreme organlarının gelişmesinde değişikliklere neden olabileceği ve yaşam boyunca hormon seviyelerini değiştirebileceği bilinmektedir (Szymanska ve ark., 2018).

BPA'nın ayırt edici yapısal özelliği, östradiol (E2) ve diğer sentetik östrojenlere benzer bir yapı oluşturan iki çıkıntılı fenol grubudur. Bu benzerlik BPA moleküllerinin östrojen reseptörlerine bağlanmasına ve normal endokrin sinyali değiştirmesine izin verir. Böylece endokrin bozucu bir kimyasal (EDC) gibi davranır (O'Brien, 2013). BPA ayrıca androjen reseptörlerinin işlevine ve erkek cinsiyet hormonlarının üretimine de müdahale eder. Son zamanlarda BPA'nın insan popülasyonlarında endokrin yıkıcı etkilerinin kanıtı olarak BPA'ya maruz kalma ile ilişkili yüksek bir erkek cinsel işlev bozukluğu riski de bildirilmektedir (Li ve ark., 2011). BPA ile östrojen reseptörü (ER) bağlantıları üzerine yapılan çalışmalar BPA'nın hem ER alfa (ER α) hem de ER beta

(ER β)'ya bağlandığını ve ER β 'ya yaklaşık 10 kat daha yüksek bir affinitesi olduğunu göstermektedir. Bazı kinetik çalışmalar BPA-ER bağlanma affinitesinin E2-ER yakınlığından yaklaşık 10.000 kat daha zayıf olduğunu ileri sürmektedirler (Andersen ve ark., 1999; Fang ve ark., 2000; Kuiper ve ark., 1998). Buna rağmen son bulgular düşük BPA dozlarının bile E2'nin aracılık ettiği yanıtları E2'ye benzer ya da daha güçlü arttırdığını göstermektedir (Alonso-Magdalena ve ark., 2005; Hugo ve ark., O'Brien, 2013; 2008; Zsarnovszky ve ark., 2005).

Epidemiyolojik çalışmalar, BPA'ya maruz kalma ile bağışıklık sistemi hastalıkları arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir (Özaydın ve ark., 2018). BPA'nın bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri muhtemelen reseptörler üzerindeki agnostik ve antagonistik etkilerinden kaynaklanmaktadır. BPA çeşitli reseptörlere bağlanma yoluyla bağışıklık tepkisini modüle edebilir. BPA ile bağlanan reseptörlere; östrojen reseptörleri (ERs), östrojenle ilgili reseptörler (ERRs), aril hidrokarbon reseptörü (AhR), peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptörler (Ppar) ve toll benzeri reseptörler (TLRs) örnek verilebilir. Bu reseptörlerden ERs, ERRs ve TLRs bağışıklık hücrelerinin çoğunda bulunur. Bu durumda BPA'nın birçok farklı bağışıklık hücresi üzerinde hareket etmesini sağlar (Xu ve ark., 2016).

BPA'nın bazı etkileri Östrojen reseptörüne (ER) bağımlıdır. Bununla birlikte, bazı yeni çalışmalar ER'den bağımsız mekanizmalar yoluyla da hareket edebileceğini göstermiştir (Mahemuti ve ark., 2016). Çevresel östrojenler antijen sunumu, Th2 polarizasyonu, immunoglobulin E (IgE) üretimi ve mast hücresi degranülasyonu gibi alerjik hastalıkların gelişimine katkıda bulunan her adımı potansiyel olarak etkileyebilir (Koike ve ark., 2018). Ayrıca yüksek düzeyde BPA (50 μ g) kullanılarak yapılan önceki deneyler BPA'nın mast hücre aktivasyonunu geliştirebileceğini göstermiştir (O'Brien ve ark., 2014a). BPA'nın viral enfeksiyon savunması ve apoptotik hücrelerin fizyolojik klirensi için önemli olan makrofaj aktivitesi üzerine modülatör bir etkisi olduğu da görülmektedir (Bodin ve ark., 2014). Bağışıklık sisteminde BPA lenfosit mitogenezini ve makrofaj yapışmasını inhibe ederken ayrıca CD4+ lenfositleri (IFN, IL-4 ve IL-10 üretiminde artışı sağlayan) ve B Lenfositleri de (IgG2a ve IgA sekresyonunu arttıran) etkilemektedir (Kamila Szymanska ve ark., 2018).

BPA maruziyeti yoluyla alerji ve astım gelişimi de dahil olmak üzere zararlı immünolojik değişiklikler oluşabileceği öne sürülmektedir. Ek olarak alerjik hava yolu hastalığının kullanıldığı deneysel çalışmalarda içme suyu ile BPA'ya maruz kalmanın yavrularda alerjik tepkiler oluşturduğu gösterilmiştir (Koike ve ark., 2018). Yapılmış olan araştırmalar yüksek üriner BPA seviyeleri ile obezite, tip 2 diyabet, kalp hastalıkları, değişen tiroid hormonları ve alerjik astım arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. BPA maruziyetinin, deneysel fare modellerinde astım ve alerji gelişiminin yanı sıra tiroksin hormon reseptör antagonisti olarak işlev göstererek bağışıklık sistemini de modüle ettiği de görülmektedir (Bodin ve ark., 2014; Carwile ve Michels, 2011; Donohue ve ark., 2013; Shankar ve Teppala, 2011)

BPA'nın nörolojik bozukluklar, kanserler, davranışsal bozukluklar, karaciğer enzim anormallikleri gibi farklı patolojilere neden olduğu gösterilmiştir (Tolba ve Mandour, 2018). Doğum öncesi BPA maruziyetinin hiperaktivite, öğrenme eksikliği, anksiyete ile yenidoğan ve yetişkin kemirgenlerde cinsel davranış bozukluklarına yol açtığı da saptanmıştır (Takahashi ve ark., 2018).

BPA'nın östrojenik etkisini inceleyen çalışmaların çoğu üreme fonksiyonuna ve yakın zamanda da beyin gelişimine odaklanmıştır (Braniste ve ark., 2010). Birçok çalışma doğum öncesi BPA maruziyetinin gelişen merkezi sinir sistemi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu çalışmalar dorsal telensefalondaki kortikal plakanın anormal nörogenezi ve hiperplazisini indüklediği ve doğum öncesi maruz kalmanın gelişen hipotalamusun cinsiyet farklılaşmasını ve nörogenezini ortadan kaldırdığını öne sürmektedir (Takahashi ve ark., 2018).

BPA polimerleri asidik veya bazik koşullar altında hidrolize olup yiyecek ve içecek kaplarından çözünmediğinden insanlarda maruz kalmanın asıl yolu diyetdir (Tolba ve Mandour, 2018). Buna rağmen ağızdan alınan BPA ile doğrudan temas halinde bulunan bağırsak bariyeri fonksiyonu üzerine endokrin etkileri ise henüz açıklanamamıştır (Braniste ve ark., 2010).

BPA'nın mide ve bağırsak üzerindeki etkisi ile ilgili bilgiler oldukça sınırlıdır. BPA'nın bağırsak bariyer fonksiyonu ve genlerin ekspresyonunu değiştirebileceği bilinmektedir (Kim ve ark., 2013). Perinatal veya erken dönemde çevresel östrojenlere maruz kalmanın sonraki dönemlerde çeşitli gastrointestinal hastalıklara yol açabileceği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte BPA'nın (Özellikle düşük dozlarda) sindirim sistemi üzerindeki etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır (Kamila Szymanska ve ark., 2018). BPA'nın Mast hücreleri üzerine olan etkileri hakkında bilinenlerde benzer şekilde çok sınırlıdır. BPA'nın Mast hücreleri granüllerinden medaitör salınımlarıyla ilgili in vitro çalışmalar (O'Brien ve ark., 2014b, 2014a) bulunsa da BPA'nın bu hücrelerin heterojenitesi ve dağılımlarına etkisi hakkında bilgiye rastlanılamamıştır. Bu yönüyle çalışmanın orijinal olduğu düşünülmektedir.

2.3 Sıçanların (Rat) Sindirim Kanalının Histolojik Yapısı

Üst Gastrointestinal (GI) kanal ağız boşluğu, tükürük bezleri, yemek borusu, mide ve ince bağırsaktan oluşur. Alt Gastrointestinal kısım ise sekum ile başlar kolon, rektum ve anüs'ü içerir. Tüm kanal esasen en içteki tunika mukoza, submukoza, tunika muskularis, tunica adventisya/seroza katmanlarını içeren düz kaslı bir tüp şeklindedir (Treuting ve ark., 2017).

2.3.1 Özefagus (Yemek Borusu)

Ağız boşluğundan sonraki kısımdan başlayan özefagus trakeadorsal olarak medial hattın biraz solunda bulunur (Komarek ve ark., 2000). Yemek borusu alınan gıdaları mideye taşıyarak işlev görür. Proksimal ve distal uçlarında sfinkterlere sahiptir. Bu sayede yemek borusunun lümeni büzülerek gıdaların retragrad hareketi engellenmiş olur. Adventisya olarak isimlendirilen en dış katmanı hariç GI kanalın diğer bölümlerine benzer bir histolojik yapıya sahiptir (Treuting ve ark., 2017).

Özefagus tunika mukoza, submukoza, tunika muskularis ve tunika adventisya olmak üzere 4 ana katmandan oluşurken, tunika mukoza; lamina epitelyalis, lamina propiia ve lamina muskularis alt katmanlarını içerir (Taşlıdere ve ark., 2013). Epitel

katmanının süperficiyal (yüzeysel) hücreleri kemirgenlerin sert gıdalar ile beslenmelerinden dolayı çekirdeklerini kaybederek tamamıyla keratinleşir (çok katlı yassı keratinize epitel). Tunika muskularis çizgili kaslardan oluşur. Ağız boşluğu tarafında sirküler ve longitudinal olmak üzere iki katman mide tarafında ise sadece longitudinal seyirli olmak üzere tek katman halindedir (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010).

Submukoza kollagen ve elastik ipliklerden zengin kan ve lenf damarı, sinir teli ve gangliyon hücresi içeren bağ doku özelliğindedir. Lamina propiye gevşek bağ dokusu yapısındadır. Özefagusun üst bölümü ile mideye yakın bölümlerinde de bezler bulunur. Lamina muskularis genellikle kopuntulu seyreden düz kas telleri halinde görülür (Taşlıdere ve ark., 2013).

2.3.2 Ventriculus (Mide)

Mide alınan gıdaları depolamakla sorumlu GI yolun dilate kısmıdır. Kemirgenlerde mide sol proksimal karın bölgesinde bulunur ve kısmen sol lateral hepatik lop ile kaplıdır (Treuting ve ark., 2017). Mide de özefagus gibi tunica mukoza, submukoza, tunica muskularis ve tunica seroza olmak üzere dört katmandan oluşur. Özefagus'un çok katlı yassı keratinize epiteli geçiş bölgesinde (Kardiya'dan sonra) keskin bir sınırla glandüler (bezsiz) mukozanın özelliği olan tek katlı prizmatik epitele dönüşür. Lamina muskularis mide de içte sirküler dışta longitudinal olmak üzere iki kat halinde görülür ve kesintisiz seyreder. Lamina propiye ise gevşek bağ dokusu özelliğindedir (Taşlıdere ve ark., 2013).

Kemirgen glandüler midesi üç bölgeye ayrılır; sınırlayıcı sırtın bitişiğindeki küçük kardiya, mukozanın Rugae olarak adlandırılan belirgin büyük kıvrımlara sahip olduğu fundus (Sıçanlarda oldukça belirgindir) ve nispeten pürüzsüz mukozalı olan antrum/piloris (Treuting ve ark., 2017). Kardiya kısmı kutan mukoza (çok katlı yassı epitel) özelliğinde iken fundus ve pilorus glandüler mukoza ile örtülüdür. Mide de glandüler mukoza epiteli prinsipal hücreler, parietal hücreler ve mukus hücreleri içerir. Bu hücrelerin yanı sıra mide de entero-endokrin hücreler de bulunmaktadır (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010). Submukoza katmanında belirgin vasküler ve lenfatik

ağlar ile sinir pleksusları görülür. Tunika muskularis mide de içte oblik, ortada sirküler, dışta longitudinal seyirli kaslardan oluşur. Tunika seroza katmanı ise özefagusun aksine tamamen seröz zarlar ile çevrili olmasından dolayı seroza olarak isimlendirilir. (Taşlıdere ve ark., 2013).

2.3.3 İnce Bağırsak Bölümü

İnce bağırsakların total uzunluğu 107 cm (5 aylık)-122 cm (1 Yaş) arasında değişiklik gösterir. Duedonum, jejunum ve ileum kısımlarından oluşur (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010). Mideden sonra bağırsakların ilk kısmı olan duedonum önce aşağı sağ böbreğe doğru ilerler (duedonum iner) ardından orta çizgiye doğru devam eder (fleksura duodeni caudalis) ve daha sonra kranial olarak döner (duedonum yükselir). Jejunum en uzun bağırsak kısmıdır ve karnın sağ ventral kısmını dolduran çelenk halkalardan oluşur. İleum ise kolonun başlangıcına yakın olan sekum ile bağlanan son ince bağırsak kısmıdır (Komarek ve Ark., 2000).

Üç ince bağırsak bölümü de aynı histolojik katmanlardan oluşmuşlardır. İnce bağırsak mukoza kısmı görünüşte en değişikendir. Ancak kemirgenlerde genel görünümü pürüzsüzdür. Yüzeyi emilim alanını arttıran villus adı verilen küçük parmak benzeri çıkıntılar ile kaplıdır. Bağırsak kriptleri (Lieberkühn Kriptleri) villusların tabanında bulunur. Bu yapıların epitel hücreleri içerisinde enterositler (yüzey emici hücreler), goblet (kadeh) hücreleri, kök hücreler, paneth hücreleri ve entero-endokrin hücreler bulunur. Villus uzunluğu duedonumdan ileuma doğru azalarak devam eder. Ancak jejunum ve ileumu bu anlamda ayırt etmek zordur (Treuting ve ark., 2017).

Submukoza katmanı gevşek bağ doku içerisinde kan ve lenf damarları içerir ve düz kaslar (lamina muskularis) ile epitel katmandan ayrılır. İnce bağırsak kısımları yoğun lenfoid doku içerirler. En büyük lenfoid doku oluşumları payer plaklarıdır ve distal ileumun anti-mesenterik kenarına yerleşmiş olarak bulunurlar. Payer plaklarını örten epitel hücreleri arasında antijen alınımında özelleşmiş lenfo-epitelyal karakterde M hücreleri tanımlanmıştır. Yine mideden sonraki duedonumun ilk 6-8 mm'si boyunca submukozada tubuler brunner bezleri gözlenir (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010).

İnce bağırsakların tunika muskularisi içte sirküler dışta longitudinal iki kas katmanı halinde seyrederek ve bu kas katmanları arasında sinir pleksusları (Auerbach sinir pleksusları) da bulunur. Visseral periton olarak bilinen ince bağırsağın seroza katmanı, az miktarda gevşek fibro-elastik bağ dokusunu kaplayan tek hücreli bir mezotel tabakasından oluşur (Treuting ve ark., 2017).

2.3.4 Kalın Bağırsak Bölümü

Kalın bağırsaklar üç bölümden oluşur; sekum, kolon ve rektum (Komarek ve ark., 2000). Sıçanlarda sekum kalın bağırsağın üçte birini temsil eden kör bir kesedir (Treuting ve ark., 2017). Sekum Karın boşluğunun sağ kısmında bulunur. Kolon ve rektumun total uzunluğu ise yaklaşık 15 cm dir. Kolon sekumdan sonra başlangıçta rostral olarak yükselir ve daha sonra sağ böbreğin arkasında enine yönde döner. Sonunda kaudal olarak yönelen kolon aşağı iner ve rektuma bağlanır. Rektum ile anüs birlikte çalışırlar ve medial hatta bulunurlar. Kalın bağırsak duvarı da diğer bölümlerde olduğu gibi submukozalı tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika serozadan oluşur (Komarek ve ark., 2000).

Bağırsaklarda t. mukozayı kriptler ve villus intestinalisler oluşturur (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010). Ancak kalın bağırsaklarda villus yoktur (Treuting ve ark., 2017). Bunun yanı sıra kolon ve rektumun mukoza ve submukozası belirgin enine kıvrımlar oluşturur (Komarek ve ark., 2000). Ayrıca Giderek katılan bağırsak içeriğinin travmatik etkilerinden korunmak ve kayganlaşmasını sağlamak amacıyla kolon tunika mukozasının epitelinde mukus salgısı yapan kadeh hücrelerinin sayısı oldukça artmıştır (Treuting ve ark., 2017).

Submukoza gevşek bağ doku içerisinde kan ve lenf damarları içerir ve düz kaslar (lamina muskularis) ile epitel katmanından ayrılır. Bağırsak ile ilişkili lenfoid doku tüm bağırsaklar boyunca değişik büyüklüklerde dağılmıştır. Ancak ince bağırsak kısmı kalın bağırsaklardan daha çok lenfoid doku içerir (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010). Submukoza ile tunika muskularisin içte sirküler dışta longitudinal katmanları arasında gangliyon hücreleri ve sinir pleksusları (Meisner sinir pleksusu) bulunur. Kolon kas

tabakaları sekumdan daha kalındır. Mukozanın uzunlamasına kıvrımlara sahip olduğu distal kolonda kademeli olarak kalınlık artar ve karakteristik bir kesit görünümüne neden olur (Treuting ve ark., 2017).

Kemirgenlerde rektum glandüler mukozayı içeren rektal kriptten anal kanalın kutan mukozasına ani bir geçiş ile kısıalır (Treuting ve ark., 2017). Rektumun son kısmı çok katlı yassı epitel ile örtölüdür ve sirkum anal bezler (sebaseröz) içerir (Bayraktaroğlu ve Yücel, 2010). Aynı zamanda kemirgenler anüsü çevreleyen bölgede büyük modifiye yağ bezlerine de sahiptirler (Treuting ve ark., 2017).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Temini ve Maruziyet Çalışması

Van Y.Y.Ü. Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinden deney hayvanı olarak kullanılmak üzere ortalama ağırlıkları 200-250 gr. olan 24 adet erkek Wistar Albino Sıçan (Rat) temin edildi. Yine aynı merkez bünyesinde deney hayvanları 6'şar adet hayvanın bulunduğu 4 gruba (Kontrol, Sham, BPA 25, BPA 50) ayrılarak çalışma ünitesine konuldu. Bir aylık çalışma süresince deney hayvanlarının tüm gruplarında günlük diyetleri (Pelet Yem-Ad libitum beslenme) normal olarak devam ettirildi. Bu gruplardan ilkinde (Kontrol) herhangi bir uygulama yapılmazken ikinci gruba (Sham) mısır yağı oral gavaj yoluyla verildi. BPA uygulanan deney gruplarından ilkinde ise mısır yağı içerisinde çözündürülen BPA 25mg/kg/gün, ikincisine 50 mg/kg/gün dozlarında (Scwetz ve Harris. 1993) oral gavaj yoluyla verildi. (Aydemir ve ark.2018, Özaydın ve ark.2018, Menard ve ark.2014, Tolba ve Mandour,2018) Uygulama sonucunda İsofluran inhalasyon anestezi kullanılarak (Veilleux-Lemieux ve Ark.2013) deney hayvanları uyutuldu ve sindirim kanalından doku örnekleri alınarak histolojik yöntemler ile işlendi.

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulun'un 25/01/2019 tarihli ve 2019/02 no'lu onayı ile yapıldı.

3.2. Işık Mikroskopik İnceleme

Sindirim kanalını oluşturan organlardan (özefagus, ventriculus, duodenum, ileum, jejunum, sekum, kolon) alınan doku örnekleri Carnoy (60 ml Absolute ethanol, 30 ml chloroform, 10 ml glacial acetic acid) (Strobel ve ark.1981) ve BLA (Basic Lead Asetat) (1gr BLA, 50 ml ethanol, 50 ml distileded water, 50 ml glacial acetic acid) (Becker ve ark. 1985) tespit solüsyonları kullanılarak immersion yöntemiyle tespit edildi. Carnoy tespitinde 12 saat süre ile bekletilen dokular 12 saat süre ile de %70'lik alkole konuldu. BLA tespitinde ise 24 saat süre ile konulan dokular ardından rutin histolojik teknik kullanılarak paraplast ile bloklandılar. (Enerback, 1966a) Doku

bloklarından alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler benmari içerisinde distile su ile seyreltilmiş yumurta albumini üzerinde yüzdürüldükten sonra kurumaya bırakıldı. Hazırlanan kesitler mast hücrelerinin identifikasyonu ve sayımının yapılabilmesi için %0,5'lik Toluidine Blue (Ph.1,0) (Enerback 1966b) ve heterojenitelerinin belirlenebilmesi için Alcian Blue 8GX Safranin-o kombine (Ph.1,42) (Tung, 1991, Bancroft and Cook, 1994) boyaarı ile boyandı. Daha sonra bu preparatlar ışık mikroskobunda incelenerek gerekli yerlerin fotoğrafları çekildi.

3.3. Hücre Sayımları ve İstatistiksel Analizler

Toluidine blue ile boyanan preparatlarda hücre sayımları 100 kare oküler mikrometre (eyepice graticule) kullanılarak yapıldı. Alınan doku kesitlerinde histolojik katmanları dikkate alınmadan kırkılık (40) objektif büyütmesinde 100 kare birim alandaki mast hücreleri sayıldı. Sayım işlemi kesitlerde rastgele belirlenen 24 alan üzerinde gerçekleştirildi. Sayım sonucunda elde edilen verilerin aritmetik ortalamalarının alınmasıyla birlikte 100 kare oküler mikrometre alana düşen ortalama Mast hücre sayısı saptandı. Daha sonra bu veriler 1 mm²'lik birim alandaki Mast hücre sayısına dönüştürüldü. (Mulisch ve Welsch, 2015) (Romeiss Mic.Teq.) Ardından tespit, organ ve grup faktörlerinin sayıları arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla üç faktörlü faktöriyel Varyans analizi yapıldı. Varyans analizini takiben farklı grup ve organları belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. (SPSS Version:20 Paket Program)

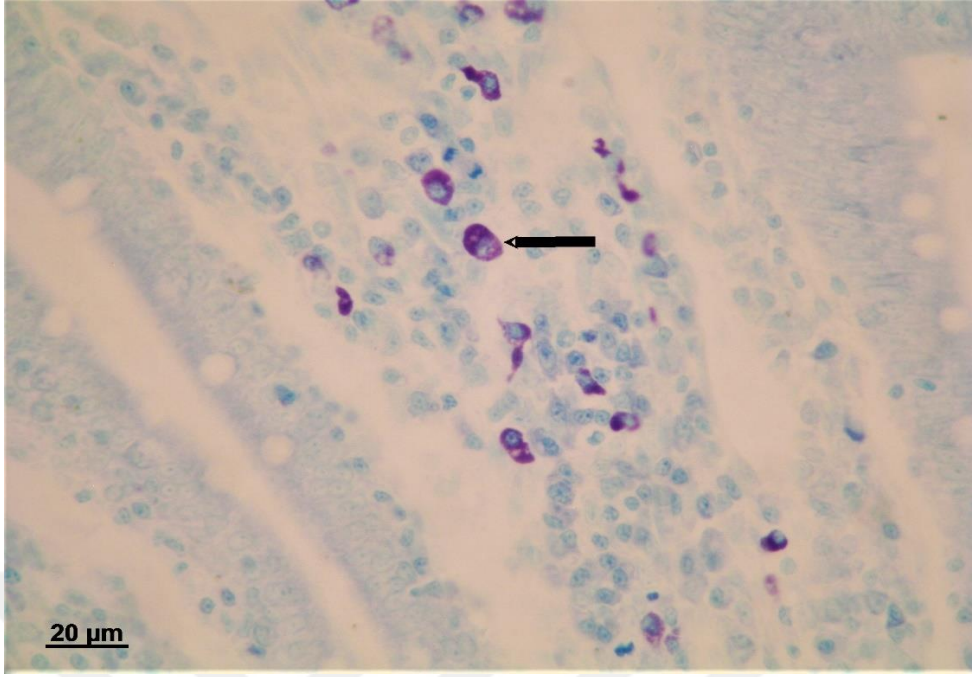
4.BULGULAR

4.1 Mikroskopik Bulgular

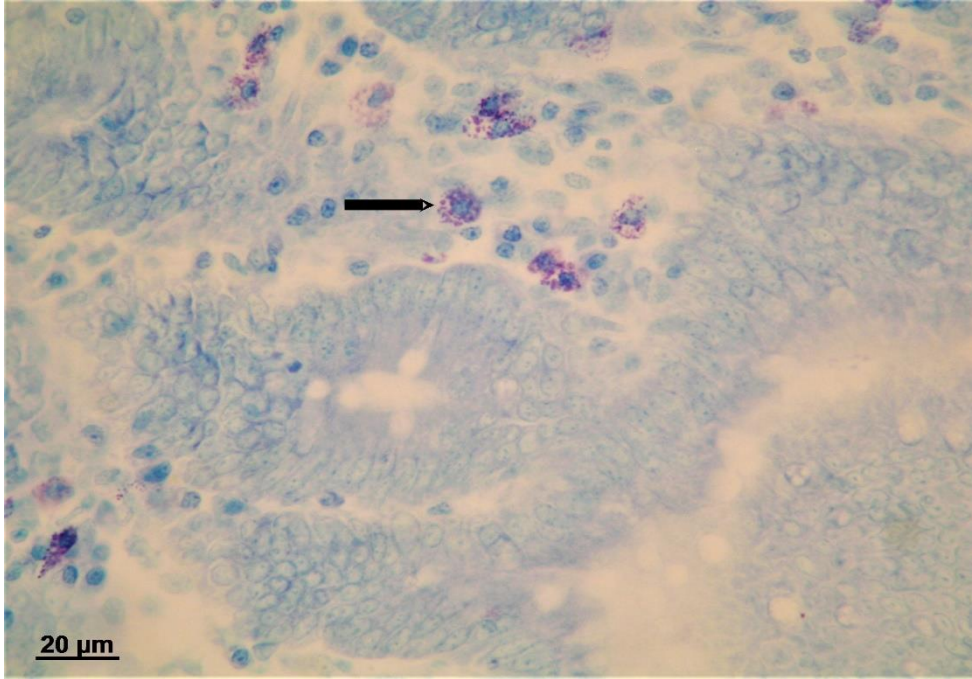
BPA'nın rat sindirim kanalındaki mast hücreleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi için yapılan tez çalışmasında Carnoy ve BLA tespit solüsyonları kullanıldı. Her iki tespit solüsyonunda da kesitlerde mast hücrelerinin ve granüllerinin iyi derecede korunduğu gözlemlendi. Ancak BLA tespit solüsyonunun Carnoy tespit solüsyonuna oranla mast hücrelerini ve hücre içi granülleri daha iyi tespit ettiği sonucuna varıldı (Şekil 1,2).

Her iki tespit solüsyonu ile tespit edilip kesitleri alınan doku örnekleri hem toluidine blue hem de alcian blue-safranin O 8GX kombine boyları ile boyandı. Toluidine blue ile boyanan kesitlerde mor-menekşe renkli metakromazi gösteren mast hücreleri kolaylıkla gözlemlendi (Şekil 3,4). Aynı şekilde alcian blue-safranin O 8GX kombine ile boyanan kesitlerde de safranin (S) pozitif (+), alcian blue (AB) pozitif (+) ve mix (AB ve S) pozitif (+) mast hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 5,6,7,8,9,10).

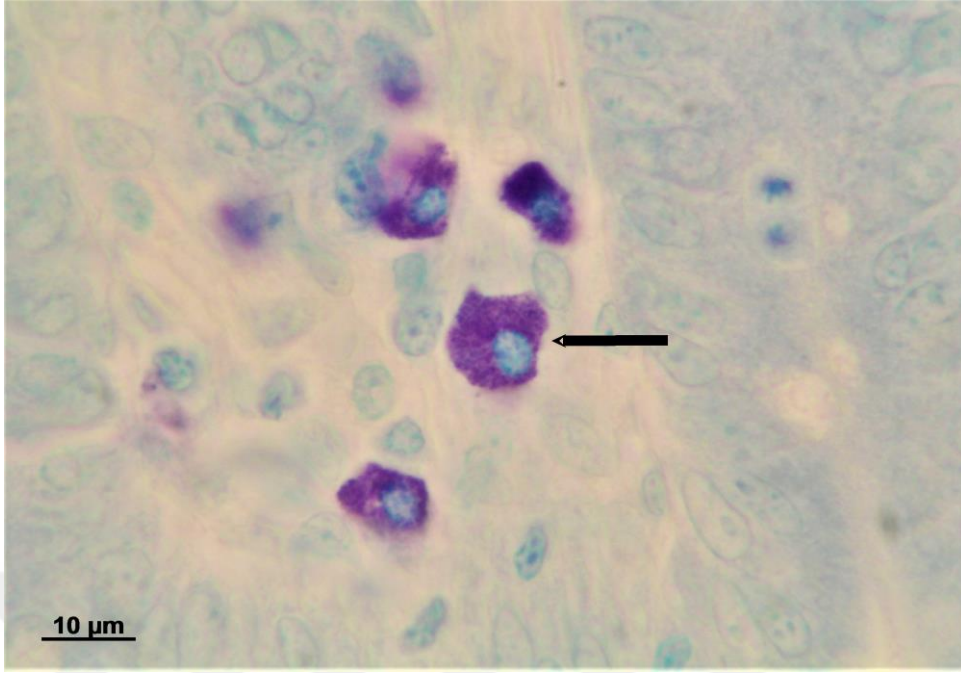
Tüm tespit ve boyamalarda rat sindirim kanalından alınan doku örneklerinde mast hücrelerinin çoğunluğu lamina propiye ve submukoza katmanlarında gözlemlenirken bir kısmı da tunica serosa-adventisya katmanında izlendi (Şekil 11,12). Diğer histolojik katmanlarda mast hücrelerinin sayıları ise az ya da çok seyrek şekildeydi. Gözlenen mast hücrelerinin çoğunluğu iplik veya armut şeklinde iken mekik, yuvarlak veya diğer şekillerde Mast hücreleri de mevcuttu.



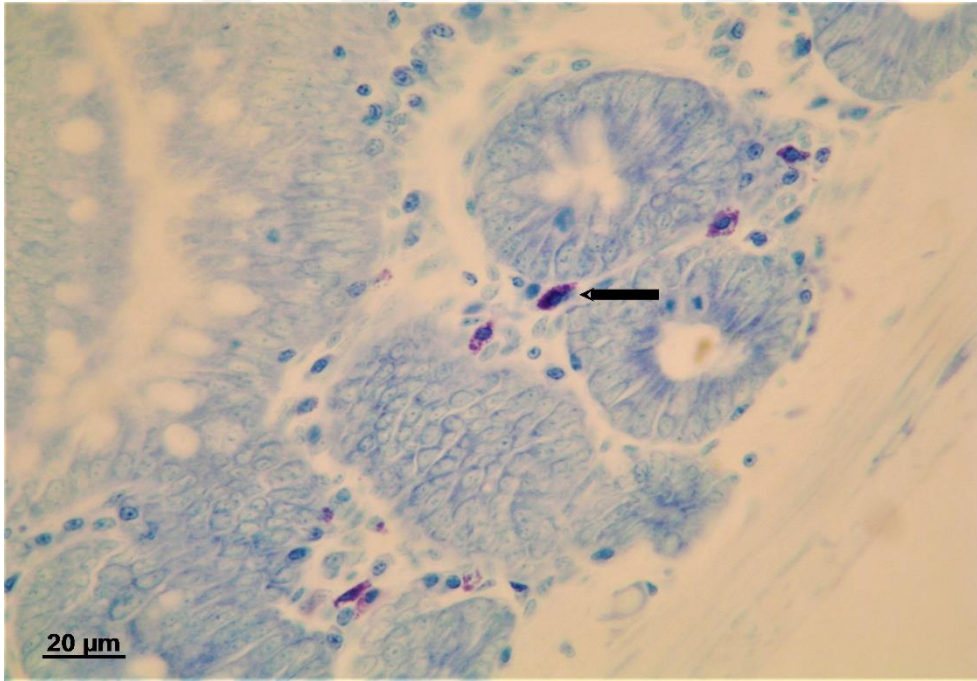
Şekil 1. İleum mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



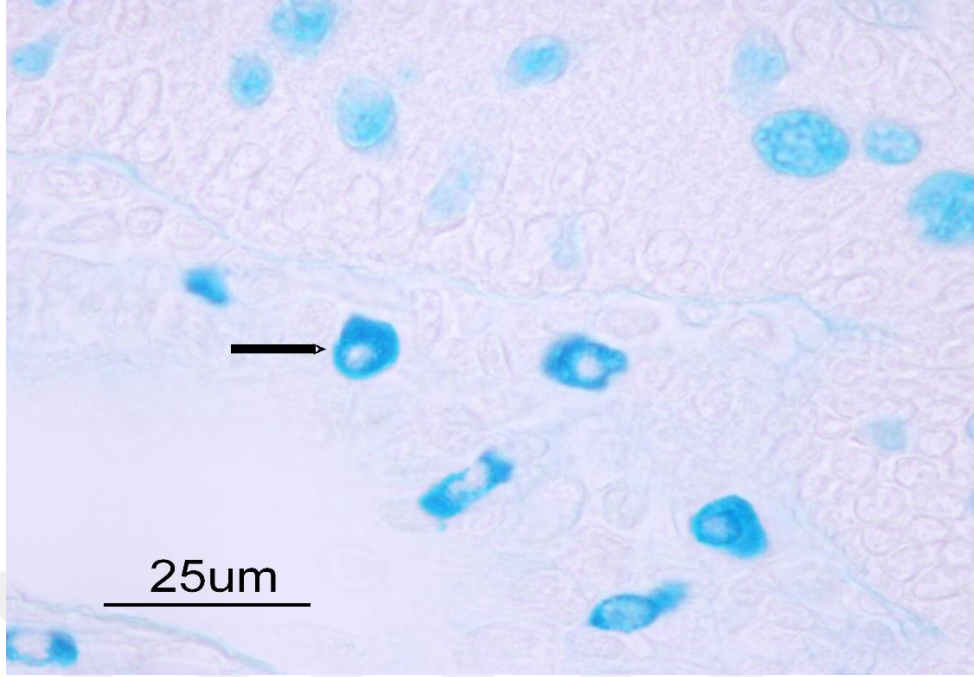
Şekil 2. İleum mast hücreleri (ok). Carnoy, Toluidine blue.



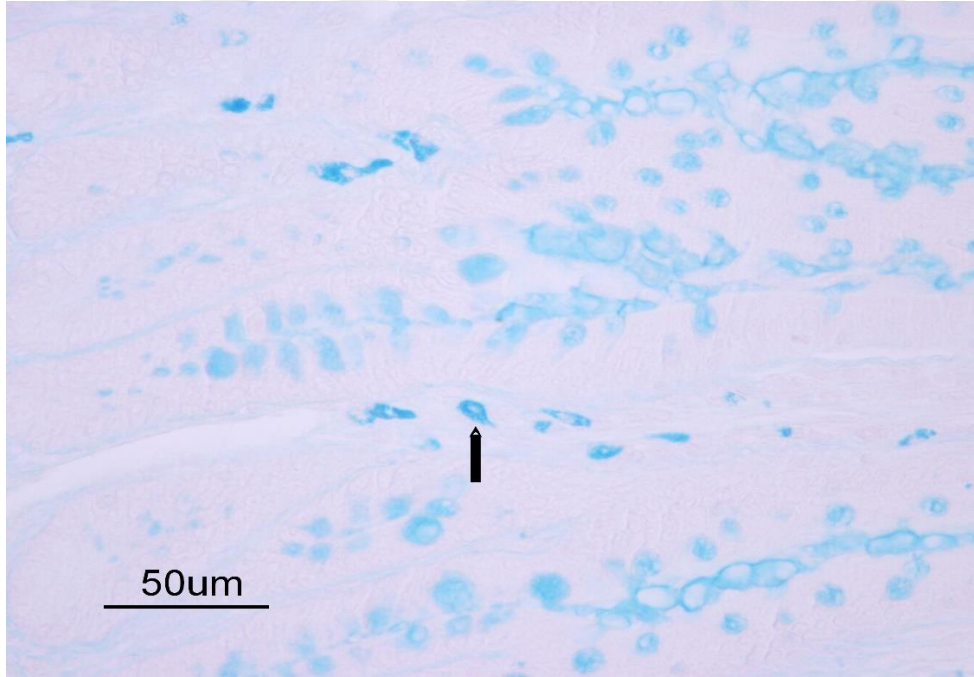
Şekil 3. Jejunum metazkromazi gösteren mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



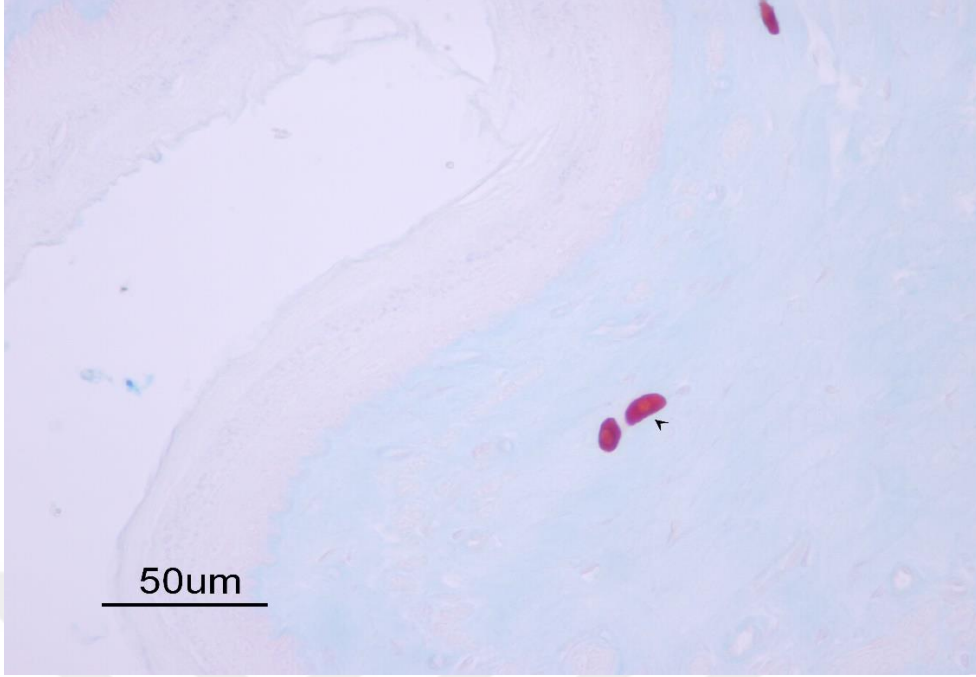
Şekil 4. Duedonum metakromazi gösteren mast hücreleri (ok). Carnoy, Toluidine blue.



Şekil 5. Duodenum AB (+) mast hücreleri (kalın ok). BLA, Alcian blue safranin O.



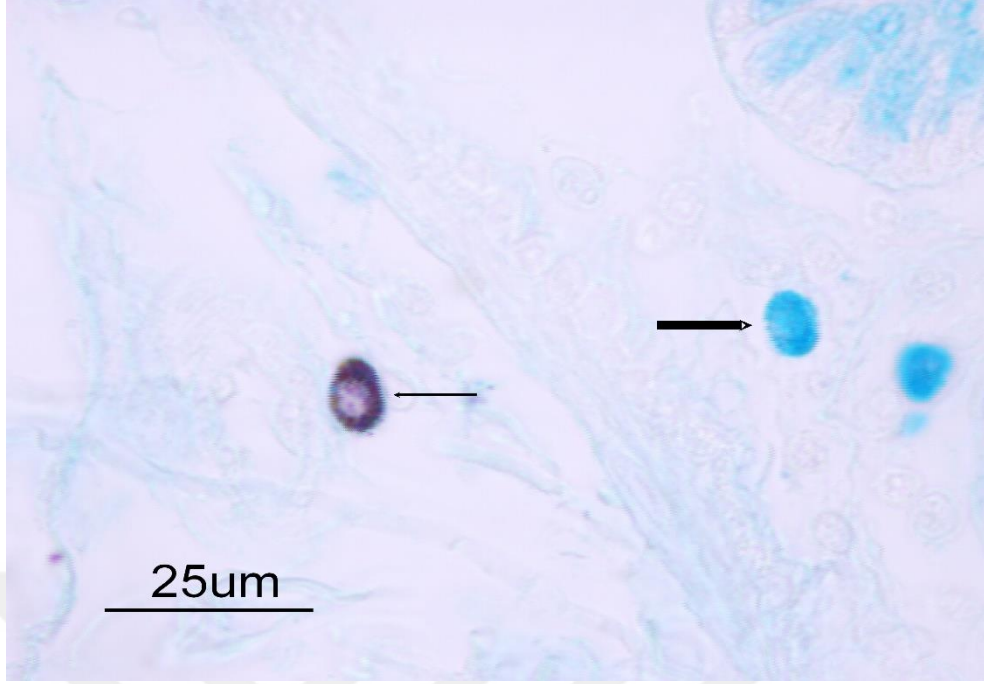
Şekil 6. Jejunum AB (+) mast hücreleri (kalın ok). Carnoy, Alcian blue safranin o.



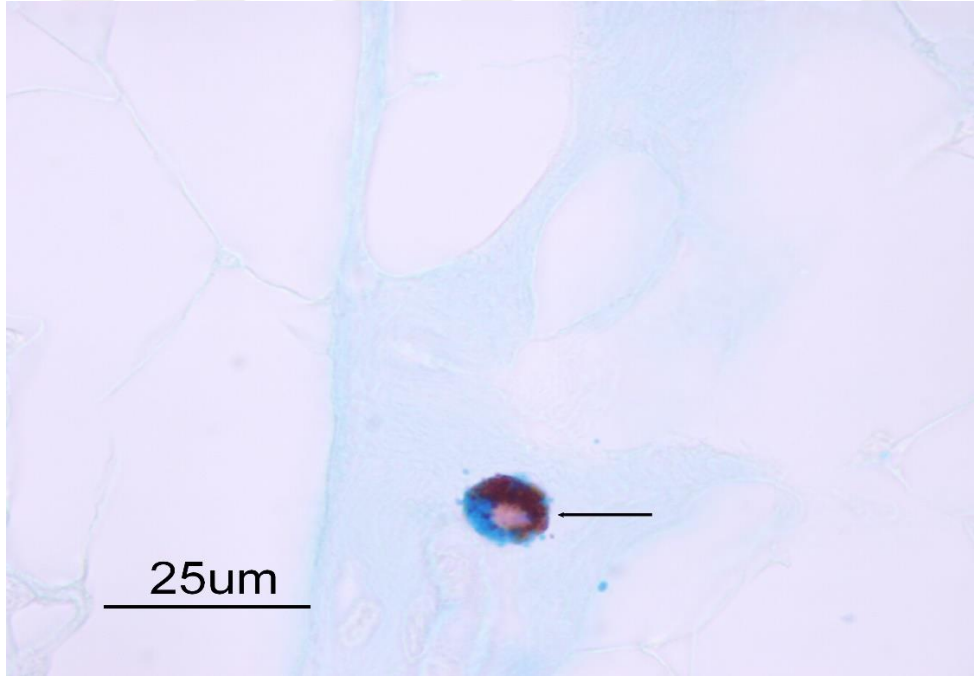
Şekil 7. Özefagus S (+) mast hücreleri (ok başı). BLA, Alcian blue safranin o.



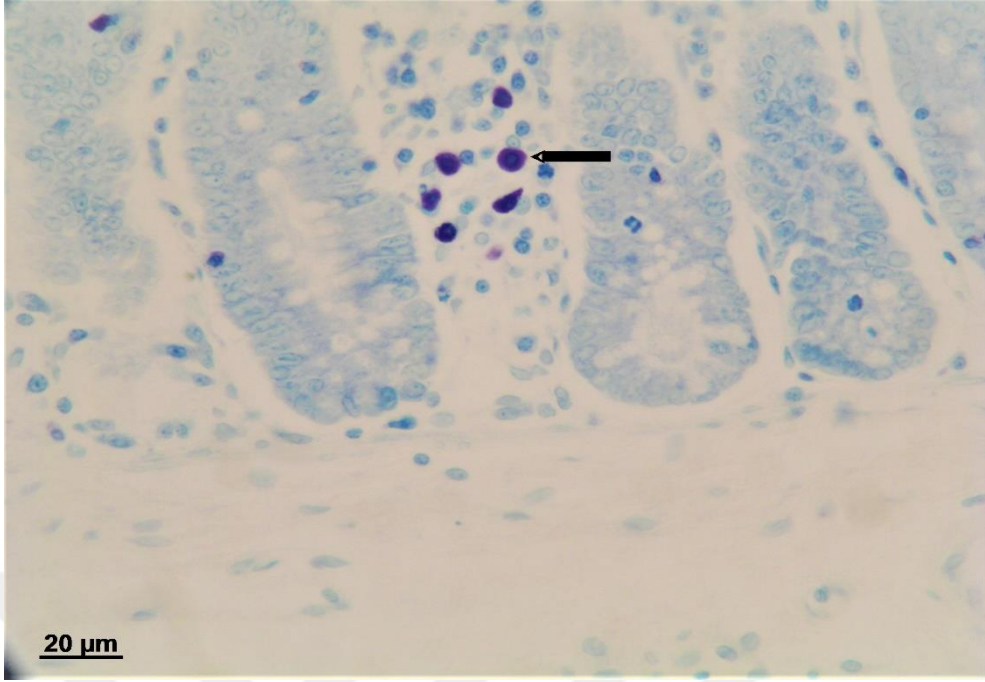
Şekil 8. Sekum S (+) mast hücresi (ok başı). Carnoy, Alcian blue safranin o.



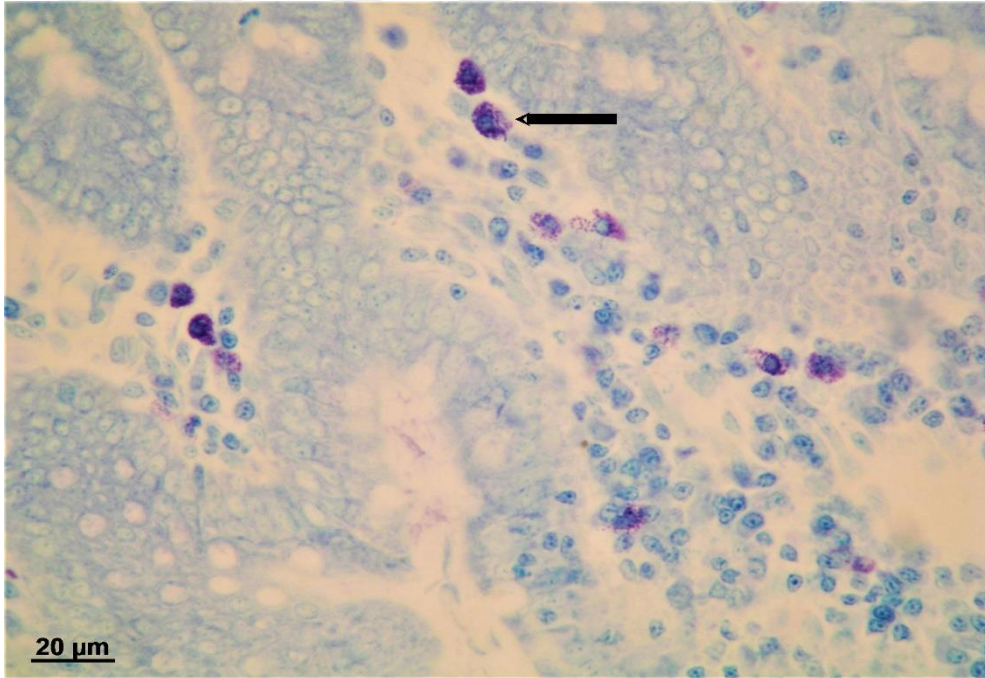
Şekil 9. Sekum AB (+) (kalın ok) ve Mix (+) (ince ok) mast hücreleri. BLA, Alcian blue safranin o.



Şekil 10. Mide Mix (+) mast hücresi (ince ok). BLA, Alcian blue safranin o.



Şekil 11. Sekum L.propiia mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



Şekil 12. Jejenum L.propiia mast hücreleri (ok). Carnoy, Toluidine blue.

4.1.1. Özefagus (Yemek Borusu)

Alınan özefagus doku örneklerinde mast hücrelerinin genel çoğunluğu submukoza katmanında izlendi. Toluidine blue boyamaları oldukça koyu, alcian blue-sarfanin O 8GX kombine boyasında ise S (+), AB (+) ve mix (+) hücreler diğer organ bölümlerine göre sayı olarak oldukça fazlaydı. S (+) mast hücrelerinin çoğunluğu lamina propiye katmanında gözlenirken AB (+) ve mix (+) mast hücreleri ise submukoza katmanında çoğunlukta idi. AB (+) mast hücrelerine tunica adventisya katmanında nadiren rastlandı (Şekil 13).

4.1.2. Ventriculus (Mide)

Boyama özellikleri ve Mast hücrelerinin bulunduğu katmanlar bakımından özefagus ile benzer sonuçlar elde edildi. Özefagusta daha ince bir katman olarak gözlenen tunica muskularis katmanında mast hücresi neredeyse hiç yok denilebilecek kadar az iken daha kalın ve gelişmiş bir tunica muskularis katmanına sahip olan mide örneklerinde kas katmanları arasında mast hücreleri nispeten daha fazla bulunmaktaydı. AB (+) ve mix (+) mast hücrelerinin birlikte en çok gözlemlendiği sindirim kanalı bölümü ise yine mide bölümüydü. Bu hücrelerin yoğunluğu ise yine lamina propiye katmanındaydı. Mide ve özefagustan alınan doku örneklerinde BPA uygulanan deney grupları ile kontrol grupları arasında mast hücreleri sayı ve yapıları bakımından değerlendirildiğinde herhangi bir fark gözlenmedi (Şekil 14). (Tablo 1)($p<0.05$)

4.1.3. İnce Bağırsak Bölümü

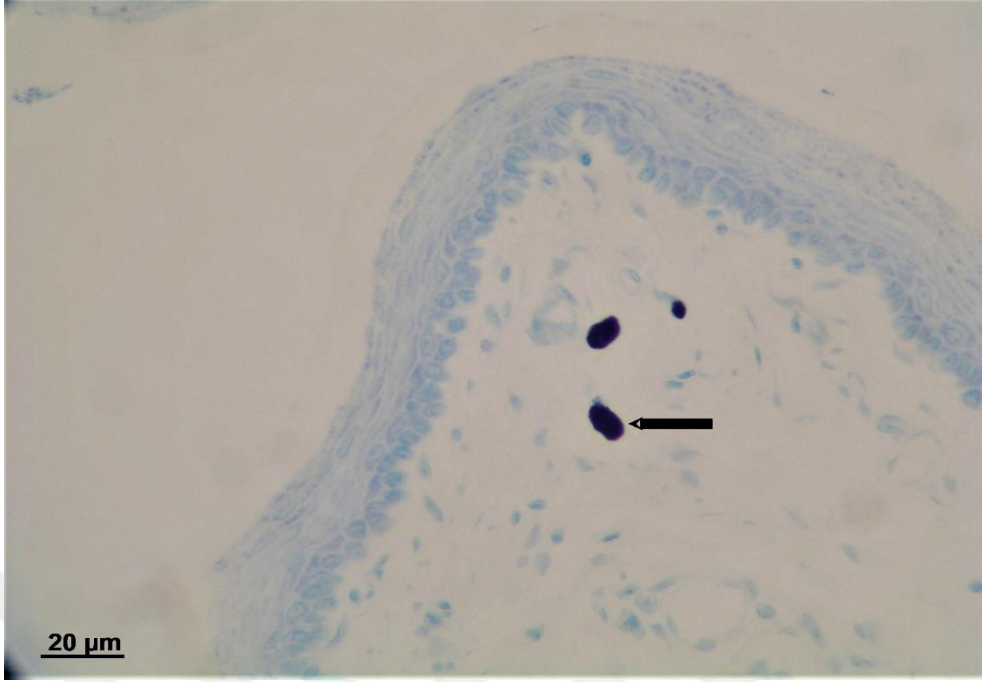
Duedonum, ileum ve jejunumun oluşturduğu ince bağırsak bölümlerinde BLA ile tespit edilen doku örnekleri her iki boyama metodunda da daha iyi sonuç verdi. Carnoy ile tespit edilen doku örneklerinde özellikle toluidine blue ile boyanan mast hücrelerinde granüllerin diğer organ bölümlerine göre azalmış bir görüntü vermekteydi. Ancak bu fark BPA uygulaması yapılan deney gruplarından sadece ince bağırsakların jejunum bölümünde belirgindi. Yine

jejunum bölümünde mast hücrelerinde artış da gözlemlendi (Şekil 15). Özefagus ve mide ile kıyaslandığında alcian blue-safranin O 8GX kombine boyaması sonucunda ince bağırsak bölümlerinde S (+) ve mix (+) olan mast hücrelerinin sayısı hemen hemen yok denilecek kadar azalmıştı. AB (+) boyanan mast hücreleri ise oldukça fazla sayıda ve büyük çoğunluğu da toluidine blue boyaması yapılan mast hücrelerinde olduğu gibi lamina propiye katmanında bulunan bezlerin arasında gözlemlendi (Şekil 16,17).

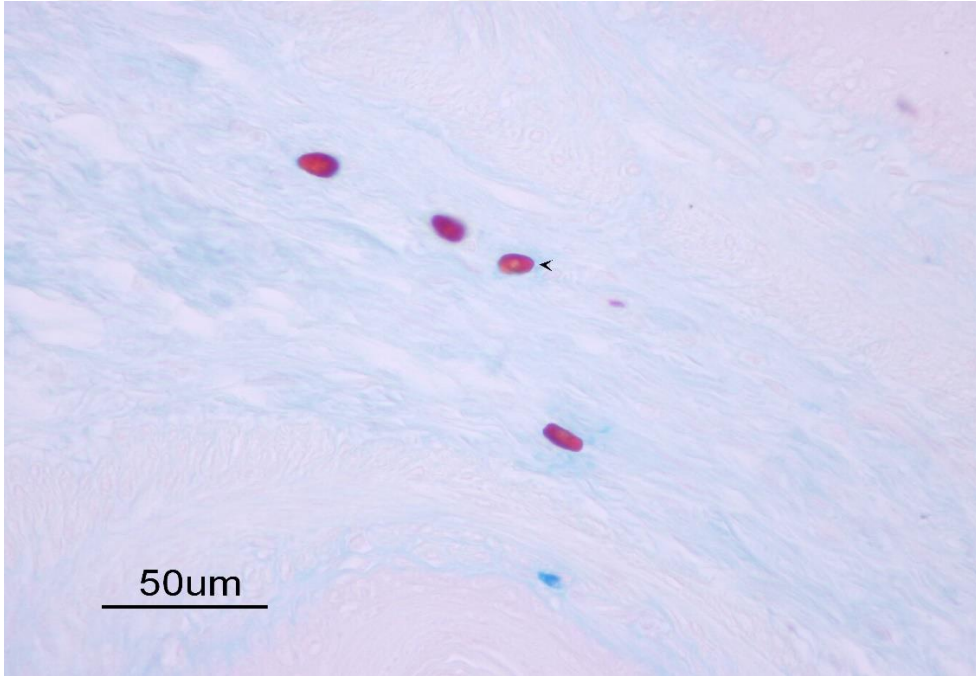
4.1.4. Kalın Bağırsak Bölümü

Sekum ve kolon doku örneklerinden oluşan sindirim kanalının özellikle bu bölümünde 25 mg/kg ve 50 mg/kg BPA uygulanan deney gruplarındaki farklılıklar gözlemlendi. Mast hücreleri iki farklı doz uygulanan deney gruplarında hem sayıca oldukça artmış hem de granül sayıları oldukça azalarak hücre yapılarında bozulmalar meydana geldiği saptandı (Şekil 18,19). Granüllerdeki azalma özellikle BLA tespit solüsyonu ile tespit edilip toluidine blue ile boyanan doku örneklerinde gözlemlenirken yine Carnoy tespit solüsyonu örneklerinde de aynı durum söz konusuydu. Aynı zamanda bu durum alcian blue-safranin O 8GX boyamalarında da gözlenirken, S (+) ve mix (+) mast hücreleri ince bağırsak bölümlerine nazaran biraz daha fazla ancak özefagus ve mide bölümlerine göre oldukça azdı. S (+) ve mix (+) boyanan mast hücrelerinin sayıları ve bulundukları katmanlar anlamında ise sekum ve kolon kısımlarında kontrol ve deney grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi (Şekil 20).

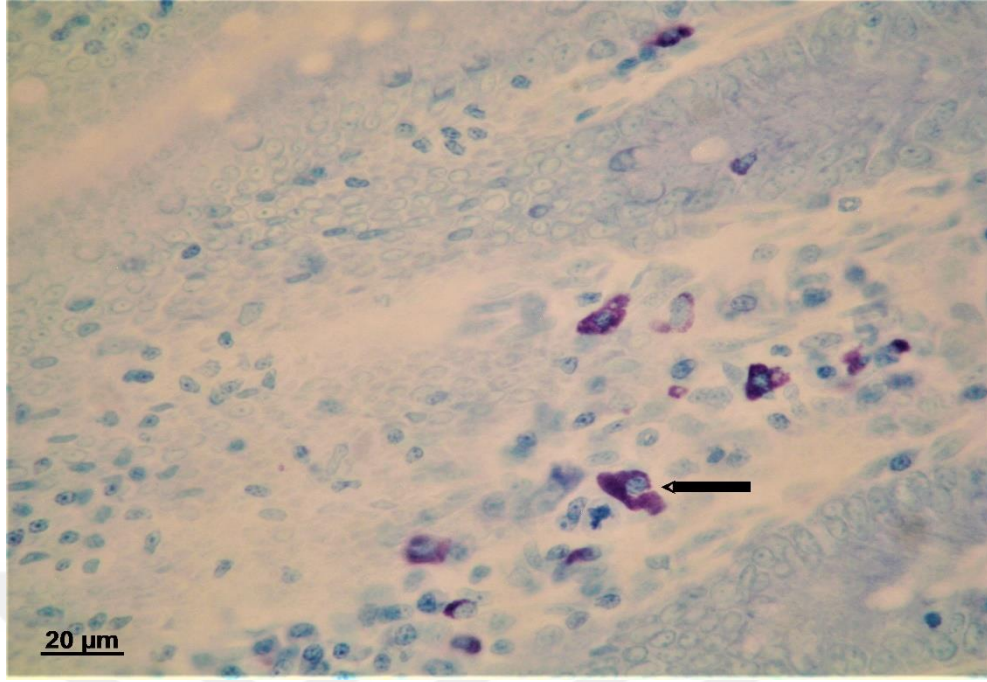
Sindirim kanalının son kısmı olan kolonun lamina propiye katmanında mast hücrelerinin sayısı kontrol ve deney gruplarında sekum'a göre oldukça az ve özellikle toluidine blue ile zayıf boyanmış şekildeyken, özefagusta olduğu gibi yine mast hücreleri submukoza katmanında yoğunlaşmış ve oldukça koyu boyanmış şekilde gözlemlendi (Şekil 21,22).



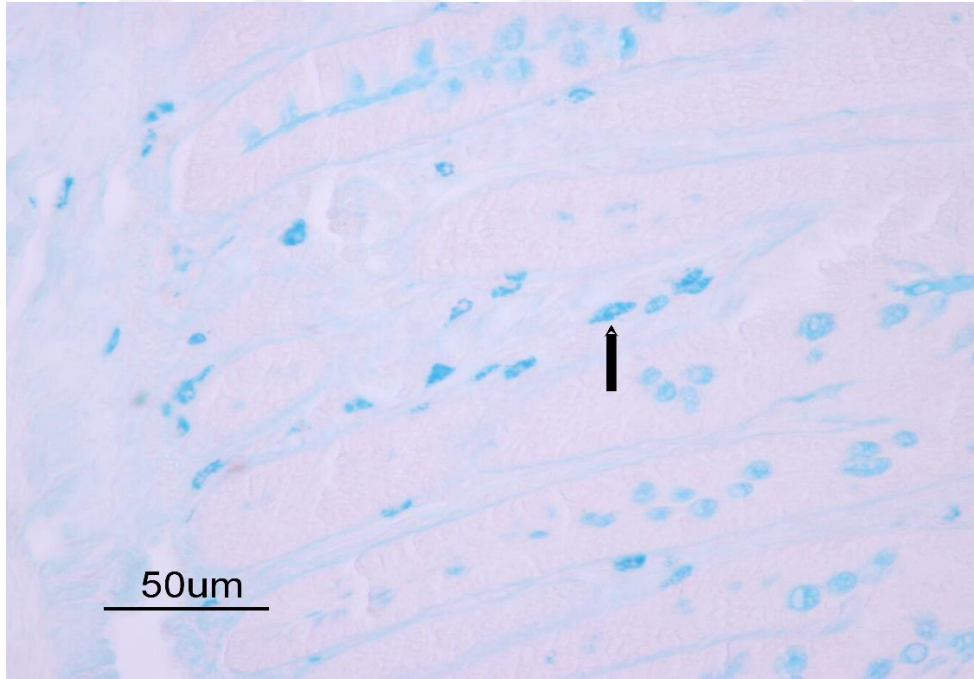
Şekil 13. Özefagus submukoza mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



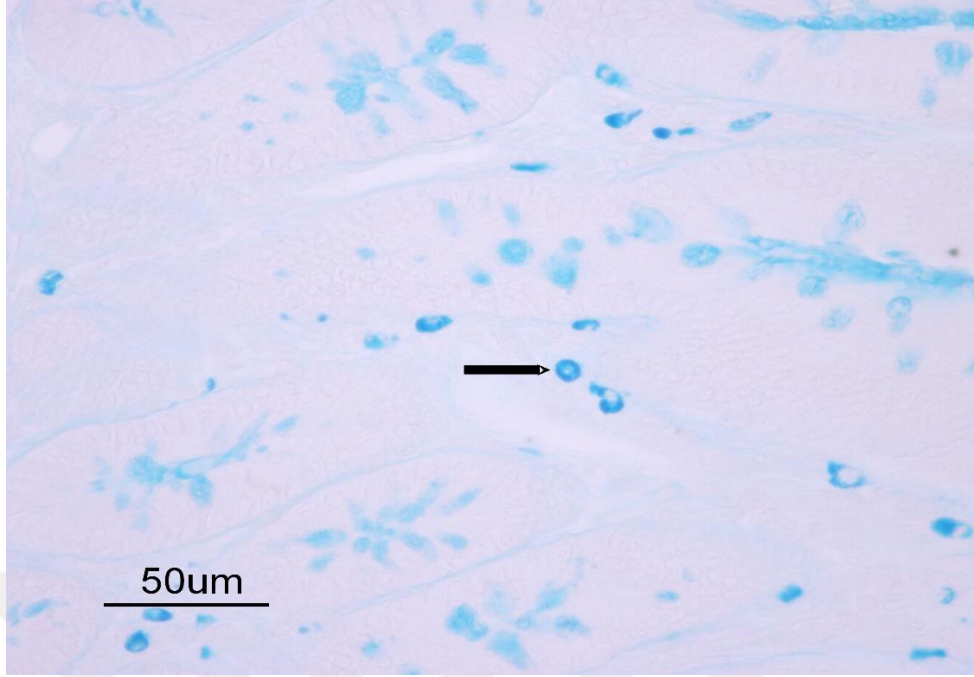
Şekil 14. Mide L.proriya S (+) mast hücreleri (ok başı). Carnoy, Alcian blue safranin o.



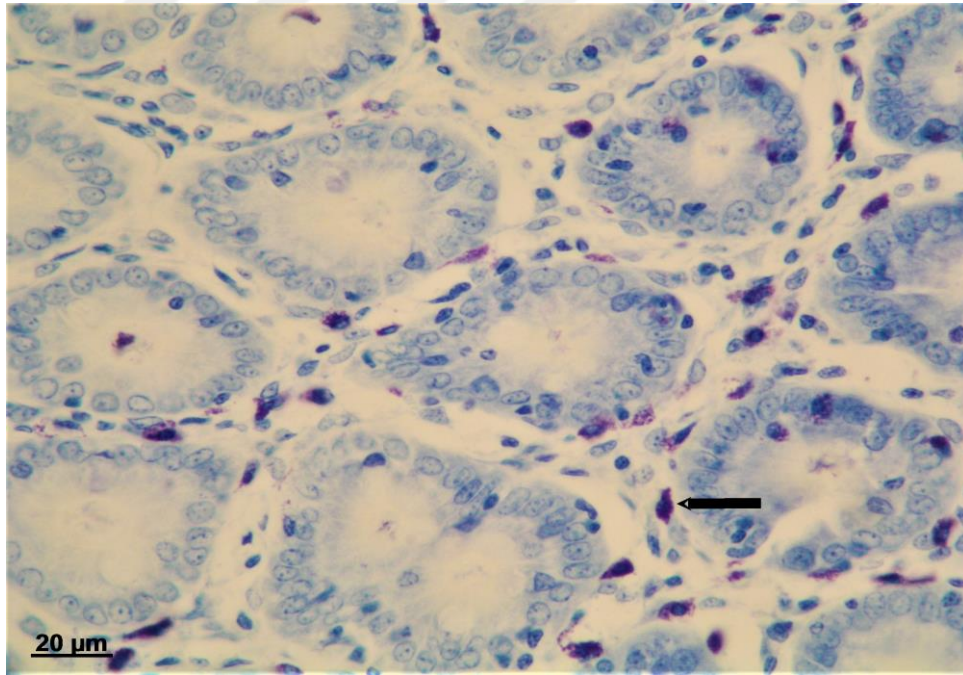
Şekil 15. Jejunum *L. propiia* mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



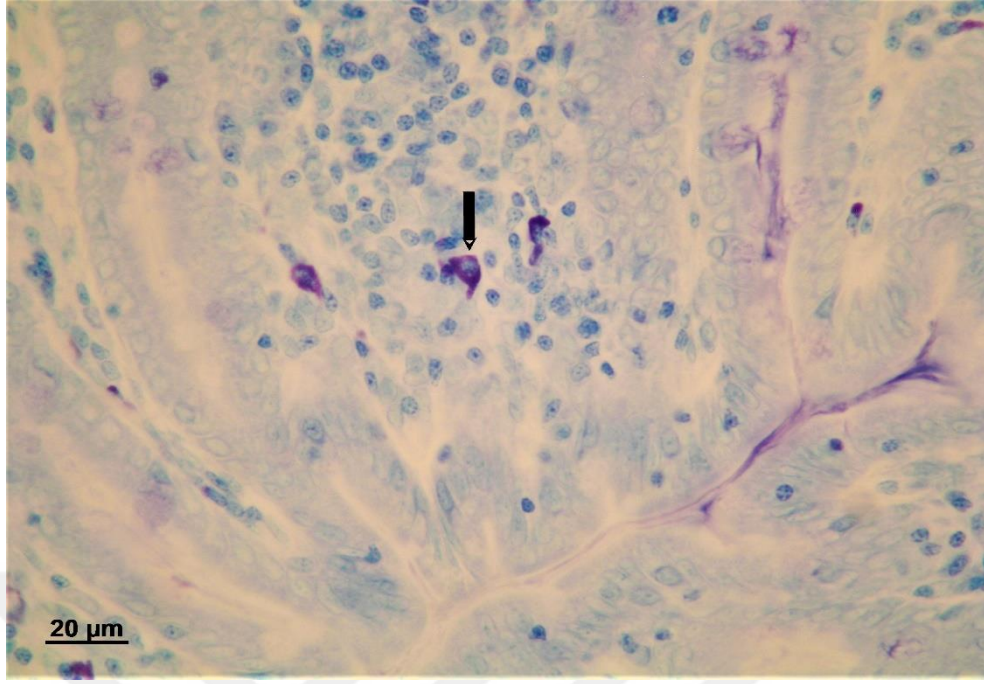
Şekil 16. Duedonum *L. propiia* mast hücreleri (kalın ok). Carnoy, Alcian blue safranin o.



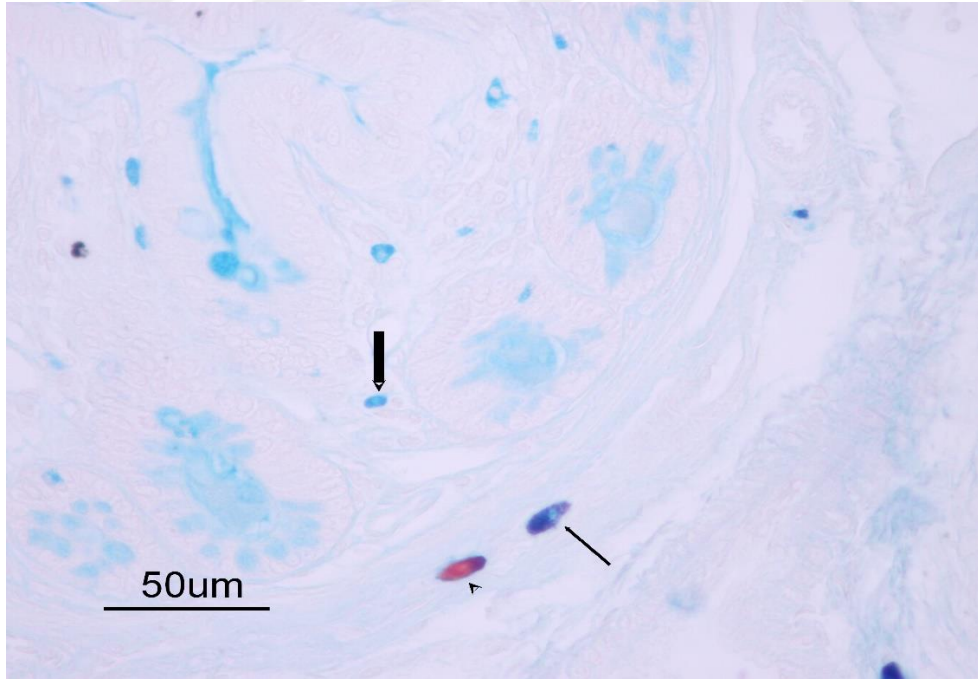
Şekil 17. Duedonum L. propiia mast hücreleri (kalın ok). BLA, Alcian blue safranin o.



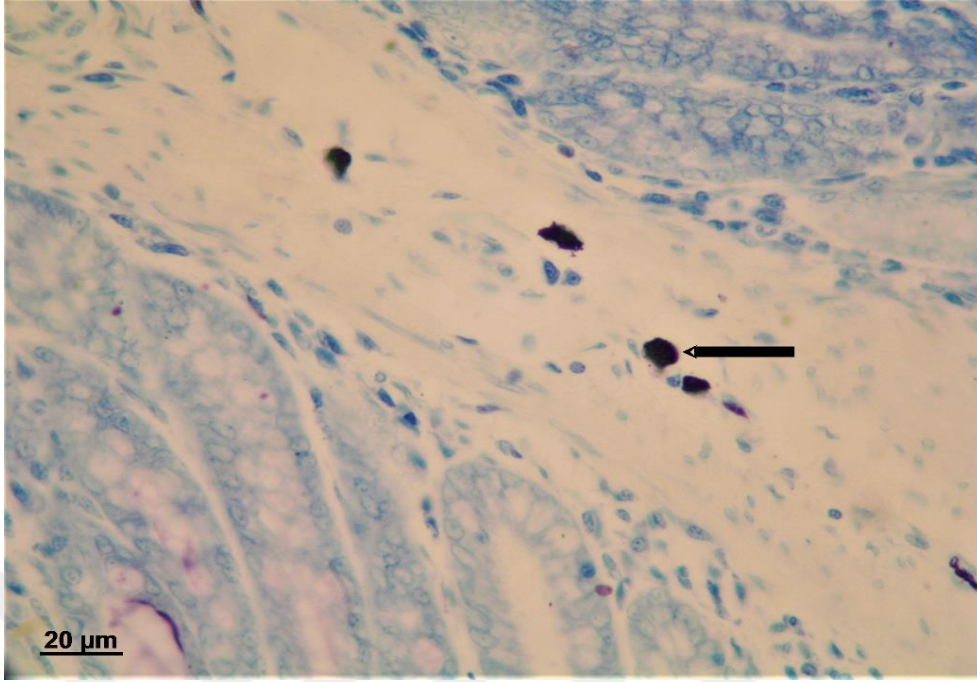
Şekil 18. Sekum L. propiia mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



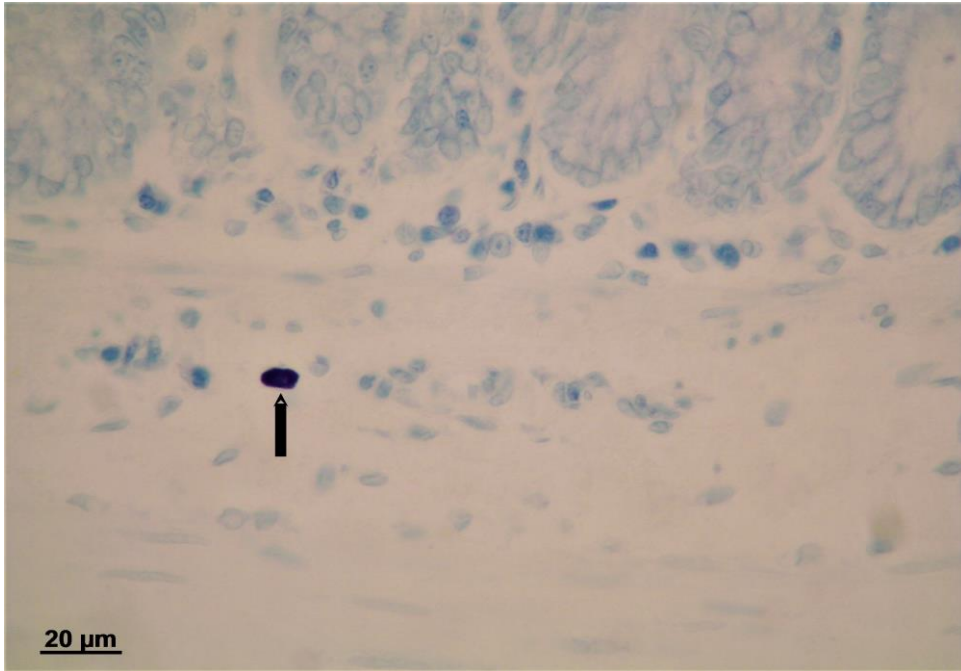
Şekil 19. Kolon L.propiye mast hücreleri (ok). BLA, Toluidine blue.



Şekil 20. Sekum L.propiye ve submukoza AB (+) (kalın ok), S (+) (ok başı) ve Mix (+)(ince ok) mast hücreleri. Carnoy, Alcian blue safranin o.



Şekil 21. Kolon Submukoza mast hücreleri (ok). Carnoy, Toluidine blue.



Şekil 22. Kolon submukoza mast hücresi (ok). BLA, Toluidine blue.

4.2 İstatistiksel Analizler

Bisphenol A'nın ratların sindirim kanalındaki mast hücrelerinin heterojenite ve dağılımı üzerine etkilerinin incelenmesi için yapılan bu araştırmada, mast hücre sayımlarının ortalama değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları aşağıdaki tablo 1 ve 2'de verilmiştir ($p<0.05$).

Toluidine blue boyamasındaki Mast hücre sayımlarının ortalama değerlerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre tespit solüsyonları karşılaştırıldığında BLA tespit solüsyonunda tespit edilen dokulardaki Mast hücre sayılarının Carnoy tespit solüsyonu ile tespit edilen doku örneklerinden oldukça fazla olduğu görülmektedir (Şekil 23). Tespit ve deney grubu farkı gözetmeksizin bakıldığında en yüksek mast hücresi sayısına sindirim kanalının sekum bölümünde rastlanırken en az mast hücresine de mide bölümünde rastlanmıştır (Şekil 24,25).

Deney gruplarına bakıldığında ise 25mg/kg/gün ve 50mg/kg/gün dozlarda BPA uygulaması sonucu Mast hücre sayılarında artış göze çarpmaktadır (Şekil 26). Yine bu artış organlar bazında değerlendirildiğinde her iki tespit solüsyonunda da bu artışın sindirim kanalının jejunum, sekum ve kolon bölgelerinde meydana geldiği anlaşılmaktadır. (Tablo 1,) ($P<0.05$)

AB-SO 8GX kombine boyası ile boyanan doku örneklerindeki semikantitatif değerlendirmelere göre mast hücrelerinin safranin pozitif (S +), alcian blue pozitif (AB +) ya da mix pozitif (Mix +) olma durumları arasında göze çarpan bir fark saptanamadı. Yine bu durumun deney grupları ve tespitler içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmesi yapıldığında benzer olduğu görüldü (Tablo 2). Ayrıca 30 gün süre ile BPA uygulaması yapılan deney hayvanlarının 1.gün, 15.gün ve 30.gün ağırlık ölçümleri yapılmıştır. 1.gün olan ağırlıkları bütün hayvanlarda aynı olmadığından 30.günün sonuna kadar olan ağırlık artış miktarları istatistiksel olarak değerlendirildi. Ancak 1.günden 30.güne kadar olan bu ağırlık artışı analizi sonuçlarından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilemedi.

Tablo 1. Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

TESPİT	ORGAN	GRUP															
		1-Kontrol				2-Sham				3-BPA-25mg/kg				4-BPA-50mg/kg			
		Ort.	Std. Sap.	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap.	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap.	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap.	Min.	Max.
1-Carnoy	Özefagus	b 50,72	14,35	33,28	70,56	Cd# 38,72	6,26	32,64	49,28	a 55,72	21,08	35,92	84,00	c 44,27	9,59	35,20	57,92
	Mide	c 30,37	11,25	19,20	52,00	d 30,05	9,71	17,92	44,64	b 37,60	9,08	29,28	53,28	c 35,52	11,28	21,92	49,92
	Duedonum	ab 66,93	18,46	44,64	95,20	a 77,71	13,38	61,28	92,64	a# 74,51	18,22	60,00	108,64	b 66,83	15,40	45,92	92,00
	İleum	b# 56,83	9,58	48,64	73,92	ab# 58,51	22,77	41,28	96,64	a# 61,81	14,92	36,64	75,20	b 74,69	10,96	59,20	89,28
	Jejenum	Bab 62,0	19,60	48,64	101,92	B# 50,13	14,40	36,64	71,20	B# 67,95	15,91	49,28	90,56	Aa# 93,28	12,58	78,56	109,28
	Sekum	Ba# 78,40	15,25	64,00	105,28	Bab# 69,60	24,55	40,64	97,92	Ba# 64,27	15,11	51,20	90,56	Aa# 100,79	16,32	71,20	115,20
	Kolon	Bc# 15,49	2,53	12,64	18,56	Ba# 19,25	12,41	5,28	41,28	Ab# 32,48	9,60	23,20	48,64	Ac# 38,03	13,35	18,56	57,28
2-BLA	Özefagus	Bd 38,13	5,75	30,56	47,20	ABc 47,04	3,80	41,92	53,28	Ad 53,95	10,97	43,20	69,28	ABd 43,07	11,75	28,00	57,92
	Mide	d 33,04	4,97	25,28	37,92	c 43,15	17,49	25,92	69,92	d 42,03	9,79	34,56	60,00	d 34,72	12,55	25,92	59,20
	Duedonum	bc 94,37	28,66	55,20	126,56	b 85,49	31,57	28,64	121,92	b 106,16	20,97	84,64	135,20	c 83,07	17,77	68,64	105,92
	İleum	b 106,08	15,33	80,00	121,28	b 90,03	19,42	73,92	127,20	b 105,47	14,53	81,92	127,20	bc 95,63	21,49	76,00	121,92
	Jejenum	Bc 81,39	19,58	67,20	118,40	B 82,85	5,02	77,28	92,00	Ab 116,93	11,66	100,00	131,20	Ab 110,37	12,57	96,64	128,64
	Sekum	Ba 134,03	26,42	84,64	163,20	Ba 138,75	12,57	121,28	151,20	Aa 185,31	37,43	153,92	249,92	Aa 173,25	16,86	150,56	194,56
	Kolon	Bc 60,37	13,73	39,20	76,00	B 58,05	20,86	29,28	92,00	A 79,25	14,06	60,64	97,92	Abc 95,15	11,24	80,00	113,92

A, B, C → Aynı Tespit ve organ içerisinde (Aynı satırda) farklı **büyük** harfi alan **gruplar** arası fark istatistik olarak anlamlıdır. (P<0.05) (Grupların karşılaştırması)

a, b, c ↓ Aynı Grup ve Tespit içerisinde (Aynı sütunda) farklı **küçük** harfi alan **organlar** arası fark istatistik olarak anlamlıdır. (P<0.05) (Organlarının karşılaştırması)

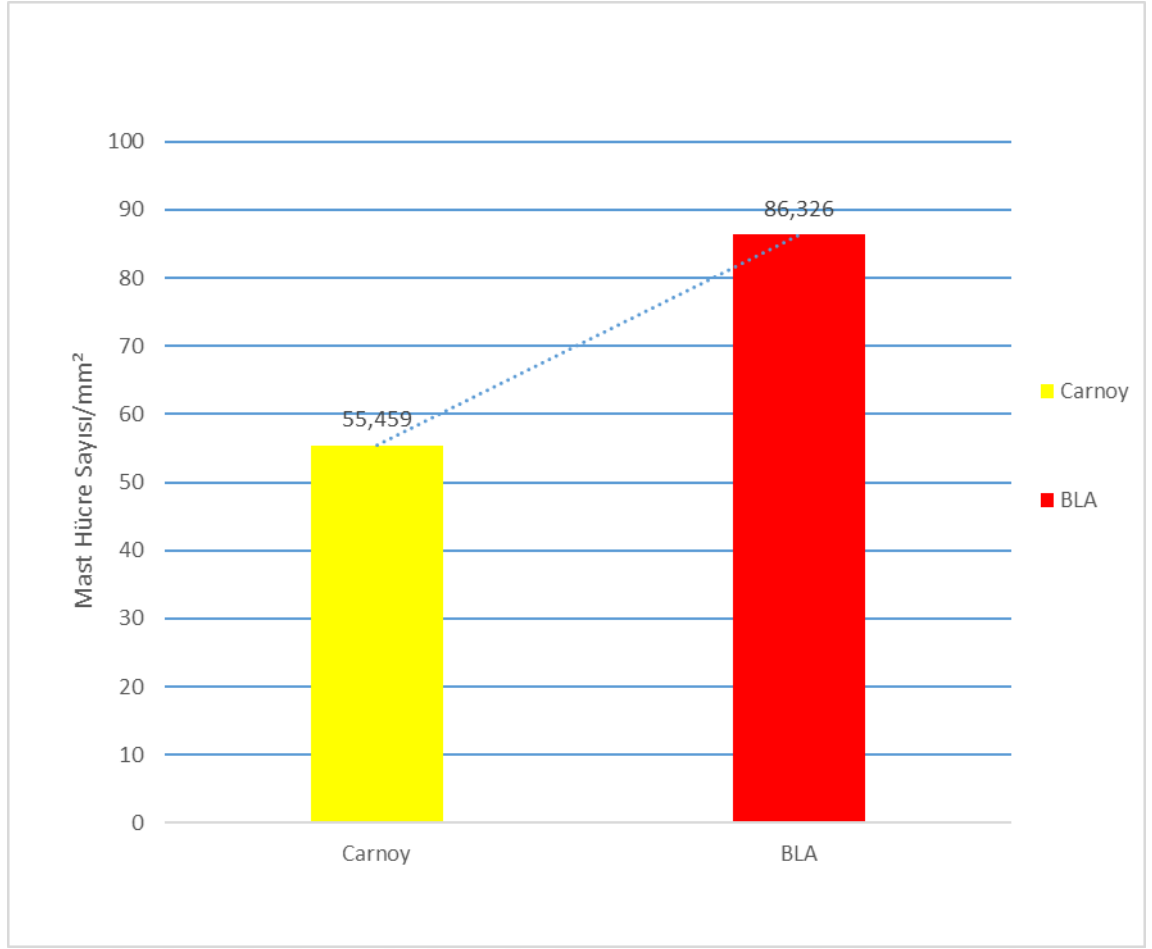
: İkinci tespitten olan farkı anlamlıdır. (P<0.05)

İstatistik Analiz Bilgileri

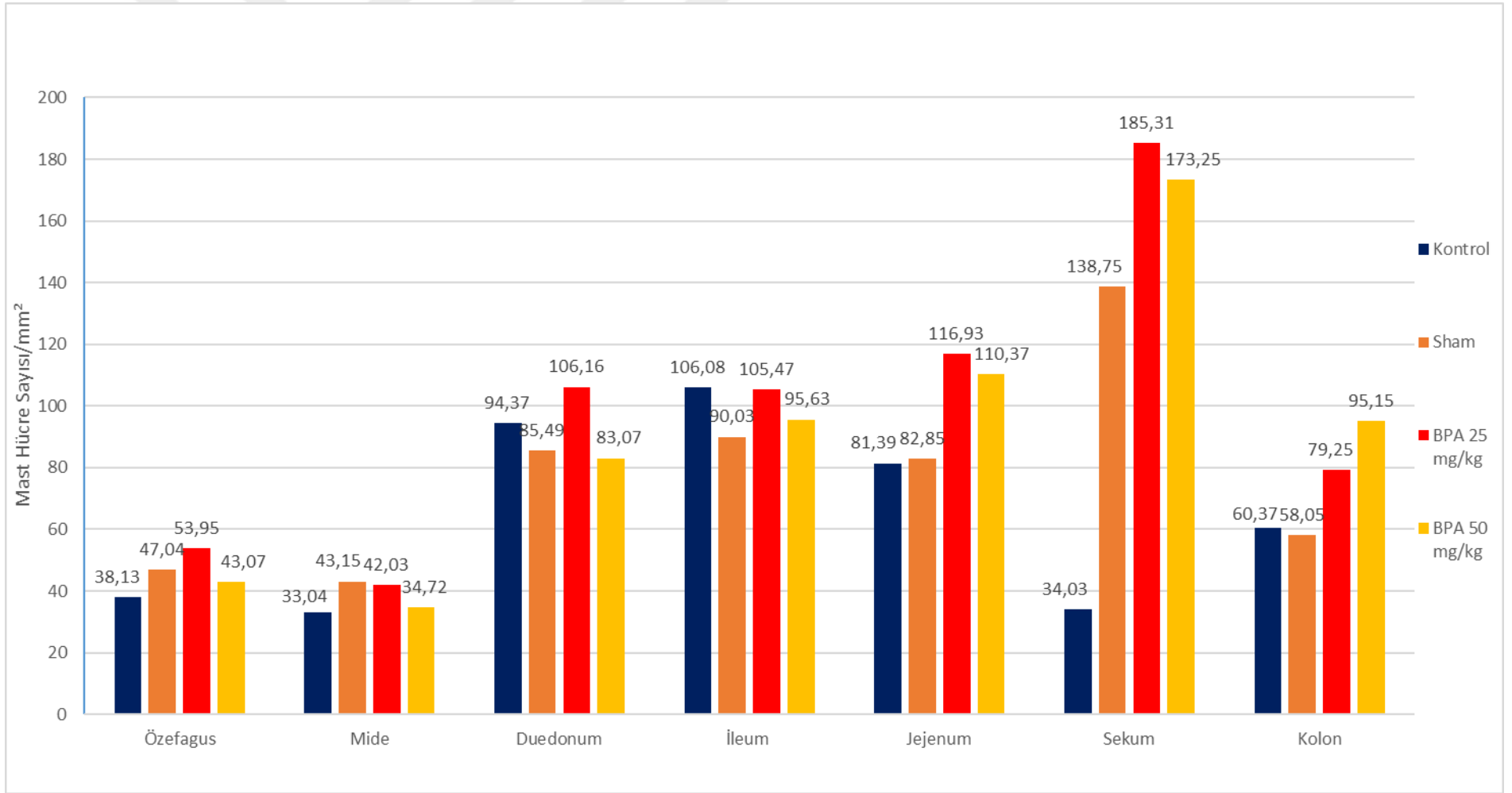
Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilmiştir. İlgili özellik bakımından; tespit, organ ve grup faktörlerinin seviyeleri arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla 3 faktörlü Faktöriyel Varyans Analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben; farklı grup ve organları belirlemede, Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İnteraksiyonlar (Etkileşim) istatistik olarak önemli bulunduğu için çoklu karşılaştırmalar alt gruplar düzeyinde yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver: 20) istatistik paket programı kullanılmıştır.

Tablo 2. Mast hücrelerinin AB-SO boyamasındaki semi-kantitatif değerlendirme sonuçları

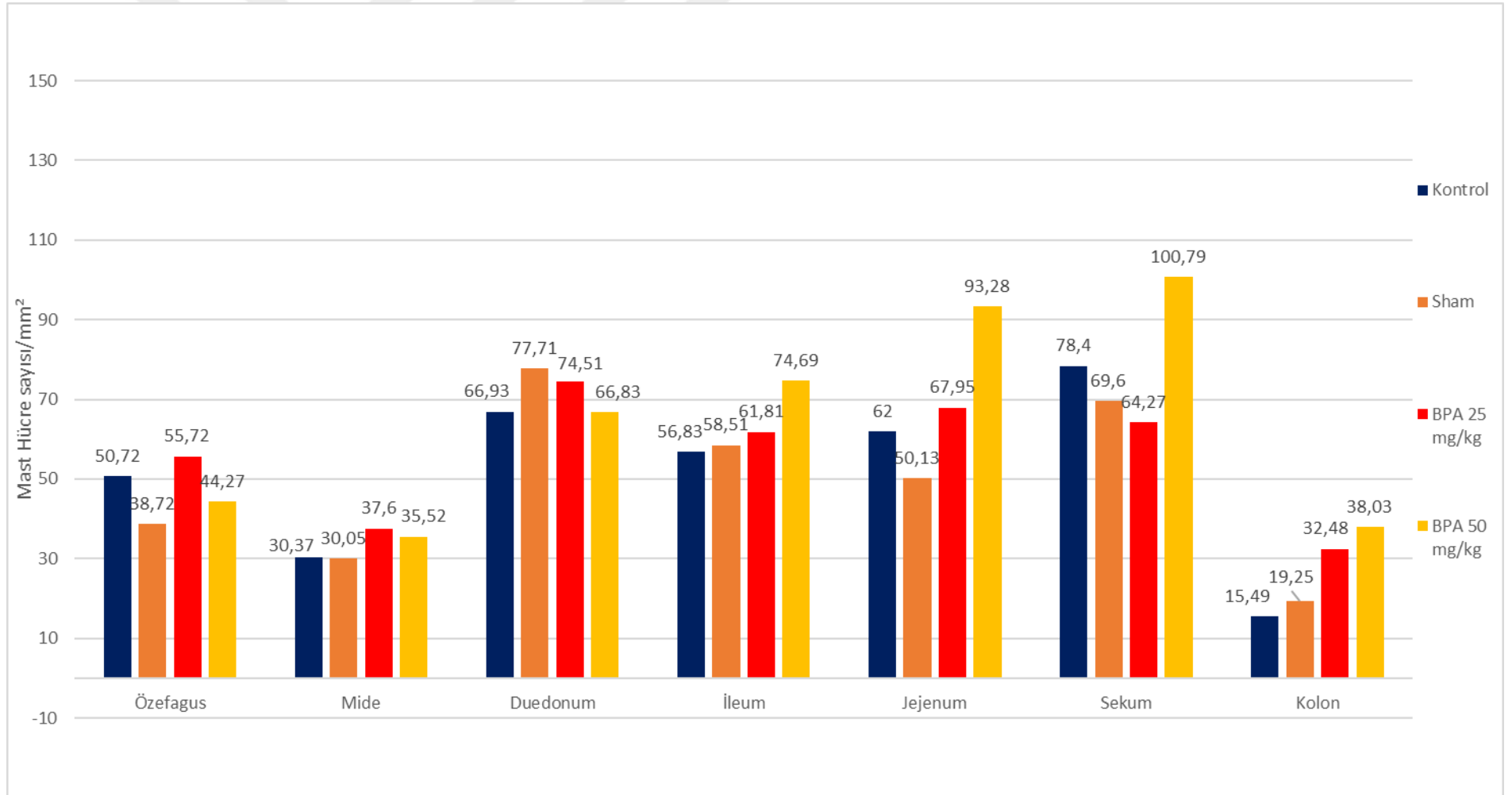
		KONTROL		SHAM		BPA-25mg/kg		BPA-50mg/kg	
		Carnoy	BLA	Carnoy	BLA	Carnoy	BLA	Carnoy	BLA
Özefagus	AB	+++	+	+++	+	+++	+	+++	+
	SO	++	++	++	+	+	+++	+	+++
	Mix	++	+++	+	+++	++	++	++	++
Mide	AB	+++	+	+++	++	+++	+	+++	++
	SO	++	+	+	+	+	+	+	+
	Mix	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
Duedonum	AB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SO	-	-	±	-	±	-	-	±
	Mix	±	±	-	±	±	±	±	±
İleum	AB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SO	-	±	-	-	-	-	-	-
	Mix	-	±	±	-	±	-	-	-
Jejenum	AB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SO	-	±	±	-	±	-	±	-
	Mix	-	±	-	-	±	-	±	-
Sekum	AB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SO	±	±	+	-	±	±	±	+
	Mix	+	+	++	+	++	++	+	++
Kolon	AB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	SO	-	-	-	±	±	±	±	-
	Mix	-	±	±	±	±	+	±	±
(-) Mevcut değil (±) Çok seyrek (+) Seyrek (++) Az sayıda (+++) Fazla sayıda									



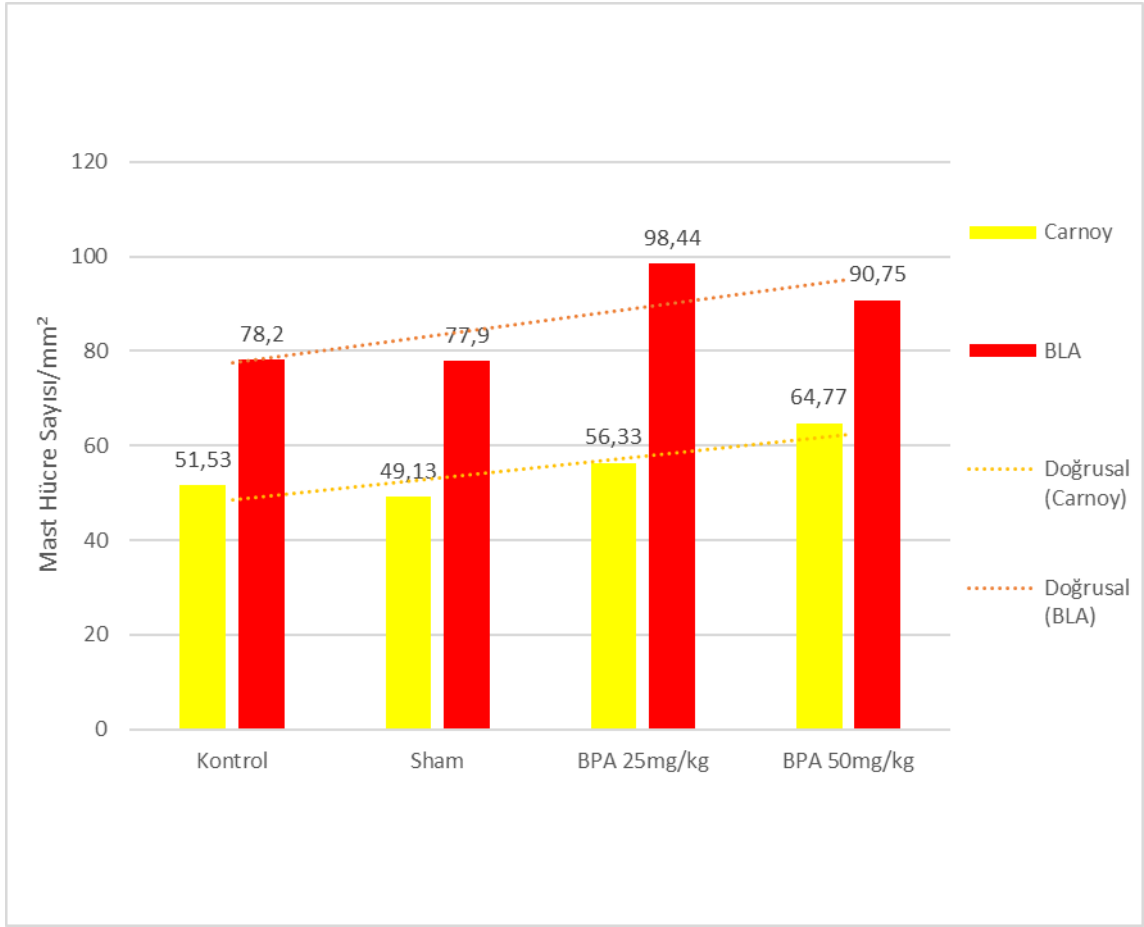
Şekil 23. Tespit solüsyonlarına göre ortalama mast hücresi sayıları



Şekil 24. BLA tespitinde organlara göre mast hücrelerinin ortalama sayıları



Şekil 25. Carnoy tespitinde organlara göre mast hücrelerinin ortalama sayıları



Şekil 26. BLA ve Carnoy tespit solüsyonlarında Mast hücrelerinin deney gruplarındaki ortalama sayıları

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

BPA plastik sanayide kullanılan kimyasal bir bileşendir. Yiyecek ve içecek kaplarında kullanılmasından dolayı en fazla maruz kalma sindirim yoluyla olmaktadır. Bu çalışmada sindirim yoluyla alınan BPA'nın sindirim kanalını oluşturan organlardaki Mast hücrelerinin heterojenite ve dağılımı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BPA'nın immun sistem hücreleri ve özellikle mast hücreleri üzerine etkileri anlamında çok sınırlı sayıda literatür bilgi bulunmaktadır (O'Brien ve ark., 2014a, 2014b). Bundan dolayı BPA veya mast hücreleri üzerine yapılmış diğer türlerdeki literatürler ile tartışma yoluna gidilmiştir.

Çalışmada ratların sindirim kanalına ait özefagus, mide, ince ve kalın bağırsaklardan alınan parçaların tespiti için Carnoy ve BLA tespit solüsyonları (Strobel ve ark., 1981), Mast hücrelerini boyamak için ise TB ve AB-SO 8GX kombine boyaları kullanılmıştır (Uslu ve Yörük, 2013).

Literatür bilgide daha önce Mast hücrelerinin tespiti için olumlu sonuçlar elde edilen Carnoy ve BLA tespit solüsyonları bu tez çalışmasında da kullanılmıştır. Bu çalışmanın bulgularına göre her iki tespit solüsyonunun da mast hücrelerinin korunması için uygun olduğunu söylemek mümkündür. Bununla birlikte BLA tespit solüsyonundan elde edilen sonuçların Carnoy tespitine oranla oldukça iyi olduğu gözlemlendi. Çünkü BLA tespitli dokularda mast hücre hatları daha belirgin, granülleri daha net ve kullanılan her iki boyama metodunda da ışık mikroskopik düzeyde daha iyi sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Aynı şekilde istatistiksel analiz sonuçlarında da BLA tespitli dokularda daha fazla sayıda mast hücresi tespit edilmiştir (Şekil 23).

Bir çalışmada (Uslu ve Yörük, 2013) mast hücrelerinin tespiti için kullanılan 3 tespitten (BLA, Carnoy, IFAA) kazların solunum yollarında IFAA, ördeklerin ise BLA ve IFAA tespitlerinden daha iyi sonuçlar alındığı vurgulanmıştır. Sindirim kanalında

BLA ve Carnoy tespitlerini kullanarak yapılan bu çalışmada da BLA tespitli dokularda mast hücrelerinin daha iyi korunduğu sonucuna varılmıştır. Yine köpek derisinde yapılan bir çalışmada (Becker ve ark., 1985) BLA ile tespit edilen doku örneklerinde diğerlerine nazaran daha fazla sayıda mast hücresi tespit edildiği bildirilmektedir. Hindilerin sindirim kanalında yapılan bir diğer çalışmada da (Uslu ve Yörük, 2008) BLA ile tespit edilen dokularda bazofilik granüllerin daha belirgin olarak gözlemlendiği belirtilmektedir. Araştırma bulguları tüm bu çalışmalar ile de paralellik göstermektedir.

Demirbağ ve ark. (2012) rat sindirim kanalında mast hücrelerinin heterojenite ve dağılımını incelemek için yaptıkları çalışma da Carnoy tespit solüsyonunda mast hücre granüllerinin iyi tespit olmadığını gözlemlemişlerdir. Yine bu çalışmada 3 farklı tespit ve 3 farklı boyama yöntemi sonucunda sayısal olarak en fazla mast hücresine TB boyamasında rastlanmıştır. AB-SO kombine boyamasında da Safranin (+) ve mix (+) mast hücrelerinin sayıları çok düşüktür. Bu bulgular yapılan bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Mast hücre heterojenliğinin insan bağırsağında incelendiği bir araştırmada (Befus ve ark., 1985) Formalin, BLA ve Carnoy tespit solüsyonları bu çalışmaya benzer olarak kullanılmıştır. Çalışmada BLA tespitinin ardından AB boyaması ile en yüksek Mast hücre sayısı, Formalin tespitinin ardından ise AB ve TB boyamalarında en düşük Mast hücre sayısı saptanmıştır. Carnoy tespitinin ardından AB boyaması ise BLA ile benzer sonuçlar vermesine karşın Carnoy da daha dağınık bir görüntü olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada kullanılan tespit solüsyonlarından elde edilen bulgular yapılan tez çalışması ile uyum içerisinde iken boyamalara göre tespit edilen mast hücreleri için aynı durum söylenemez.

Kedi ve köpeklerin üreme organlarında yapılan bir çalışmada (Hamouzova ve ark., 2020) %4 formaldehit, Carnoy, BLA ve IFAA tespitleri kullanılmıştır. Ovaryum ve uterusu Carnoy tespitli mast hücrelerinin sayılarının diğerlerinden oldukça fazla olduğu bildirilmektedir. Bu araştırmada ise kedi ve köpek üreme organlarının aksine BLA tespitli dokularda çok daha fazla mast hücresi sayısına ulaşılmıştır. Tavuk ve bıldırcın sindirim sistemi organları üzerine yapılan bir diğer çalışmada da (Karaca ve

Yörük, 2004) her iki tür içinde granüler yapının belirlenebilmesi için BLA tespit solüsyonu, metakromazik boyama için ise Carnoy tespit solüsyonu daha uygun görülmüştür. Bu araştırma için ise Carnoy tespiti ile ilgili olarak aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Öte yandan en fazla mast hücrelerinin BLA ile tespit edilmiş doku örneklerinde görülmesi ise benzerlik göstermektedir.

Chen ve ark. (1990) sığır ve koyunların alt solunum yollarında mast hücrelerini inceledikleri araştırmalarında bu çalışmaya benzer olarak değişik şekillerde Mast hücreleri ile karşılaşmışlardır. Kullandıkları tespit solüsyonlarında İFAA'nın nötral tamponlu formalinden daha iyi sonuçlar verdiğini ifade etmektedirler. BLA ve Carnoy tespitlerini kullanıldığı bu çalışmamızda ise BLA'nın Carnoy'dan daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Mast hücrelerinin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi için en çok tercih edilen boyalardan olan toluidine blue ve alcian blue-safranin O 8GX kombine boyaları bu tez çalışmasında kullanılmıştır. TB boyamasında Mast hücreleri mor-menekşe renginde göstermiş oldukları metakromazi ile kolayca ayırt edilmişlerdir. Yine bu boyama sonucunda Mast hücrelerinin yapıları ve içerisindeki granüller net bir şekilde gözlenmiştir. AB-SO boyamasında ise rat sindirim kanalının neredeyse alınan her doku örneğinde mavi renkli boyanan AB (+) mast hücreleri, kırmızı renkli boyanan S (+) mast hücreleri ve hem kırmızı hem de mavi renkli boyanan mix (+) mast hücreleri oldukça iyi bir şekilde görülmüştür. Ancak bu boyama sonucunda görülen mast hücreleri granüllerinin sindirim kanalı boyunca büyük çoğunluk ile özellikle Carnoy tespitli dokularda homojen görünümlü olması dikkat çekmiştir.

Ratların sindirim kanalında TB ve AB-SO boyamaları kullanılarak yapılan bir çalışmada (Saavedra-Delgado ve ark., 1984) mast hücrelerinin boyanma özellikleri bu araştırma ile benzerdir. Ancak bu çalışmada AB-SO boyaması ile tespit edilen atipik mast hücre sayısının daha fazla olduğu bildirilmektedir. Bu durum tez çalışmasının bulguları ile örtüşmemektedir. Ayrıca aynı çalışmada yanaklarda, dilde, yemek borusunun üst ve alt kısımlarında ve nonglandüler midede sadece AB ile boyanan tipik mast hücrelerinin tespit edildiği, diğer sindirim kanalı bölümlerinde ise SO ile boyanan

atipik mast hücrelerinin olduğu da bildirilmektedir. Yine bu bulgular da tez çalışmamız ile benzerlik göstermemektedir. Çünkü sindirim kanalının incelenen bölgelerinin tamamında AB ile boyanan ve tipik mast hücresi olarak belirtilen mast hücrelerinin daha fazla sayıda olduğunu tespit edilmiştir. (Tablo 2) Sığır ve buzağların alt solunum yollarında mast hücrelerini inceleyen Chen ve ark. (1990) AB-SO boyaması sonucunda sadece AB (+) rastladıklarını bildirmektedirler. Bu tez çalışmasında ise ratların sindirim kanalını oluşturan organlardan alınan neredeyse tüm doku örneklerinde ise S (+) ve mix (+) Mast hücrelerine de rastlanmıştır.

Kaz ve Ördek (Uslu ve Yörük, 2013), hindi (Uslu ve Yörük, 2008), bıldırcın ve tavuk (Kurtde ve Yörük, 1995), sığır, koyun ve keçilerde (Ertuğrul ve Kurtde, 2017) yapılan mast hücresi çalışmalarında bu tez çalışmasında olduğu gibi mast hücreleri TB boyama metodu ile metakromazi göstererek kolayca ayırt edilmişlerdir.

Ertuğrul ve ark. (2018) 5 farklı kanatlı türünde yaptıkları çalışmada TB boyamasında incelenen bölümlerin çoğunda mast hücrelerinin homojen boya almasından dolayı granüllerini tespit edememişlerdir. Bu tez çalışmasında ise TB boyamasında sindirim kanalı boyunca mast hücrelerinin çoğunluğunun granülleri net bir şekilde ayırt edilmiştir. Anlatılan homojen boyanma durumuna genellikle submukoza ve lamina propiye bölgelerinde az olarak karşılaşılmıştır. Bunun dışında mast hücrelerinin şekilleri, çoğunlukla bulundukları alanlar, AB-SO boyamasından elde ettikleri bulgular bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Başka bir çalışma da Kurtde ve Yörük (1995) deride yaptıkları TB boyamada mast hücrelerinin çeşitli şekillerde tespit edildiğini ve sitoplazmalarının homojen bir şekilde boyandığından dolayı hücre granüllerinin ayırt edilemediğini hatta bu homojen görünümün bazı hücrelerde çekirdeğinde görünmesini engellediğini ifade etmektedirler. Bu tez çalışmasında ise belirgin olarak böyle bir durumla karşılaşılmamıştır. Yine aynı çalışmada elektron-mikroskopik inceleme için alınan yarı ince kesitlerde TB boyaması yapıldığında granüllerin tek tek seçilebildiği de bildirilmektedir.

Tung Wang (1991) yaptığı çalışmasında tavukların ince bağırsaklarında AB-SO 8GX boyaması neticesinde villuslardaki mast hücrelerinin sadece mavi renkte boya almış granüller içerdiğini submukozadakilerin ise hem mavi hem de kırmızı granüller içerdiğini gözlemlemiştir. Rat sindirim kanalında yapılmış olan bu çalışmada ise AB (+), S (+) ve Mix (+) mast hücrelerine ince bağırsak kısımlarında rastlanmış olsa da bu hücrelerin çoğunluğunu AB (+) mast hücreleri oluşturmaktadır. Diğerleri ise ince bağırsak kısımlarında çok seyrek olarak gözlenmiştir. Yörük ve Uslu (2008) hindilerin sindirim kanalında yapmış oldukları çalışma da AB-SO kombine boyaları ile boyanan doku örneklerinde bağ doku mast hücrelerinin kırmızı, mukozal mast hücrelerinin ise mavi renkli boyandığını ve Safranin O ile boyanan mast hücrelerine çok az sayıda rastlandığını bildirmektedirler. Bu sonuçlar da yapılan bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Yörük ve Karaca'nın (2004) AB-SO kombine boyaması sonucu tavuk ve bıldırcın sindirim kanalındaki mast hücreleri üzerine elde ettikleri bulgular bu araştırma ile benzerlik göstermektedir. Bu çalışmadan farklı olarak ratların sindirim kanalını oluşturan organ bölümlerinin tamamında çok az miktarlarda da olsa safranin (+) reaksiyon gösteren mast hücrelerine de rastlanmıştır. Bunun haricinde mast hücrelerinin AB-SO boyanma özellikleri ve bulundukları bölgeler anlamında benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Ratların sindirim kanalında yapılmış olan bu tez çalışmasında mast hücreleri sindirim kanalının özefagus, mide ve kolon bölümlerinde submukoza katmanında, geriye kalan bağırsak bölümlerinde ise çoğunlukla villus ve kriptlerin bulunduğu bölgelerde yoğunlaşmış olduğu saptanmıştır. Genel olarak bakıldığında ise en çok mast hücrelerine lamina propiye ve submukoza katmanlarında rastlandığı söylenebilir. Mast hücrelerinin yapıları genel olarak oldukça iri, granülleri belirgin, şekilleri ise yuvarlak, oval, iğ veya diğer şekillerde kan damarlarına yakın tek tek veya gruplar halinde yerleştiği gözlenmiştir.

Yapılan istatistiksel analizlerde tespit farklı gözetilmeden bakıldığında en az mast hücrelerine mide kısmında (Ort:35,81), en fazla mast hücrelerine ise sekum kısmında

(Ort:118,04) rastlanmıştır (Tablo 1). BPA'nın oral gavaj yoluyla uygulandığı deney grupları ile kontrol ve sham grupları kıyaslandığında ise BPA uygulanan deney gruplarında mast hücre sayılarında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 26). Mast hücre sayılarındaki artış tespit türü, deney grubu ve organlar da dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise asıl farkın jejunum, sekum ve kolon kısımlarında oluştuğunu görmek mümkündür. Diğer organ bölümlerinde ise fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 1) ($p<0.05$).

İnsan jejunumunda yapılan bir çalışmada (Strobel ve ark., 1981) submukoza kısmında bulunan mast hücrelerinin büyük ve çekirdeğin üzerini örten birçok granül içerdiği, mukoza kısmında bulunanların ise daha küçük ve az sayıda granül içerdiği ayrıca daha önceki çalışmalarda bu farkın sıçanlarda bildirildiği de ifade edilmektedir. Ancak rat sindirim kanalında yapılan bu tez çalışmasında bu anlamda belirgin bir fark saptanamamıştır.

Ertuğrul ve Kurtdece (2017) yaptıkları çalışmada sığır, koyun ve keçilerin üriner sisteminde mast hücrelerinin farklı büyüklüklerde yuvarlak, oval ya da mekik şeklinde olduğunu, merkezi veya ekzantrik konumda yerleşmiş olan hücre çekirdeğinin çoğunlukla granüller tarafından örtüldüğünü gözlemlemişlerdir. Yine bu çalışmada üç hayvan türünde de mast hücrelerinin çoğunlukla lamina propriyada özellikle subepitelyal yerleşimde olduğunu, submukoza ve tunika adventisyada da çoğunlukla kan damarlarının çevresinde olmak üzere tek tek veya gruplar halinde mast hücrelerine rastlandığını ayrıca tunika muskulariste kas demetleri arasında da mast hücrelerinin varlığının tespit edildiği de bildirilmektedir. Bu bulgular yapılan çalışmamızdaki bulgular ile paraleldir.

Kazların solunum yollarında yapılan çalışmada (Uslu ve Yörük, 2013) mast hücrelerinin çoğunluğunun lamina propriyada subepitelyal alanlarda tespit edildiği ifade edilmektedir. Rat sindirim kanalında yapılmış olan çalışmamızda da buna benzer bir sonuç elde edilmiştir. Yine aynı çalışma da mast hücrelerinin lamina propriyada epitele ve kan damarlarına yakın, tunika adventisyada ise kan damarları ve kaslara yakın olarak tespit edilmiştir. Yerleşim yerlerine göre de yuvarlak, oval, mekik şeklinde mast

hücreleri bildirilmiştir. Söz konusu araştırmadaki bulgular bu yönüyle çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Hindilerde yapılan bir çalışmada (Uslu ve Yörük, 2008) istatistiksel analiz sonuçlarında en fazla mast hücresi BLA tespitli dokularda ve incelenen katmanlardan submukozada olduğu bildirilmektedir. Bu sonuçlar tez çalışması ile paraleldir. Sindirim kanalının en fazla mast hücresi görülen kısmı olarak ön mide, en az görülen kısımları ise kolon ve taşlık olarak belirtilmektedir. Bu bilgiler ise çalışmamız bulguları ile uyuşmamaktadır. Çünkü bu araştırmamızda en fazla mast hücresi görülen kısım sekum, en az Mast hücresi görülen kısım ise mide olarak tespit edilmiştir. Yine ineklerin sindirim kanalında yapılan bir diğer çalışmada (Küther ve ark., 1998) ön mide ve duodenumda en yüksek mast hücresi yoğunluğuna organların lamina propiyasında rastlanırken en düşük mast hücresi sayılarına ise muskuler katmanlarda rastlanmıştır. Ratların sindirim kanalındaki bu tez çalışmasında en fazla mast hücre yoğunluğu organların lamina propiya ve submukoza katmanlarında gözlenirken kas katmanlarında çok ender olarak mast hücreleri görülmüştür.

Karaca ve Yörük (2004) tavuk ve bıldırcınların sindirim kanalında mast hücrelerinin dağılım ve heterojenitesini belirlemek için yaptıkları çalışmada TB boyama sonucunda en fazla mast hücresinin tavukların proventriküllerinde, bıldırcınların ise kursak ve dillerinde tespit edildiğini bildirmektedirler. Bu çalışmanın aksine tez araştırmadaki bulgular mast hücrelerine en az midede en fazla ise sekumda karşılaştığı yönündedir. Öte yandan mast hücrelerinin boyut ve görünüşleri, yoğun olarak bulunduğu histolojik katmanlar göz önüne alındığında benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Köpek barsak mukozasında mast hücrelerini konu alan bir araştırmada (Eren ve ark., 2000) paraziter bağırsak enfestasyonu bulunan hayvanlarda tedavi öncesi ve sonrası mast hücre sayıları analiz edilmiş ve tedavi sonrasında mast hücre sayılarının azalma oranının istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca bu araştırmada paraziter enfestasyonu olmayan köpeklerde örnekler alınmış tedavi öncesi ve sonrası mast hücre sayılarında bir fark tespit edilememiştir. Bu tez

çalışmasında da BPA uygulanan ratların sindirim kanalındaki mast hücre sayıları ve uygulanmayan gruplardaki mast hücre sayıları arasında BPA uygulanan gruplarda mast hücrelerinin söz konusu çalışmaya benzer şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Mastositoz grubu, enflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) olan hasta grubu ve sağlıklı deneklerin gastrointestinal patolojik özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada (Sokol ve ark., 2013) Mast hücrelerinin mastositozlu gruplarda villusların çevresi ile perikriptik veya subkriptik alanlarda çoğunlukta olduğu bildirilmektedir. Aynı zamanda hastalık gruplarının her ikisinde de mast hücre sayılarının her zaman daha yüksek seyrettiği ifade edilmektedir. Bu hastalıklarda gastrointestinal bir tepki olarak artan mast hücre sayısı BPA uygulaması yapılan deney hayvanlarında da görülmüştür. Yine bu hastalıklarda olduğu gibi mast hücreleri atopik dermatit ve sedef hastalığı gibi iltihaplı deri hastalıklarıyla güçlü bir ilişki sergilemelerine rağmen çölyak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu gibi hastalıklarda da mukozalarda artmış sayıda mast hücresi bildirilmektedir (Frossi ve ark., 2018).

Mast hücreleri hücre yüzeyindeki çok sayıda reseptöre etki eden uyarılar ile aktive edilebilir. En çok bilinen mast hücresi aktivasyonu yüzeydeki IgE reseptörünün aracılık ettiği bir alerjik reaksiyondur. Yine mast hücreleri bakteriler, parazitler, virüsler ve mantarlar gibi istilacıların erken ve hızlı bir biçimde algılanması için donatılmışlardır. Bu patojenler mast hücre yüzeyinde ki TLRs (Toll Benzeri Reseptörler) tarafından tanınır (da Silva ve ark., 2014). BPA'nında östrojen reseptörlerine ek olarak TLRs'ler gibi birçok reseptöre bağlandığı bilinmektedir (Xu ve ark., 2016). Bu bağlamda yapılan tez çalışmasında istatistiksel olarak elde edilen BPA uygulaması sonucu mast hücrelerindeki sayıca artış ve ışık mikroskopik bulgular bu reseptörlere bağlanma sonucu uyarım ile elde edilmiş olabilir.

Mast hücrelerinin aktivasyonu ile ilgili bir çalışmada (Akin, 2017) bu aktivasyonun patolojik klinik semptomlara neden olabileceği iki durum tanımlanmaktadır. Birincisi mast hücrelerinin kalitatif ve kantitatif olarak anormal üretildiği durumlar, ikincisi ise mast hücresi aktivasyonunun bedeni algılanan tehlikeden koruma ihtiyacı ile orantısız olduğu zamanlardır. Bu durum

enfeksiyonlardan, fiziksel tetikleyicilerden, zehirlerden veya alerjenlerden kaynaklanan yakın bir tehdit olduğunda ortaya çıkabilir. Anormal mast hücresi aktivasyonunun aşırı bir örneği de anafilaksidir. Bu tez çalışmasında BPA uygulaması sonucunda sindirim kanalının özellikle sekum bölümünde mast hücrelerinde sayıca artış olduğu ve özellikle sindirim kanalının villuslu bölgelerinde hücre granüllerinde bir azalma olduğunu gözlemlenmiştir. Bu bilgiler ışığında BPA'nın mast hücrelerini oldukça fazla aktive ettiği düşünülmektedir. Sindirim kanalında mast hücresi sayılarının artışı ve anormal aktivasyonu bir diğer çalışmada belirtildiği üzere (Ramsay ve ark., 2010) salınan mediatörleri, visseral hassasiyeti ve bağırsak bariyer fonksiyonunu da etkileyebilir.

Polikarbonat plastiklerin ve epoksit reçinelerin bir monomeri olan BPA'nın endokrinaktif bir bileşik olarak işlev gördüğü ve enflamatuvar yanıtı arttırdığı gösterilmiştir (O'Brien ve ark., 2014a). Bu çalışmamızda elde edilen istatistiksel analiz sonuçlarına göre BPA uygulanan deney gruplarında mast hücrelerinin sayıca artışı ve ışık mikroskopik düzeyde göze çarpan mast hücre granüllerindeki azalmış görüntüsü de bu bilgileri desteklemektedir.

Literatürde O'Brien ve arkadaşlarının BPA'nın mast hücre hatlarından mediatör salınımını araştırdıkları iki adet çalışmaları bulunmaktadır. (O'Brien ve ark., 2014a, 2014b) Bu çalışmaların birincisinde perinatal dönemde BPA maruziyeti ile yetişkin dönemdeki astım patogenezi arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu ilişkinin tespiti için ise astım ile ilgili inflamatuvar araçlar kemik iliğinden türetilmiş mast hücresi (BMMC) mediatörleri üzerinden değerlendirilmiştir. Bu araştırmada perinatal BPA maruziyeti sonucu BMMC'lerden sisteinil lökotrienler (CysLT), PGD₂, TNF- α ve IL-13 salınımının yetişkinlik döneminde arttığı tespit edilmiş ve perinatal BPA maruziyeti ile yetişkinlikte mast hücre düzensizliği arasında bir bağlantı kurulmuştur. (O'Brien ve ark., 2014b) ikinci çalışmada ise farelerde (insanların maruz kaldığı düşünülen miktarlarda) kısa süreli BPA maruziyetinin BMMC'lerden histamin ve CysLT'lerin salınımını arttırıp arttırmayacağı araştırılmıştır. Bu çalışmada da akut BPA maruziyeti in vitro olarak mast hücrelerinden histamin ve CysLT'lerin salınımı arttırmıştır. (O'Brien ve ark., 2014a) Yapılan bu iki çalışmadan elde edilen BPA'nın mast

hücrelerini uyarabileceği, mediatör salınımını arttırabileceği bulguları çalışmamız bulgularıyla örtüşmektedir.

İstatistiksel analiz sonuçlarında görüldüğü üzere (Tablo 1, Şekil 24, Şekil 25) BPA'nın oral gavaj yoluyla uygulandığı deney hayvanlarının sindirim kanalında meydana gelen mast hücre sayılarındaki artış jejunum, sekum ve kolonda tespit edilmiştir. Sakamoto ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (Sakamoto ve ark., 2002) oral yolla zeytinyağı içerisinde çözülerek uygulanan BPA'nın sıçanlarda karaciğerde UDP-glukurosiltransferaz UGT2B1 tarafından glukuronide metabolize edilerek safra içerisine atıldığını göstermişlerdir. Safra yoluyla ince bağırsağa geçen Bisphenol A glukuronidinin (BPA-GA) çoğunun ise sekumda dekonjuge olduğunu tespit etmişlerdir. BPA uygulamasının ardından (15 dk. sonra) ince bağırsakta BPA-GA tespit etmelerine karşın sekum ve kolon içeriğinde ise serbest haldeki BPA'yı saptamışlardır. Kolon içerisinde tespit edilen serbest BPA'nın sekuma oranla daha az olmasından dolayı da kolonda BPA'nın yeniden emildiğini belirtmektedirler. Bu bilgiler sekum ve kolonda tespit edilen mast hücre sayılarındaki artışın serbest BPA'nın mevcut olduğu sindirim bölümleriyle ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

BPA gibi dünya genelinde oldukça yaygın kullanılan ve neredeyse tüm canlıların hayatında olumsuz etkiler oluşturabilen bu kimyasalın immun sistem hücreleri, hastalıklar, doku ve organlar üzerine etkileri hakkındaki bilgi birikiminin artırılması için daha ileri çalışmaların gerekli olduğu kanısına varılmıştır. Bu tez çalışmasında BPA uygulanan deney hayvanlarındaki mast hücrelerinin heterojeniteleri, dağılımları, bulundukları histolojik katmanlar ve yapıları ortaya konulmaya çalışılmıştır. BPA'nın immun sistem hücreleri özellikle mast hücreleri üzerine etkileri anlamında yeterli literatür bilgisi olmadığından bu tez çalışmasının bu konudaki literatüre katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abraham SN, St. John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10:440–52.
- Akin C. Mast cell activation syndromes. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 140:349–55.
- Albert-Bayo M, Paracuellos I, González-Castro AM, Rodríguez-Urrutia A, Rodríguez-Lagunas MJ, Alonso-Cotner C, et al. Intestinal mucosal mast cells: key modulators of barrier function and homeostasis. *Cells.* 2019; 8:135.
- Alonso-Magdalena P, Laribi O, Ropero AB, Fuentes E, Ripoll C, Soria B, et al. Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair ca^{2+} signals in pancreatic α -cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of langerhans. *Environ Health Perspect.* 2005; 113:969–77.
- Andersen HR, Andersson A-M, Arnold SF, Autrup H, Barfoed M, Bjerregaard P, et al. Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect.* 1999; 107:20.
- Aydemir I, Kum Ş, Tuğlu Mİ. Histological investigations on thymus of male rats prenatally exposed to bisphenol A. *Chemosphere.* 2018; 206:1-8.
- Bancroft JD and Cook HC. *Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application.* 2.th ed. Edinburgh, New York: Churchill Livingstone; 1994.
- Barrett KE, Metcalfe DD. Mast cell heterogeneity: Evidence and implications. *J Clin Immunol.* 1984; 4:253–61.
- Bayraktaroğlu AG. Küçük deney hayvanlarından rat deneklerin histolojik özellikleri bunların deneysel çalışmalarda sınırlayıcı yönleri. Yücel O. *J Clin Anal Med,* 2010; doi: 10.4328/jcam.366., Türkçe (Bilimsel Kitap).
- Becker AB, Chung KF, McDonald DM, Lazarus SC, Frick OL, Gold WM. Mast cell heterogeneity in dog skin. *Anat Rec* 1985; 213:477-480.
- Befus D, Goodacre R, Dyck N, Bienenstock J. Mast cell heterogeneity in man. *Int Arch Allergy Immunol.* 1985; 76:232–6.
- Bodin J, Bølling AK, Becher R, Kuper F, Løvik M, Nygaard UC. transmaternal bisphenol a exposure accelerates diabetes type 1 development in nod mice. *Toxicol Sci.* 2014; 137:311–23.
- Braniste V, Jouault A, Gaultier E, Polizzi A, Buisson-Brenac C, Leveque M, et al. Impact of oral bisphenol a at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats. *PNAS.* 2010; 107:448–53.

- Carwile JL, Michels KB. Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003–2006. *Environ Res.* 2011; 111:825–30
- Chen W, Alley MR, Manktelow BW, Slack P. Mast cells in the bovine lower respiratory tract: Morphology, density and distribution. *Br Vet J.* 1990; 146:425–36.
- Church M, Levischaffer F. The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99:155–60.
- Demirbağ E, Çınar K, Kutlar MH, Eroğlu G, Sarı SM. Ratların (*Rattus rattus*) ince bağırsaklarında mast hücre dağılımı ve heterojenitesi. *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 2012; 7(2):92-99
- Donohue KM, Miller RL, Perzanowski MS, Just AC, Hoepner LA, Arunajadai S, et al. Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and asthma development among inner-city children. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131:736-742.
- Enerback L. Mast cell in rat gastrointestinal mucosa 1. Effects of Fixations. *Acta Path.* 1966a; 66:289-302.
- Enerback L. Mast cell in rat gastrointestinal mucosa 2. Dye-Binding an metachromatic properties. *Acta Path.* 1966b; 66:303-312.
- Eren Ü, Güzel N, Türkütanıt S, Durukan A, Ergüldürenler Ş, Kara ME. Köpeklerde barsak mukozasında mast hücreleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2000; 47:125–34.
- Ergün L. Bağ Dokusu. Özer A, editör. *Temel Histoloji.* 3. Baskı. Ankara: Dora Yayın; 2016.
- Ertuğrul T, Çiftci G, Tütüncü Ş. Formaldehite maruz kalmış ratlarda böbrek dokusunda mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi. *Vet Hek Der Derg.* 2017; 88(2)26-37.
- Ertuğrul T, Kurtde N. sığır koyun ve keçilerin üriner sistem mast hücreleri üzerinde histolojik çalışmalar. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 2017; 57:(1) 32-38.
- Ertugrul T, Tutuncu S, Kabak M, Onuk B. The distribution and heterogeneity of mast cells in tongue from five different avian species. *Anat Histol Embryol.* 2018; 47:306–12.
- Fang H, Tong W, Perkins R, Soto AM, Precht NV, Sheehan DM. Quantitative comparisons of in vitro assays for estrogenic activities. *Environ Health Perspect.* 2000; 108:7.
- Frossi B, Mion F, Sibilano R, Danelli L, Pucillo CEM. Is it time for a new classification of mast cells? What do we know about mast cell heterogeneity? *Immunol Rev.* 2018; 282:35–46.

- Hamouzova P, Cizek P, Bartoskova A, Novotny R. Different fixative solutions in the detection of mast cells in the canine and feline reproductive organs. *Folia Morphol.* 2020; 79:265–71.
- Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW, Ben-Jonathan N. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environ Health Perspect.* 2008; 116:1642–7.
- Inoue H, Yokota H, Makino T, Yuasa A, Kato S. Bisphenol A glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *ASPET Journals* 2001; 29:1084–7.
- Kamila Szymanska, Krystyna Makowska, Slawomir Gonkowski. The influence of high and low doses of bisphenol a (bpa) on the enteric nervous system of the porcine ileum. *IJMS.* 2018; 19:917.
- Karaca T, Yörük M. A Morphological and histometrical study on distribution and heterogeneity of mast cells of chicken's and quail's digestive tract. *Van Vet J.* 2004, 15 (1-2):115-121.
- Karaca T, Yörük M. Mast hücre heterojenitesi. *Van Vet J.* 2005; 16:57–60.
- Kim S, An B-S, Yang H, Jeung E-B. Effects of octylphenol and bisphenol A on the expression of calcium transport genes in the mouse duodenum and kidney during pregnancy. *Toxicol.* 2013; 303:99–106.
- Kitamura Y, Go S, Hatanaka K. Decrease of mast cells in W/W^v mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood.* 1978; 52:447-452.
- Kitamura Y, Shimada M, Hatanaka K, Miyano Y. Development of mast cells from grafted bone marrow cells in irradiated mice. *Nature.* 1977; 268:442-443.
- Koike E, Yanagisawa R, Win-Shwe T-T, Takano H. Exposure to low-dose bisphenol a during the juvenile period of development disrupts the immune system and aggravates allergic airway inflammation in mice. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2018; 32: 1-14.
- Komarek V, Gembandt C, Krinke A, Mahrous TA, Schaetti P. Synopsis of the Organ Anatomy. Krinke GJ, editörs. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat.* San Diego: Academic Press; 2000
- Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG. Mast Cell: A Multi-Functional Master Cell. *Front Immunol.* 2016; 6: 1-12.
- Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology.* 1998; 139:4252–63.
- Kurtdede N, Yörük M. Tavuk ve bıldırcın derisinde mast hücrelerinin morfolojik ve histometrik incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 1995; 42:77-83

Küther K, Audigé L, Kube P, Welle M. Bovine mast cells: distribution, density, heterogeneity, and influence of fixation techniques. *Cell Tissue Res.* 1998; 293:111–9.

Li D-K, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril.* 2011; 95:625-630.

Mahemuti L, Chen Q, Coughlan MC, Zhang M, Florian M, Mailloux RJ, et al. Bisphenol A exposure alters release of immune and developmental modulators and expression of estrogen receptors in human fetal lung fibroblasts. *J Environ Sci.* 2016; 48:11–23.

Malaviya R, Abraham SN. Mast cell modulation of immune responses to bacteria: Mast cell modulation of immune responses. *Immunol Rev.* 2001; 179:16–24.

Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4:787–99.

Menard S, Guzylack-Piriou L, Lencina C, Leveque M, Naturel M, Sekkal S, et al. Perinatal exposure to a low dose of bisphenol a impaired systemic cellular immune response and predisposes young rats to intestinal parasitic infection. *Plos One.* 2014; 9(11):1-15.

Mikolajewska K, Stragierowicz J, Gromadzińska J. Bisphenol A – Application, sources of exposure and potential risks in infants, children and pregnant women. *Int J Occup Med Environ Health.* 2015; 28(2):209-241

Moon TC, St Laurent CD, Morris KE, Marcet C, Yoshimura T, Sekar Y, et al. Advances in mast cell biology: new understanding of heterogeneity and function. *Mucosal Immunol.* 2010; 3:111–28.

Mulisch M, Welsch U. *Romeis Mikroskopische Technik.* 19. Baskı. Berlin: Springer Spektrum; 2015.

O'Brien E, Dolinoy DC, Mancuso P. Bisphenol A at concentrations relevant to human exposure enhances histamine and cysteinyl leukotriene release from bone marrow-derived mast cells. *J Immunotoxicol.* 2014a; 11:84–9.

O'Brien E, Dolinoy DC, Mancuso P. Perinatal bisphenol A exposures increase production of pro-inflammatory mediators in bone marrow-derived mast cells of adult mice. *J Immunotoxicol.* 2014b; 11:205–12.

O'Brien E, The effect of bisphenol a exposure on mast cell function and pulmonary inflammation associated with asthma (PhD thesis). Michigan: University of Michigan; 2013.

Özaydın T, Öznurlu Y, Sur E, Çelik İ, Uluişik D. The effects of bisphenol A on some plasma cytokine levels and distribution of CD8+ and CD4+ T lymphocytes in spleen, ileal Peyer's patch and bronchus associated lymphoid tissue in rats. *Acta Histochemica.* 2018; 120:728–33.

Puxeddu I, Piliponsky AM, Bachelet I, Levi-Schaffer F. Mast cells in allergy and beyond. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003; 35:1601–7.

Rağbetli MÇ, Bilgiç S, Özyazıcı A, Kaplan S, Çiftci N. Gastrointestinal sistem mast hücreleri. *Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Derg.* 1989; 6(4):535-541

Ramsay DB, Stephen S, Borum M, Voltaggio L, Doman D B. Mast cells in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol.* 2010; 6:772–7.

Ribatti D. *The Mast Cell: A Multifunctional Effector Cell.* Switzerland. Cham: Springer International Publishing; 2019.

Ribatti D. The staining of mast cells: a historical overview. *Int Arch Allergy Immunol.* 2018; 176:55–60.

Rogers JA, Metz L, Yong VW. Review: Endocrine disrupting chemicals and immune responses: A focus on bisphenol-A and its potential mechanisms. *Mol Immunol.* 2013; 53:421–30.

Saavedra-Delgado AMP, Turpin S, Metcalfe DD. Typical and atypical mast cells of the rat gastrointestinal system: Distribution and correlation with tissue histamine. *Agents Actions.* 1984; 14:1–7.

Sakamoto H, Yokota H, Kibe R, Sayama Y, Yuasa A. Excretion of bisphenol A-glucuronide into the small intestine and deconjugation in the cecum of the rat. *BBA-General Subjects.* 2002; 1573:171–6.

da Silva EZM, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem.* 2014; 62:698–738.

Shankar A, Teppala S. Relationship between urinary bisphenol A levels and diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:3822–6.

Sokol H, Georgin-Lavialle S, Canioni D, Barete S, Damaj G, Soucie E, et al. Gastrointestinal manifestations in mastocytosis: A study of 83 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132:866-873.

SPSS IBM Statistics for Windows, Released 2011. Version 20.0. IBM Corp. Armonk, NY:

Strobel S, Miller HR, Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Pathol.* 1981; 34:851–8.

Schwetz BA and Harris MW. Developmental toxicology: status of the field and contribution of the national toxicology program. *Environ Health Perspect.* 1993; 100:269-282.

Tung W. Mast cells in the chick digestive tract. II. Fixation, distribution, histochemistry and ultrastructure. *Tokai J Exp Clin Med.* 1991; 16:27–32.

Takahashi M, Komada M, Miyazawa K, Goto S, Ikeda Y. Bisphenol A exposure induces increased microglia and microglial related factors in the murine embryonic dorsal telencephalon and hypothalamus. *Toxicol Lett*. 2018; 284:113–9.

Taşlıdere E, Kuruş M, Kazancı A, Otlı A. Sıçanlarda özefagus ve midede yaşa bağlı değişimlerin histomorfolojik açıdan incelenmesi. *Fırat Med J*. 2013; 18(2):75-82

Tikoo S, Barki N, Jain R, Zulkhernain NS, Buhner S, Schemann M, et al. Imaging of mast cells. *Immunol Rev*. 2018; 282:58–72.

Treuting PM, Arends MJ ve Dintzis SM. Upper Gastrointestinal Tract. Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS, editörs. *Comparative Anatomy and Histology a Mouse, Rat, and Human Atlas*. 2.th ed. US: Academic Press; 2017.

Tolba AM, Mandour DA. Histological effects of bisphenol-A on the reproductive organs of the adult male albino rat. *Eur J Anat*. 2018; 22:89–102.

Uslu S, Yörük M. Morfological and histometric studies on mast cell distribution and heterogeneity, present in the lower respiratory tract and in the lung of local duck (anas platyrhynchase) and goose (anser anser). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2013; 19:475–82.

Uslu S, Yörük M. Hindilerde sindirim sisteminde mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi üzerine morfolojik ve histometrik araştırmalar. *Van Vet J*. 2008; 19:47–51.

Veilleux-Lemieux D, Castel A, Carrier D, Beaudry F and Vachon P. Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old sprague-dawley rats. *J Am Assoc*. 2013; 52(5): 567-570.

Welle M. Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *J Leukoc Biol*. 1997; 61:233–45.

Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*. 2014; 14:478–94.

Xu J, Huang G, Guo T. Developmental bisphenol A exposure modulates immune-related diseases. *Toxics*. 2016; 4:1-23.

Zsarnovszky A, Le HH, Wang H-S, Belcher SM. Ontogeny of rapid estrogen-mediated extracellular signal-regulated kinase signaling in the rat cerebellar cortex: potent nongenomic agonist and endocrine disrupting activity of the xenoestrogen bisphenol A. *Endocrinology*. 2005; 146:5388–96.

EKLER

Ek 1.Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Başvuru Onay Belgesi



Ek 2. Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kesin Sonuç Onay Belgesi



Ek 3. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



DOKTORA TEZİ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Bisphenol A'nın Rat Sindirim Kanalındaki Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi Üzerine Etkileri			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
2	2	42	10	64
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih		Benzerlik oranı %
Turnitin		02/08/2021		%11
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Öğrencinin Adı Soyadı İmza				

Öğrencinin Adı Soyadı	Halil Cumhur YILMAZ
Anabilim Dalı	Tıp Histoloji ve Embriyoloji ABD
Öğrenci No	169302009
Programı	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora

DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)
--	---