Dİ-N-HEKZİL FİTALAT VE DİSİKLOHEKZİL FİTALAT'A PRENATAL MARUZİYETİN ERKEK SIÇANLARIN ÜREME SİSTEMİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PRENATAL DI-N-HEXYL PHTHALATE AND DICYCLOHEXYL PHTHALATE EXPOSURE ON THE DEVELOPMENT OF THE REPRODUCTIVE TRACT OF MALE RATS

MÜFİDE (AYDOĞAN) AHBAB

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2010

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI 'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan	:….. Prof. Dr. Dürdane Kolankaya
Üye (Danışman)	:….. Prof. Dr. Nurhayat Barlas
Üye	:….. Prof. Dr. Nurşen Başaran
Üye	:….. Prof. Dr. İsmet Çok
Üye	:….. Prof. Dr. Güldeniz Selmanoğlu

ONAY

Bu tez ...../...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil DENİZLİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Canım aileme ve sevgili eşime...

Dİ-N-HEKZİL FİTALAT VE DİSİKLOHEKZİL FİTALAT'A PRENATAL MARUZİYETİN ERKEK SIÇANLARIN ÜREME SİSTEMİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Müfide (AYDOĞAN) AHBAB

ÖZ

Prenatal dönemde di-n-hekzil fitalat (DHP) ve disiklohekzil fitalatın (DCHP) erkek üreme sisteminin gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırılması bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Bu nedenle Wistar soy gebe sıçanlara 0 (mısır yağı), 20, 100 ve 500 mg/kg/gün dozlarında DHP ve DCHP, gebeliğin 6-19. günleri arasında gavaj olarak uygulanmış ve etkiler prenatal (doğum öncesi 20. gün), puberte öncesi (doğum sonrası 20. gün), pubertal (doğum sonrası 32. gün) ve ergin (3 aylık) olmak üzere farklı gelişim aşamalarında morfolojik, hormonal, histopatolojik ve sperm kalitesi yönünden incelenmiştir.

Rezorbsiyonlu döl sayısı, rezorbsiyon yüzdesinde artış görülürken, anogenital aralık ve vücut ağırlığına oranı azalmıştır. Prenatal testosteron (T) ve MIS/AMH (Mülleri inhibe eden madde) düşük doz DCHP grubu dışındaki uygulama gruplarında azalırken inhibin B seviyesi artmıştır. Puberte öncesi erkek sıçanların T seviyesi yüksek doz DHP ve orta doz DCHP uygulama gruplarında, MIS/AMH seviyeleri düşük ve yüksek DHP ve DCHP uygulama gruplarında artmıştır. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların T seviyesi düşük ve yüksek doz DHP ve DCHP uygulama gruplarında azalmıştır. Ergin sıçanlarda inhibin B seviyeleri orta ve yüksek doz DCHP uygulama gruplarında azaldığı gözlenmiştir. Tüm gelişim dönemlerindeki hayvanlara ait üreme organlarında atrofik ve bozulmuş tübül, atılan spermatojenik hücre, apoptotik hücrelerin, yapışık seminifer tübüller, Sertoli hücre vakuolizasyonu, prostat dokusunda atrofik tübüllerin ve prostatik intraepitelyal neoplazi gözlenmiştir. Prenatal testis kesitlerinde 3β-HSD ve MIS/AMH ifadesinde doza bağlı olarak azalma, Leydig hücrelerinde kümelenme tespit edilmiştir. Doğum sonrası dönemlerdeki sıçanların testislerinde MIS/AMH ifadesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Sperm sayısında fark gözlenmezken, anormal sperm yüzdelerinin arttığı tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında seminifer ve epididimal tübül çapları azalmıştır.

Yapılan bu çalışmada DHP ve DCHP erkek üreme sisteminin gelişiminde hem Leydig hücreleri üzerinde steroidojenik enzim inhibitörü olarak antiandrojenik hem de Sertoli hücreleri üzerinde östrojenik etki göstermiş olabilir. Anogenital aralık, rezorbsiyonlu döl sayısı ve rezorbsiyon yüzdesine bakıldığında DCHP'nin emriyotoksik etkisinin DHP'den daha güçlü olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Di-n-hekzil fitalat, Disiklohekzil fitalat, Endokrin bozucular, Antiandrojen, Erkek sıçan, Eşeysel gelişim, *in utero* maruziyet

Danışman: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PRENATAL DI-N-HEXYL PHTHALATE AND DICYCLOHEXYL PHTHALATE EXPOSURE ON THE DEVELOPMENT OF THE REPRODUCTIVE TRACT OF MALE RATS

Müfide (AYDOĞAN) AHBAB

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the effects of di-n-hexyl phthalate (DHP) and dicyclohexyl phthalate (DCHP) on the development of male reproductive tract *in utero.* Pregnant Wistar rats were exposed to DHP and DCHP at doses of 0, 20, 100 and 500 mg/kg/day, by gavage, on gestational days (GD) 6-19, and the effects of these phthalates on morphology, hormonal, histopathologic changes and sperm quality were observed at different developmental stages as prenatal (GD 20), prepubertal (postnatal day (PD) 20), pubertal (PD 32) and adult (PD 90) stages.

Litters with resorption and percentage of resorbtion were increased and anogenital distance (AGD) and the ratio of AGD to body weight were decreased. Prenatal testosterone (T) and MIS/AMH (Mullerian Inhibiting Substance) levels of male pups in treatment groups except for low dose DCHP treatment group were decreased where inhibin B levels was elevated. T levels of prepubertal male rats were diminished at high dose of DHP and middle dose of DCHP treatment groups and MIS/AMH levels were elevated in high dose DHP and DCHP treatment groups. T levels of pubertal male rats was decreased in low and high doses of DHP and DCHP groups. Inhibin B levels of adult male rats were diminished in middle and high doses of DCHP treatment groups. Atrophic and amorph tubules, spermatogenic cell debris, apoptotic cells, adherent tubules, Sertoli cell vacuolisation, prostatic atrophic tubules and prostatic intraepithelial neoplasia were observed in the reproductive organs of treated animals at all developmental stages. The immunoexpressions of 3β-HSD and MIS/AMH in prenatal testes sections were decreased in a dose-dependent manner and Leydig cell aggregations were observed in prenatal testes of treated rats. In testes of treated male rats at postnatal stages, there was an increase in immunoexpression of MIS/AMH. Although no changes in sperm head count were observed, the percentage of abnormal sperms were increased. The diameters of seminiferous and epididimal tubules in treatment groups were significantly decreased.

In this study, DHP and DCHP may affect on the development of male reproductive tract not only as an antiandrogen acting steroidogenic enzyme inhibitor in Leydig cells, but also as a weak estrogenic chemical in Sertoli cells. AGD, litters with resorption and resorption percentages may also reveal that embryotoxicity of DCHP is more potent than DHP.

Keywords: Di-n-hexyl phthalate, Dicyclohexyl phthalate, Endocrine disrupters, antiandrogen, Male rat, Sexual development, *in utero* exposure

Advisor: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS, Hacettepe University, Department of Biology, Zoology Section

TEŞEKKÜR

Çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen ve bana yardımcı olan danışman hocam sayın Prof.Dr. Nurhayat BARLAS'a,

Tezimin son halini almasında önerileri ile beni yönlendiren jüri üyelerine,

Çalışmamın her aşamasında yardımları ve önerileri ile beni yalnız bırakmayan Aslı KORKMAZ'a ve Araş. Gör. Cansın GÜNGÖRMÜŞ'e, yardımları için Araş. Gör. Aysun KILIÇ ve Emre GÖKTEKİN'e,

Tez çalışmam sırasında beni destekleyen herkese,

Bu çalışmanın tamamlanmasında bana maddi destek sağlayan Tübitak Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu'na (Proje No: SBAG 3106 105S073),

Çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen canım aileme ve sevgili eşim Dr. Süleyman AHBAB'a içten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ xxii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xxiii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Eşeysel Farklılaşma ve Erkek Üreme Sisteminin Gelişimi 3
2.2. Erkek Üreme Sistemi 8
2.2.1. Testis ve epididimisin yapısı 8
2.2.2. Yardımcı üreme bezlerinin yapısı 13
2.2.3. Spermatogenezin hormonal kontrolü 14
2.3. Doğal Hormonlar 16
2.3. Endokrin Bozucular 16
2.4. Plastikleştiriciler 22
2.5. DHP ve DCHP'nin Fizikokimyasal Özellikleri 25
2.6. DHP ve DCHP'ye Maruziyet ve Etkileri 25
3. GEREÇ VE YÖNTEM 33
3.1. Gereç 33
3.1.1. Kimyasal maddeler 33
3.1.2. Sıçanlar 33
3.1.3. Laboratuvar koşulları 33
3.1.4. Yem ve içme suyu tüketimi 33
3.2. Yöntem 33

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

3.2.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması ve uygulama 33
3.2.2. Gebe hayvanların vücut ağırlık değişimleri, besin ve su tüketimleri, maternal bulgular 35
3.2.3. Organ ve göreli organ ağırlıkları 36
3.2.4. Histolojik incelemeler 36
3.2.5. Hormon analizleri 37
3.2.6. İmmunofloresan boyamalar 37
3.2.7. İmmunohistokimyasal boyamalar 40
3.2.8. Sperm sayımı ve morfolojisi 41
3.2.9. Seminifer ve epididimis tübül ölçümleri 43
3.3. İstatistiksel Değerlendirme 44
4. BULGULAR 45
4.1. Gebe Sıçanlara Ait Vücut Ağırlık Verileri, Besin ve Su Tüketimleri 45
4.2. Maternal Bulgular 45
4.3. Puberte öncesi Dönemdeki Erkek Sıçanların Vücut Ağırlıkları, Organ ve Göreli Organ Ağırlıkları 51
4.4. Hormon Analiz Sonuçları 57
4.5. Histolojik Bulgular 67
4.5.1. Prenatal dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu 67
4.5.2. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu 75
4.5.3. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu 83
4.5.4. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu 92
4.5.5. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu 101
4.5.6. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu 105
4.5.7. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu 109
4.5.8. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu 112
4.5.9. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu 116
4.5.10. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu 120
4.6. Testis Dokularında 3β-HSD ve MIS/AMH İfadeleri 133
4.6.1. Prenatal testis dokularında 3β-HSD ve MIS/AMH ifadeleri 133

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

4.6.2. Prenatal dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi 137
4.6.3. Puberte öncesi dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi..... 141
4.6.4. Pubertal dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi 145
4.6.5. Ergin dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi..... 149
4.6.6. Prenatal dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi 153
4.6.7. Puberte öncesi dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi 157
4.6.8. Pubertal dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi 161
4.6.9. Ergin dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH İfadesi 163
4.7. Sperm Analiz Sonuçları 167
4.8. Seminifer ve Epididimis Tübül Ölçüm Sonuçları 175
5. TARTIŞMA 178
KAYNAKLAR..... 203
ÖZGEÇMİŞ..... 216

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1. Memeli PGH göç yolu. (A) PGH, arka bağırsak ve allantoisin birleştiği bölgenin yakınlarında vitellus kesesinde görülmeye başlar. (B) PGH bağırsak ve dorsal mezenterden geçerek genital çıkıntılara ulaşır. (C) Fare embriyosunun mezenterinden geçen PGH. (D) Dorsal mezenterden genital çıkıntıya giren PGH. (Sadler, 2000) 4

Şekil 2. 2. İnsan testisinin gelişim aşamaları (Sadler, 2000)..... 5

Şekil 2. 3. Memeli erkek üreme sisteminin anatomik yapısı (Creasy ve Foster, 2002).9

Şekil 2. 4. Sıçanda tübül boyunca seminifer tübül aşamalarının dağılımı. İki ok (➝) arasında bir tam seminifer tübül döngüsü gösterilmektedir (Kretser ve de Kerr, 1988). 11

Şekil 2. 5. Sıçanda seminifer döngü aşamalarını (I-XIV) ve bunları oluşturan hücre birliklerini gösteren diagram. (In) ara spermatogonia, (B) tip B spermatogonia, (Pl) preleptoten, (L) leptoten, (Z) zigoten, (P) pakiten, (Di) diploten, (II) sekonder spermatosit, (1-19) spermatid evreleri (Kretser ve de Kerr, 1988). 13

Şekil 2. 6. Hipotalamus-hipofiz-testis aksı [(Pierik ve ark. (2003)'den değiştirilmiştir)] 15

Şekil 2. 7. Bazı fitalat esterlerin kimyasal yapıları..... 23

Şekil 3. 1. Erkek fötuslarda ölçümü alınan anogenital aralık. 36

Şekil 3. 2. Hormon analizinde kullanılan Elisa analiz prensibinin şematik gösterimi.. 38

Şekil 3. 3. İmmünofloresan boyama. a/e) Primer antikor eklenmesi b/f) Biyotinli sekonder antikor eklenmesi c/g) Avidinle konjuge FITC ve Texas Red eklenmesi d/h) Blokaj basamağı (Vector Laboratories). 40

Şekil 3. 4. İmmünohistokimyasal boyama. a) Primer antikor eklenmesi b) Biyotinli sekonder antikor eklenmesi c) Avidinle konjuge NovaRed eklenmesi d) Blokaj basamağı (Vector Laboratories). 41

Şekil 3. 5. VII. ve VIII. aşamadaki seminifer tübüller. PAS boyası, x450. 43

Şekil 3. 6. Seminifer tübülde ölçülen tübül çapı (↔), lümen çapı (↔) ve epitel yüksekliği (↔). PAS boyası, x180. 44

Şekil 4. 1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük vücut ağırlık artışı..... 46

Şekil 4. 2. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük besin tüketimi..... 47

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 3. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük su tüketimi 48

Şekil 4. 4. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında erkek fötuslara ait vücut ağırlığı, anogenital aralık ve anogenital aralık/vücut ağırlık oranı. 50

Şekil 4. 5. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum testosteron seviyeleri. 61

Şekil 4. 6. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum MIS/AMH seviyeleri 62

Şekil 4. 7. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum inhibin B seviyeleri 63

Şekil 4. 8. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum FSH seviyeleri 64

Şekil 4. 9. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum LH seviyeleri 65

Şekil 4. 10. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum östradiyol seviyeleri 66

Şekil 4. 11. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x50) 68

Şekil 4. 12. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200) 68

Şekil 4. 13. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun görünümü. (H&E Boyama, x50) 69

Şekil 4. 14. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda kısmen oluşmuş seminifer tübüller (➡). (H&E Boyama, x200) 69

Şekil 4. 15. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda seminifer tübül oluşumunda gecikme (➡) ve Leydig hücre kümelenmesi (➡). (H&E Boyama, x50) 70

Şekil 4. 16. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül oluşumunda gecikme (➡). (H&E Boyama, x200) 70

Şekil 4. 17. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), normalden küçük tübüller (➡). (H&E Boyama, x50) 71

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 18. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüllerde giant hücreler (➡) ve tübül çeperinde ayrılma (➡). (H&E Boyama, x200) oklar 71

Şekil 4. 19. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), normalden küçük tübüller (➡). (H&E Boyama, x50) 72

Şekil 4. 20. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda normalden küçük ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x200) 72

Şekil 4. 21. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x50) 73

Şekil 4. 22. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül çeperinde ayrılma (➡) ve piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) oklar 73

Şekil 4. 23. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül çeperinde ayrılma ve bitişik tübüller. (H&E Boyama, x200)..... 74

Şekil 4. 24. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), atrofik (➡) ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x50) 74

Şekil 4. 25. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda sadece Sertoli hücrelerini içeren (➡) ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x200) 75

Şekil 4. 26. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 76

Şekil 4. 27. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda anormal tübüller (➡), atrofik tübüller (➡) ve atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 77

Şekil 4. 28. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200) 77

Şekil 4. 29. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) .. 78

Şekil 4. 30. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ödem (➡). (H&E Boyama, x200)..... 78

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 31. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) 79

Şekil 4. 32. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) 79

Şekil 4. 33. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler (➡) ve Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)..... 80

Şekil 4. 34. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan hücreler (➡) ve piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) 80

Şekil 4. 35. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200) 81

Şekil 4. 36. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) 81

Şekil 4. 37. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda apopitotik hücrelerde artış (➡). (H&E Boyama, x200) 82

Şekil 4. 38. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda sadece Sertoli hücrelerini içeren tübül (➡). (H&E Boyama, x200) 82

Şekil 4. 39. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan piknotik çekirdekli spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) 83

Şekil 4. 40. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 84

Şekil 4. 41. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümensiz tübüller. (H&E Boyama, x100)..... 85

Şekil 4. 42. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan spermatojenik hücreler (➡), atrofik ve şekilsiz tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)..... 85

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 43. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik, şekilsiz tübüller (➡) ve giant hücreleri (➡). (H&E Boyama, x100) 86

Şekil 4. 44. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡), ödem (➡) ve atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 86

Şekil 4. 45. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller. (H&E Boyama, x100) 87

Şekil 4. 46. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller. (H&E Boyama, x100) 87

Şekil 4. 47. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200) 88

Şekil 4. 48. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübül (➡). (H&E Boyama, x200) 88

Şekil 4. 49. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x200) .. 89

Şekil 4. 50. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik, şekilsiz tübüller (➡) ve giant hücreleri (➡). (H&E Boyama, x200) 89

Şekil 4. 51. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda bitişik seminifer tübüller. (H&E Boyama, x200) 90

Şekil 4. 52. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡) ve ödem (➡) (H&E Boyama, x200) 90

Şekil 4. 53. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (➡). (H&E Boyama, x200) 91

Şekil 4. 54. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (➡) ve giant hücreleri (➡) (H&E Boyama, x200) 91

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 55. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübül (➡). (H&E Boyama, x200) 92

Şekil 4. 56. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)..... 93

Şekil 4. 57. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100)..... 94

Şekil 4. 58. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) .. 94

Şekil 4. 59. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) .. 95

Şekil 4. 60. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda hasarlı tübüller ve tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100) 95

Şekil 4. 61. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100) 96

Şekil 4. 62. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında Leydig hücrelerinde artış (➡). (H&E Boyama, x100) 96

Şekil 4. 63. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ödem (➡). (H&E Boyama, x100)..... 97

Şekil 4. 64. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200)..... 97

Şekil 4. 65. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200) 98

Şekil 4. 66. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüllerde Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)..... 98

Şekil 4. 67. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübül (➡). (H&E Boyama, x200) 99

Şekil 4. 68. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübül (➡) ve Sertoli hücre vakuolizasyonu(➡). (H&E Boyama, x200)..... 99

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 69. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡) ve ödem (➡). (H&E Boyama, x200) 100

Şekil 4. 70. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡), atrofik tübüller (➡) ve ödem (➡). (H&E Boyama, x200) 100

Şekil 4. 71. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda hücrelerde vakuolizasyon. (H&E Boyama, x200) 101

Şekil 4. 72. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 102

Şekil 4. 73. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünüşü. (H&E Boyama, x100) 102

Şekil 4. 74. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 103

Şekil 4. 75. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 103

Şekil 4. 76. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡) ve atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 104

Şekil 4. 77. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 104

Şekil 4. 78. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 105

Şekil 4. 79. Yağ Kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 106

Şekil 4. 80. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda lümeni daralmış tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 106

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 81. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 107

Şekil 4. 82. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler. (H&E Boyama, x100) 107

Şekil 4. 83. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 108

Şekil 4. 84. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100) 108

Şekil 4. 85. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 109

Şekil 4. 86. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)... 110

Şekil 4. 87. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)..... 110

Şekil 4. 88. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 111

Şekil 4. 89. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunda lümende kontrole göre sperm azlığı (➡). (H&E Boyama, x100)..... 111

Şekil 4. 90. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunda sperm içermeyen tübül (➡). (H&E Boyama, x100) 112

Şekil 4. 91. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 113

Şekil 4. 92. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda normal tübüller arasında atrofik tübüller (➡) (H&E Boyama, x100)..... 113

Şekil 4. 93. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)..... 114

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 94. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 114

Şekil 4. 95. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 115

Şekil 4. 96. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 115

Şekil 4. 97. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 116

Şekil 4. 98. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100) 117

Şekil 4. 99. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡) ve intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100) 117

Şekil 4. 100. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda tüm tübüllerde prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)..... 118

Şekil 4. 101. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100) 118

Şekil 4. 102. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100) 119

Şekil 4. 103. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100) 119

Şekil 4. 104. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100) 120

Şekil 4. 105. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100) 121

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 106. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡) ve bağ dokuda artış (➡). (H&E Boyama, x100) 121

Şekil 4. 107. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100) 122

Şekil 4. 108. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡) ve bağ dokuda artış (➡). (H&E Boyama, x100) 122

Şekil 4. 109. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100) 123

Şekil 4. 110. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda neoplazi. (H&E Boyama, x100)..... 123

Şekil 4. 111. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100) 124

Şekil 4. 112. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100) 124

Şekil 4. 113. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100) 125

Şekil 4. 114. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200) 133

Şekil 4. 115. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 134

Şekil 4. 116. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 134

Şekil 4. 117. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 135

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 118. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 135

Şekil 4. 119. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 136

Şekil 4. 120. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)..... 136

Şekil 4. 121. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinin normal dağılımı ve normal 3β-HSD ifadesi görülmektedir. (x50) 137

Şekil 4. 122. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50) 138

Şekil 4. 123. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50) 138

Şekil 4. 124. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)..... 139

Şekil 4. 125. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)..... 139

Şekil 4. 126. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50) 140

Şekil 4. 127. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50) 140

Şekil 4. 128. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)..... 141

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 129. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 142

Şekil 4. 130. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 142

Şekil 4. 131. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 143

Şekil 4. 132. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 143

Şekil 4. 133. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 144

Şekil 4. 134. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 144

Şekil 4. 135. Yağ kontrol grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 145

Şekil 4. 136. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 146

Şekil 4. 137. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100). 146

Şekil 4. 138. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 147

Şekil 4. 139. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 147

Şekil 4. 140. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 148

Şekil 4. 141. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 148

Şekil 4. 142. Yağ kontrol grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x200) 149

Şekil 4. 143. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 150

Şekil 4. 144. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100) 150

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 145. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi, Leydig hücrelerinde çoğalma. (x100)..... 151

Şekil 4. 146. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi, Leydig hücrelerinde çoğalma. (x100)..... 151

Şekil 4. 147. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)..... 152

Şekil 4. 148. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)..... 152

Şekil 4. 149. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)..... 153

Şekil 4. 150. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 154

Şekil 4. 151. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 154

Şekil 4. 152. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 155

Şekil 4. 153. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 155

Şekil 4. 154. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 156

Şekil 4. 155. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50) 156

Şekil 4. 156. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)..... 157

Şekil 4. 157. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 158

Şekil 4. 158. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 158

Şekil 4. 159. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 159

Şekil 4. 160. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 159

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 161. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 160

Şekil 4. 162. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 160

Şekil 4. 163. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100) 161

Şekil 4. 164. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda artmış MIS/AMH ifadesi. (x100) 162

Şekil 4. 165. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda artmış MIS/AMH ifadesi. (x100) 162

Şekil 4. 166. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 163

Şekil 4. 167. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 164

Şekil 4. 168. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 164

Şekil 4. 169. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 165

Şekil 4. 170. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 165

Şekil 4. 171. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 166

Şekil 4. 172. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200) 166

Şekil 4. 173. Ergin erkek sıçanlara ait sperm sayım verileri 169

Şekil 4. 174. Ergin erkek sıçanlara ait normal ve anormal sperm yüzdeleri 169

Şekil 4. 175. Ergin erkek sıçanlara ait baş, boyun ve kuyruk defektli sperm yüzdeleri. 170

Şekil 4. 176. Yağ kontrol grubundaki ergin erkek sıçanlarda normal spermlerin görünümü. (Eosin Y boyama, X200) 171

Şekil 4. 177. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve kamçı kuyruk (kk). (Eosin Y boyama, X200) 171

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4. 178. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200) 172

Şekil 4. 179. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200) 172

Şekil 4. 180. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Küçük baş (kb), anormal şekilli baş (ab), kuyruksuz baş (ksb) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200)..... 173

Şekil 4. 181. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Anormal şekilli baş (ab) ve başsız kuyruk (bsk). (Eosin Y boyama, X200)..... 173

Şekil 4. 182. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Küçük baş (kb) ve kamçı kuyruk (kk). (Eosin Y boyama, X200) 174

Şekil 4. 183. Ergin erkek sıçanlarda seminifer tübül ve lümen çapı, epitel yüksekliği ölçüm sonuçları 176

Şekil 4. 184. Ergin erkek sıçanlarda epididimal tübül ve lümen çapı, epitel yüksekliği ölçüm sonuçları 177

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2. 1. DCHP'nin moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri..... 26

Çizelge 2. 2. DHP'nin moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri 27

Çizelge 3. 1. Çalışmada yer alan gruplar ve gruplarda bulunan hayvan sayıları (n).. 35

Çizelge 4. 1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında yer alan gebe sıçanlardan elde edilen maternal ve fötuslara ait bulgular 49

Çizelge 4. 2. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait organ ağırlıkları (g) 53

Çizelge 4. 3. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait göreli organ ağırlıkları (mg/kg)..... 55

Çizelge 4. 4. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait testosteron, MIS ve inhibin B hormon değerleri. 59

Çizelge 4. 5. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait FSH, LH ve östradiyol hormon değerleri. 60

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve puberte öncesi dönemdeki uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı... 127

Çizelge 4. 7. Ergin erkek bireylere ait sperm sayım değerleri..... 168

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

3β-HSD	3-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz
BBP	Bütilbenzil fitalat
DBP	Dibütil fitalat
DCHP	Disiklohekzil fitalat
DEHP	Dietilhekzil fitalat
DHP	Di-n-hekzil fitalat
DINP	Diisononil fitalat
EDC	Endokrin bozucu kimyasallar
FSH	Folikül uyarıcı hormon
LH	Luteinize hormon
MEHP	Monoetilhekzil fitalat
MIS/AMH	Mülleri inhibe eden madde/Antimüllerian hormon
PGH	Primordiyal germ hücreleri
T	Testosteron
TDS	Testiküler disgenez sendromu

1. GİRİŞ

Günümüzde endüstride, tarımda ve evde (temizlik, eşya bakımı v.b.) ve diğer amaçlarla yaygın bir şekilde kullanılmakta olan çok sayıda kimyasal maddenin yiyecek, içecek, giyeceklere ve havaya bulaşması sonucunda insanlar ve doğada bulunan canlılar doğrudan ya da dolaylı olarak bu kimyasallara maruz kalmakta ve bu maruziyet sonucunda üreme sisteminde olumsuz etkiler görülebilmektedir. Bu kimyasallardan bazılarının endokrin sistemi bozarak üreme sistem üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, endokrin sistemin normal fonksiyonunu engelleyen bu kimyasallar genel olarak endokrin bozucu bileşikler (Endocrine Disrupting Chemicals - Endokrin Bozucu Kimyasallar, EDC) olarak adlandırılır.

Memeliler ve diğer canlılar üreme sisteminin gelişmeye başladığı fötal ve yenidoğan yaşam dönemlerinde endokrin bozucu bileşiklere, ergin dönemde olduğundan daha kolay etkilenmektedir. Bunun nedeni, fötal ve yenidoğan yaşam boyunca az gelişmiş bir hipotalamus-hipofiz-gonad eksenine sahip olmaları ve bu gelişim aşamalarında kolayca metabolize edilemeyen veya vücuttan atılamayan bileşiklerin düşük ya da yüksek konsantrasyonlarına maruz kalmalarıdır. Bu maddelerin düşük konsantrasyonda bile bulunmaları, insanların ve hayvanların hormon sistemine etki etmeleri için yeterli olmaktadır.

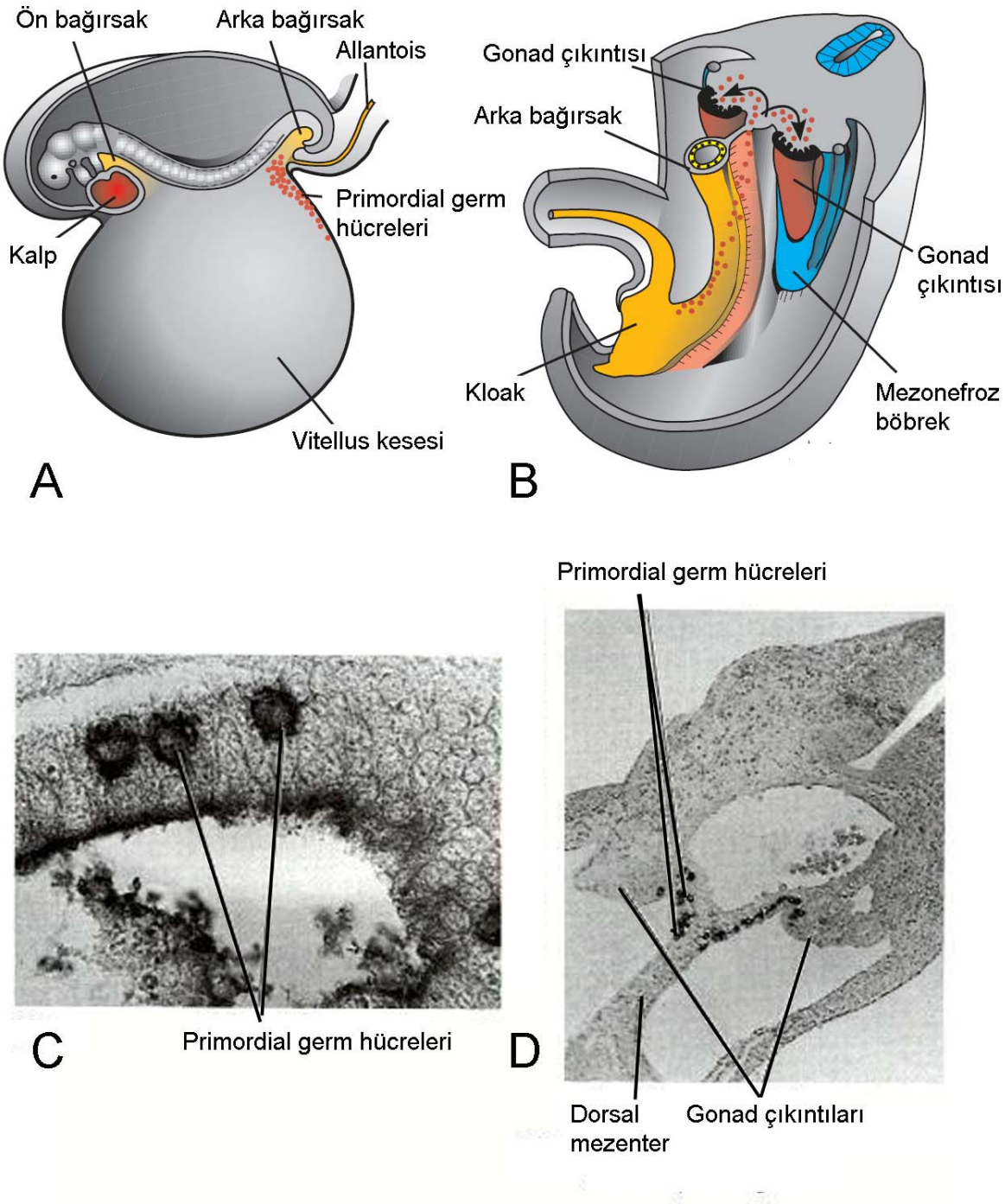
Çevrede bulunan bu insan yapımı veya doğal olarak bulunabilen östrojenik, anti-östrojenik veya anti-androjenik etki eden kimyasal maddeler ile ilgili son zamanda büyük kaygılar söz konusudur. Endokrin sistemi etkileyerek üreme sistemini etkilediği bilinen bu kimyasallar arasında plastiklerin üretiminde kullanılan fitalatlar da yer almaktadırlar. Fitalatlar, ya da fitalat esterler, fitalik asit esterleridir ve plastiklerin esnekliklerini artırmak için kullanılmaktadırlar. Fitalatlar plastiklere sıkıca bağlanmadıkları gibi zamanla serbest kalabilirler. Bunun sonucunda, insanlar ve doğal yaşamda bulunan canlılar fitalatlara solunum, oral ve dermal yolla veya medikal işlemler sırasında maruz kalmaktadırlar.

Avrupa Birliği ve T.C. Sağlık Bakanlığı, DINP, DEHP, DNOP, DIDP, DBP ve BBP'nin üç yaşın altındaki çocukların oyuncaklarında kullanımına sınırlandırma getirmişlerdir (Oyuncak ve Çocuk Bakım Eşyalarındaki Phthalatlar Hakkında Tebliğ, 2005; Gray ve ark., 2000). Fakat bu maddelerin gelişimin önemli aşamalarının olduğu doğum öncesi ve yenidoğan boyunca bu maddelere maternal yolla maruziyet oranlarının da yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı, DHP ve DCHP'nin embriyonik dönemde erkek üreme sisteminin gelişimi üzerindeki etkilerini doğum öncesi ve sonrası dönemlerde ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Eşeysel Farklılaşma ve Erkek Üreme Sisteminin Gelişimi

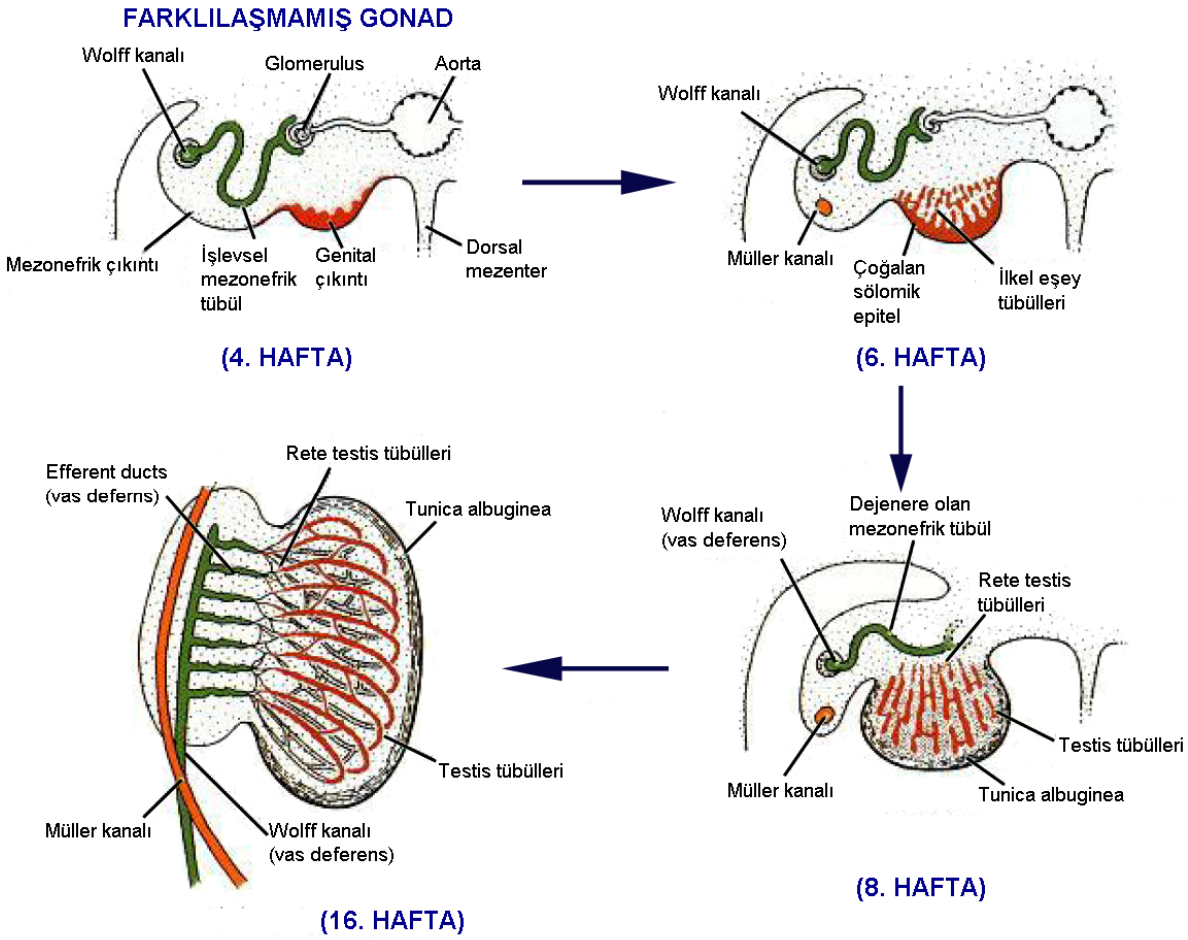
İnsanlarda eşeysel farklılaşma gebeliğin ilk üç ayı boyunca oluşmaktadır. Farklılaşmamış bir gonad, Y kromozomundaki SRY genlerinin etkisi altında testise gelişmektedir. Gonadlar, insanda gebeliğin 4. haftasında mezonefrik böbreğin (ürogenital çıkıntının) orta kısmındaki sölom epitelinin tabakalaşması ile gelişir. Gonadlarda bulunan hücre tiplerinin çoğu ürogenital çıkıntının mezodermal hücrelerinden köken almaktadır. Gametler primordial germ hücrelerinden (PGH) köken almaktadırlar. Gonadlarda bulunan diğer hücre tiplerinden farklı olarak primordial germ hücreleri, oluşacak olan gonad bölgesi dışından köken almaktadır ve başlangıçta vitellus kesesinin entoderminde belirgin hale gelirler (Şekil 2.1). İç hücre kitlesinin ilkel endodermal hücrelerinden köken alan germ hücreleri, gelişen embriyonun diğer hücrelerinden büyük, yuvarlak çekirdekleri ve açık sitoplazmaları ile ayırt edilirler. Germ hücreleri genital çıkıntılara ameboid hareketlerle bağırsak entoderminden ve mezenterin mezoderminden geçerek gonad çıkıntılarının sölomik epiteline 7 günde göç ederler. 5. haftada başlayan bu göç, 6. haftada tamamlanır. İlkel gonadda bu evrede üç hücre tipi bulunmaktadır: (a) germ hücreleri, (b) testisin Sertoli hücrelerini veya ovaryumun granuloza hücrelerini oluşturacak olan gonad çıkıntısının sölomik epitelinin destek hücreleri, (c) gonad çıkıntısının mezenşiminden köken alan stromal (intersistial) hücreler.



Şekil 2. 1. Memeli PGH göç yolu. (A) PGH, arka bağırsak ve allantoisin birleştiği bölgenin yakınlarında vitellus kesesinde görülmeye başlar. (B) PGH bağırsak ve dorsal mezenterden geçerek genital çıkıntılara ulaşır. (C) Fare embriyosunun mezenterinden geçen PGH. (D) Dorsal mezenterden genital çıkıntıya giren PGH. (Sadler, 2000)

Morfolojik olarak gonadlardaki eşeysel farklılaşmanın ilk sinyali, ilkel Sertoli hücrelerinin gelişimi ve bu hücrelerin fetal testisteki spermatojenik tübüllerde birikmesidir. İnsanda bu evre gebeliğin 6. haftası ile 7. haftası arasında gerçekleşir

(Şekil 2.2). Genel olarak gonadogenez aşaması diğer memeli türlerinde insandakine benzer olarak gerçekleşmektedir, sadece türler arasında süre farkı bulunmaktadır.



Şekil 2. 2. İnsan testisinin gelişim aşamaları (Sadler, 2000).

Sertoli hücresi, fonksiyonel testisin gelişiminde ve erkek üreme fenotipinin ifadesinde önemli rol oynamaktadır. Sertoli hücreleri, farklılaşmamış fötal gonadda tanınan ilk farklılaşan hücredir. Seminifer tübüllerin gelişimini, PGH'nin mayoza girişini önleme ve Leydig hücrelerinin farklılaşması ve işlev görmesini sağlamaktadır (Sharpe ve ark., 2003). Sertoli hücreleri, fötal ve neonatal gelişim boyunca çoğalırlar, fakat spermatogenez başlayınca Sertoli hücrelerinde mitoz durmaktadır. Testiküler farklılaşmanın başlarında Sertoli hücreleri düzensiz veya silindirik şekillidirler ve germ hücreleri bunların arasında gömülü durumda bulunur.

Prespermatogonia merkezden perifere doğru ilerlerken şekilleri giderek düzensizleşir. Başlangıçta Sertoli hücrelerinde desmozomlar bulunurken, gittikçe tamamlanmamış sıkı bağlantılar ve küçük gap junctionlar belirmeye başlar. Bu nedenle fötal dönemde kompleks bağlantılar tam değilken ergin testiste bu bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturmaktadır.

Sertoli hücreleri fötal ve ergin dönemde iki farklı göreve sahiptirler: fötal dönemde testis oluşumu ve eşeysel farklılaşmada görev alırken ergin dönemde spermatogenezi desteklemektedirler. Bu iki olay birbirinden zaman ve işlev açısından farklıdır. Bu nedenle ergin dönemde Sertoli hücrelerinin spermatogenezi desteklemesi fötal yaşam boyunca görülmez. Fötalden ergin Sertoli hücrelerine geçiş puberte boyunca gerçekleşir ve bu durum olgunlaşma veya farklılaşma olarak ifade edilir. Sertoli hücrelerinin olgunlaşma döneminde çoğalma olmaz sadece bağlantı bölgelerinin oluşturulması ve olgunlaşmamış Sertoli hücrelerinde bulunmayan fonksiyonları içermektedir. Bu nedenle fonksiyonel olarak Sertoli hücrelerinin olgunlaşması, fötal gelişimi ve fonksiyonu farklıdır (Pierik ve ark., 2003).

Ergin dönemde Sertoli hücrelerinin sayısı, testis büyüklüğünü ve günlük sperm üretimini belirlemektedir. Sadece olgunlaşmamış Sertoli hücreleri çoğalabildiğinden Sertoli hücre sayısı erginleşmeden önce belirlenmiş olur. Kemirgenlerde Sertoli hücreleri fötal ve neonatal dönem boyunca çoğalırlar. Bu çoğalma evresinde FSH, tiroid hormonları, LH ve testosteron (T) gibi hormonlar önemli rol oynamaktadır. FSH Sertoli hücrelerinin çoğalma hızını artırırken, tiroid hormonları çoğalmanın hangi dönemde gerçekleşeceğini, Sertoli hücrelerinin olgunlaşmasını düzenleyerek belirlerler. İnhibin B konsantrasyonu da Sertoli hücre çoğalmasını etkileyen diğer bir faktördür. Pubertede FSH ve testosteron konsantrasyonundaki artışla birlikte Sertoli hücrelerindeki androjen reseptörü (AR) ifadesinin uyarılması, Sertoli hücrelerinin tam olarak olgunlaşmasını sağlar. Puberte başlangıcında Sertoli hücrelerinin fonksiyonları ve morfolojileri değişir. Olgunlaşmamış çoğalabilen hücrelerden olgunlaşmış çoğalamayan Sertoli hücreleri gelişir. Çekirdekleri büyür ve çekirdekçik daha belirgin hale gelir. Komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantılar oluşur. Bu bağlantılarla birlikte spermatogenezin mayotik ve postmayotik aşamalarının gerçekleştiği adluminal kompartımanı oluştururlar. Aynı zamanda bu bağlantılarla lümenin sıvı ile dolu

olması sağlanır. Sonuç olarak, adluminal kompartımanda gelişen germ hücreleri çevrelerindeki, Sertoli hücreleri tarafından salgılanan besin ve bazı faktörlere doğrudan ulaşabilirler. Sıçanlarda ergin Sertoli hücreleri neonatal ve infantil dönem sonunda olgunlaşmalarını tamamlarlar (Sharpe ve ark., 2003).

Erkek üreme sisteminin gelişiminde testisten salgılanan Mülleri inhibe eden madde (MIS/AMH) ve androjenik steroid çok önemli rol oynamaktadır. MIS, fetal ve yeni doğan testisinde bulunan Sertoli hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir. Sertoli hücrelerinde MIS/AMH üretimi puberte döneminde azalır. Ergin dönemde Sertoli hücrelerinde fazla miktarda MIS/AMH üretimi, Sertoli hücrelerinin olgunlaşmasındaki bozukluğa işaret etmektedir (Sharpe ve ark., 2003).

MIS/AMH lokal olarak müller kanalının gelişimini baskılamaktadır. Bu baskılama aynı zamanda androjenler ile de desteklenmektedir. Müller kanalının baskılanamaması ilerde testislerin skrotuma inişini engellemektedir. Sertoli hücreleri ayrıca, embriyonik Wolf kanallarının yardımcı erkek eşey bezlerine, epididimise, seminal veziküle ve vas deferense farklılaşmasına yardımcı olan testosteronu salgılayan Leydig hücrelerinin gelişimini ve fonksiyonunu da düzenlemektedir (Pierik ve ark., 2003). Testiste testosteron, spermatojenik tübüllerin farklılaşmaya başlamasından kısa süre sonra Leydig hücrelerinin histolojik olarak farklılaşması ile birlikte üretilmeye başlar.

Tanımlanabilir Leydig hücreleri memelilerde ilk olarak embriyonik yaşamda görünür ve muhtemelen mezonefrik mezenşimal hücrelerden köken alırlar. Bu hücreler, fetal-tip Leydig hücreleri olarak sınıflandırılırlar. Wolff kanalının ve erkek eşey gelişimini uyarmak için gerekli androjenleri üretirler. Bu hücre populasyonunun neonatal dönem boyunca kayıp mı olduğu, tekrar mı farklılaştığı veya işlevsel mi kaldığı ile ilgili tartışmalar mevcuttur. Yine de bu hücreler neonatal testiste fonksiyonel olarak pasiftir çünkü androjen üretimi belirgin şekilde düşmüştür. Daha sonra ergin tip Leydig hücre populasyonu ergenlik döneminde ortaya çıkar ve steroidojenik olarak etkin hale gelir. Bu ergin hücre populasyonunun peritübüler mezenşimal hücrelerden köken aldığına inanılmaktadır (Lejeune ve ark., 1998). Leydig hücre gelişimi genellikle, öncü hücreden olgunlaşmamış Leydig hücresinin ve nihayet maksimum steroidojenik

kapasite gösteren olgun bir Leydig hücresinin oluşması ile gerçekleşmektedir. Dolayısıyla, memeli Leydig hücreleri ömrü boyunca iki farklı hücre populasyonu ve çeşitli olgunlaşma aşamaları içermektedir (Kerr ve Knell, 1988; Huhtaniemi ve Pelliniemi, 1992; Lording ve De Kretser, 1972).

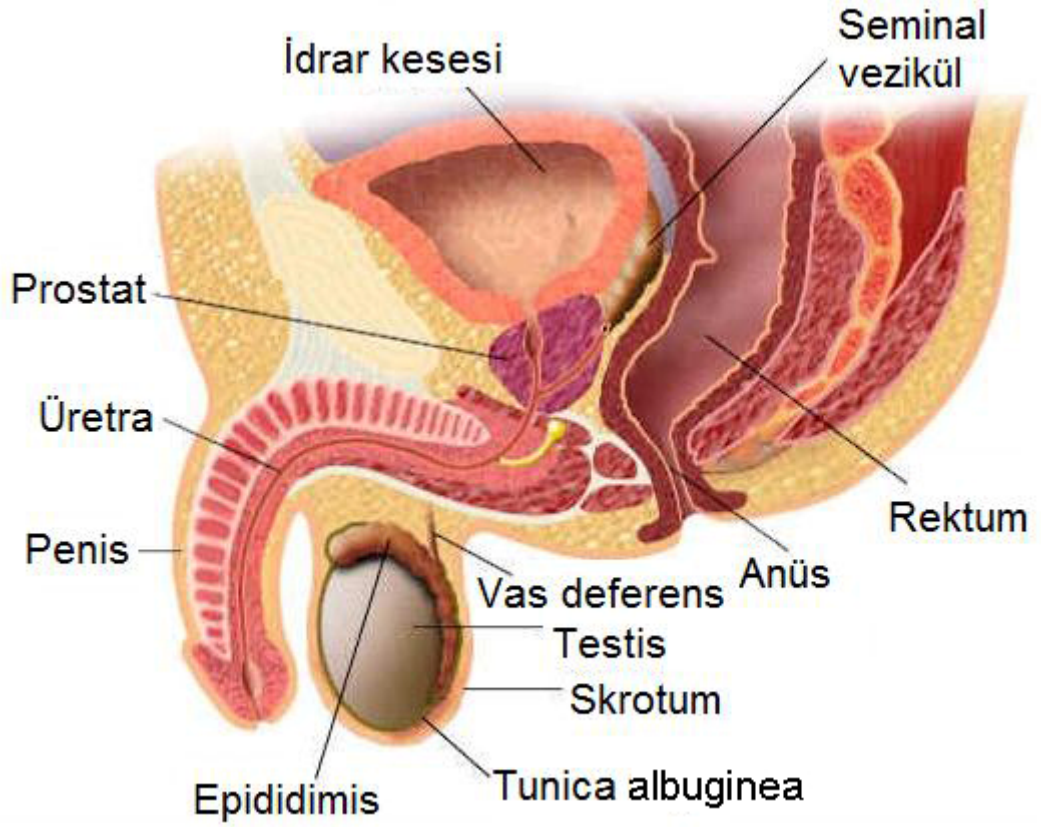
Dış genitalyanın ve vücudun geri kalanının maskulinizasyonu (beyin hariç), testosteron tarafından kontrol edilmektedir. Hedef dokuda testisten gelen testosteronun 5α-dihidrotestosterona dönüşmesinden sonra maskulinizasyon gerçekleşmektedir (Toppari ve ark.,1996). Leydig hücreleri, seminifer tübüller arasındaki intersistiyal alanda farklılaşır ve testosteronun sentezi için gerekli olan steroidojenik enzimini sentezler ve salgılarlar (George ve Wilson, 1994).

Sıçan fötusunda, gonadal dokuların gelişimi embriyonik gelişimin 12. gününde başlar ve 13. gününde ilkel testis ve ovaryumun morfolojik farklılaşması devam eder. Testosteron üretimi erkekte embriyonik gelişimin 15. gününde Leydig hücrelerinin farklılaşmasından sonra başlamaktadır. Fötal testiküler steroidogenezin başlangıç fazı, hipofizeal gonadotropinlere bağlı değildir. İntratestiküler testosteron içeriği embriyonik gelişimin 19. gününde maksimum seviyeye çıkmakta ve sonra düşmektedir. Bir çok çalışma, prenatal testosteron profilinin erkek üreme fizyolojisi ve davranışının gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Haavisto ve ark., 2003).

2.2. Erkek Üreme Sistemi

2.2.1. Testis ve epididimisin yapısı

Erkek üreme sistemi, spermlerin üretildiği testislerden, spermlerin geçişini, olgunlaşmasını ve depolanmasını sağlayan epididimis ve genital kanallardan, semen sıvısını üretip salgılayan seminal vezikül, prostat bezi ve bulboüretral bez gibi yardımcı bezlerden ve spermin dişiye aktarılmasını sağlayan penisten oluşmaktadır (Creasy ve Foster, 2002). Erkek üreme sisteminin anatomik yapısı Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2. 3. Memeli erkek üreme sisteminin anatomik yapısı (Creasy ve Foster, 2002).

Testisler, skrotum içinde bulunan, çift taraflı erkek üreme organlarıdır. Testislerin karın içinden daha düşük bir ısıda saklanmalarında skrotum önemli bir rol üstlenmektedir (Junqueira ve ark., 1992). Tunica albuginea denilen kalın bir kollajen bağ dokusu kapsülü ile çevrilidir. İnsanda yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 3,5 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığındadır. Spermatik kordon ve epididimis, dışında tunika vaginalis denen visseral peritonla kaplıdır. Kapsül arkada kalınlaşarak mediastinum testis adını alır. Bu yapı septalarla uzanarak testisi yaklaşık 400 pramidal lobüle ayırır. Her bir lobülde gevşek bağ dokusu ile çevrili iki ya da daha fazla sayıda seminifer tübül bulunur. Bu bağ dokusunda bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri bulunur (Tanagho ve McAnnich, 1992).

Testisi oluşturan her bir seminifer tübül çok katlı epitel ile çevrilmektedir (Creasy ve Foster, 2002). Seminifer tübüller, birkaç fibroblast katmanından oluşan bir fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve kompleks bir germinal veya seminifer epitelden oluşmaktadır. Bazal laminaya yapışık olarak bulunan ve düz

kas özellikleri gösteren tabaka yassılaşmış miyoepitel hücreleri içermektedir (Junqueira ve ark., 1992).

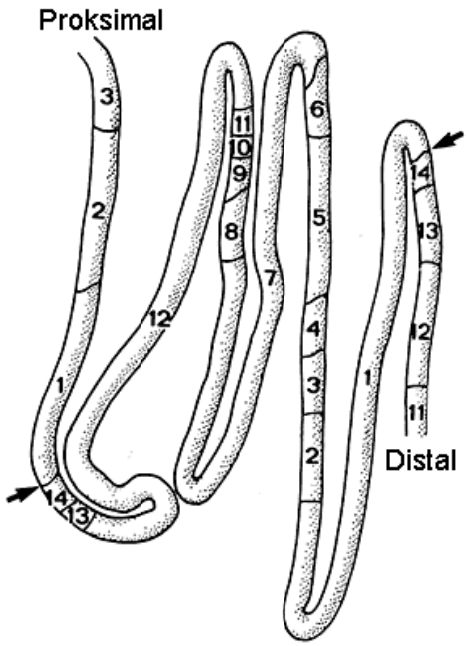
Seminifer tübül epiteli Sertoli veya destek hücreleri ve spermatojenik seriyi oluşturan hücreler olmak üzere iki hücre tipinden oluşmaktadır. Sertoli hücreleri sabit sayıda ve çoğalamayan hücrelerdir. Spermatojenik hücreler ise, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak şekilde 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir. Spermatogonyumlar ve genç spermatositler seminifer tübüllerin bazal tabakasında bulunurken, olgun spermatositler ve spermatidler adluminal tabakada yer alırlar. Bazal tabakadan adluminal tabakaya geçişte kan-testis bariyeri bozulmaz. Germinal hücreler bazal membrandan lümene doğru farklılaşma sırasına göre dizilirler. Spermatogoniyumlar belirli sayıda bölünmeden sonra farklılaşır ve spermatozoayı oluştururlar. Bunlar, erkek germ hücrelerinin farklılaşma sürecindeki çeşitli evreleri temsil etmektedir. Başlangıçtan bitişe kadar spermatogenez olarak adlandırılan bu olay 3 faza ayrılmaktadır (Mastroianni ve Coutifaris, 1990).

Spermatogonyanın bölünmesi sırasında spermatositogenez olarak adlandırılan evrede bu bölünmeler sonucunda spermatositler meydana gelmektedir. Spermatositlerin ardı ardına 2 bölünme geçirerek kromozom sayılarının ve DNA miktarının eşit olarak ikiye ayrılması ile oluşan ve spermatidlerin oluştuğu ikinci evre mayoz adını almaktadır. Spermiyogenez evresinde ise, spermatidler bir farklılaşma süreci geçirerek spermatozoonları oluşturmaktadırlar.

Sekonder spermatositlerin bölünmesi ile spermatidler oluşmaktadır. Bunlar, küçük boyutlu (7-8 μm çapında), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan çekirdekleri ve seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmiş hücrelerdir. Spermatidler, spermiyogenez denilen ve akrozomun şekillenmesini içeren karmaşık bir farklılaşma süreci geçirirler. Akrozom, spermin yumurtaya girmesini sağlayan enzimleri içerir. Bunun yanı sıra spermiyogenezde çekirdek yoğunlaşır, uzar, kamçı oluşur ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Sonuçta seminifer tübül lümenine salgılanan olgun spermatozoon meydana gelir (Jungueira ve ark., 1992).

Spermatogenez her seminifer tübülde aynı zamanda gerçekleşmez, bu nedenle bu olay bir dalgalanma şeklinde olmaktadır. Bu durum, değişik bölgelerde

spermatogenezin farklı safhalarının bulunmasına ve aynı zamanda neden seminifer tübüllerin bazı bölgelerinde spermatozoalar bulunduğu halde diğer bölgelerde sadece spermatidler bulunmakta sorusuna açıklık getirmektedir.. Seminifer epitel döngüsü, aynı aşamada olan iki germinal epitel arasındaki değişiklikleri ifade etmektedir (Jungueira ve ark., 1992). Şekil 2.4'de sıçanda seminifer tübül aşamalarının dağılımı ve seminifer epitel döngüsü gösterilmiştir. Sıçanlarda seminifer epitel döngüsü 12-13 gün sürmektedir. Kök hücre spermatogoniumdan spermatozoal salınmaya kadar tüm işlem 4,5 döngü sürmektedir. Her bir döngü sona erdiğinde bir diğer spermatogonia kuşağı bölünür ve olgunlaşmaya başlar (Creasy ve Foster, 2002). Yani germ hücresinden spermatozoanın oluşumu için geçen toplam süre sıçanlarda 48-53 gündür (Hess, 1990; Kretser ve de Kerr, 1988).



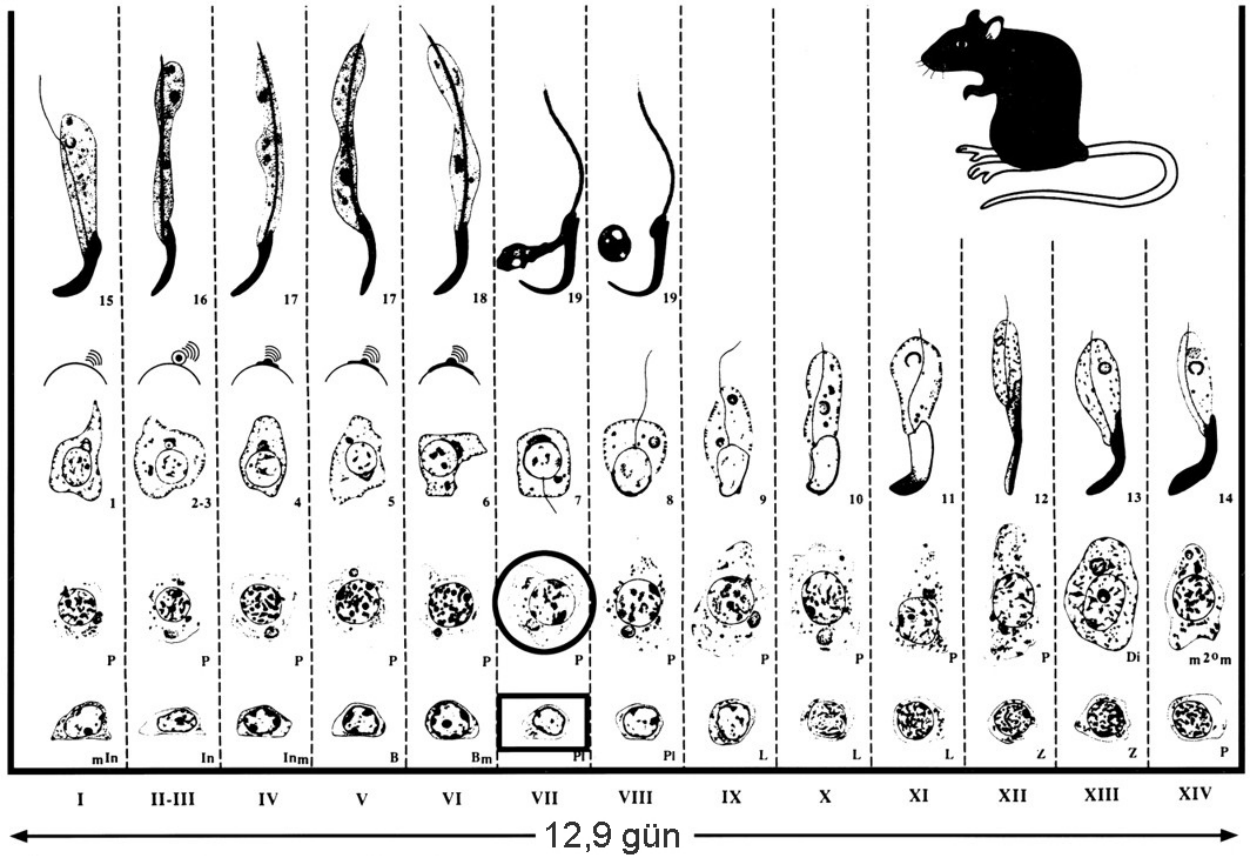
Şekil 2. 4. Sıçanda tübül boyunca seminifer tübül aşamalarının dağılımı. İki ok (→) arasında bir tam seminifer tübül döngüsü gösterilmektedir (Kretser ve de Kerr, 1988).

Sıçanda spermatogenik döngünün evreleri, Periyodik asit-Schiff boyası kullanılarak görüntülenebilen, gelişmekte olan spermatid akrozomunun morfolojisine dayanılarak ayrılmaktadır. Sıçanlarda, spermatidin arap rakamları ile

belirtilen 19 farklı evresi (1-19) bulunmaktadır (Şekil 2.5). Bu evrelerin çeşitli şekillerde biraraya gelmesi ile 14 farklı hücre birliği yani seminifer döngü aşamaları oluşur ve bunları belirlemek için romen rakamları (I-XIV) kullanılmaktadır (Creasy ve Foster, 2002). Sıçanda seminifer döngü aşamalarını (I-XIV) ve bunları oluşturan hücre birliklerini gösteren diagram Şekil 2.5'de verilmiştir.

Seminifer tübül lümenine salınan spermler rete testise gelir. Rete testis lümeni, tek tabakalı kübik epitel ile döşelidir ve oldukça fazla anastamoz içeren bir kanallar ağıdır. Rete testisten sayıları 10-20 arasında değişen, efferent kanalcıklar çıkar. Bu kanalların iç yüzeyleri, epididimis yönüne doğru hareketi sağlayan tek tabakalı silli kübik-silindirik ve yer yer silsiz hücrelere sahip olan bir epitel tabakası ile kaplıdır. Silsiz hücreler, seminifer tübüllerden salgılanan sıvının çoğunu emer. Titrek tüylü hücre aktivitesi ve sıvı emilimi, spermatozoonların epididimise doğru hareketini sağlayan sıvı akışını sağlar (Junqueira ve ark., 1992; Creasy ve Foster, 2002).

Spermler, rete testisten geçerek tek bir tübülün kıvrımlar yaparak oluşturduğu epididimise ulaşırlar. Yaklaşık 4-6 m uzunluğunda, tek ve oldukça kıvrıntılı bir tübüldür ve bütünüyle bir bağ dokusu ile çevrilmiştir. Yağ doku tarafından büyük oranda çevrelenmiş ve testis yüzeyine birleşmiş olan bu yapı, baş (caput), gövde (corpus) ve kuyruk (cauda) epididimis olmak üzere üç ana kısma ayrılmaktadır. Lümeni stereosilyalı yalancı çok tabakalı silindirik hücrelerden oluşan epitel ile döşelidir. Bu hücreler, peristaltik kasılmalarla spermin kanallarda ilerlemesine yardım eden ve üç alt tabakadan (kas hücreleri iç ve dış tabakada boyuna, orta tabakada halkasal konumludur) oluşan düz kas dokusu ve kapiller damarlardan zengin bağ dokusu ile çevrelenmiş bir bazal lamina üzerine oturur. Tübüller, kılcal damarlar bakımından zengin olan bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Ayrıca epitel hücreleri spermatogenez süresince oluşan artık cisimlerin ve sitoplazmik damlacıkların ortadan kaldırılması ve sindirilmesine katılmaktadır. (Junqueira ve ark., 1992).



Şekil 2. 5. Sıçanda seminifer döngü aşamalarını (I-XIV) ve bunları oluşturan hücre birliklerini gösteren diagram. (In) ara spermatogonia, (B) tip B spermatogonia, (Pl) preleptoten, (L) leptoten, (Z) zigoten, (P) pakiten, (Di) diploten, (II) sekonder spermatosit, (1-19) spermatid evreleri (Kretser ve de Kerr, 1988).

2.2.2. Yardımcı üreme bezlerinin yapısı

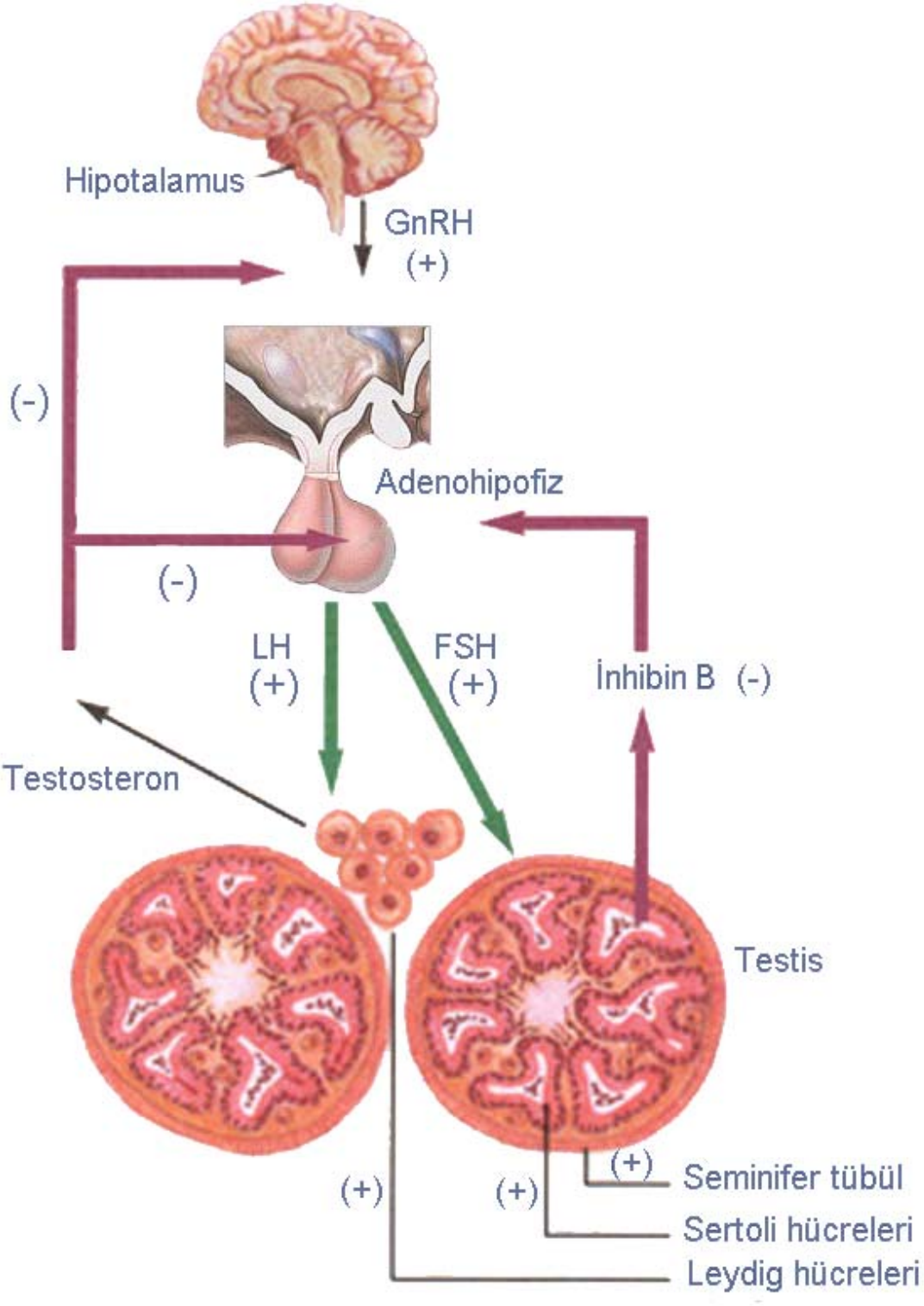
Prostat, üretra etrafında birçok lobdan oluşmaktadır (Şekil 2.3). Renksiz, seröz salgısını üretraya birçok kanal yardımıyla salgılayan birleşik tübüloalveoler bir bezdir. Sıçanda, bir çift ventral lob, daha küçük bir dorsal lob ve lateral loblardan oluşmakta ve bu loblar idrar kesesinin boyun kısmında yer almaktadır. Prostatik salgı, ejakülatın % 15-30'unu oluşturmaktadır. Salgısı proteolitik enzimlerce (örneğin asit fosfataz) zengindir. Salgı ayrıca nispeten yüksek seviyelerde çinko, inositol, transferin ve sitrik asit içermektedir (Creasy ve Foster, 2002).

Seminal veziküller, yeşilimsi beyaz visköz bir sıvı ile dolu, uzun içi oyuk bir çift organdır. Bu bez, vas deferens ampullasının yanında yer almakta ve ejakülatör kanal aracılığı ile üretraya boşalmaktadır (Şekil 2.3). Epiteli sıçanlarda basit silindirik epitelden oluşur. Seminal vezikül sıvısı, ejakülatın % 50-80'ini oluşturan

visköz bir salgıdır. Sıvı, vajinanın asidik pH'sını nötralize etmek için alkalidir; ana bileşeni sitrik asit olup, bunun yanında fruktoz ve laktoferrin de fazla miktarda bulunmaktadır (Creasy ve Foster, 2002).

2.2.3. Spermatogenezin hormonal kontrolü

Spermatogenezin başlaması için FSH, sürdürülmesi için ise testosteron gereklidir. Testiküler spermler hareketsizdir; ovumu fertilize edemez. Spermler bu yeteneği ancak epididimisten geçerken kazanır. Spermlerin epididimisten geçiş süresi yaklaşık iki gündür. Rete testis sıvısıyla duktus deferense gelen spermler, bu hücrelerin su reabsorbe etmesiyle oluşan basınç farkı, epitel hücrelerinin sil hareketleri ve en önemlisi de miyoid hücrelerin kasılması ile taşınır. Epididimisde kalan kullanılmamış spermler burada rezorbe olur. Sperm, epididimis içinde ilerledikçe motilite ve ovumu delebilme özelliği kazanır. Epididimis fonksiyonu, androjene özellikle dihidrotestosterona bağlıdır. Epididimis kanalındaki epitel hücrelerinden salgılanan maddelerin tümü sperm olgunlaşmasında etkilidir. Beyinden salgılanan nöropeptitler ve nörotransmiterler (dopamin, norepinefrin, asetil kolin, serotonin) hipotalamusta gonadotropin salgılayıcı hormonu (GnRH) uyarır (Şekil 2.6). GnRH hipofizden glikoprotein yapısında folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salgılanmasını sağlar. LH spermatogenezi dolaylı olarak uyarırken, endojen testosteron üretimini de aktive eder. FSH'ın hedefi ise spesifik reseptörleri olan Sertoli hücreleridir. Bu nedenle testosteron ve FSH, seminifer tübül epiteline etki eder. Testosteron LH'ın birincil inhibitörüdür ve dihidrotestosterona ya da östradiyole dönüşebilir. Testosteron hipotalamik, östrojen ise hipofiz yoluyla inhibitör etki yapar. FSH'ın inhibisyonu sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin adlı nonsteroid bir maddeyle olmaktadır (Pierik ve ark., 2003).



Şekil 2. 6. Hipotalamus-hipofiz-testis aksı [(Pierik ve ark. (2003)'den değiştirilmiştir)]

2.3. Doğal Hormonlar

Bütün canlılar (insan dahil), kan dolaşımına ve hücreleri çevreleyen sıvıya hormon adı verilen haberci molekülleri salgılar. Bu güçlü moleküller, boyun uzaması, erkek ve dişi özelliklerinin gelişmesi gibi kısa veya uzun süreli cevapları düzenlemeye yardım eder. Örneğin, androjen ve östrojenler (özellikle östradiyol), dişi eşey hormonları olarak dişi davranışlarını ortaya çıkartır, üreme döngüsünü, gebeliği kontrol eder, deri, kemik, beyin gibi dokular ile kardiyovasküler sistem ve bağışıklık sistemini de etkilemektedir.

Doğal eşey hormonları (östrojenler ve androjenler), bir hücrenin çekirdek zarında yer alan uygun reseptör bölgelerini bulmaya çalışarak kan içinde dolaşırlar. Hormon, hücre içine girerek spesifik bir reseptöre kilitlenir ve DNA üzerinde spesifik genleri aktive ederek etkisini gösterir. Genler, hücre fonksiyonlarını (büyüme, bölünme veya daha fazla enzim yapma) değiştirebilecek yeni proteinlerin veya diğer maddelerin yapılmasını sağlamaktadır. Saniyeler veya dakikalar içinde hareket eden bazı hormonların aksine bu işlemin tamamlanması saatleri almaktadır.

Doğal hormonların çoğu kısa ömürlüdür. Bunlar dokuda birikmeden yıkılmaktadır. Doğal östrojenlerin çoğu, kan dolaşımında sadece birkaç dakika ya da birkaç saat kalmaktadır. Bu süre sonunda, karaciğerdeki enzimler hormonları parçalamaktadır. Ortaya çıkan parçalar ya bir atık ürün olarak dışarı atılmakta ya da diğer molekülleri oluşturmak için yeniden kullanılmaktadır (Ganong, 1996).

2.3. Endokrin Bozucular

Teknoloji ve modern üretim tekniklerinin sonucu olarak, son 50 yıl boyunca çeşitli kimyasallar, başta tarımsal üretimin arttırılması olmak üzere çeşitli ürünlerde kullanılması amacı ile geniş olarak üretilip çevreye salınmışlardır. Üretilen bu kimyasallar başlıca herbisitler, fungusitler, insektisitler, plastifiyanlar, poliklorlanmış bifeniller ve alkilfenolik bileşikleri içermektedir. Bu kimyasallardan bazıları, insan ve doğal yaşam üzerinde ciddi olumsuz etkilere neden olduğu için çoğu ülkede yasaklanmıştır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar halen kullanılmakta olan ve çevrede yaygın olarak bulunan bazı kimyasalların insanlarda ve hayvanlarda önemli üreme

problemlerine neden olduğunun gösterilmesi, bilim dünyasında ve halk arasında önemli derecede dikkatleri çekmektedir. 1900'lü yıllarda Belçika, Danimarka, Fransa ve Büyük Britanya'da testiküler kanser, hipospadias (penis açıklığının normalden daha aşağıda olması) ve kriptorşidizm (inmemiş testis) insidanslarında artış olduğu ve aynı süre içinde semen kalitesinin de düştüğü rapor edilmiştir (Carlsen ve ark., 1992). Yapılan çok sayıdaki çalışma, son 50-60 yıldır insan semen kalitesinde bir düşüş olduğunu göstermektedir (Carlsen ve ark., 1992; Toppari ve ark.,1996). Benzer üreme problemleri birçok yabani yaşam türlerinde de gözlenmiştir. Bu tür etkilerin, çevresel kimyasalların kullanımlarının giderek artması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Toppari ve ark.,1996). Bu kimyasalların çoğu, endüstriyel üretim sonucunda doğal çevreye katılan bileşiklerdir. Bu maddeler, doğal hormonları taklit edebilir veya bunlara zıt etki gösterebilirler. Bu nedenle, bu maddeler "endokrin bozucular" olarak adlandırılmıştır. Endokrin bozunma, dünya çapında birçok çalışma grubunun, idari organizasyonların, endüstrinin ve akademik birimlerin bilgilendirme komitelerinin ve heyetlerinin gündeminde yer almaktadır.

Endokrin sistemin normal fonksiyonunu engelleyen kimyasallar genel olarak endokrin bozucu bileşikler (Endocrine Disrupting Chemicals - Endokrin Bozucu Kimyasallar, EDC) olarak adlandırılır. Amerikan Çevre Koruma Teşkilatı (EPA) endokrin bozucu bileşikleri "vücutta bulunan ve homeostaz, üreme ve gelişimden sorumlu doğal hormonların sentezi, salgılanması, taşınması, metabolizması, bağlanmaları ve atılmaları ile etkileşime giren eksojen ajanlar" olarak tanımlamaktadır (Kitis ve ark., 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğu memelilerin endokrin bozucu bileşiklerden fötal ve post-natal yaşam dönemlerinde ergindekinden daha kolay etkilendiğini göstermektedir. Bunun nedeni, ilk olarak, birçok normal homeostatik endokrin geribildirim mekanizmaları ile immün sistemin tam olarak gelişmemiş olması, buna bağlı olarak da düşük doz maruziyetlerinin gelişen fötusta zararlı etkilere sahip olabilme potansiyelinin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. İkinci olarak, endokrin bozucu kimyasalların eşey hormonu bağlayıcı globuline bağlanma affinitesinin düşük olduğu görülmektedir. Bundan dolayı, özellikle fötusta bu kimyasalların metabolizması düşüktür. Üçüncü olarak, anne yaşam boyunca düşük dozlarda bu kimyasallara maruz kaldığında, bu maddeler yüksek derecede

lipofilik olmaları nedeni ile vücutta yağ depolarında birikme eğilimindedirler. Birikmiş olan depolar, enerjinin fazlaca kullanıldığı gebelik boyunca ve özellikle laktasyonda hızlı bir şekilde mobilize olmakta ve gebeliğin sonlarına doğru ve post-natal yaşamda endokrin bozucu etkilerini göstermektedir. Bundan dolayı, fötal ve post-natal yaşam boyunca az gelişmiş üreme-immün ekseni, gelişimin bu aşamalarında kolayca metabolize edilemeyen veya vücuttan atılamayan bileşiklerin aşırı derecede yüksek konsantrasyonlarına maruz kalmaktadır (Sweeney, 2002).

Çevrede yer alan ve endokrin sistemi tahrip eden endokrin bozucu kimyasalların çoğu memelilerde üreme ve gelişimin endokrin kontrolünü etkileyecek farklı mekanizmalara sahiptirler (Neubert, 1997). Endokrin sistem homeostazı yüksek derecede etkileşimler içeren kompleks bir sistemdir. Bunun yanı sıra, normal endokrin fonksiyonları tam olarak kararlı değildir, döngüsel kalıplara, yaşa ve gelişimsel basamaklara bağımlıdır (Pryor ve ark., 2000). Endokrin bozuculara prenatal ve postnatal yaşam süresince maruz kalma uzun süreli etkilere sebep olmaktadır. Gelişim süresince östrojenik ve antiandrojenik EDC'ye maruz kalma üreme sisteminde anomalilere, hedef organlarda tümör riskinin artmasına ve üreme sisteminde işlevsel bozuklukların oluşmasına yol açmaktadır (Daston ve ark.,1997).

Erkek ve dişi üreme sisteminin gelişiminde hormonlar, özellikle androjenler ve östrojenler tarafından oynanan roller, bu işlemin bozulmasında zayıf noktadır. Androjenleri veya östrojenleri taklit eden, karşıt etki gösteren, üretimini engelleyen veya bu iki hormon arasındaki dengeyi değiştiren herhangi bir kimyasal, üreme gelişiminin bir ya da daha fazla yönünü engelleme potansiyeline sahiptir. Son yıllarda, çevresel kimyasalların böyle etkiler gösterdiğinin farkına varılması, bunların insanları etkileyip etkilemeyeceği ve bunun erkek üreme bozukluklarının insidansındaki artışı açıklayıp açıklayamayacağı gibi soruları artırmıştır.

Endokrin sisteme zarar veren maddelerin insanlar üzerindeki etkilerinin belirtileri 1950'li ve 1960'lı yıllarda ortaya çıkmıştır. ABD'de yaklaşık 1 milyon hamile kadının, düşüğü önlemek amacıyla kullandıkları dietilstilbestrol (DES) adlı yapay hormona bağlı olarak bu kadınlardan doğan kız çocuklarında doğurganlık sorunları, anormal hamilelikler, üreme organlarında işlevsel bozukluklar, bağışıklık

sistemi rahatsızlıkları saptanmıştır. Bunun yanı sıra çok genç yaşta bu kız çocuklarında DES kullanımına bağlı olarak sadece 50 yaş üzeri kadınlarda görülen ender bir tip vajina kanseri yüksek oranlarda gözlenmiştir. DES etkisinde doğan erkek çocuklarda ise kriptorkidi (aşağıya inmemiş testisler), anormal meni ve hipospadiyas (idrar yolu girişinde deformasyon) gözlenmiştir (Colborn ve ark.,1993; Toppari ve ark., 1996; McGinn, 2000).

ABD Çevre Koruma Örgütü 1996 yılında endokrin bozucuları bir çevre sağlık problemi olarak belirlemiştir. 1999'da Avrupa Komisyonu endokrin bozucuların belirlenmesi için strateji oluşturmuştur. 2000 yılına gelindiğinde 553 insan yapımı madde ve 9 sentetik/doğal hormon, potansiyel endokrin bozucu madde olarak belirlenmiştir. Endokrin bozucu maddelerin belirlenebilmesini mümkün kılacak testlerin bulunabilmesi için her iki komisyon arası ortak çalışmalar devam etmektedir (Weber ve ark., 2002).

Özellikle 2000'li yıllarda endokrin bozucu maddelerin neler olduğu, hangi canlılar üzerinde ve hangi boyutta etkili olduğu konularında bilgi açığını kapatmak için çok sayıda, kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Çünkü bunlar çok daha düşük konsantrasyonlarda yalancı hormon etkisi yapmaktadırlar. Bu nedenle de endokrin bozucu maddelerin ppb ve hatta ppt (parts per trillion – trilyonda bir) düzeyinde ölçülmesi zorunlu olmaktadır. Bu maddelerin düşük konsantrasyonda bile bulunmaları, insanların ve hayvanların hormon sistemine etki etmeleri için yeterlidir (Erdin ve ark., 2004).

Doğal hormonlar ile endokrin bozucular arasındaki yapısal farklılıklar, fonksiyonel farklılıklara yol açabilir. Doğal steroid hormonlar genellikle spesifik reseptör bölgelerine bağlanarak işlev görmesine karşılık, sentetik endokrin bozucular birçok farklı yolla hormonal sistemi etkileyebilir. Bunlar, hormon reseptörleri ile direkt olarak etkileşime girerek doğal hormonlardan daha az ya da daha çok etki gösterebilir veya doğal hormonlardan çok farklı etkilere neden olabilirler. Aynı zamanda bu kimyasallar normal hormon hareketini de bloke edebilirler.

Hormon etkisi üzerinde endokrin bozucular, doğrudan ya da dolaylı yolla hormon reseptörleri ile etkileşerek etki gösterebilirler. Hormon reseptörleri ile doğrudan etkileşim agonistik ya da antagonistik olabilmektedir. Agonistik etkide,

endokrin bozucu madde endojen hormon gibi hormon reseptörü ile etkileşip aynı etkiyi göstermektedir. Antagonistik etkide ise, agonist tarafından ortaya çıkarılan etkilerin engellenmesi ya da azaltılmasına neden olurlar çünkü hormon reseptörü her zamanki gibi aktive edilemez. Reseptör inhibisyonu rekabetçi (endojen agonist ve eksojen antagonist reseptörün aynı aktif bağlanma bölgesi için yarışırlar) veya rekabetçi olmayan (inhibitör reseptöre veya reseptör-hormon kompleksine bağlanabilir fakat aktif bağlanma bölgesine bağlanmaz) şekilde olabilir. Endokrin sistemle dolaylı yoldan etkileşim, hormon konsantrasyonu ve hormon reseptör konsantrasyonu üzerinde etki gösterilerek gerçekleşir. Kimyasalların hormon mekanizması üzerindeki etkileri farklı şekilde olabilir. Hormon üretimi, önemli enzim katalizli reaksiyonların engellenmesi ile bozulabilir. Hormon metabolizması aynı zamanda hormon metabolize eden enzimlerin uyarılması ile de etkilenebilir. Bu enzimler üretilen hormonun yıkılmasına neden olarak hormon konsantrasyonunu düşürebilirler. Ayrıca kan dolaşımında hormonların taşınmasının bozulması da konsantrasyonu etkileyen başka bir mekanizmadır (Lintelmann ve ark., 2003; Toppari ve ark., 1996).

Genel olarak endokrin bozucular etkileri, kanda anormal hormon düzeyleri, fertilizasyonda düşmeler, cinsel davranışta değişmeler, immün sistemde değişmeler, erkeklerde feminizasyon, dişilerde maskulinizasyon, anormal testislerin gelişimi, dişi ve erkek üreme yollarında kanserleşmeler, bozulmuş fallop tüpleri, uterus, testis, kemik yapı ve yoğunluğunda değişmeler şeklinde sıralanabilir. Özellikle fötal dönemde endokrin bozuculara maruz kalma erkek üreme sisteminin anormal gelişmesine neden olabilir (Sharpe, 1998).

Bir fötusun fenotipik olarak bir erkeğe gelişimi ilk olarak testis oluşumuna, ikinci olarak fötal testis tarafından hormon üretimine bağlıdır. Testiküler hormon üretimindeki veya hormon etkilerindeki bozukluklar, ciddi fenotipik anomalilere neden olarak veya üreme sağlığını bozarak gelişimi etkilemektedir. Özellikle testiküler kanserdeki artış gibi insanda erkek üreme sisteminin kötüye gittiğini gösteren kanıtlar, bozulmuş fötal testisin (hormonal) gelişimini işaret etmektedir. Androjen ve anti-mullerian hormonunun üretimini ve etkisini engelleyen kimyasal maddelere maruz kalma, kısmen ya da tamamen maskulinizasyonu önlemektedir. Örneğin flutamid veya vinkolizin gibi anti-androjenlere maruz kalma üreme organlarının ve dış genitalianın maskulinizasyonunu önlemektedir (Imperato-

McGinley ve ark., 1992). Erkek gelişiminin aksine, bir fötusun dişiye gelişmesi büyük çoğunlukla hormonlardan bağımsızdır. Yine de dişi fötusun gelişimi sırasında androjenlere maruz kalması, fötusun maskulinizasyonuna neden olabilmektedir. Erkeğin maskulinizasyonunda, oluşan hormonların hepsi testis kökenlidir. Testis oluşumu tek başına hormonlara gerek duymaz, fakat maskulinizasyonun diğer bütün aşamaları, normal testis fonksiyonuna ve hormonların yeterli miktarda üretimine bağlıdır. Bu nedenle, genç yaşlarda testiküler gelişim veya fonksiyonunda meydana gelebilecek bir bozukluk, üreme sisteminde veya vücutta herhangi bir organın gelişim döneminde anomalilerin görülmesi gibi yan etkileri ortaya çıkarmaktadır. İnsanda, fötal maskulinizasyon ile geç puberte evresindeki dölleme yeteneğinin gelişmesi arasında en az 15 yıl bulunmaktadır ve bu iki olay birbirine bağımlıdır. Fötal ve neonatal yaşamda testisin anormal gelişimi, sperm sayısında ya da diğer üreme fonksiyonlarında yaşam boyu süren olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Sharpe, 2001).

Endokrin ve üreme sisteminin eşeysel farklılaşması kemirgenlerde gebeliğin sonları ve erken neonatal periyotta meydana gelmekte (Davies ve Norman, 2002), bu farklılaşma gonadal steroid hormonlar tarafından düzenlenmektedir. Bu dönemde dışarıdan hormon uyarımı erkek ve dişilerde kalıcılığı fazla olan fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır (Atanassova ve ark., 1999; Newbold, 1999). Erkek sıçanların preoptik bölgesindeki eşeysel dimorfik çekirdekler çoğu kez dişilere göre daha büyüktür (Meredith ve ark., 2001) ve ekzojenik hormon benzeri kimyasal uygulamasıyla hacimsel olarak değişiklik göstermekte (Rhees ve ark., 1990; Nagao ve ark., 1999; Ferguson ve ark., 2000), erişkinlerde eşeysel davranış bozukluklarına yol açmaktadır (Houtsmuller ve ark., 1994).

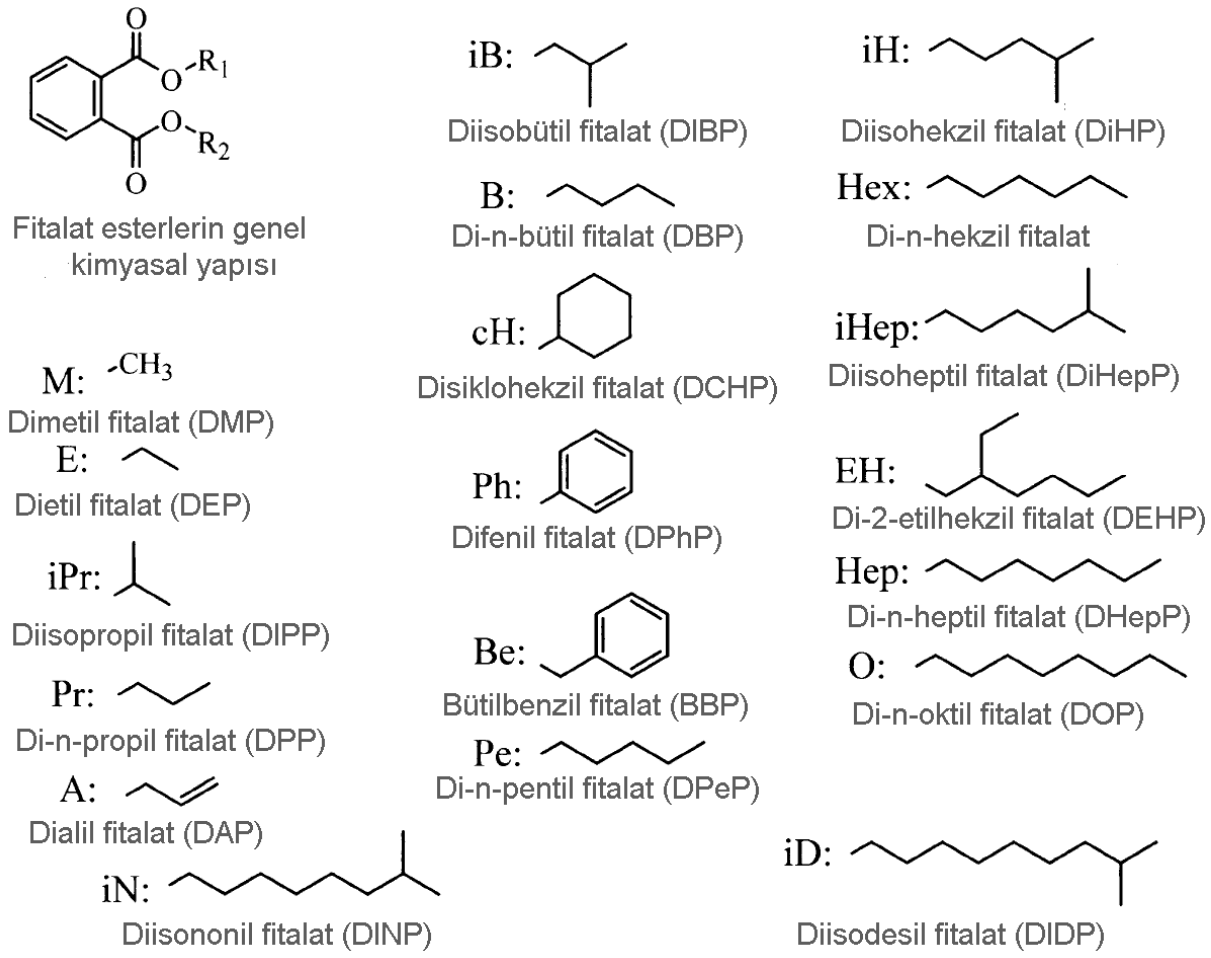
Son 50 yılda modern üretim tekniklerinin ilerlemesi sonucunda çeşitli sentetik kimyasallar ve bu kimyasalların yer aldığı ürünler başta tarımsal üretimin artırılması amacı ile geniş olarak üretilip çevreye salınmışlardır. Bu kimyasalların başlıcaları herbisitler, insektisitler, fungusitler, plastikleştiriciler, polistriyenler, poliklorlanmış bifeniller (PCB), poliklorlanmış dibenzodioksinler ve alkilfenolik bileşikler olarak sayılabilir. Bu bileşiklerin yaygın kullanım ve çeşitliliğinin sonucu gerek akut gerekse kronik maruziyete bağlı olarak başta insan olmak üzere balık, kuş, memeli vb. hayvanlarda pek çok istenilmeyen etkiler ortaya çıkmaktadır. Çünkü bu bileşiklerin çoğu doğada yıllarca dayanıklılık gösterip, çevrede sediment,

su, toprak gibi çeşitli ortamlarda birikme özelliğine sahip bileşiklerdir. Genelde bu bileşiklerin yağ/su dağılma katsayılarının büyük olması bu bileşiklere maruziyette besin zincirinin tepesinde bulunan insana maruziyetin yüksek olarak yansımasına neden olmaktadır. Bu maruziyet ve birikim faktörüne bağlı olarak başta insan olmak üzere canlılarda üreme sistemi gibi birçok sistemde toksik etkiler meydana gelmektedir.

2.4. Plastikleştiriciler

Plastifiyanlar, katı PVC'lerin daha elastik olmalarını sağlamak için kullanılmaktadır (Latini ve ark., 2004). Fitalatlar, ya da fitalat esterler (Şekil 2.7), fitalik asit esterleridir ve genellikle esnekliklerini artırmak için plastiklere eklenir. Sert plastik olan polivinilkloriti esnek plastiğe çevirmede kullanılırlar. Plastiklere eklendiklerinde uzun polivinil moleküllerin birbirleri üzerinde kaymasına izin verirler. Suda çözünürlükleri düşük, yağda çözünürlükleri yüksek, uçuculukları ise düşüktür.

Fitalatlar, ticari ürünlerde, besin paketleme materyallerinde ve biyomedikal aletlerde plastikleştirici olarak kullanıldıkları için besinde ve çevrede yaygın olarak bulunmaktadırlar. Fitalatlar, plastiklere esneklik kazandırmak için endüstriyel olarak yüksek miktarlarda üretilmektedirler. 400.000 tondan fazla fitalat plastikleştirici (DEHP, DBP, DMP, DEP ve BBP gibi), her yıl Japonya'da endüstriyel olarak üretilmektedir. Yapılan çalışmalarla sucul çevrede bu bileşiklerin yayılımı iyi bilinmektedir ve nehir suyu, atık su örnekleri ve içme suyunda bulundukları tespit edilmiştir. DMP, DBP, DEHP ve bunların monoesterleri Tama Nehri'nde litrede mikrogram seviyesinde tespit edilmiştir (Okubo ve ark., 2003). Fitalatlar, ev içi ve dışında bulunan havada miktarları sık sık tespit edilmektedir. Yeni yapılmış bir evde DEHP ve DBP miktarı ölçüldüğünde sırasıyla 1046 ve 841 ng/m^3 olduğu ve ayrıca DMP, DEP, BBP, DIBP ve DCHP'nin de tespit edilebildiği görülmüştür (Saito ve ark., 2001).



Şekil 2. 7. Bazı fitalat esterlerin kimyasal yapıları.

Fitalat plastifiyanları, PVC uygulamalarında kullanıldığı gibi PVC dışı kullanımı da vardır. PVC aplikasyonlarında, suni deri, elektrik kablosu, ayakkabı tabanı, yer karosu, hastanelerde kullanılan çoğu torba, tüp (örn., diyaliz tüpü), şırınga, eldiven gibi üretimlerde kullanılmaktadır. PVC'den yapılmış çoğu medikal alet plastifiyan içermektedir. Fitalatlar, bu aletlere elastikiyet kazandırmaktadır. PVC dışı aplikasyonlar olarak ise boya, kauçuk, yapıştırıcı, PVC bebek oyuncakları, süt, peynir, margarin ve cips ambalajlarında kullanılmaktadır. Fitalatlar PVC'ye sıkıca bağlanmazlar ve zamanla serbest kalabilirler. İnsanlar fitalatlara solunum, oral ve dermal yolla, besin alınımı ve medikal işlemler sırasında maruz kalmaktadırlar. Örneğin, bir çocuk çıngırağını dişlediği zaman serbest kalan bu fitalatları da vücutlarına almaktadır (Latini, 2004).

Fitalat diesterler, ince bağırsak ve karaciğerde monoesterlerine ve alkole hidrolitik olarak yıkılırlar (Lake ve ark., 1977; Rowland ve ark., 1977; White ve ark., 1980). Kısa zincire sahip dialkil fitalatlar monoester fitalatlarına ester hidrolizi ile metabolize edilirler ve genellikle glukuronidasyondan sonra üre ile atılırlar. Daha uzun zincire sahip dialkil fitalatlar ise (DEHP gibi) ya benzer şekilde monoester fitalatlarına hidrolize edilip üre ile atılırlar ya da asit zincir kısımları okside edilir ve bu metabolitler atılır. Çeşitli fitalatların bu farklı metabolik yolu, toksik etkinin oluşturulmasında ve özellikle farklı fitalatların etkilerini karşılaştırmada önemli olmaktadır (Needham ve ark., 2005). Fitalat diesterlerin göreli toksisiteleri, *in vivo* monoester fitalat metabolitleri ve bunların toksisitelerini oluşturabilme kapasitelerine bağlıdır. Bundan bağırsakta aktif monoesterlerine hidroliz olma oranından dolayı DPeP *in vivo* olarak DEHP'ten (Foster ve ark., 1980) daha güçlüdür (Rowland ve ark., 1977). Mono-(2-etilhekzil) fitalatın (MEHP) ise *in vitro* tokisiste analizlerinde en güçlü monoester olduğu gösterilmiştir (Gray ve Beamand,1984). Diester uygulamasından sonra MEHP sıçan testisinde görülür ve bu dokuda 2 günden daha uzun bir yarılanma ömrü vardır (Oishi ve Hiraga, 1982). Birçok tür ana bileşiklerin glukuronidlerini atarlar, buna karşılık sıçanlar fitalat diesterlerin suda çözünebilir türevlerine metabolize ederler (Albro ve ark., 1983; Albro ve ark., 1984).

Fitalatlardan en çok çalışılan ve doğada en çok bulunan formu DEHP'dir. DEHP'in hayvan çalışmalarında dokularda birikerek uzun süreli toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Latini, 2000). Hellwig ve ark., (1997) yaptıkları çalışmada, prenatal dönemde (doğum öncesi 6.-15. günler arası) 0, 40, 200, 1000 mg/kg/gün DEHP, DINP, DIPP ve DIDP gavage olarak sıçanlara uyguladıklarında, DEHP' nin yüksek dozda (1000 mg/kg/gün) embriyo ölümüne, fötal toksisiteye ve teratojeniteye neden olduğunu tespit etmişlerdir. DINP ve DIDP'nin ise yüksek dozda fötal etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Park ve ark. (2002) ise DEHP'in erkek sıçanlarda vücut ağırlığının, testiküler ağırlığın ve testiste çinko konsantrasyonunun düşmesine; spermatojenik hücrelerde apoptoza ve kitlesel kayıplara neden olduğunu göstermişlerdir.

Gray ve ark. (2000), doğum öncesi 14. günden doğum sonrası 3. güne kadar sıçanlara DEHP, BBP, DINP, DEP, DMP veya DOP'yi gavage olarak uygulamışlardır. Çalışma sonunda DEHP, DBP, BBP ve DINP'nin antiandrojenik

davranış göstererek erkek sıçanlarda eşeysel farklılaşmayı değiştirdiğini gözlemişlerdir.

2.5. DHP ve DCHP'nin Fizikokimyasal Özellikleri

Bu çalışmada plastifiyanların iki çeşidi olan DHP ve DCHP kullanılmıştır. Kullanılan plastifiyanlardan biri olan DCHP'nin moleküler ağırlığı 330,42'dir. Kimyasal formülü $C_{20}H_{26}O_4/C_6H_4(CO_2C_6H_{11})_2$ olup moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir. DHP'nin moleküler ağırlığı 334.46 olup kimyasal formülü $C_6H_4(COOC_6H_{13})_2$ 'dür. DHP'nin moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

2.6. DHP ve DCHP'ye Maruziyet ve Etkileri

DHP (CAS No:84-75-3), asit katalizi sırasında fitalik anhidrid ve normal hekzil alkolün reaksiyona girmesi sonucu oluşur. DHP, C6-10-fitalat karışımlarının çok az bir kısmını (%1'den daha az) oluşturur. Ayrıca DIHP karışımlarında %25 veya daha az seviyelerde yer almaktadır. dHP'ye üç kaynaktan maruziyet gerçekleşebilir:

1. ticari DIHP bileşimi olarak,
2. sınırlı kullanımı ile ticari ürünlerden salınımı ile,
3. ticari C6-10-fitalatlarda az miktardaki oranı ile maruziyet gerçekleşmektedir.

DHP, otomobil parçalarının (hava filtreleri ve pil kaplamaları gibi) yapımında kullanılan plastisollerin yapımında kullanılmaktadır. DHP içeren ticari fitalat bileşikleri, yer döşemeleri, dizüstü bilgisayar kılıfları ve çadır bezi yapımında kullanılan PVC bileşiklerine eklenebilmektedir. DHP içeren maddeler arasında oyuncaklar, vinil eldivenler, ayakkabılar ve besin paketleme işleminde kullanılan taşıyıcı kemerler sayılabilir.

Çizelge 2. 1. DCHP'nin moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri

DCHP

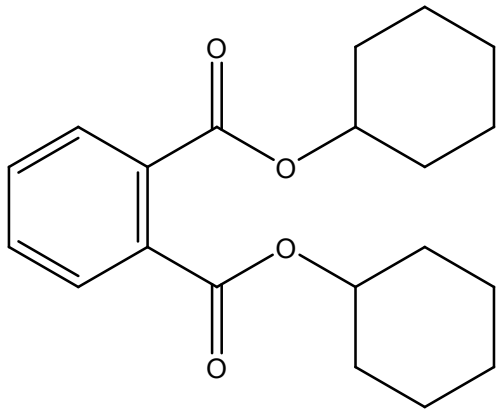
CAS No: 84-61-7

Kimyasal ismi: 1, 2-Benzendikarboksilik asit, disiklohekzil ester

Yaygın ismi: Disiklohekzil ftalat

Moleküler formülü: $C_{20}H_{26}O_4$

Yapısal formülü:



Moleküler Ağırlığı: 330,46

Sinonimleri: 1,2-Benzendikarboksilik asit, disiklohekzil ester; Fitalik asit, disiklohekzil ester; Diklohekzil 1,2-benzendikarboksilat; Disiklohekzil Fitalat

Fizikokimyasal özellikleri

Özellik	**Değer**
Fiziksel durumu	Beyaz, kristal katı
Erime noktası	66ºC
Kaynama noktası	222 ºC-228 ºC (0,5 kPa)
Yoğunluk	1383 kg/m^3 (20 ºC)
Buhar basıncı	13,3 x 10^{-3} kPa (150 ºC)
Suda çözünürlüğü	4 x 10^{-3} g/L (24 ºC)
n-oktanol/su dağılım katsayısı (logKow)	3-4
Yanma noktası	207 ºC

Çizelge 2. 2. DHP'nin moleküler şekli ve fizikokimyasal özellikleri

DHP

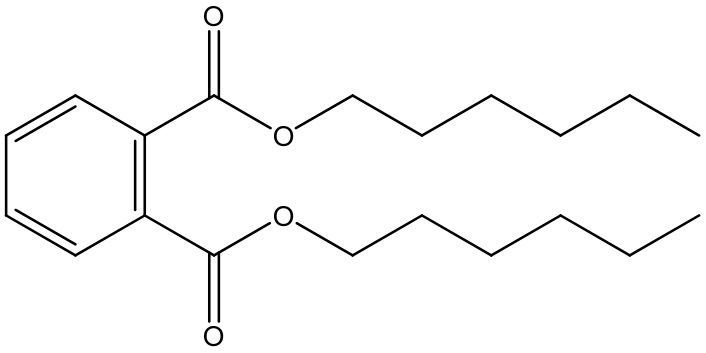
CAS No: 84-75-3

Kimyasal ismi: 1, 2-Benzendikarboksilik asit, dihekzil ester

Yaygın ismi: Di-n-hekzil fitalat (DnHP veya DHP)

Moleküler formülü: $C_{20}H_{30}O_4$

Yapısal formülü:



Moleküler Ağırlığı: 334,4

Sinonimleri: Dihekzil fitalat; Dhekzil ester italik asit; Bis(n-hekzil) fitalat

Fizikokimyasal özellikleri

Özellik	**Değer**
Fiziksel durumu	Şeffaf sıvı, aromatik
Erime noktası	-27,4ºC
Kaynama noktası	350 ºC
Yoğunluk	1011 kg/m^3
Buhar basıncı	6,67 x 10^{-7} kPa (25 ºC)
Suda çözünürlüğü	50 x 10^{-5} g/L
n-oktanol/su dağılım katsayısı (logKow)	6,30
Yanma noktası	-

Ürünlerde bulunan DHP'ın hacminin ne kadar olduğu henüz bilinmemektedir. Fakat bu maddenin üretim miktarı diğer fitalatlara oranla daha azdır. C6-10-fitalat ve DIHP'ın üretim hacmi ve kullanımı hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Amerika'da 1994 yılında yaklaşık 25000 ton C6-10-fitalat üretilmiştir. DHP miktarı ise 250 tondan daha az olmalıdır. Avrupa'da yıllık DIHP tüketim oranının 2000 tondan daha az olduğu rapor edilmiştir. Buna göre DHP oranı ancak 500 ton kadar olmalıdır (Kavlock ve ark., 2002).

DHP'ın çevreye salınımı, DHP, C6-10-fitalat veya DIHP üretimi boyunca ve plastik rezinlerin içine fitalatların eklenmesi boyunca oluşabilir. Çünkü diğer fitalalar gibi DHP da plastiklere bağlanmaz, ürünün kullanımı veya atılımı sırasında serbest kalabilir. Çevreye salınan bu fitalatlar depo edilebilir veya insan veya çiftlik hayvanlarının tüketimi için kullanılan ürünler tarafından alınabilir, böylece besin stokuna girebilirler.

Chang ve ark. (2004) içinde DCHP ve DHP'ın da bulunduğu fitalat esterlerinin iki bakteri türü ile biyoyıkımını araştırmışlardır. Bunun için fitalat esterleri ile kontamine ettiği sediment veya atıklardan izole edilen iki aerobik bakteri türünün *Corynebacterium* sp. ve *Sphigomonas* sp. olduğunu tespit etmişlerdir. Bu iki bakteri türünün kısa alkil zincirine sahip fitalat esterlerini hızlıca yıkabildiğini fakat DCHP ve DHP gibi uzun zincir alkil içeren fitalatları az oranda yıkabildikleri tespit edilmiştir.

Genel olarak canlılar fitalatlara primer olarak oral veya dermal yollarla maruz kalırlar. Diğer fitalatlara ait verilere bakılırsa, insanın fitalatlara maruziyeti daha çok besin alımı iledir. DHP, toprağın işlenmesi sırasında çevresel alınımın ya da üretim donanımlarının veya paketleme materyallerinden salınımı sonucunda besin içinden alınabilir. İngiltere'de bir süpermarkette satılan ambalajlanmış yağlı yiyecekler incelediğinde, et, tavuk, yumurta ve sütte DHP tespit etmişlerdir. Fakat miktarı belirlenememiştir (Kavlock ve ark., 2002). DHP evden alınan toz örneklerinde ve tekstillerde belirlenebilir limitin (0,01 mg/kg) altında çıkmıştır. Yer döşemesinde ise miktarı 0,03 mg/kg olarak belirlenmiştir.

DHP, İngiltere'de 12 bebek mamasından 7'sinde belirlenmiş fakat miktar tayini yapılmamıştır. Pfordt ve Bruns-Weller (1999)'in yaptıkları çalışmada, evsel maddelerin birçoğunda fitalat bileşikleri belirlemiştir. Buna göre DHP, sütte (anne

sütü ve ticari süt), kremada, fındıkta, bebek mamasında belirlenebilir düzeyin altında (0,01 mg/kg) çıkmıştır. Oyuncakları ağızlarına almaları, çocuklar için fitalatlara oral maruziyet için potansiyel bir kaynak oluşturmaktadır. Çocuk oyuncaklarındaki fitalat miktarlarının ne kadar olduğuna dair henüz bir çalışma bulunmamaktadır.

Dermal yoldan DHP'a maruziyet mümkün olmakla birlikte olasılığı çok düşüktür. Sıçanlarda yapılan çalışmalar, DHP'ın deriden çok az absorbe edildiğini göstermiştir. Bu oran insanlarda daha düşüktür. Elde bulunan veriler, genel populasyonun DHP'a maruziyeti hakkında çok az bilgi sağlamaktadır. Bununla birlikte, DHP içeren bileşiklerin üretim hacmi ve tüketim oranları DEHP içeren maddeler ile karşılaştırıldığında, DHP'a insan maruziyeti DEHP'a oranla daha düşüktür ve DEHP'a insanın günlük maruziyetinin, 3-30 μg/ml/ vücut ağırlığı olduğu belirtilmektedir (Doull ve ark.,1998).

Shen (2005)'in ambalajlarda, paketleme filmlerinde, kutularda, sadece mikrodalga fırında kullanılan kutularda, kaşık, bardak ve tabaklar gibi yiyecek için kullanılan 25 değişik plastik üründe fitalatları GC-MS kullanarak saptamıştır. DCHP'nin bu maddelerde 0,05 -15 mg/kg oranında bulunduğunu tespit etmiştir. Besinleri ambalajlamak için kullanılan filmlerin üzerindeki mürekkeplerde bulunan DCHP'nin yaklaşık % 6'sının (0,01'den az - 18,6 mg/kg) besin maddesine geçtiği gösterilmiştir (Castle, 1989). Ayrıca ev ve ofisten alınan toz örneklerinde 0,569-5,38 μg/g DCHP tespit edilmiştir (Rudel ve ark., 2001). DCHP'nin 17-β-östrodiyol'e göre 1.700 000 kez daha az östrojenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Moore, 2000; Okubo ve ark., 2003). Lake ve ark. (1982) sıçanlara 7 gün boyunca 500-2500 mg/kg/gün dozda uyguladıkları DCHP'ın karaciğerde büyüme yaptığını ve hepatik ksenobiyotik metabolizmasındaki bazı parametreleri uyardığını göstermişlerdir.

Okubo ve ark. (2003) yaptığı çalışmada, çevrede yaygın olarak bulunan 8 fitalat diesterin ve bunlardan türevlenen 11 monoesterin östrojenik ve anti-östrojenik etkilerini araştırmak için, her bileşiğin özelliğini belirlemek amacı ile östrojen-bağımlı insan göğüs kanser hücresi olan MCF-7 hücrelerini in vitro olarak kullanmışlardır. Bu çalışmaya göre DCHP, $5x10^{-5}$ M ile hücre proliferasyonunu en yüksek seviyede uyardığı tespit edilmiştir. Bu, 17β-östradiol maksimum $3x10^{-11}$ M

konsantrasyonda kontrolden yaklaşık % 400'den daha fazla hücre proliferasyonuna neden olmuştur. DCHP ise 17β-östradiol'e göre hücre proliferasyonunu yaklaşık % 80 kadar uyarmıştır.

Takeuchi ve ark. (2005)'nın yaptıkları çalışmada, endokrin bozucu kimyasal oldukları düşünülen fitalatların yapı-aktivite ilişkisini ve çeşitli uzunluklarda halkasal ve doğrusal farklı zincir kısımlarına sahip 19 fitalat diesterin ERα/β ve AR aktiviteleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Buna göre DCHP'ın ERα üzerindeki agonistik aktivitesinin %20 göreli etkin konsantrasyonunun $2{,}8x10^{-6}$ M, DHP'ın ise $5{,}6x10^{-6}$ M olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, DCHP'ın AR üzerindeki antagonistik aktivitesinin %20 göreli etkin konsantrasyonunun $3{,}8x10^{-6}$ M, DHP'ın ise $3{,}5x10^{-6}$ M olduğu tespit edilmiştir. DCHP'ın östrojenik aktivitesinin DHP'nin aktivitesinden daha yüksek olduğu, AR antagonistik aktivitesinde ise DCHP'ın aktivitesinin DHP'den daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada DCHP'ın ERβ üzerinde en güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre C3 ve C6 arasında alkil uzunluğuna sahip fitalatların ERα-aracılıklı östrojenik aktivite göstermiştir. Ayrıca 10^{-5} M'daki bu aktivite, ER antagonisti olan tamoksifen ile engellenmiştir. Bu da fitalatların östrojenik aktivitesinin ERα ile bağlanarak gösterdiğini ileri sürmektedir. Aynı çalışmada ERβ analizinde ise, DCHP ve DHP'ın da içinde bulunduğu 7 fitalatın antiöstrojenik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. C4-C6 alkil zincirine sahip fitalatların hem ERα agonistik hem de ERβ ve AR antagonistik aktiviteye sahip oldukları sonucuna varılmıştır. Bu ve diğer çalışmalarla, birçok çevresel östrojenin aynı zamanda antiandrojenik olduğu da gösterilmiştir.

DHP'ın inhalasyonu veya oral toksikokinetik verisi henüz rapor edilmemiştir. DHP'ın dermal absorbsiyonu, bir seri fitalatın sıçanlarda çalışılması ile incelenmiştir. Sırt kısmından tıraş edilen F344 soyu erkek sıçanlara ^{14}C-fitalat diesteri 157 μmol/kg dozda uygulanmış ve uygulama bölgesi kaplanmıştır. Sıçanlar etkisiz hale getirilerek üre ve feçeslerinin toplandığı metabolik kafeslerde 7 gün boyunca muhafaza edilmişlerdir. Üre ve dışkıları her 24 saatte bir toplanmış ve atılan ^{14}C miktarı perkutenöz absorbsiyonun bir göstergesi olarak alınmıştır. Alkil zincirin uzunluğuna göre atılan ^{14}C miktarının ilk 24 saat içinde önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir. Buna göre DHP'nin atılım miktarı 7 günün

sonunda %18 olarak tespit edilmiştir. Dermal olarak absorbe edilen DHP'ın vücut içine dağıldığı ve dokulardaki miktarının %0,6'dan daha az olduğu tespit edilmiştir. Dokularda biriktiğine dair herhangi bir veri bulunmamaktadır (Kavlock ve ark., 2002).

DHP'ın biyotransformasyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, diğer fitalatlar gibi hızlıca monoesterlerine ve alkole yıkılıp vücuttan atıldığı düşünülmektedir.

Zacharewski ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada DHP'nin östrojen reseptörüne bağlanarak östrojenin yerini aldığını göstermişlerdir. Lamb ve ark. (1987) yaptıkları çalışmada, erkek ve dişi fareler çiftleşme öncesi 7. günden itibaren 98 gün boyunca % 0, 0.3, 0.6 veya 1.2 oranında DHP karıştırılmış besinle beslenmişlerdir. Besine karıştırılmış DHP'ın doza bağlı olarak döl sayısında ve her dölde yaşayan yavru sayısında olumsuz etkilere neden olduğu görülmüştür. Mann ve ark. (1985), sıçanları besin içinde 20 000 ppm DHP ile beslemişler ve 3, 5 ve 10 gün sonra hayvanların karaciğerleri histopatolojik olarak incelenmiştir. DHP karaciğerde merkezi venlerin çevresinde büyük yağ damlacıklarının oluşmasına ve karaciğer ağırlığının artmasına neden olduğu görülmüştür.

Mann ve ark. (1985)'nın yaptıkları çalışmada, 4 haftalık Wistar erkek sıçanlarda 3, 10 veya 21 gün tekrarlı 20 000 ppm DHP'ın uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. 12 erkek sıçan, içinde 20 000 ppm DHP bulunan besinle beslenmişken, kontrol grubundaki 18 sıçan normal besin ile beslenmiştir. Gerçek besin alınım seviyesi ve sıçan vücut ağırlıkları kullanılarak günlük dozun 1824 mg/kg/gün DHP olduğu hesaplanmıştır. Uygulama grubundan 4, kontrol grubundan 6 sıçanın 3, 10 veya 21 gün sonra deneylerine son verilmiştir. DHP uygulamasının vücut organ ağırlığında ve besin alınım seviyelerinde bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, DHP uygulamasının testis ağırlığında veya testis, böbrek ve pankreas görünümünde bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Etkiler uygulama süresinin artması ile belirgin hale gelmiştir.

Saillenfait ve ark. (2009a, 2009b)'nın yaptıkları çalışmalarda *in utero* uygulanan DHP'ın uzun süreli etkisine bakılmıştır. Yapılan çalışmada anne sıçanlar gebeliğin 12-21. günleri arasında DHP 0, 50, 125, 250 ve 500 mg/kg/gün dozlarında gavaj yoluyla uygulanmıştır. Erkek yavrularda anogenital aralıkta

kısalma, gelişimi gerilemiş testis ve inmemiş testis gözlemiştir. Yamasaki ve ark. (2009), gebe CD sıçanlara gebeliğin 6. gününden doğum sonrası 20. günler arasında 0, 20, 100 ve 500 mg/kg/gün dozlarında DCHP'yi oral olarak uyguladıklarında erkek yavrularda anogenital aralıkta kısalma, küçük testis ve azalmış yardımcı üreme bezi ağırlıkları gözlenmiştir.

T.C. Sağlık Bakanlığı da "Oyuncak ve Çocuk Bakım Eşyalarındaki Phthalatlar Hakkında Tebliğ" (2005) adı altında üç yaşından küçük çocukların ağızlarına götürebilmesi muhtemel olan ve ağırlığının % 0,1'inden fazlasını DINP, DEHP, DNOP, DIDP, DBP ve BBP'den bir veya birkaçının oluşturduğu kısmen ya da tamamen yumuşak PVC'den üretilen oyuncaklar ile çocuk bakım eşyalarında kullanılmasında sınırlama getirildiğini 20.10.2005 tarih ve 25972 sayılı Resmi gazetede yayınlamıştır. Bazı fitalatların üç yaşın altındaki çocukların oyuncaklarında kullanımını yasaklamış olmasına rağmen bu maddelerin daha ileri yaşlardaki çocuklar için yapılan oyuncaklarda kullanılmaya devam edilmektedir. Ayrıca doğumdan önceki dönemlerde bu maddelere maternal yolla maruziyet oranları da yüksektir. DHP ve DCHP'nin embriyonik dönemdeki etkilerini ortaya koymak bu çalışmanın beklentisini oluşturmaktadır. Bu nedenle toksikolojik deneylerde memeli üzerindeki etkileri gözlemek amacı ile model organizma olarak kullanılan sıçanlarda maternal dönem boyunca çeşitli dozlarda DCHP ve DHP'ye maruz kalmanın erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerini araştırmak bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kimyasal maddeler

Deneyde kullanılan fitalat bileşikleri DHP (CAS No: 84-75-3) ve DCHP (CAS No: 84-61-7) olup Aldrich Kimya (Almanya)'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Sıçanlar

Prenatal dönemde DHP ve DCHP maruziyetinin erkek üreme sisteminin üzerindeki etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde araştırılması için deney hayvanı olarak, laboratuvar şartlarına kolay uyum göstermeleri, üretimlerinin kolay ve ucuz olması sebebiyle sıçan seçilmiştir. Deneyde 140-170 g ağırlığında Wistar albino sıçanlar (*Rattus norvegicus*) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan sıçanlar, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir.

3.1.3. Laboratuvar koşulları

Deney süresince laboratuvarın sıcaklığı ortalama 22±2 ºC, nisbi nemi ortalama % 50±5 olarak ayarlanmıştır. Zaman ayarlayıcı kullanılarak fotoperiyot 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışmada, 480x265x210 mm ebatlarında polipropilen kafesler kullanılmıştır. Tüm hayvanların laboratuvar koşullarından en iyi şekilde yararlanmasını sağlamak için her kafesin yeri haftalık olarak değiştirilmiştir.

3.1.4. Yem ve içme suyu tüketimi

Deney süresince hayvanlara içme suyu olarak çeşme suyu verilmiştir. Deneyde Korkutelim Yem A.Ş.'den elde edilen pelet sıçan yemleri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması ve uygulama

Çalışmada ergin dişi sıçanlara gavage yoluyla uygulama yapılmış, etkiler yavru sıçanlarda gözlenmiştir. Dişi sıçanlar, çiftleşmelerini sağlamak amacıyla gece boyunca erkek sıçanla aynı kafeste tutulmuştur. Sabah dişi sıçanlara vajinal yıkama yapılmıştır. Vajinal yıkamada sperm görülen dişi sıçanlar gebe olarak

kabul edilmiş ve gebeliğin 0. günü olarak alınmıştır. Gebe sıçanlar gruplara rastgele ayrılmıştır. Her gruptaki sıçanlara gebeliğin 6-19 günleri arasında uygulama yapılmıştır. Gebelik boyunca hayvanların ağırlıkları, yem ve su tüketimleri günlük olarak kaydedilmiştir.

Hayvanlara uygulama gavage yoluyla yapılmıştır. Gruplar oluşturulurken, hiçbir uygulamanın olmadığı kontrol ve uygulanacak maddenin içinde çözülüp uygulanacağı yağ (mısır yağı) kontrol grubu olmak üzere iki kontrol grubu seçilmiştir. Hayvanlara gavage yoluyla uygulanmış mısır yağı miktarı 2,5 µl/g vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Gray ve ark., 2000). Yağ kontrol grubunun oluşturulmasının nedeni uygulanacak olan maddenin içinde çözündüğü yağın tek başına kontrol grubu ile karşılaştırıldığında herhangi bir etkiye sahip olup olmadığını gözlemlemektir. Uygulama grupları oluşturulurken DHP ve DCHP için 20 (düşük doz), 100 (orta doz) ve 500 (yüksek doz) mg/kg/gün olmak üzere 3 doz grubu belirlenmiştir. En düşük doz literatür taraması sonucunda besin maddesine geçen DCHP oranı temel alınarak seçilmiştir (Castle ve ark., 1989). Belirtilen üç doz grubu, artan dozlardaki etki derecelerini gözlemlemek için belirlenmiştir. Ayrıca prenatal (doğum öncesi 20. gün), puberte öncesi (doğum sonrası 20. gün), pubertal (doğum sonrası 32. gün) ve ergin (3 aylık) dönem olmak üzere erkek sıçanlar (morfolojik ve fizyolojik özelliklere göre yapılan sınıflandırmaya göre) gruplandırılmıştır. Bu şekilde bir sınıflandırma ile büyüme, gelişme ve erginleşme süreçlerinde meydana gelebilecek etkilerin tespit edilebilmesi amaçlanmıştır (Knobil ve Neill, 1988). Buna göre çalışmadaki gruplar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir;

Çalışmada kontrol-prenatal, yağ kontrol-prenatal, düşük doz-prenatal, orta doz-prenatal grubu, yüksek doz-prenatal gruplarında kullanılmış olan gebe hayvan sayısı N=10'dur. Bu gruplardaki gebe sıçanlar gebeliğin 20. günü deneylerine son verilmiştir. Aynı zamanda yaşayan yavru sayısı, absorbe olmuş yavru sayısı belirlenmiştir.

Diğer gruplarda bulunan hayvanları gelişim dönemlerine göre ayırmak için başlangıçta kontrol ve uygulama gruplarında N=10 gebe sıçan kullanılmıştır. Bu gruplardaki gebe sıçanların doğurmasına izin verilmiştir. Doğum sonrası 18. güne geldiklerinde bir erkek yavru rastgele seçilmiştir. Bu yavrular, kontrol-puberte

öncesi, yağ kontrol-puberte öncesi, düşük doz-puberte öncesi, orta doz-puberte öncesi, yüksek doz-puberte öncesi gruplarındaki yavruları oluşturmaktadırlar. Kalan yavrulardan bir erkek yavru pubertal dönem olan 32. güne geldiğinde kontrol-pubertal, yağ kontrol-pubertal, düşük doz-pubertal, orta doz-pubertal, yüksek doz-pubertal gruplarındaki yavruları oluşturmak üzere rastgele seçilmiştir. Kafeste kalan diğer yavrular erginleşinceye kadar (3 aylık olana kadar) büyütülmüştür. Erginleşen sıçanlar kontrol-ergin, yağ kontrol-ergin, düşük doz-ergin, orta doz-ergin, yüksek doz-ergin gruplarını oluşturmuşlardır.

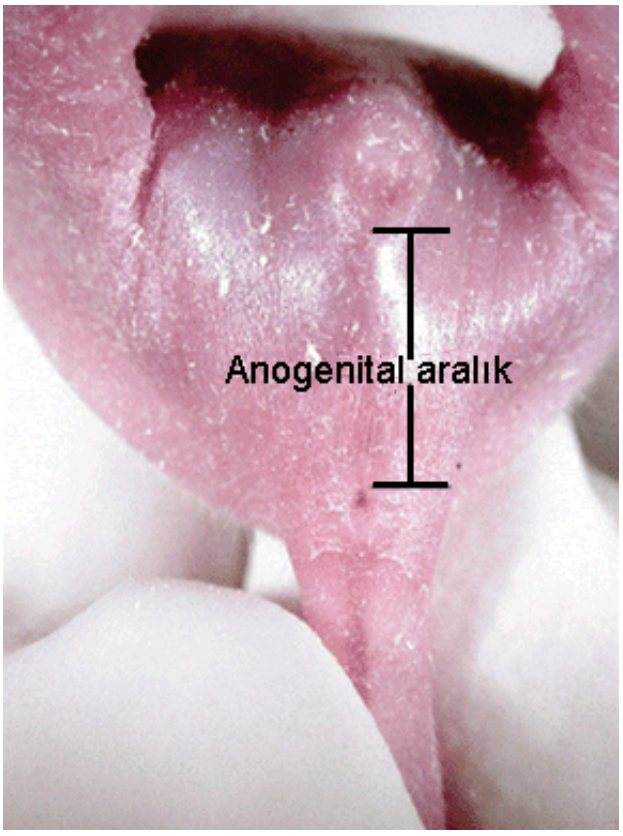
Çalışmada başlangıçta uygulama için alınmış olan toplam sıçan sayısı (N) prenatal dönem için 80, doğum sonrası dönemler için 80'dir. Çalışmada yer alan gruplar ve gruplarda kullanılan hayvan sayıları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmada yer alan gruplar ve gruplarda bulunan hayvan sayıları (n).

	Yağ kontrol	**20 mg/kg/gün DHP**	**100 mg/kg/gün DHP**	**500 mg/kg/gün DHP**	**20 mg/kg/gün DCHP**	**100 mg/kg/gün DCHP**	**500 mg/kg/gün DCHP**
Prenatal	31	35	44	12	15	26	18
Puberte öncesi	10	10	10	8	10	10	10
Pubertal	10	10	10	9	8	10	10
Ergin	10	10	10	8	10	10	10

3.2.2. Gebe hayvanların vücut ağırlık değişimleri, besin ve su tüketimleri, maternal bulgular

Tüm gruplarda bulunan gebe sıçanların, gebelik dönemi boyunca günlük vücut ağırlıkları, günlük yem ve su tüketimleri ölçülerek kaydedilmiştir. Aynı zamanda rezorbsiyonlu döl sayısı, rezorbsiyon yüzdesi, erkek yavru ağırlığı ve boyu, anogenital aralık uzunluğu ölçülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. Erkek fötuslarda ölçümü alınan anogenital aralık.

3.2.3. Organ ve göreli organ ağırlıkları

Deney bitiminde yavru sıçanların vücut ağırlıkları kaydedildikten sonra, eter ile bayıltılmış ve boyunları kırılarak (servikal dislokasyon) uygulamalara son verilmiştir. Yavru sıçanların organlarının (testis, prostat, seminal vezikül, epididimis) ağırlıkları kaydedilmiş ve rutin histolojik inceleme için bir kısmı Bouin fiksatifine alınmıştır. Organ ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı, kontrol örnekleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Histolojik incelemeler

Deney bitiminde testis, prostat, seminal vezikül ve epididimis dokuları hemen çıkartılmış, organ ağırlıkları kaydedildikten sonra Bouin fiksatifinde tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra dokular % 70'lik alkole alınmıştır. Dokular doku takibinden sonra parafine gömülerek blok haline getirilmiştir. Hazırlanan bloklar mikrotomda 4 μm kalınlığında kesilerek preparat haline getirilmiştir. Elde edilen preparatlar, Hematoksilen-Eosin boyasıyla boyanıp histopatolojik bulguları

değerlendirmek amacıyla Olympus BX51 marka araştırma mikroskobunda incelenmiş ve gerekli yerler fotoğraflanmıştır.

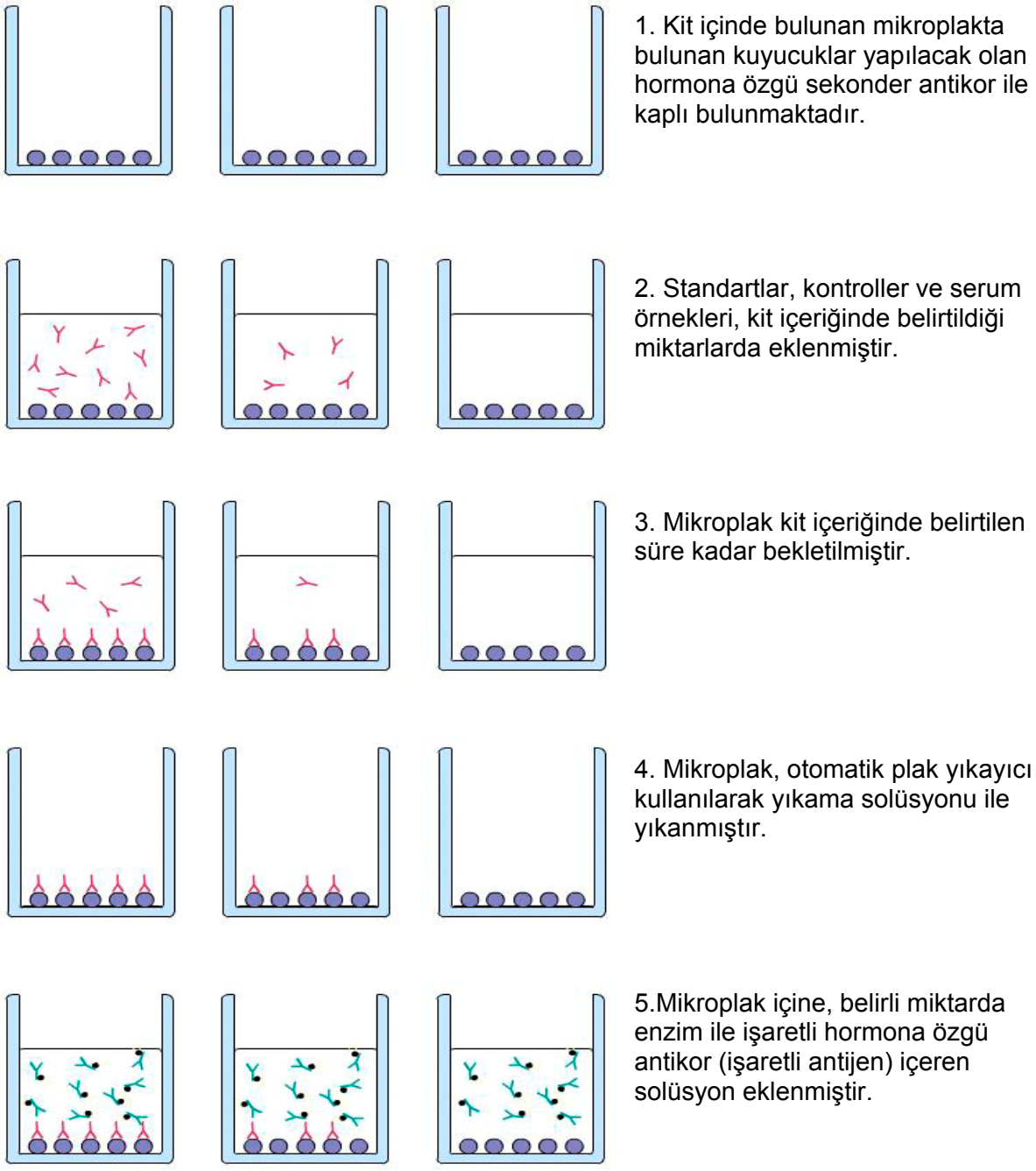
3.2.5. Hormon analizleri

Hormonal analizler için servikal dislokasyondan hemen sonra sıçanların kalbinden steril enjektörle kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri jelli serum ayırma tüplerine konulmuştur. Kanın santrifüj ile ayrılan serum kısmı mikropipet ile çekilerek hormon analizi için ayrı ependorf tüplerine konulup –80 °C de analize kadar saklanmıştır. Hormon analizinde testosteron, östrojen, luteinize edici hormon (LH), folikül stimüle edici hormon (FSH), inhibin ve anti-mullerian hormonlarına bakılmıştır. Hormon analizleri için ticari Elisa kitler kullanılmıştır. Hormon analiz prensibi Şekil 3.2'de verilmiştir. Hormon Değerleri Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Toksikoloji Laboratuvarında bulunan BioTek marka µQuant Microplate Spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.

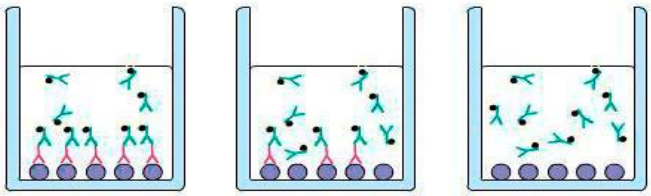
3.2.6. İmmunofloresan boyamalar

Bu çalışmada testis dokusunda bulunan 3β-HSD ve AMH için aynı kesit üzerinde boyama yapılmıştır. Bunun için ikili boyama yöntemi ve farklı dalga boylarında ışıma veren iki farklı florokrom (Flourescein ve Texas Red) kullanılmıştır. Şekil 3.3'de kullanılan indirekt boyama yöntemi ile çoklu immünofloresan boyama prensibi şematik olarak gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan antikorlar ise Santa Cruz Biotechnology, Inc.'den temin edilmiştir. Antikorlar 1:50 PBS ile sulandırılarak kullanılmıştır. Boyama için Vectastain Elite ABC-AP kit kullanılmıştır. Düşük pH'da sitrat tamponu ile antijen geri kazanım işlemi yapıldıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesi H_2O_2 solusyonu ile bloklanmıştır. Çoklu antijen boyaması yapılacağı için Avidin Block serum ve Biotin Block serum ile inkübe edilmiştir. Ardından normal blok serum ile inkübe edilen kesitler uygun dilüsyonu PBS ile yapılmış olan birincil primer antikor ile inkübe edilmiştir. Kesitler biyotinli sekonder antikor ile muamele edildikten sonra birinci flourokrom olan flourescein ile inkübe edilmiştir. Ardından birinci antikorun boyaması Avidin Block serum ve Biotin Block serum ile kapatılmış ve ikincil antikorun boyamasına geçilmiştir. Normal blok serum ile inkübe edilen kesitler uygun dilüsyonu PBS ile yapılmış olan ikincil primer antikor ile inkübe edilmiştir.

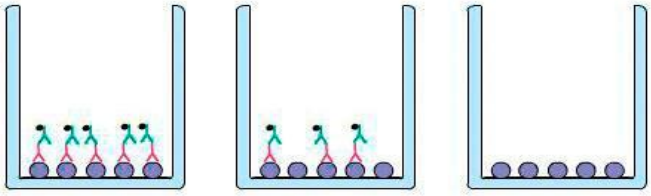
Kesitler biyotinli sekonder antikor ile muamele edildikten sonra ikinci flourokrom olan Teksas Red ile inkübe edilmiştir. Kesitlerin üstü Dapi içeren solmayı engelleyici anti-fader kullanılarak lamel ile kapatılmıştır. Gerekli dalga boyunda Zeiss Axio Imager M1® flouresan mikroskop Zeiss AxioVision 4.3® görüntü işlem ve analiz sistemi kullanılarak mikroskopta incelenmiştir.



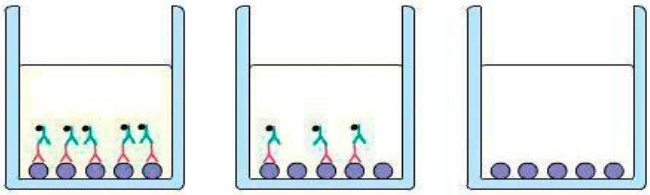
Şekil 3. 2. Hormon analizinde kullanılan Elisa analiz prensibinin şematik gösterimi.



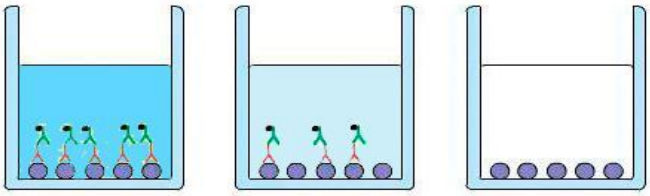
6. Belirli bir süre mikroplak inkübe edilmiştir. Bu süre içinde, işaretli ve işaretsiz antijenler hormona bağlanmak için yarışmaktadırlar.



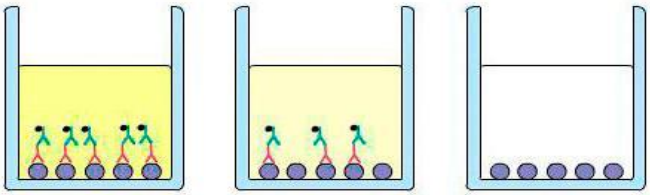
7. Mikroplak, otomatik plak yıkayıcı kullanılarak yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır. Böylece bağlanmayan antijenler uzaklaştırılmıştır.



8. TMB adı verilen substrat solüsyonu kuyucuklara eklenmiştir. Kit içeriğinde belirtilen süre kadar inkübe edilmiştir.



9. İnkübasyon sonunda örnek içinde bulunan hormon miktarına bağlı olarak kuyucuklarda renk değişimi gözlenmiştir.

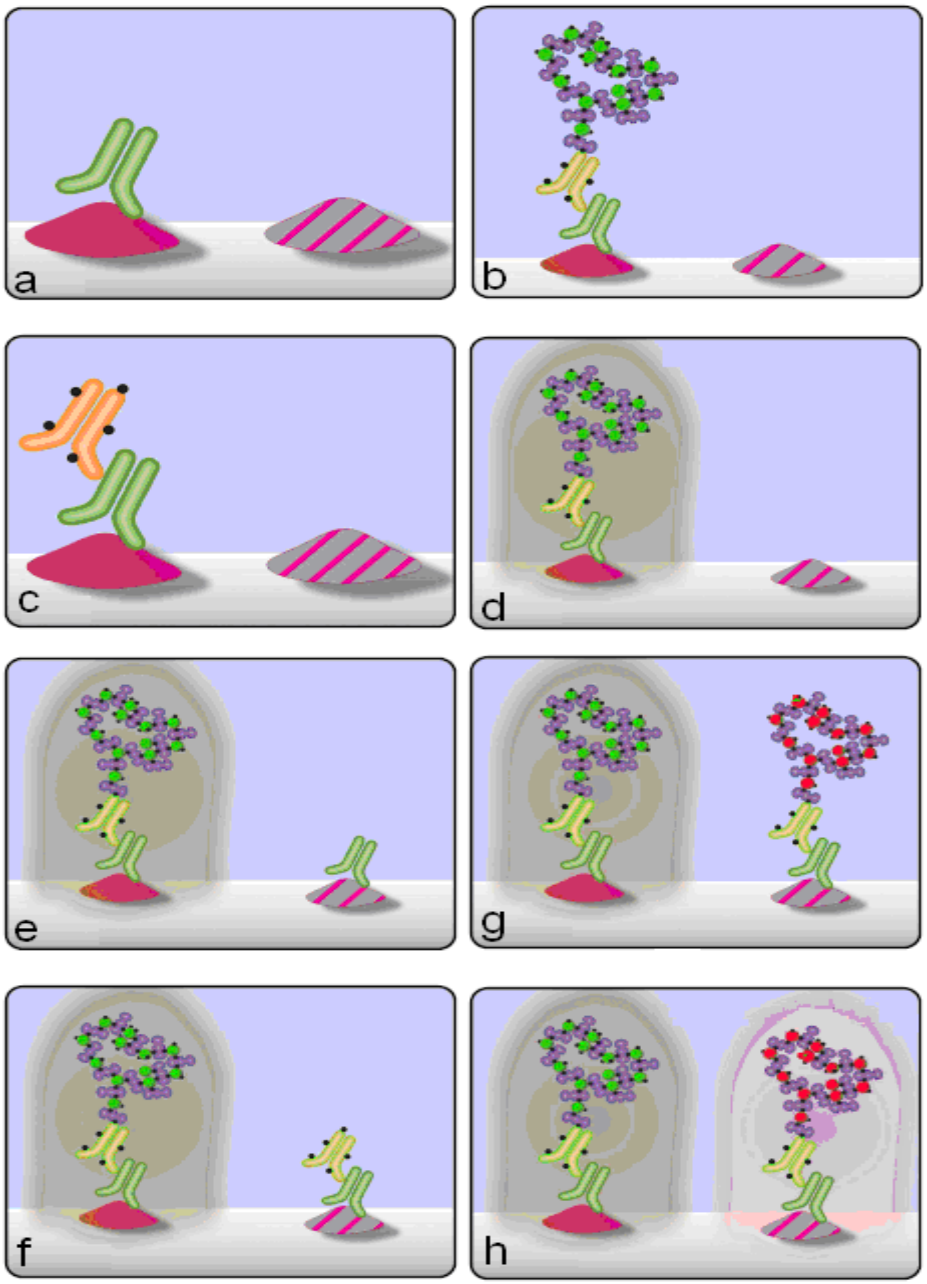


10. İnkübasyon sonunda kuyucuklara reaksiyonu durdurmak için 2N HCl solüsyonu eklenmiştir.

11. Kuyucuklardaki absorbanslar, mikroplak okuyucuda kit içeriğinde belirtilen dalga boyunda okunmuştur.

12. Standart konsantrasyonları ve absorbansları kullanılarak bir standart eğri elde edilmiştir. Bu eğri kullanılarak örneklerin konsantrasyonları elde edilmiştir.

Şekil 3. 2. Hormon analizinde kullanılan Elisa analiz prensibinin şematik gösterimi (devamı)



Şekil 3. 3. İmmünofloresan boyama. a/e) Primer antikor eklenmesi b/f) Biyotinli sekonder antikor eklenmesi c/g) Avidinle konjuge FITC ve Texas Red eklenmesi d/h) Blokaj basamağı (Vector Laboratories).

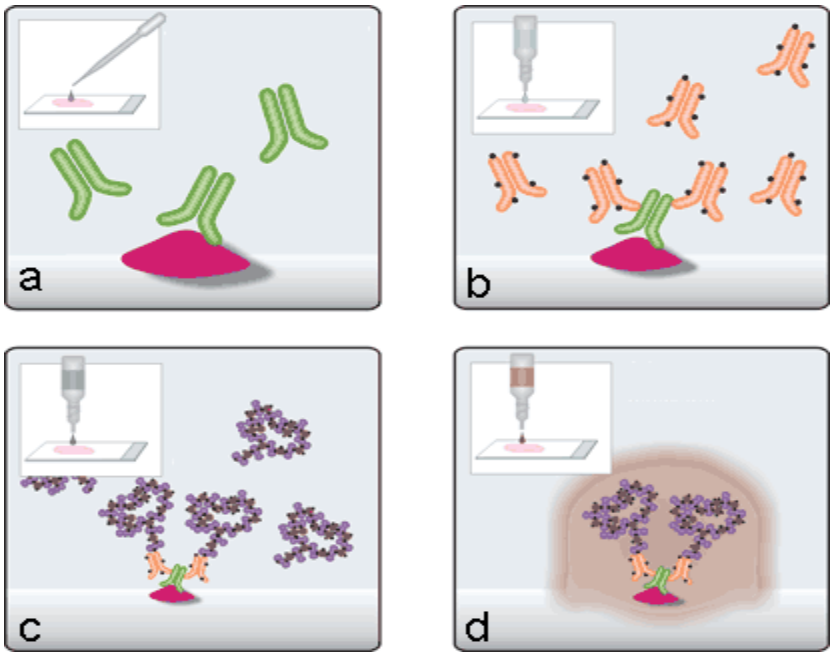
3.2.7. İmmunohistokimyasal boyamalar

Doku antijenlerinin spesifik bir antijen-antikor etkileşimi ile belirlenmesi ve bu etkileşimin mikroskobik olarak gözlemlenmesini kapsayan metot olan *immünohistokimya* ile hücre ve dokularda en hassas biyokimyasal yöntemlerle bile izlenmesi mümkün olmayan miktardaki proteinlerin *in situ* olarak histolojik kesitlerde gösterilebilmesi mümkündür. Bu nedenle testis dokusunda 3β-

hidroksisteroid dehidrogenaz ve MIS/AMH antijenleri bu yöntemle boyanmıştır. Şekil 3.4'de kullanılan indirekt boyama yöntemi ile immünohistokimya prensibi şematik olarak gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan immunohistokimyasal boyama malzemeleri Vector Laboratories Ltd.'den, antikorlar ise Santa Cruz Biotechnology, Inc.'den temin edilmiştir. Antikorlar 1:75 PBS ile sulandırılarak kullanılmıştır.

Testis dokuları üzerindeki 3β-hidroksisteroid dehidrogenaz enzimini ve MIS/AMH'ı işaretlemek için NovaRed peroksidaz substratı (Vector Laboratories, Ltd.) kullanılmıştır. Zemin boyaması metil yeşili ile yapılmıştır.



Şekil 3. 4. İmmünohistokimyasal boyama. a) Primer antikor eklenmesi b) Biyotinli sekonder antikor eklenmesi c) Avidinle konjuge NovaRed eklenmesi d) Blokaj basamağı (Vector Laboratories).

Boyama için Vectastain Elite ABC kit kullanılmıştır. Deparafinize edilen doku kesitleri azalan alkol serilerinden geçirildikten sonra PBS ile yıkanmıştır. Dokular formaldehit içeren bir fiksatif ile tespit edildiği için boyamaya başlanmadan önce dokudan bu kimyasalın tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu işlem için düşük pH'da sitrat tamponu kullanılmıştır. 95 ºC de su banyosunda yapılan

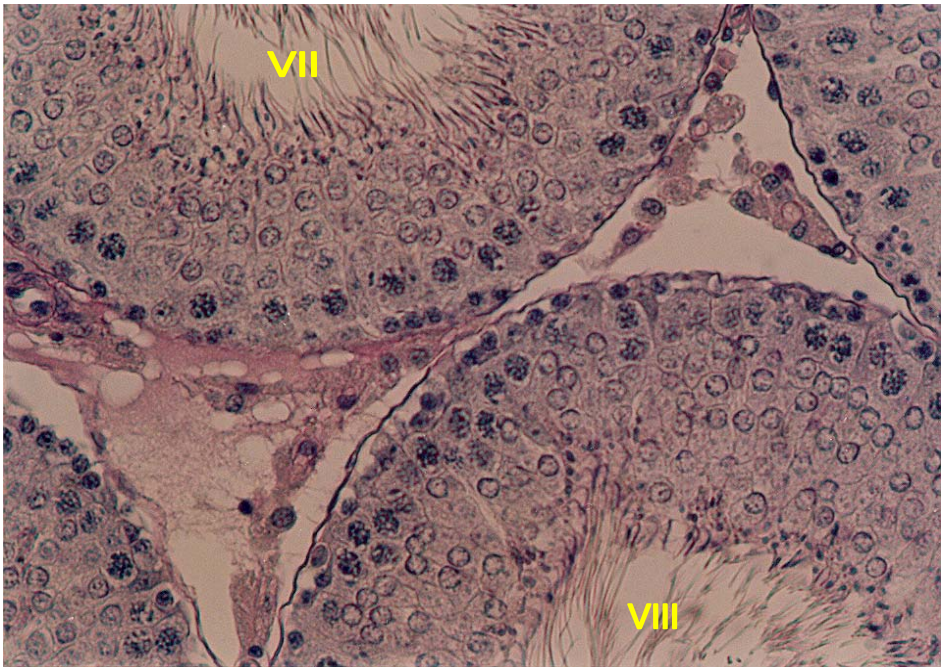
antijen geri kazanım işlemi bitince PBS de olan dokularla boyama işlemine başlanmıştır. Boyama için Vectastain Elite ABC kit kullanılmıştır. Düşük pH'da sitrat buffer ile antijen geri kazanım işlemi yapıldıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesi H_2O_2 solüsyonu ile bloklanmıştır. Ardından normal blok serum ile inkübe edilen kesitler uygun dilüsyonu PBS ile yapılmış olan primer antibody ile inkübe edilmiştir. Vectastain elite ABC reagent ile inkübe edilmiştir. Kesitler peroksidaz substrat (Nova-RED) ile inkübe edilmiştir. Zemin boyaması için metilen yeşili ile boyanan kesitler lamel ile kapatılmıştır.

3.2.8. Sperm sayımı ve morfolojisi

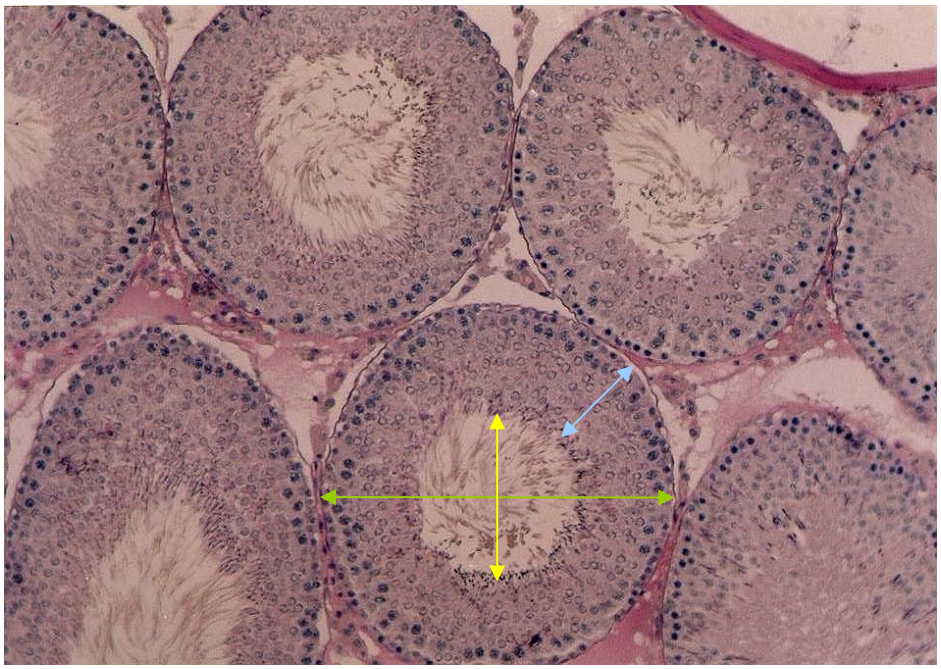
Sperm sayımı için kesim sırasında alınan sol caput epididimis 1 ml serum fizyolojik içeren ependorf tüplerine konulmuş ve bir makas ile çok küçük parçalara bölünmüştür. Bu tüpler sperm sayımına kadar buzdolabında 4°C de saklanmıştır. Sperm sayımı sırasında bu tüplerdeki karışımdan 10 μl alınmış ve 900 μl serum fizyolojik içeren ayrı ependorf tüplerine konulmuştur. Tüplere 90 μl Eosin Y boyası eklenmiş, kapağı kapatılarak yavaşça karıştırılmıştır. Bir saat oda sıcaklığında spermlerin boyanması için beklenmiştir. Neubauer lamına bu karışımdan 10 μl yayılarak ışık mikroskobunda spermler sayılmıştır. Sperm bozukluklarını görebilmek için sol kuyruk epididimis 1 ml serum fizyolojik içiren ependorf tüplerine konulmuş ve buzdolabında 1 gün bekletilmiştir. Tüplerden 20 μl alınmış ve 500 μl serum fizyolojik içeren ependorf tüplerine transfer edilmiştir. Bu karışım lam üzerine yayılarak oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Kuruyan lamlar alkol ile 5 dakika fikse edilmiştir. Fikse olan sperm preparatları, Eosin Y ile 12 saat boyanmaya bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda preparatlar çeşme suyunda yıkanmış ve kuruyuncaya kadar bekletilmiştir. Preparatlar ksilende 30 dakika tutulduktan sonra entellan ile üzerleri kapatılmıştır. Boyanmış olan sperm preparatlarında, her preparatta 250 sperm sayılmış, bunun normal ve anormal sperm sayıları tespit edilmiş ve anormal sperm sayısının %'si hesaplanmıştır. Ayrıca, anormal spermler baş, boyun ve kuyruk anomalileri olmak üzere belirlenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.2.9. Seminifer ve epididimis tübül ölçümleri

Uygulama ve kontrol gruplarındaki sıçanlara ait testislerde VII. ve VIII. aşamada olan yuvarlak seminifer tübüllerin (Şekil 3.5), tübül çapı, tübül lümen çapı ve epitel yüksekliği ölçülmüştür (Şekil 3.6). Bunun için, Nikon Labophot-2 marka mikroskop kullanılarak her gruptan 10 hayvanın testisinden alınan kesitler, aşamaların ayırt edilebilmesi için PAS boyası ile boyanmıştır. Her hayvan için VII. veya VIII. aşamada olan üç seminifer tübül rastgele seçilmiş ve ölçümleri alınmıştır. Spermatid evrelerini geniş çeşitlilikte içermesi nedeniyle VII. ve VIII. aşamalar seçilmiştir. Ayrıca, bu iki aşamanın seçilmesinin bir başka nedeni de boyut olarak birbirlerine benzemesi ve bütün aşamalar içinde en büyük tübüler çapa sahip olmalarıdır (Boockfor and Blake, 1997). Testis dokusuna ilave olarak kontrol ve uygulama gruplarında yuvarlak özelliğe sahip epididimis tübüllerinin tübül çapı, lümen çapı ve epitel yüksekliği ölçülmüştür. Bunun için her grupta bulunan hayvanların epididimis kesitlerinden üç yuvarlak tübülün ölçümleri alınmıştır. Alınan ölçümlerin istatistiksel analizleri yapılmış, kontrol ve uygulama grupları karşılaştırılmıştır.



Şekil 3. 5. VII. ve VIII. aşamadaki seminifer tübüller. PAS boyası, x450.



Şekil 3. 6. Seminifer tübülde ölçülen tübül çapı (↔), lümen çapı (↔) ve epitel yüksekliği (↔). PAS boyası, x180.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Hayvanların vücut ağırlıkları ve organ ağırlıkları kullanılarak organ/vücut ağırlığı oranları saptanmıştır. Deneysel verilerin istatistiksel analizinde SPSS 12 Paket İstatistik Programı kullanılmıştır. Verilerin varyanslarının homojenitelerine bakıldıktan sonra istatistiksel önem kontrolü yapılırken varyansların homojen olduğu yerlerde Bonferonni, olmadığı yerlerde Games-Howell testleri uygulanarak sonuçlar yorumlanmıştır. Kontrol grubu ile yağ kontrol grupları arasında fark gözlenmemiştir. Bu nedenle gruplar arasındaki farklılıklar yağ kontrole göre değerlendirilmiştir. Ayrıca iki kimyasalın aynı doz grupları da kendi aralarında değerlendirilmiş ve önem analizleri yapılmıştır. İstatistiksel önem kontrolü P< 0,05 düzeyinde yapılmıştır. Histopatolojik insidanslar için Fisher's Exact testi yapılmış ve uygulama grupları kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arasındaki farklar aşağıdaki gibi harflerle simgelenerek tablo ve grafikler üzerinde belirtilmiştir.

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$

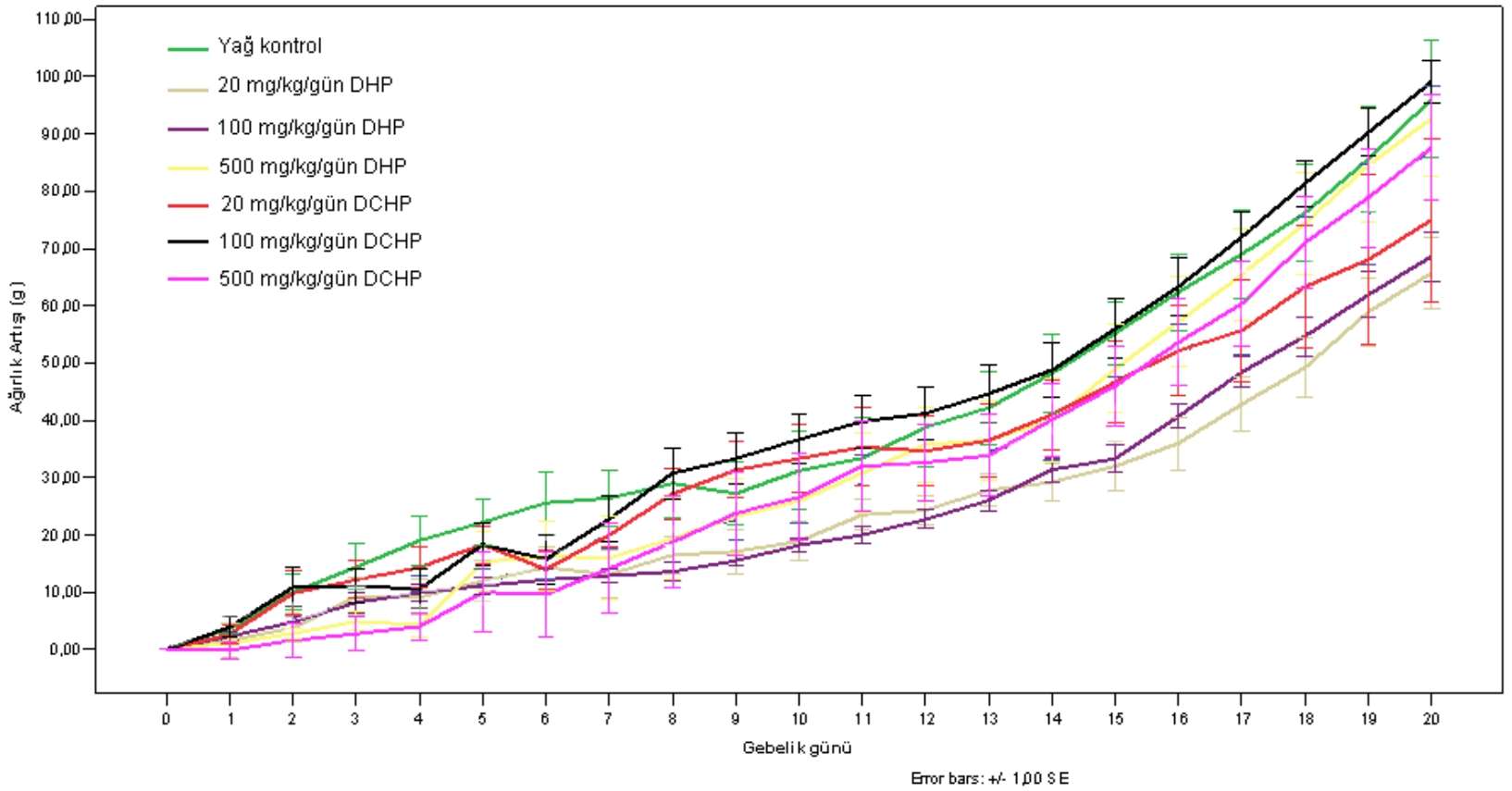
4. BULGULAR

4.1. Gebe Sıçanlara Ait Vücut Ağırlık Verileri, Besin ve Su Tüketimleri

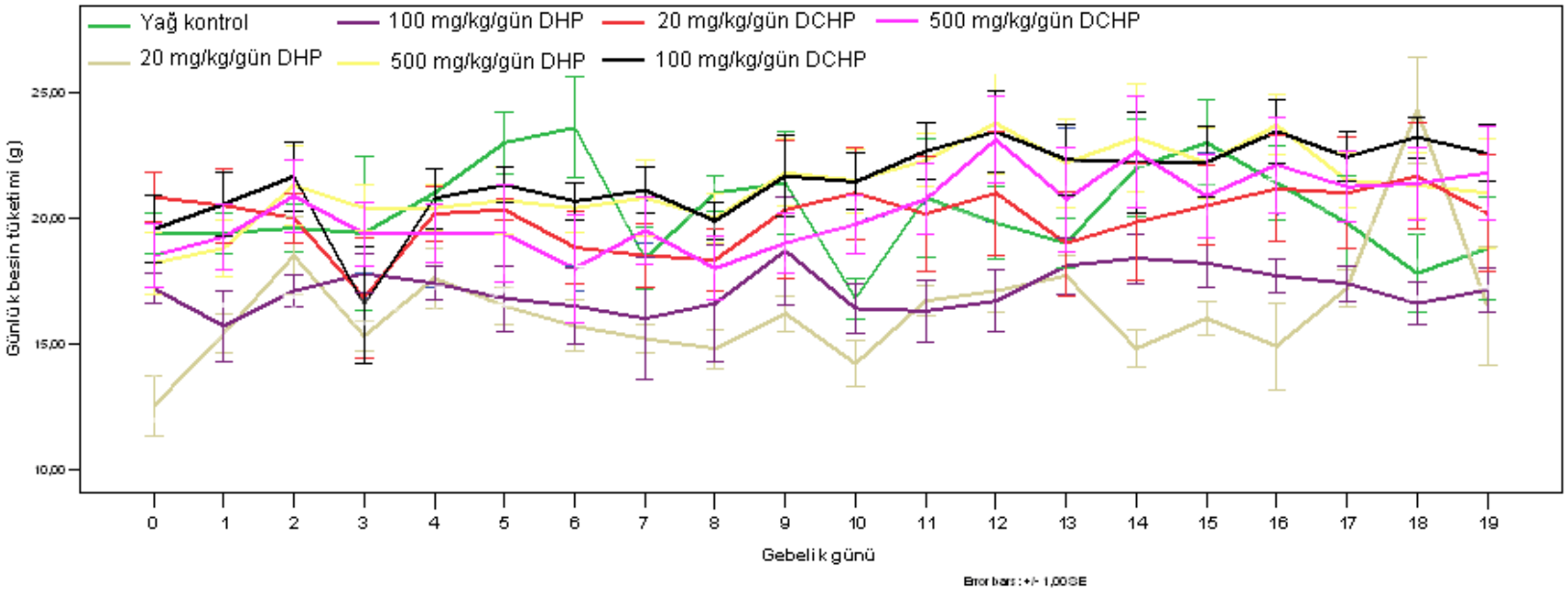
Yağ kontrol ve uygulama gruplarında yer alan gebe sıçanlara ait ağırlık artışı, besin ve su tüketim verileri grafik olarak Şekil 4.1-3'de gösterilmektedir. Ağırlık artışı, besin ve su tüketimleri açısından gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

4.2. Maternal Bulgular

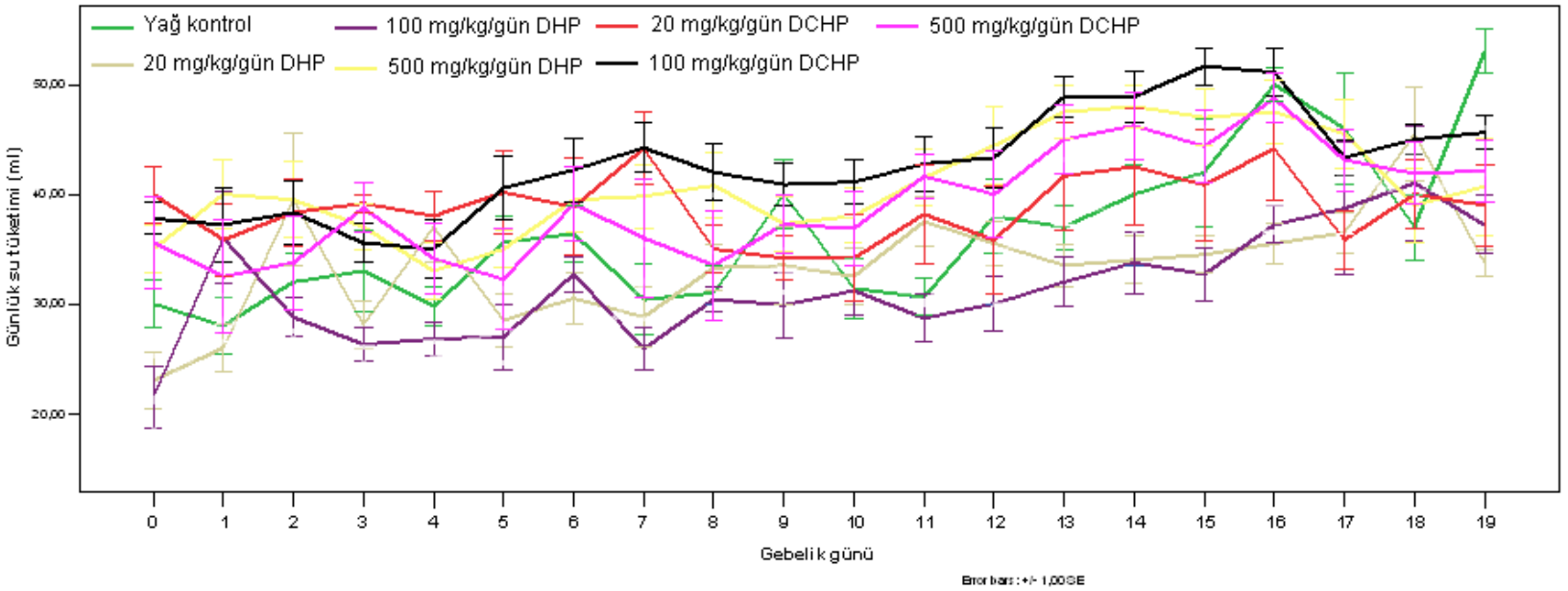
Yağ kontrol ve uygulama gruplarında yer alan gebe sıçanlardan elde edilen maternal bulgular ve fötuslara ait bulgular Çizelge 4.1'de verilmiştir. Buna göre implantasyon sayısı, doğan yavru sayısı, erkek ve dişi yavru sayıları, erkek/dişi yavru oranında gruplar arasında fark gözlenmemiştir. Rezorbsiyonlu döl sayısına bakıldığında 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve tüm DCHP uygulama gruplarında artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca gruplarda tek batında görülen rezorbsiyon yüzdesi de tüm uygulama gruplarında artmışken bu artışın DCHP uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir. Buna karşılık, erkek yavru ağırlıkları (Şekil 4.4) 20 ve 100 mg/kg/gün DHP uygulama gruplarında yağ kontrolden önemli derecede azalırken 500 mg/kg/gün DHP, 20 ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrolden önemli derecede arttığı görülmüştür. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki erkek yavru ağırlıklarının aynı zamanda 500 mg/kg/gün DHP ve 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki erkek yavru ağırlıkları ise 500 mg/kg/gün DHP ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubuna göre azalmıştır. Erkek yavru boyları 20, 100 ve 500 mg/kg/gün DHP uygulama gruplarında yağ kontrolden önemli derecede azalmıştır. Göbek kordon uzunluğunun 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrolden önemli derecede azaldığı görülmüştür. Plasenta eni ölçüldüğünde bütün uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalma tespit edilmiştir. Plasental ağırlık ise düşük ve orta doz DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre önemli derecede artmıştır. Erkek yavrulara ait anogenital aralık (Şekil 4.4) uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. Bu değer vücut ağırlığına oranlandığında 500 mg/kg/gün DHP ve tüm DCHP gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır.



Şekil 4. 1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük vücut ağırlık artışı



Şekil 4. 2. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük besin tüketimi

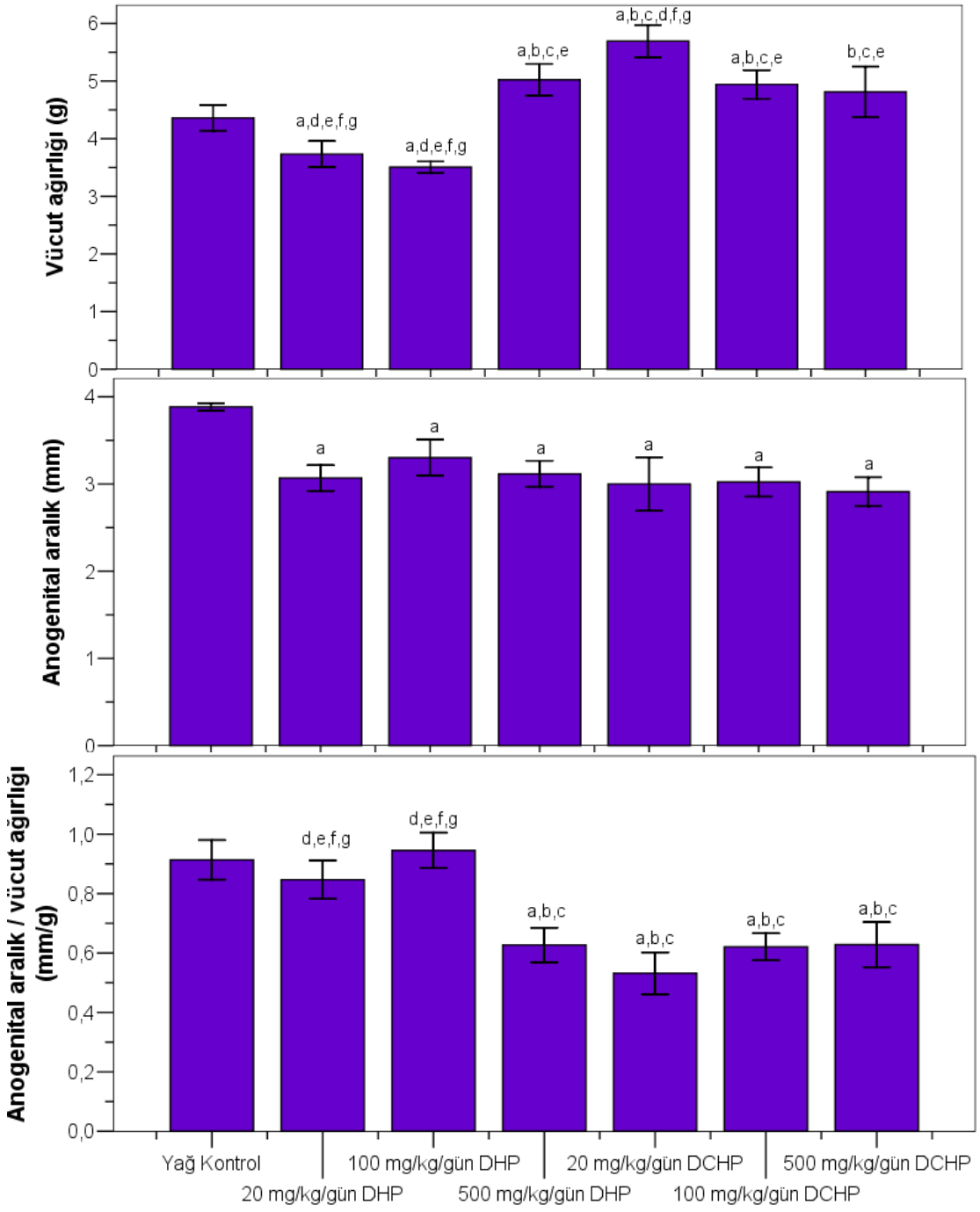


Şekil 4. 3. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki gebe sıçanlara ait günlük su tüketimi

Çizelge 4. 1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında yer alan gebe sıçanlardan elde edilen maternal ve fötuslara ait bulgular

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Kullanılan gebe sıçan sayısı	10	10	10	8	10	10	10
Gebelik süresi (gün)	21 ± 0,4	21 ± 0,2 [c]	23 ± 0,3 [b,d,f]	21 ± 0,2 [c]	21 ± 0,4	21 ± 0,2 [c]	22 ± 0,3
İmplantasyon sayısı	12 ± 0,7	8 ± 1,4	11 ± 1,2	8 ± 2,8	9 ± 2,3	11 ± 2,1	10 ± 0,8
Doğan yavru sayısı	11,2 ± 0,37	8,1 ± 1,52	9,2 ± 1,41	6,8 ± 2,17	5,8 ± 1,89	7,8 ± 2,10	7,2 ± 0,97
Erkek yavru sayısı	6,2 ± 0,92	4,4 ± 0,89	4,5 ± 0,89	4,0 ± 1,15	2,8 ± 1,38	5,2 ± 1,24	3,6 ± 0,93
Dişi yavru sayısı	5,0 ± 0,89	3,8 ± 0,99	4,7 ± 0,75	4,0 ± 1,73	3,0 ± 0,71	2,6 ± 1,38	3,6 ± 1,03
Erkek/dişi yavru oranı	1,5 ± 0,40	1,5 ± 0,53	0,86 ± 0,18	1,36 ± 0,42	0,77 ± 0,38	1,5 ± 0,40	0,67 ± 0,35
Rezorbsiyonlu döl sayısı*	2/10	5/10 [a]	4/10	8/8 [a]	8/10 [a]	9/10 [a]	10/10 [a]
Rezorbsiyon yüzdesi	3 ± 2,2	13 ± 5,3	14 ± 8,6	16 ± 3,6	33 ± 7,6 [a]	31 ± 7,1 [a]	26 ± 5,1 [a]
Erkek yavru ağırlığı	4,4 ± 0,11	3,7 ± 0,11 [a,d,e]	3,5 ± 0,50 [a,b,d,f]	5,0 ± 0,12 [a,b,c]	5,7 ± 0,13 [a,b,f]	4,9 ± 0,12 [a,c,e]	4,7 ± 0,26
Erkek yavru uzunluğu	5,7 ± 0,20	5,1 ± 0,08 [d,e]	4,8 ± 0,03 [a,d,f]	5,5 ± 0,08 [b,c]	5,9 ± 0,05 [b,f,g]	5,6 ± 0,06 [c,e]	5,4 ± 0,11 [e]
Göbek kordon uzunluğu	3,0 ± 0,05	2,8 ± 0,05 [c,d,e]	2,0 ± 0,04 [a,b,d,f]	3,2 ± 0,06 [b,c]	3,2 ± 0,07 [b]	3,2 ± 0,06 [c]	2,9 ± 0,08
Plasenta eni	1,4 ± 0,01	1,2 ± 0,01 [a]	1,2 ± 0,02 [a]	1,2 ± 0,02 [a]	1,3 ± 0,02 [a,e]	1,1 ± 0,03 [a,e]	1,2 ± 0,02 [a]
Plasenta boyu	1,4 ± 0,03	1,3 ± 0,02 [e]	1,4 ± 0,01	1,4 ± 0,02	1,6 ± 0,03 [a,b]	1,4 ± 0,02 [e]	1,5 ± 0,02
Plasenta yüksekliği	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01 [d]	0,3 ± 0,02 [a]	0,3 ± 0,01 [a,b,g]	0,4 ± 0,02	0,4 ± 0,05	0,4 ± 0,01 [a,d]
Plasental ağırlık	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,01 [e]	0,5 ± 0,02	0,5 ± 0,02	0,6 ± 0,04 [a,b]	0,5 ± 0,02	0,6 ± 0,09 [a]

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı; * Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.



Şekil 4. 4. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında erkek fötuslara ait vücut ağırlığı, anogenital aralık ve anogenital aralık/vücut ağırlık oranı.

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı

4.3. Puberte öncesi Dönemdeki Erkek Sıçanların Vücut Ağırlıkları, Organ ve Göreli Organ Ağırlıkları

Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait vücut, organ ve göreli organ ağırlıkları Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de verilmiştir. Bu verilere göre puberte öncesi erkek sıçanların vücut ağırlık değerlerinde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.2). Pubertal dönemdeki erkek sıçanların vücut ağırlığında 20 ve 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrole göre arttığı tespit edilmiştir. Uygulama gruplarındaki ergin dönemdeki erkek sıçanların vücut ağırlıklarında yağ kontrolle karşılaştırıldığında herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (Çizelge 4.2).

Puberte öncesi erkek sıçanların testis ve epididimis ağırlıklarında yağ kontrolle karşılaştırıldığında, 20 mg/kg/gün DHP uygulanan grubun sol epididimis ağırlığındaki artış dışında bir fark saptanmamıştır. Pubertal erkek sıçanların sağ ve sol testis ağırlıklarında DCHP uygulama gruplarında kontrolle karşılaştırıldığında doza bağlı olarak düşüş tespit edilmiştir. Testis ağırlıkları DHP uygulama gruplarından orta doz uygulama grubunda kontrole göre en yüksek düşüşü göstermiştir. Epididimal ağırlıklar 100 mg/kg/gün DHP, 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında kontrole göre düşmüştür. Prostat ağırlığı 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal erkek sıçanlarda kontrole göre düşmüştür. 20 ve 100 mg/kg/gün DHP uygulama gruplarındaki ergin erkek sıçanlarda sağ ve sol testis ağırlıkları kontrole göre azalmıştır. Düşük ve orta doz DHP uygulama gruplarında testis ağırlıkları yağ kontrolle karşılaştırıldığında azalmıştır. Sol epididimis ağırlığının 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda yağ kontrole göre arttığı tespit edilmiştir. 500 mg/kg/gün DHP ve 20 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarındaki ergin prostat ağırlıkları yağ kontrole göre artmıştır. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki seminal vezikül (dolu) ağırlığının yağ kontrole göre arttığı tespit edilmiştir.

Puberte öncesi erkek sıçanların göreli organ ağırlıklarına bakıldığında (Çizelge 4.3), 100 mg/kg/gün DCHP grubunda ise göreli testis ağırlıkları yağ kontrole ve 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların göreli organ ağırlıklarına bakıldığında sağ ve sol testis göreli ağırlıkları 100 ve 500 mg/kg/gün DHP ve DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole

oranla düşmüştür. Sağ epididimis göreli ağırlığı DHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. Seminal vezikül göreli ağırlığı ise yüksek doz DHP uygulama grubunda yağ kontrol, düşük ve orta doz DHP uygulama grupları ile karşılaştırıldığında düşmüş olduğu tespit edilmiştir. Ergin dönemde testisin vücuttaki durumu incelendiğinde sadece 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda bulunan iki sıçanın testislerinin skrotuma inmediği görülmüştür. Ergin dönem gruplarında göreli organ ağırlıkları açısından, 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunun boş seminal vezikül ağırlığındaki düşüş dışında yağ kontrol ve uygulama grupları arasında fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4. 2. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait organ ağırlıkları (g)

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Vücut ağırlığı							
Puberte öncesi	35,3 ± 0,88	29,5 ± 1,47	34,7 ± 1,93	26,3 ± 2,85	29,5 ± 1,28	37,1 ± 2,81	34,5 ± 1,52
Pubertal	64,7 ± 1,58	82,7 ± 2,71 [a]	61,9 ± 2,99 [b]	80,9 ± 1,26 [a,c]	73,2 ± 3,00	69,6 ± 1,48	61,1 ± 2,32 [d]
Ergin	256 ± 10,5	256 ± 7,4	261 ± 5,5	265 ± 7,1	247 ± 10,6	260 ± 6,3	267 ± 6,3
Sağ testis							
Puberte öncesi	0,10 ± 0,006	0,07 ± 0,009	0,09 ± 0,009	0,08 ± 0,008	0,09 ± 0,005	0,13 ± 0,009 [e]	0,09 ± 0,005
Pubertal	0,35 ± 0,015	0,40 ± 0,019	0,24 ± 0,025 [a,b]	0,33 ± 0,007	0,35 ± 0,027	0,29 ± 0,013	0,25 ± 0,017 [a,d]
Ergin	1,54 ± 0,030	1,21 ± 0,026 [a]	1,29 ± 0,047 [a]	1,59 ± 0,040 [b,c]	1,62 ± 0,058 [b]	1,61 ± 0,033 [c]	1,63 ± 0,031
Sol testis							
Puberte öncesi	0,10 ± 0,006	0,09 ± 0,006	0,09 ± 0,008	0,08 ± 0,008	0,09 ± 0,006	0,13 ± 0,009	0,09 ± 0,005
Pubertal	0,34 ± 0,016	0,41 ± 0,019	0,24 ± 0,025 [a,c]	0,33 ± 0,006	0,34 ± 0,025	0,29 ± 0,009	0,25 ± 0,017 [a,d]
Ergin	1,56 ± 0,038	1,24 ± 0,029 [a]	1,31 ± 0,048 [a]	1,61 ± 0,036 [b,c]	1,62 ± 0,061 [b]	1,58 ± 0,024 [c]	1,63 ± 0,040

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı

Çizelge 4.2. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait organ ağırlıkları (g) (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Sağ epididimis							
Puberte öncesi	0,02 ± 0,003	0,03 ± 0,003	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,002	0,03 ± 0,003	0,02 ± 0,002
Pubertal	0,06 ± 0,003	0,05 ± 0,003	0,04 ± 0,003 [a,b]	0,05 ± 0,006	0,05 ± 0,004	0,05 ± 0,0020	0,04 ± 0,004
Ergin	0,44 ± 0,014	0,41 ± 0,014	0,50 ± 0,018 [b]	0,49 ± 0,017 [b]	0,50 ± 0,017 [b]	0,43 ± 0,011 [e]	0,49 ± 0,011 [f]
Sol epididimis							
Puberte öncesi	0,03 ± 0,003	0,04 ± 0,002	0,02 ± 0,002 [b]	0,02 ± 0,003 [b]	0,02 ± 0,002 [b]	0,02 ± 0,001	0,03 ± 0,002 [e]
Pubertal	0,05 ± 0,004	0,06 ± 0,003	0,04 ± 0,0031 [b]	0,05 ± 0,005 [c]	0,05 ± 0,004	0,05 ± 0,005	0,04 ± 0,003
Ergin	0,45 ± 0,013	0,41 ± 0,019	0,50 ± 0,018 [b]	0,48 ± 0,019	0,48 ± 0,021	0,41 ± 0,009 [c]	0,52 ± 0,013 [a,f]
Prostat							
Puberte öncesi *	0,06 ± 0,007	0,04 ± 0,004	0,05 ± 0,005	0,05 ± 0,005	0,05 ± 0,003	0,06 ± 0,005	0,05 ± 0,003
Pubertal	0,08 ± 0,004	0,08 ± 0,004	0,05 ± 0,005 [b]	0,08 ± 0,004	0,07 ± 0,007	0,08 ± 0,005	0,08 ± 0,004
Ergin	0,42 ± 0,010	0,47 ± 0,046	0,53 ± 0,039	0,55 ± 0,030 [a]	0,53 ± 0,022 [a]	0,48 ± 0,023	0,57 ± 0,042
Seminal Vezikül							
Pubertal	0,04 ± 0,003	0,05 ± 0,003	0,05 ± 0,005	0,02 ± 0,002 [b,c]	0,05 ± 0,004	0,04 ± 0,003	0,03 ± 0,004
Ergin (dolu)	0,83 ± 0,045	0,99 ± 0,073	1,04 ± 0,037 [a]	0,89 ± 0,050	0,94 ± 0,072	0,95 ± 0,039	1,00 ± 0,066
Ergin (boş)	0,47 ± 0,029	0,54 ± 0,031	0,57 ± 0,019	0,46 ± 0,029	0,47 ± 0,040	0,57 ± 0,014	0,59 ± 0,036

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı; * Prostat ve seminal vezikül ağırlığı

Çizelge 4. 3. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait göreli organ ağırlıkları (mg/kg).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Sağ testis							
Puberte öncesi	2,94 ± 0,076	2,48 ± 0,267	2,45 ± 0,133	2,87 ± 0,050	3,01 ± 0,086	3,47 ± 0,098 [a,c,e]	2,73 ± 0,088 [f]
Pubertal	5,35 ± 0,145	4,85 ± 0,165	3,82 ± 0,249 [a]	4,10 ± 0,103 [a,b]	4,69 ± 0,207	4,18 ± 0,118 [a]	4,12 ± 0,136 [a]
Ergin	6,06 ± 0,256	4,76 ± 0,099	4,96 ± 0,174	6,03 ± 0,177	6,67 ± 0,402	6,22 ± 0,168	6,13 ± 0,086
Sol testis							
Puberte öncesi	2,99 ± 0,067	2,89 ± 0,131	2,53 ± 0,132	2,93 ± 0,094	3,00 ± 0,100	3,39 ± 0,090 [a,c]	2,73 ± 0,088 [f]
Pubertal	5,27 ± 0,154	4,95 ± 0,208	3,81 ± 0,250 [a,b]	4,15 ± 0,116 [a]	4,66 ± 0,185	4,23 ± 0,080 [a]	4,08 ± 0,137 [a]
Ergin	6,13 ± 0,268	4,88 ± 0,139	5,05 ± 0,171	6,09 ± 0,189	6,68 ± 0,417	6,12 ± 0,176	6,12 ± 0,106
Sağ epididimis							
Puberte öncesi	0,67 ± 0,084	0,88 ± 0,085	0,55 ± 0,044	0,85 ± 0,057 [c]	0,63 ± 0,063	0,69 ± 0,045	0,71 ± 0,075
Pubertal	0,86 ± 0,048	0,65 ± 0,020 [a]	0,60 ± 0,038 [a]	0,60 ± 0,024 [a]	0,71 ± 0,030	0,66 ± 0,037	0,71 ± 0,046
Ergin	1,73 ± 0,082	1,60 ± 0,024	1,91 ± 0,071	1,84 ± 0,051 [b,c]	2,05 ± 0,110 [b]	1,64 ± 0,038 [b,c]	1,86 ± 0,047

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı

Çizelge 4. 3. Puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait göreli organ ağırlıkları (mg/kg) (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Sol epididimis							
Puberte öncesi	0,70 ± 0,049	0,10 ± 0,076	0,55 ± 0,053 [b]	0,94 ± 0,098	0,55 ± 0,061 [b]	0,59 ± 0,043	0,79 ± 0,068
Pubertal	0,82 ± 0,064	0,69 ± 0,022	0,63 ± 0,038	0,67 ± 0,022	0,70 ± 0,051	0,68 ± 0,074	0,69 ± 0,038
Ergin	1,77 ± 0,073	1,58 ± 0,036	1,91 ± 0,070	1,81 ± 0,068 [b,c]	1,95 ± 0,103 [b]	1,59 ± 0,043 [c]	1,97 ± 0,052
Prostat							
Puberte öncesi *	1,52 ± 0,105	1,40 ± 0,094	1,28 ± 0,118	1,87 ± 0,092 [b,c]	1,70 ± 0,088	1,71 ± 0,088	1,56 ± 0,103
Pubertal	1,05 ± 0,044	0,96 ± 0,052	0,86 ± 0,060	0,94 ± 0,057	0,99 ± 0,061	1,08 ± 0,051	1,30 ± 0,072 [d]
Ergin	1,65 ± 0,059	1,82 ± 0,158	2,06 ± 1,171	2,07 ± 0,079	2,15 ± 0,074	1,83 ± 0,071	2,13 ± 0,149
Seminal Vezikül							
Pubertal	0,57 ± 0,052	0,57 ± 0,025	0,75 ± 0,074	0,30 ± 0,022 [a,b,c]	0,61 ± 0,033	0,55 ± 0,030	0,48 ± 0,048
Ergin (dolu)	3,48 ± 0,238	3,77 ± 0,300	3,98 ± 0,163	3,57 ± 0,176	3,70 ± 0,241	3,62 ± 0,180	3,90 ± 0,378
Ergin (boş)	1,97 ± 0,150	2,08 ± 0,105	2,14 ± 0,115	1,79 ± 0,083 [a]	2,08 ± 0,168	2,29 ± 0,103	2,08 ± 0,117

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı; * Prostat ve seminal vezikül ağırlığı

4.4. Hormon Analiz Sonuçları

DHP ve DCHP'ye prenatal dönemde maruz kalan sıçanların prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemde ortaya çıkabilecek muhtemel etkilerini gözlemek amacı ile kontrol ve uygulama gruplarında bulunan sıçanların serumlarında hormon analizleri yapılmış ve sonuçlar çizelge olarak Çizelge 4.4 ve 4.5'de ve grafik olarak Şekil 4.5-10'da verilmiştir.

Buna göre prenatal dönemdeki erkek sıçanların testosteron seviyeleri 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubu dışındaki tüm uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testosteron seviyesi 500 mg/kg/gün DHP ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı görülmektedir. Ayrıca 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda bulunan puberte öncesi erkek sıçanların testosteron seviyelerinin 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubuna göre de arttığı görülmektedir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların serum testosteron seviyesinin 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 20 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol grubundan önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Ergin dönemdeki erkek sıçanların serum testosteron miktarında uygulama gruplarında yağ kontrole göre farklılık tespit edilmemiştir.

MIS/AMH hormon seviyelerinin prenatal dönemdeki erkek yavrularda 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubu hariç yağ kontrole göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. Puberte öncesi erkek sıçanlarda MIS/AMH seviyeleri 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve DCHP uygulama gruplarında yağ kontrolden belirgin bir derecede artmıştır. 100 mg/kg/gün DHP ve DCHP gruplarında ise bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlarda 20 mg/kg/gün DHP ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında MIS/AMH seviyesi yağ kontrol grubuna göre azalmıştır. MIS/AMH seviyesine bakıldığında ergin sıçanlarda 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrolden ve diğer DHP gruplarından önemli derecede arttığı görülmüştür. Ayrıca, DHP uygulama grubundaki bu artışın doza bağlı olarak meydana geldiği saptanmıştır.

İnhibin B seviyesi prenatal dönemdeki tüm uygulama gruplarındaki erkek yavrularda yağ kontrole göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Puberte öncesi erkek

sıçanlarda 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre azaldığı görülmüştür. İnhibin B hormon seviyesi pubertal sıçanlarda 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrolden önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir. Serum inhibin B seviyeleri ergin sıçanlarda 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede azalmış olduğu görülmektedir.

FSH hormon seviyelerinin prenatal dönemdeki erkek sıçanlarda 20 mg/kg/gün DHP, 20 ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre arttığı görülmüştür. Puberte öncesi erkek sıçanlarda ise kontrollerden farklı olmadığı tespit edilmiştir. FSH seviyesi 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 20, 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarındaki pubertal erkek sıçanlarda kontrollerden önemli derecede artmıştır. FSH seviyelerine bakıldığında ergin erkek sıçanlarda gruplar arasında bir fark olmadığı görülmüştür.

Puberte öncesi ve pubertal erkek sıçanların serum LH seviyelerinde gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. Ergin erkek sıçanların serum LH seviyelerine bakıldığında 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunun LH seviyesinin kontrol ve yağ kontrolde önemli derecede azaldığı görülürken 100 mg/kg/gün DHP ve 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanların LH seviyelerinin yağ kontrole göre azaldığı gözlenmektedir. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ise bu grupların aksine LH seviyesinin kontrole göre arttığı gözlenmiştir.

Östradiol hormon seviyelerinin puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda yağ kontrolden farklı olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4. 4. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait testosteron (pg/ml), MIS (ng/ml) ve inhibin B (pg/ml) hormon değerleri.

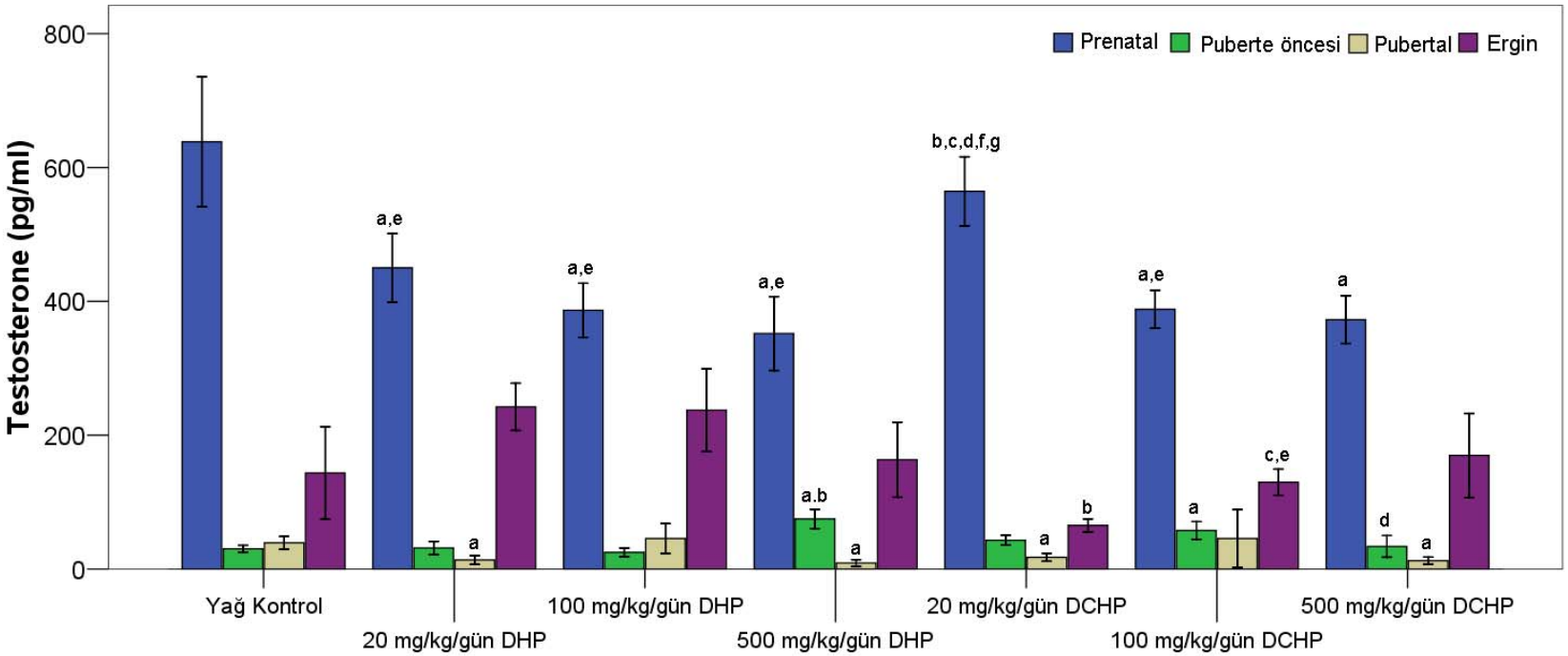
	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Testosteron (pg/ml)							
Prenatal	638 ± 42,9	450 ± 22,6 [a,e]	387 ± 17,8 [a,e]	352 ± 24,4 [a,e]	564 ± 22,8 [b,c,d,f,g]	388 ± 12,6 [a,e]	373 ± 15,7 [a]
Puberte öncesi	30 ± 2,2	32 ± 4,4	25 ± 2,9	76 ± 5,1 [a,b]	43 ± 3,3	57 ± 5,8 [a]	34 ± 7,1 [d]
Pubertal	37 ± 4,2	17 ± 2,5 [a]	46 ± 9,9	9 ± 1,9 [a]	18 ± 2,7 [a]	33 ± 4,8	15 ± 1,9 [a]
Ergin	144 ± 30,6	242 ± 15,6	237 ± 27,2	163 ± 24,7	80 ± 11,0 [b]	128 ± 8,0 [c,e]	180 ± 34,0
MIS (ng/ml)							
Prenatal	9,5 ± 0,44	7,4 ± 0,18 [a]	7,6 ± 0,40 [a]	7,2 ± 0,40 [a]	8,0 ± 0,31	7,9 ± 0,29 [a]	7,8 ± 0,37 [a]
Puberte öncesi	2,9 ± 0,15	5,6 ± 0,44 [a]	4,2 ± 0,68	4,8 ± 0,36 [a]	5,6 ± 0,52 [a]	4,3 ± 0,71	7,6 ± 0,50 [a,d,f]
Pubertal	0,28 ± 0,011	0,12 ± 0,011 [a]	0,26 ± 0,066	0,27 ± 0,016 [b]	0,23 ± 0,009 [a,b]	0,16 ± 0,009 [a,e]	0,29 ± 0,024 [f]
Ergin	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,04 ± 0,001 [a,b]	0,04 ± 0 ± 001 [a,c]	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,002 [d]
İnhibin B (pg/ml)							
Prenatal	17 ± 1,1	22 ± 1,0 [d,e,f,g]	30 ± 1,9 [a,d,e,f,g]	49 ± 1,2 [a,b,c]	47 ± 3,8 [a,b,c,f]	55 ± 1,9 [a,b,c,f]	54 ± 1,1 [a,b,c]
Puberte öncesi	311 ± 24,7	151 ± 7,0 [a]	238 ± 12,7 [b]	177 ± 10,6 [a]	169 ± 12,3 [a]	204 ± 12,1	146 ± 9,0
Pubertal	302 ± 28,7	252 ± 20,4	204 ± 26,7	179 ± 11,7 [a]	320 ± 11,6	191 ± 21,6 [e]	280 ± 16,4 [d]
Ergin	81 ± 6,4	44 ± 1,7	60 ± 0,7	55 ± 7,2	58 ± 3,2	39 ± 2,2 [a,c,e]	46 ± 2,5 [a,f]

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.

Çizelge 4. 5. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek bireylere ait FSH (ng/ml), LH (ng/ml) ve östradiyol (pg/ml) hormon değerleri.

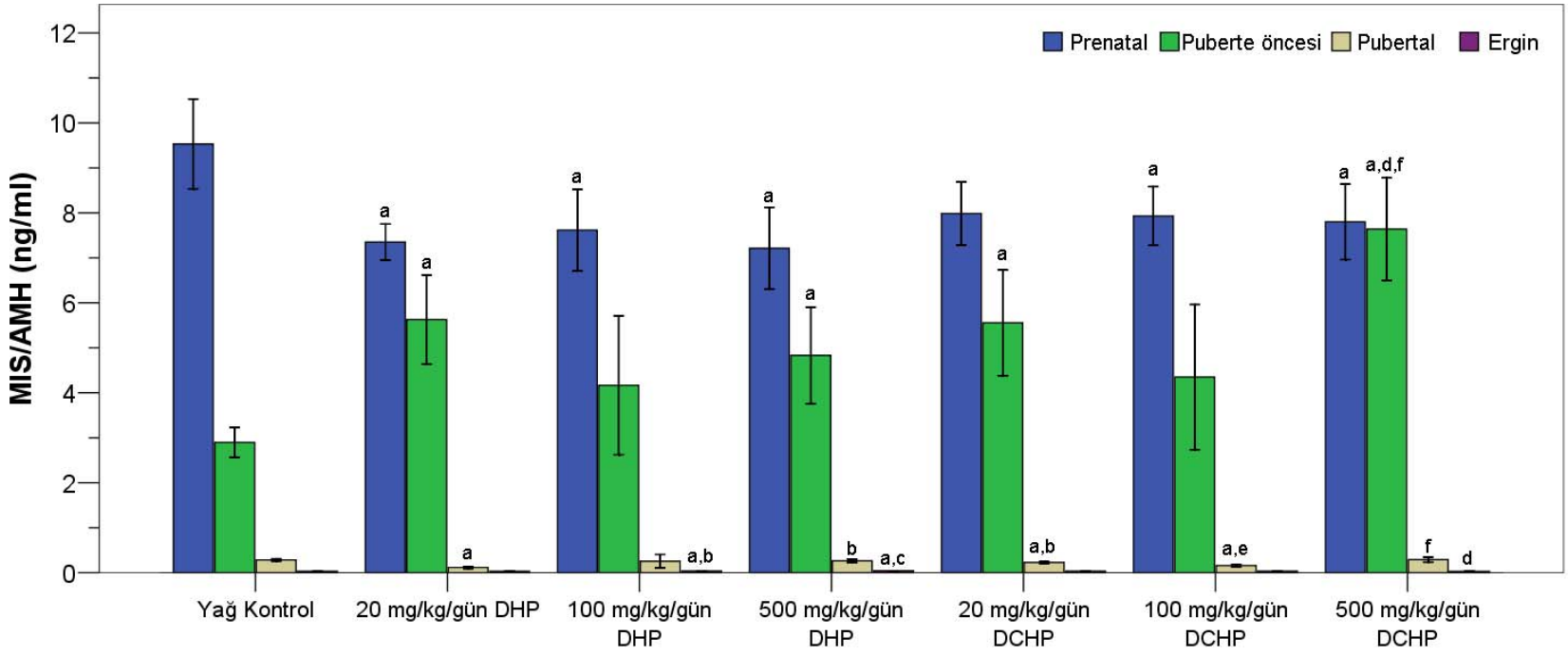
	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
FSH (ng/ml)							
Prenatal	4,4 ± 0,13	4,9 ± 0,10 [a]	4,9 ± 0,26 [e]	5,1 ± 0,08 [e]	6,6 ± 0,55 [a,b,c,d,g]	5,7 ± 0,06 [a]	4,8 ± 0,31
Puberte öncesi	5,2 ± 0,40	7,3 ± 1,56	6,1 ± 0,51	7,6 ± 1,35	4,7 ± 0,24	9,5 ± 2,96	3,4 ± 0,28 [e]
Pubertal	6,7 ± 0,50	9,5 ± 0,32 [a]	10,6 ± 1,81	11,6 ± 0,53 [a]	11,4 ± 0,42 [a,b]	12,9 ± 0,56 [a]	8,4 ± 0,30 [d,e,f]
Ergin	15 ± 0,3	14 ± 0,1	16 ± 1,0	15 ± 0,4	16 ± 0,5	15 ± 0,1	13 ± 0,4
LH (ng/ml)							
Prenatal	AE	AE	AE	AE	AE	AE	AE
Puberte öncesi	0,5 ± 0,08	2,4 ± 0,60	0,5 ± 0,04	2,4 ± 0,43	2,0 ± 0,44	1,2 ± 0,18	1,6 ± 0,32
Pubertal	2,5 ± 0,30	2,6 ± 0,15	3,2 ± 0,48	2,0 ± 0,05	2,0 ± 0,05	2,0 ± 0,08	2,2 ± 0,13
Ergin	5,5 ± 0,38	3,1 ± 0,10 [a]	3,7 ± 0,15 [a,b]	3,6 ± 0,41	3,4 ± 0,36 [a]	5,9 ± 0,47	6,9 ± 0,38 [d,e]
Östradiyol (pg/ml)							
Prenatal	AE	AE	AE	AE	AE	AE	AE
Puberte öncesi	16 ± 1,8	17 ± 1,7	22 ± 3,9	21 ± 3,1	14 ± 2,5	19 ± 5,3	21 ± 2,8
Pubertal	6,8 ± 0,68	6,4 ± 0,62	6,6 ± 0,35	4,9 ± 0,38	6,5 ± 0,26	6,2 ± 0,41	3,9 ± 0,65 [e]
Ergin	15 ± 2,7	18 ± 1,5	19 ± 1,5	6 ± 0,4 [b,c]	13 ± 2,5	10 ± 2,9 [c]	19 ± 2,7 [d]

AE: Analiz edilmedi. [a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



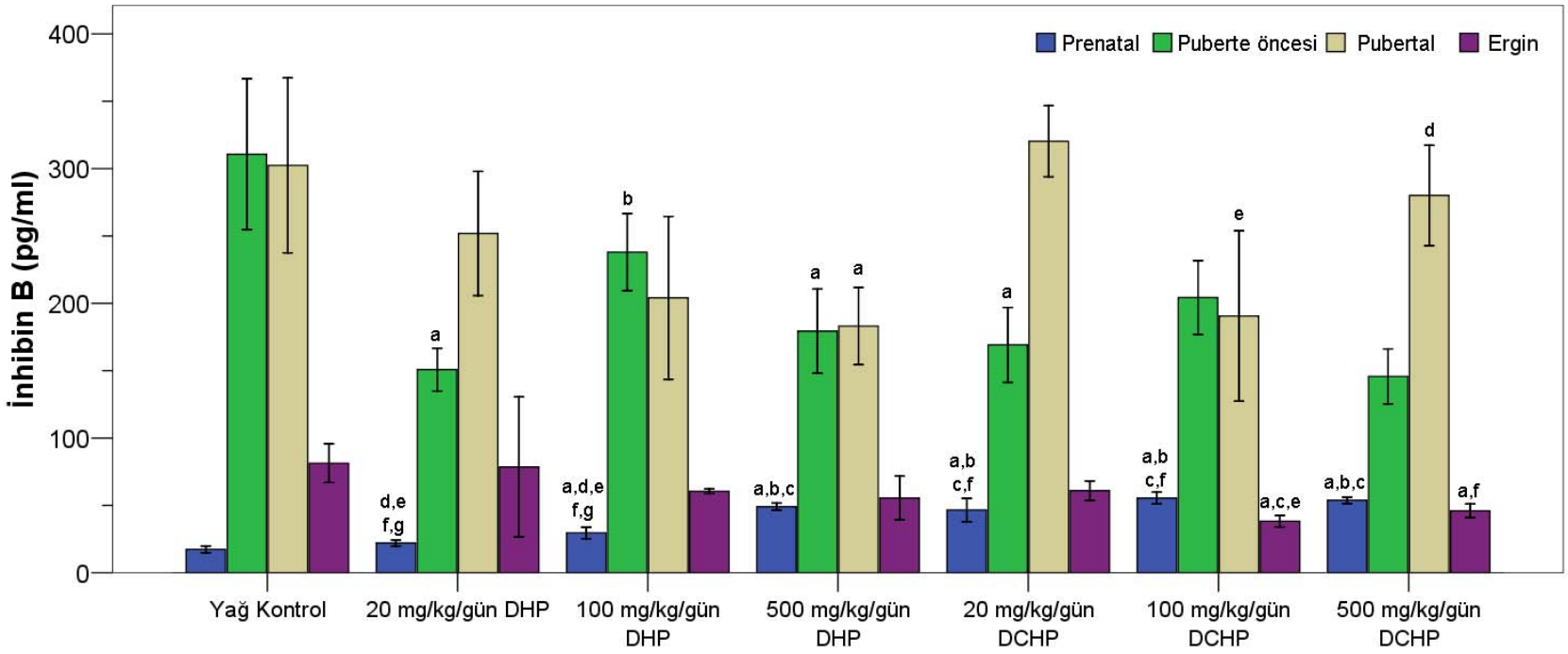
Şekil 4. 5. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum testosteron seviyeleri.

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



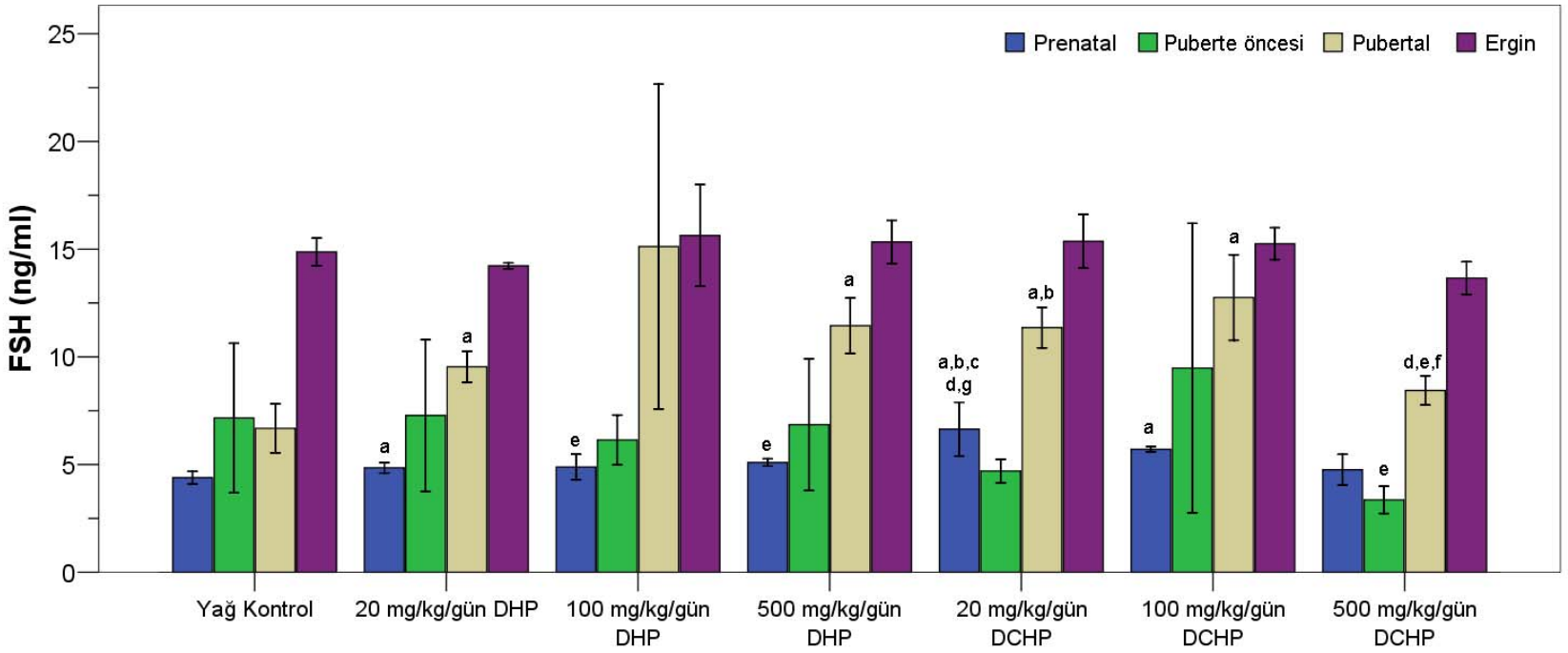
Şekil 4. 6. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum MIS/AMH seviyeleri

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



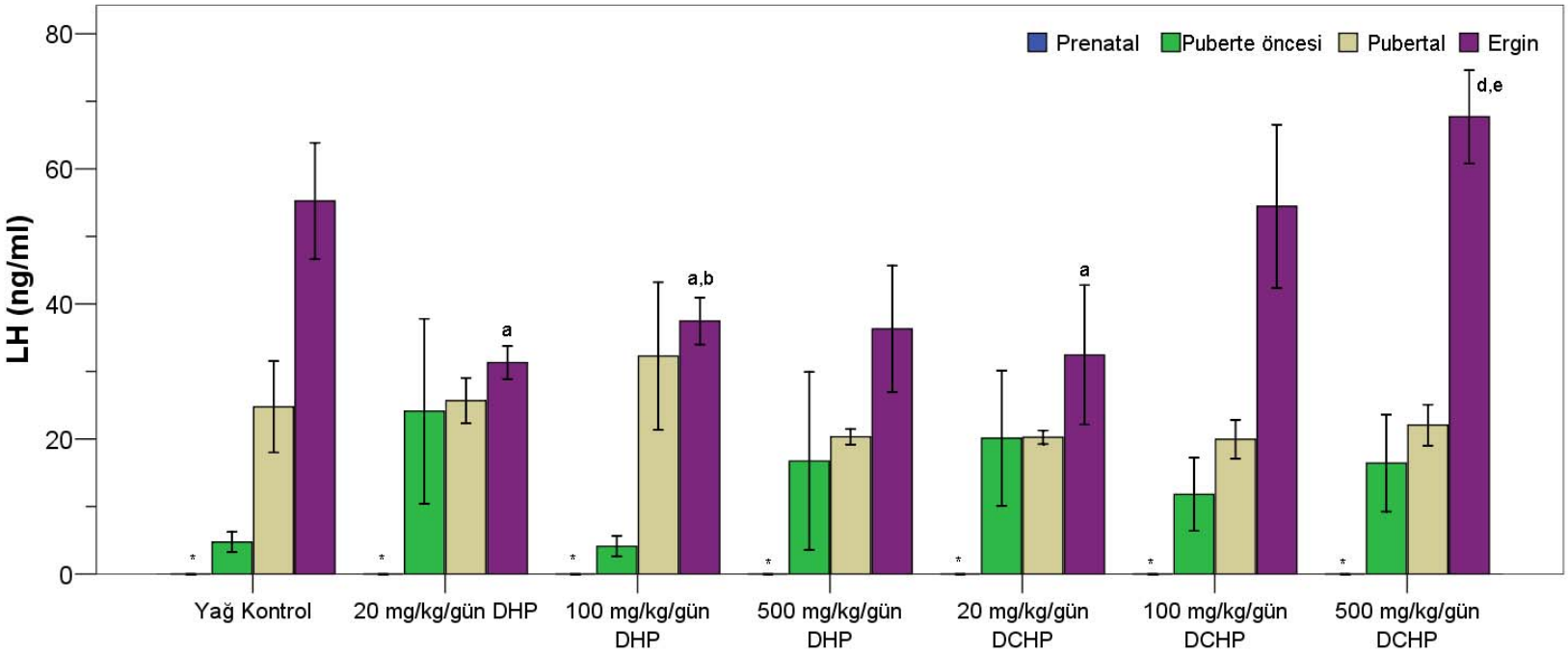
Şekil 4. 7. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum inhibin B seviyeleri

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



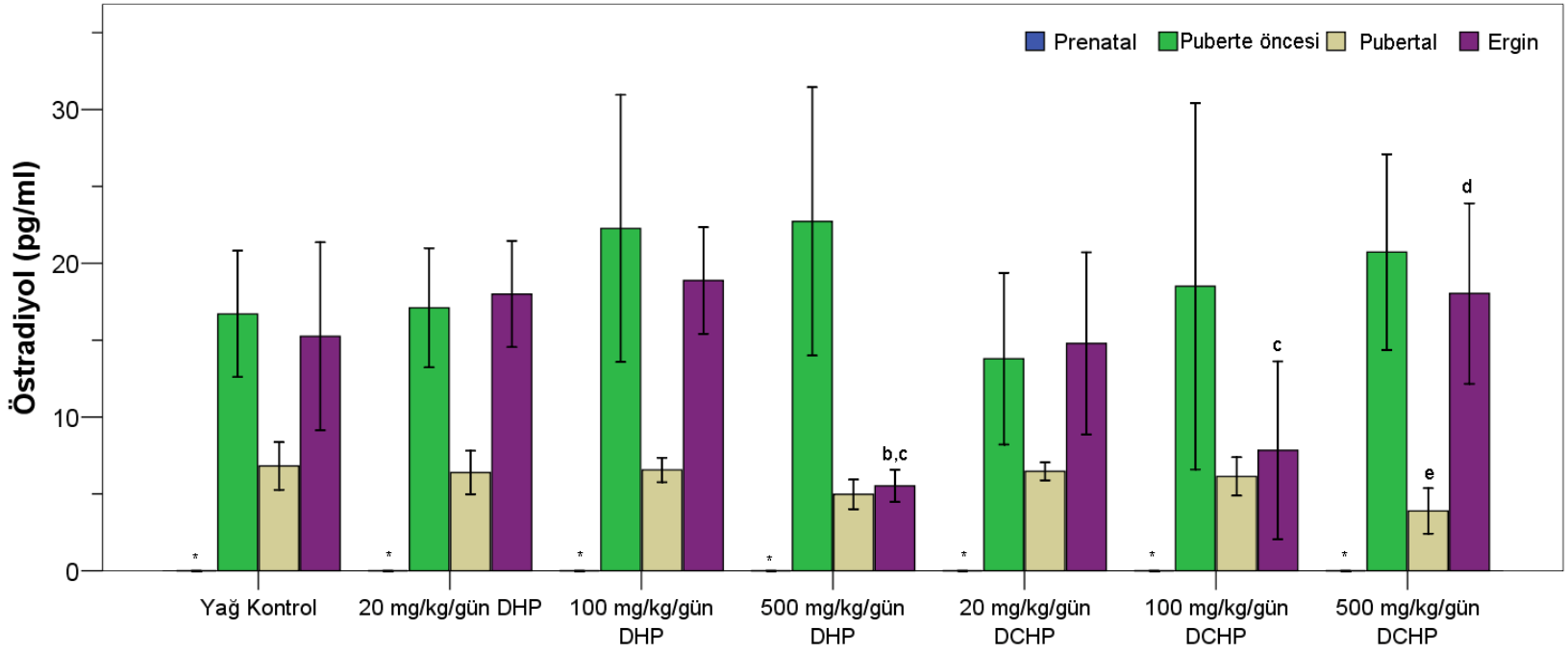
Şekil 4. 8. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum FSH seviyeleri

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



Şekil 4. 9. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum LH seviyeleri

[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.



Şekil 4. 10. Prenatal, puberte öncesi, pubertal ve ergin erkek sıçanlarda serum östradiyol seviyeleri

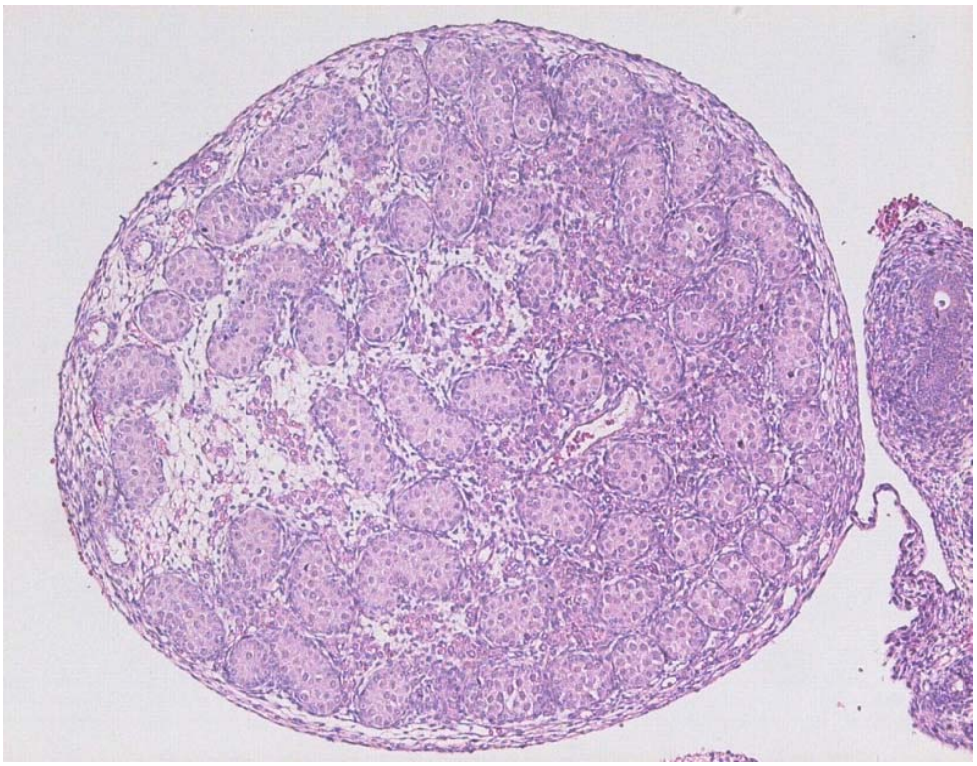
[a] Aynı gelişim döneminin yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] Aynı gelişim döneminin 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] Aynı gelişim döneminin 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [g] Aynı gelişim döneminin 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$.

4.5. Histolojik Bulgular

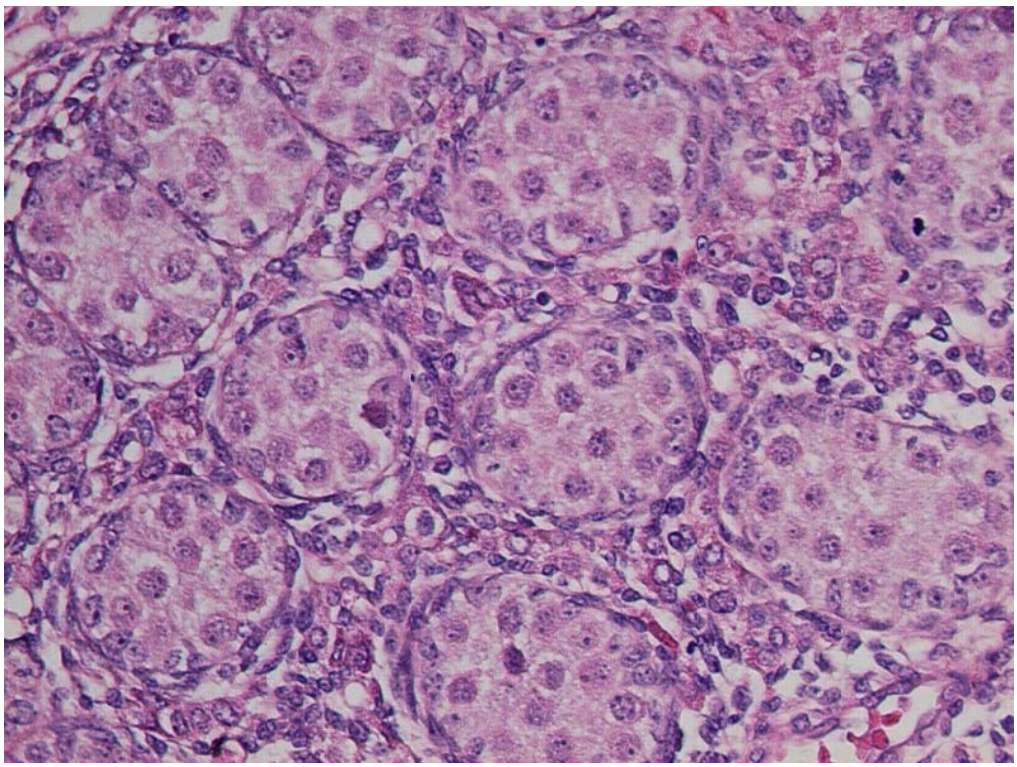
4.5.1. Prenatal dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu

Prenatal dönemde uygulanan DHP ve DCHP'nin fötal testis dokusu üzerindeki etkilerini incelemek üzere dokular histopatolojik olarak incelenmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun görünümü Şekil 4.11'de ve daha büyük büyütme ile Şekil 4.12'de verilmiştir. Yağ kontrol grubundaki prenatal testis dokusunun normal görünümde, seminifer tübül yapısının gelişmiş olduğu ve Leydig hücrelerinin düzgün dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşılık 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda bulunan sıçanların testis dokularına bakıldığında (Şekil 4.13 ve 4.14) seminifer tübül yapısının kısmen oluştuğu gözlenmiştir. 100 (Şekil 4.15 ve 4.16) ve 500 (Şekil 4.17 ve 4.18) mg/kg/gün DHP uygulama gruplarnda ise tübül yapısının uygulama grubundaki prenatal sıçanların testis dokusunda ise yine seminifer tübüllerin gelişmesinde gecikme ile birlikte tübüller arasında yer alan Leydig hücrelerinde kümelenme tespit edilmiştir. Ayrıca 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda tübüller içinde giant (dev hücreler) hücreler olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.18).

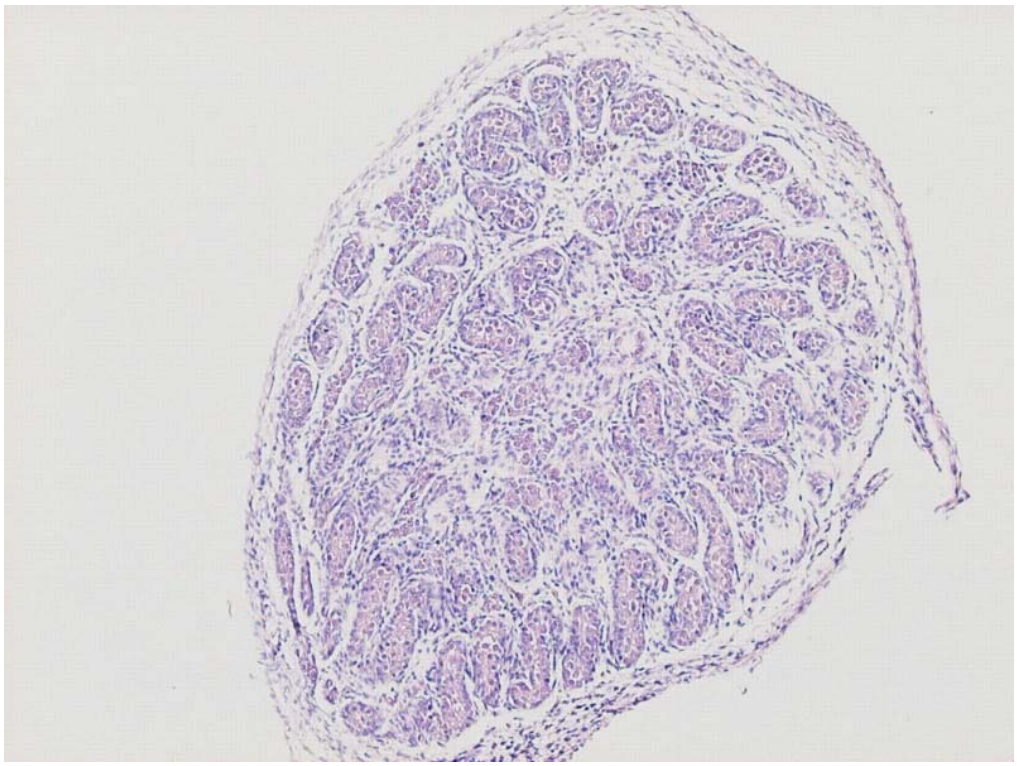
20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki prenatal erkek sıçanların testis dokularına bakıldığında (Şekil 4.19 ve 4.20) tübüllerin geliştiğini ancak normalden daha küçük oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca tübüllerin bitişik olarak geliştiği gözlenmiştir (Şekil 4.20). 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ise prenatal testislerde atrofik tübüller tespit edilmiştir (Şekil 4.21 ve 4.22). Ayrıca tübüller içinde bulunan hücrelerin tübül çeperi ile bağlantılarının bozulduğu ve piknotik hücrelerin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.22). 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda gözlenen birleşik tübüllere bu grupta da rastlanmıştır (Şekil 4.23). 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda atrofik tübüllerin yanında Leydig hücre kümelenmesi ve bitişik tübüller tespit edilmiştir (Şekil 4.24 ve 4.25). Bazı tübüllerin sadece Sertoli hücrelerinden oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.25).



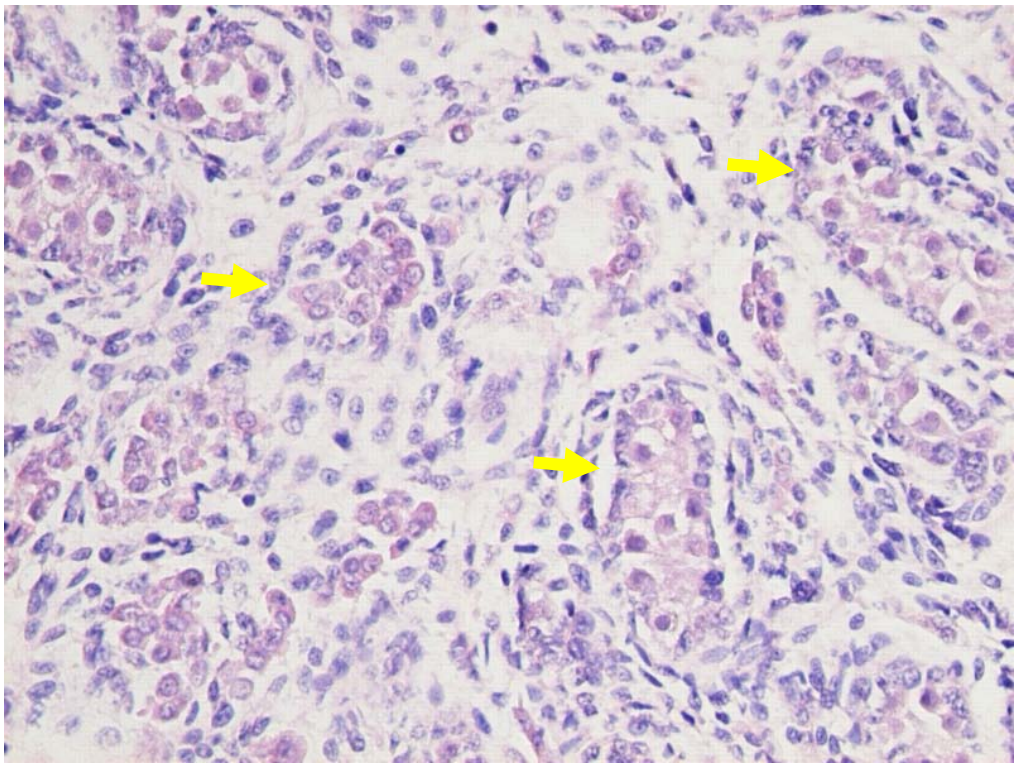
Şekil 4. 11. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x50)



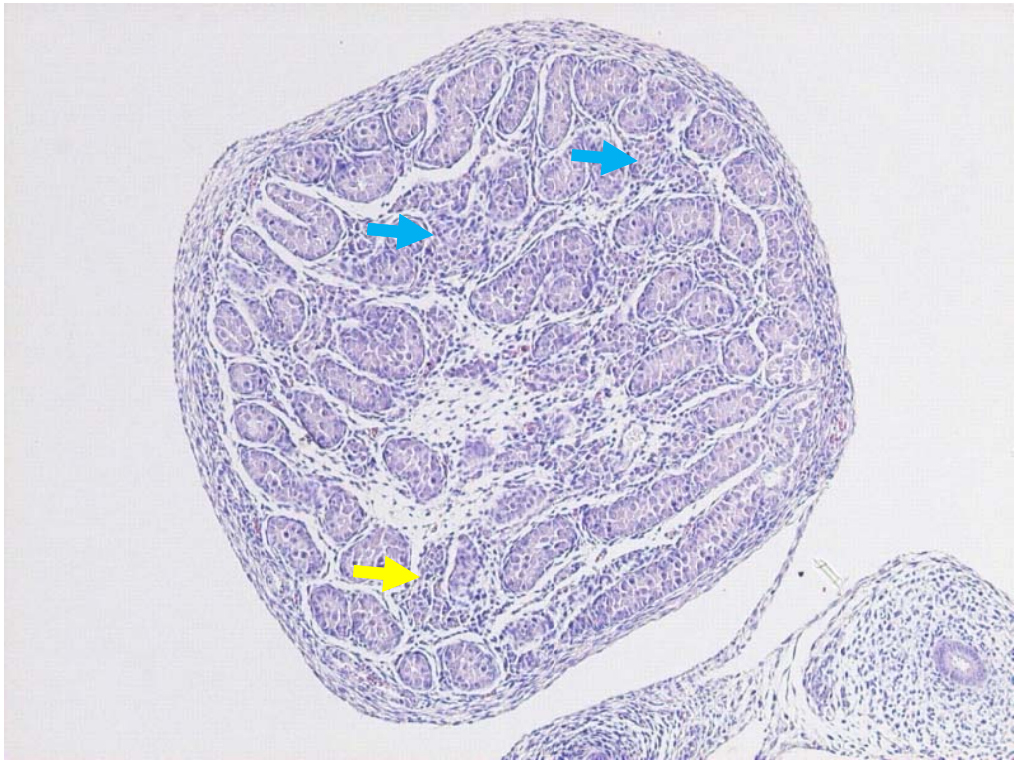
Şekil 4. 12. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200)



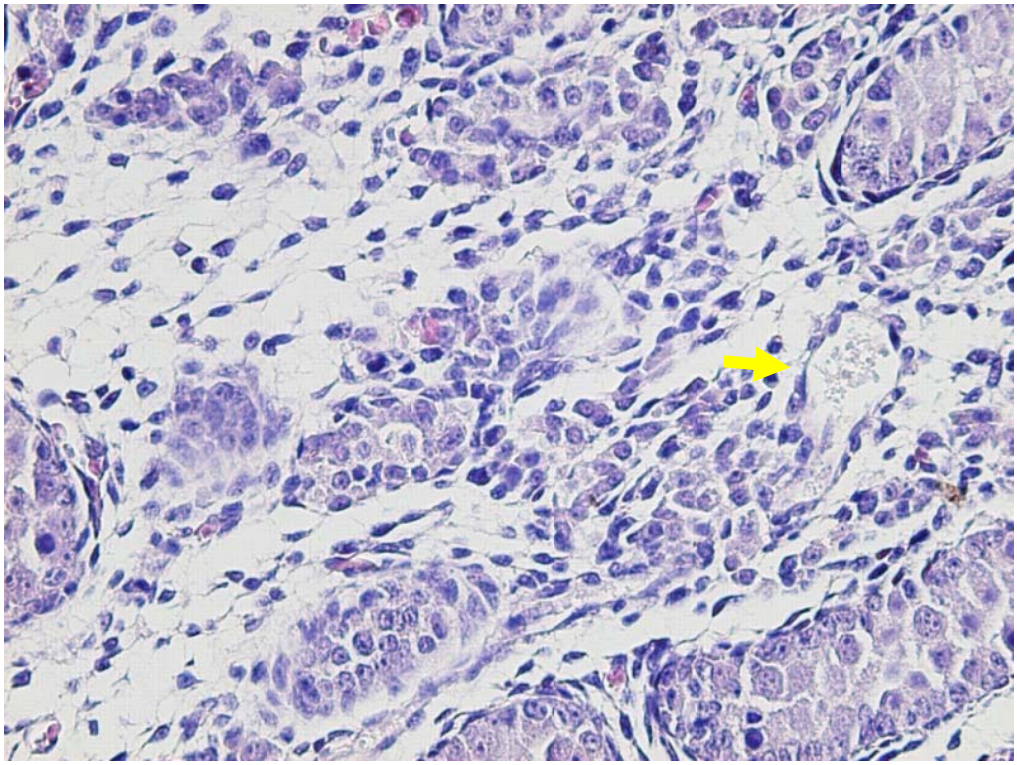
Şekil 4. 13. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun görünümü. (H&E Boyama, x50)



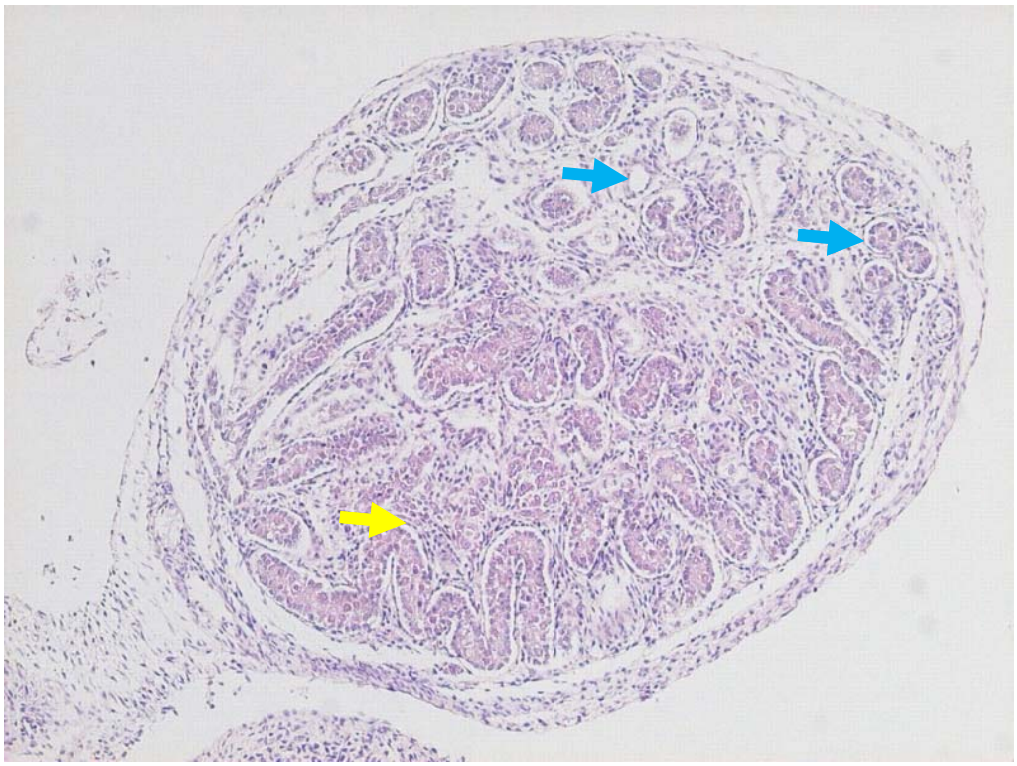
Şekil 4. 14. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda kısmen oluşmuş seminifer tübüller (➔). (H&E Boyama, x200)



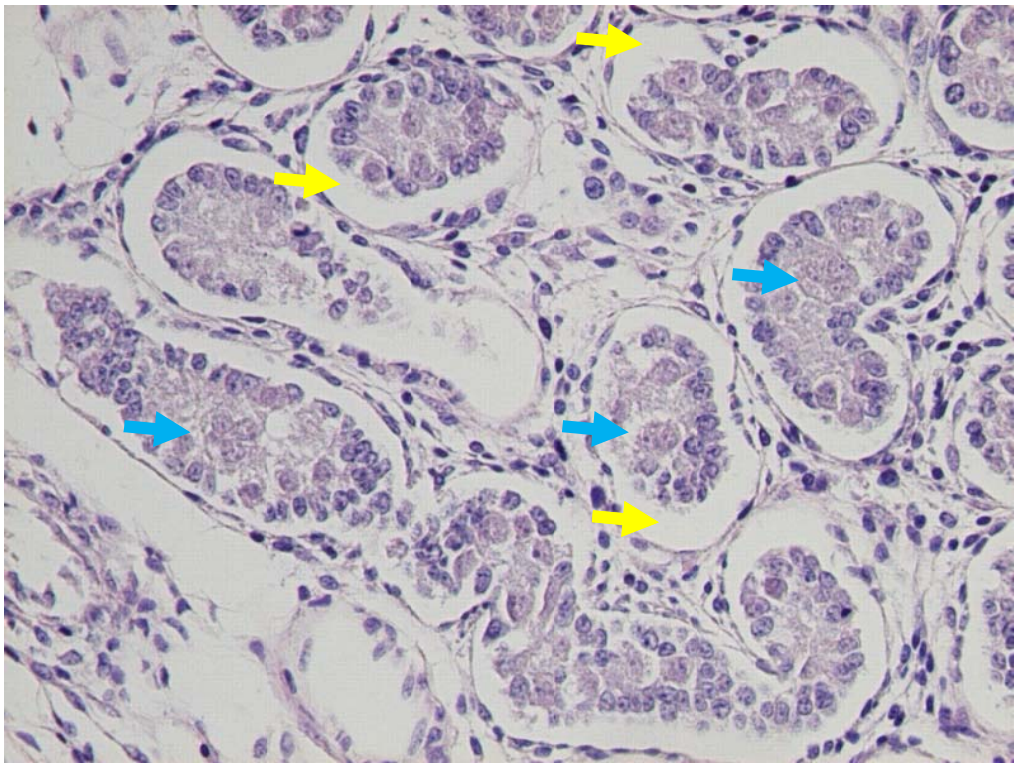
Şekil 4. 15. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda seminifer tübül oluşumunda gecikme (➡) ve Leydig hücre kümelenmesi (➡). (H&E Boyama, x50)



Şekil 4. 16. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül oluşumunda gecikme (➡). (H&E Boyama, x200)



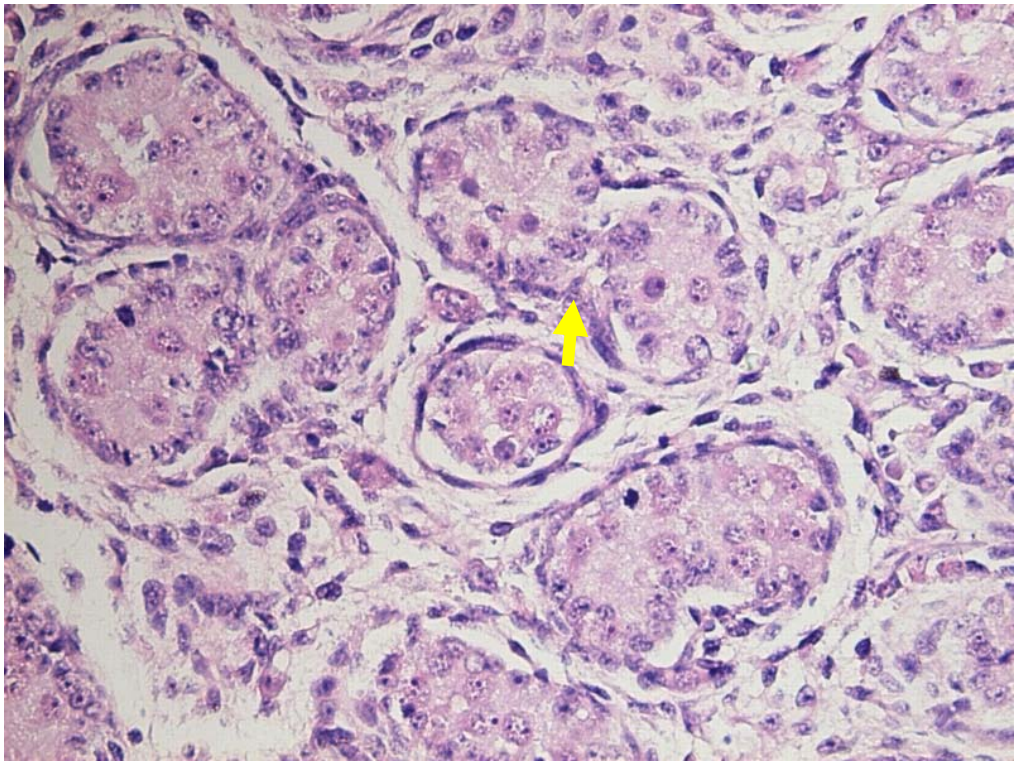
Şekil 4. 17. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), normalden küçük tübüller (➡). (H&E Boyama, x50)



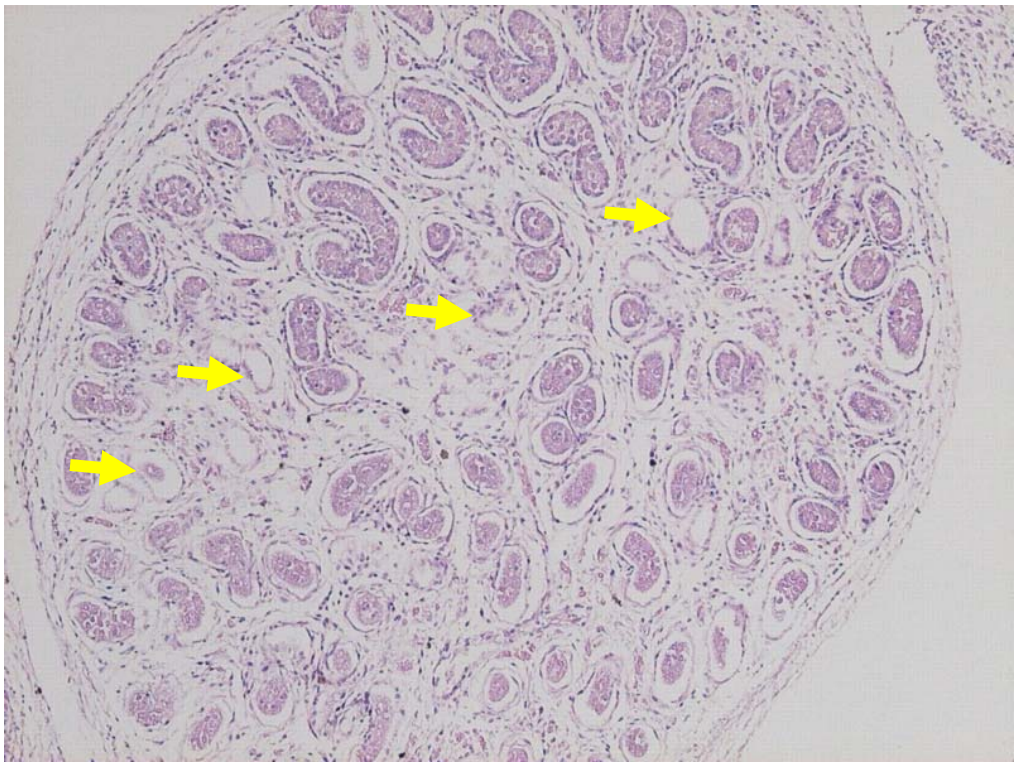
Şekil 4. 18. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüllerde giant hücreler (➡) ve tübül çeperinde ayrılma (➡). (H&E Boyama, x200) oklar



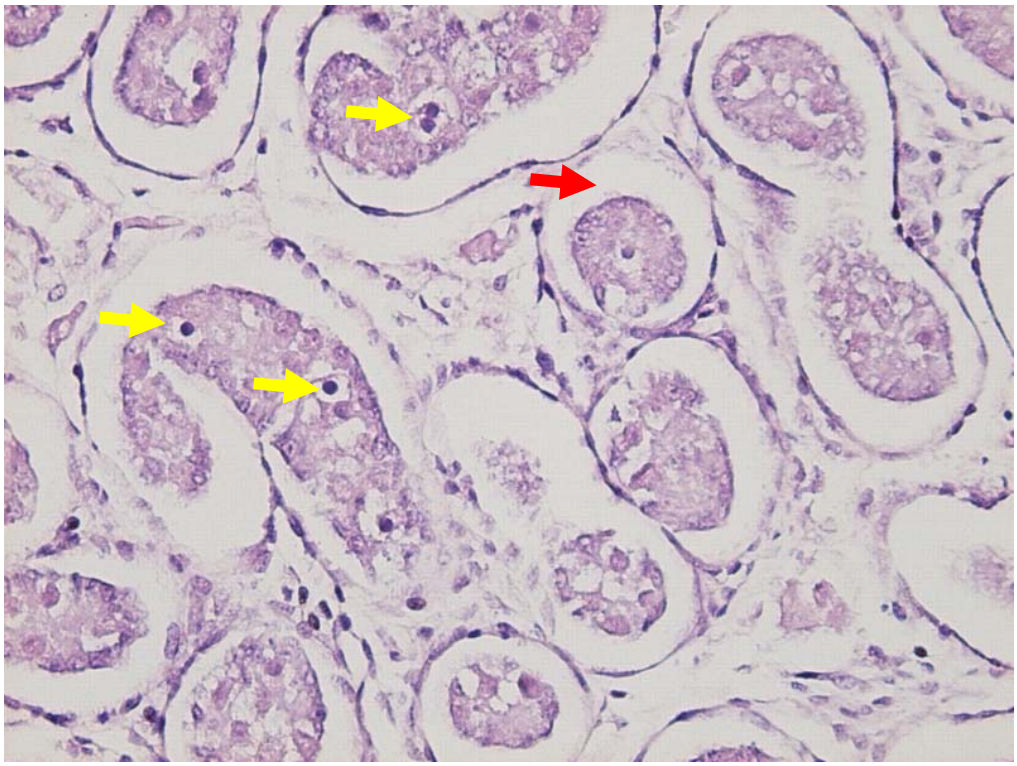
Şekil 4. 19. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), normalden küçük tübüller (➡). (H&E Boyama, x50)



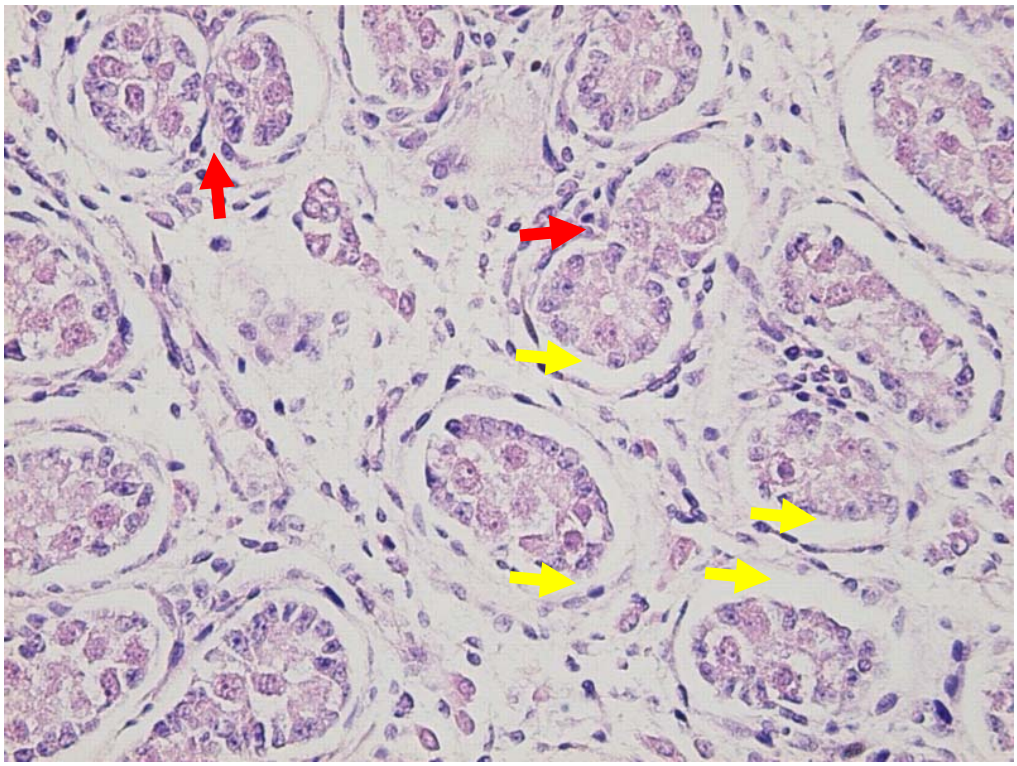
Şekil 4. 20. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda normalden küçük ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x200)



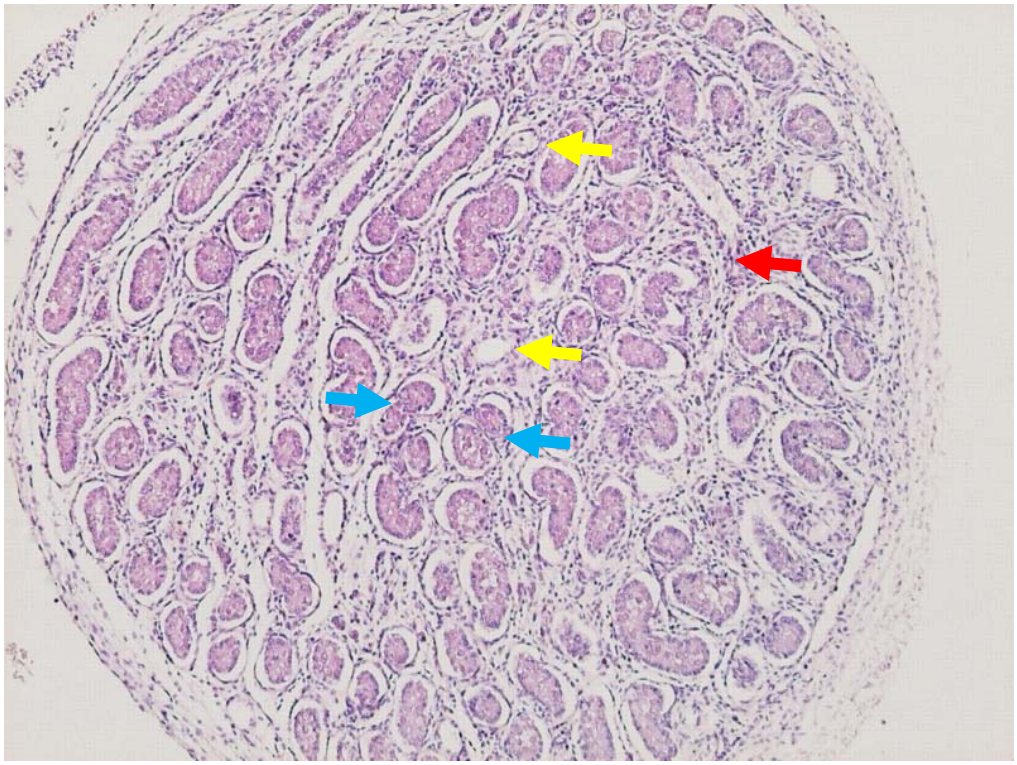
Şekil 4. 21. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x50)



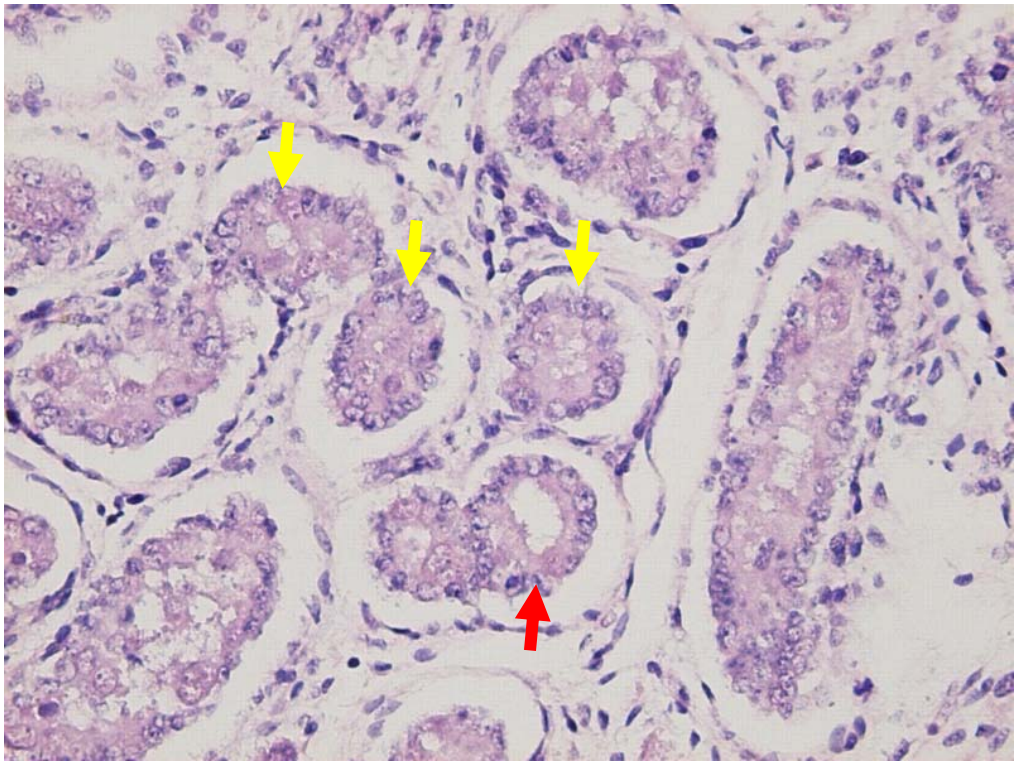
Şekil 4. 22. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül çeperinde ayrılma (➡) ve piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200) oklar



Şekil 4. 23. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübül çeperinde ayrılma ve bitişik tübüller. (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 24. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücre kümelenmesi (➡), atrofik (➡) ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x50)

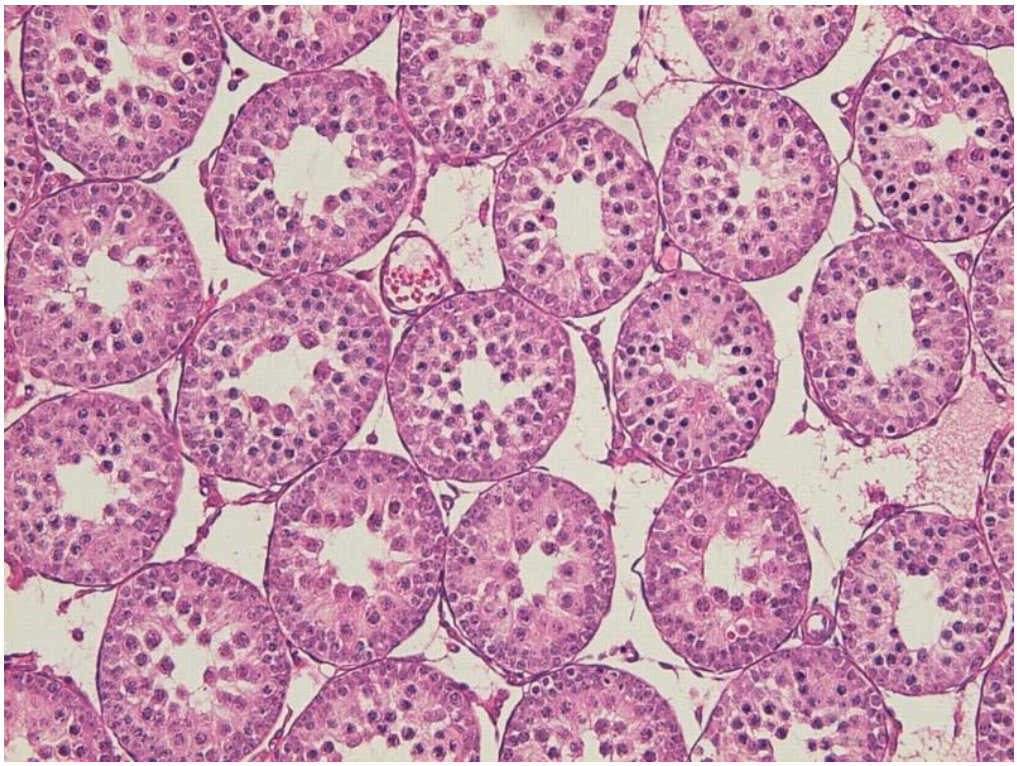


Şekil 4. 25. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda sadece Sertoli hücrelerini içeren (➡) ve bitişik tübüller (➡). (H&E Boyama, x200)

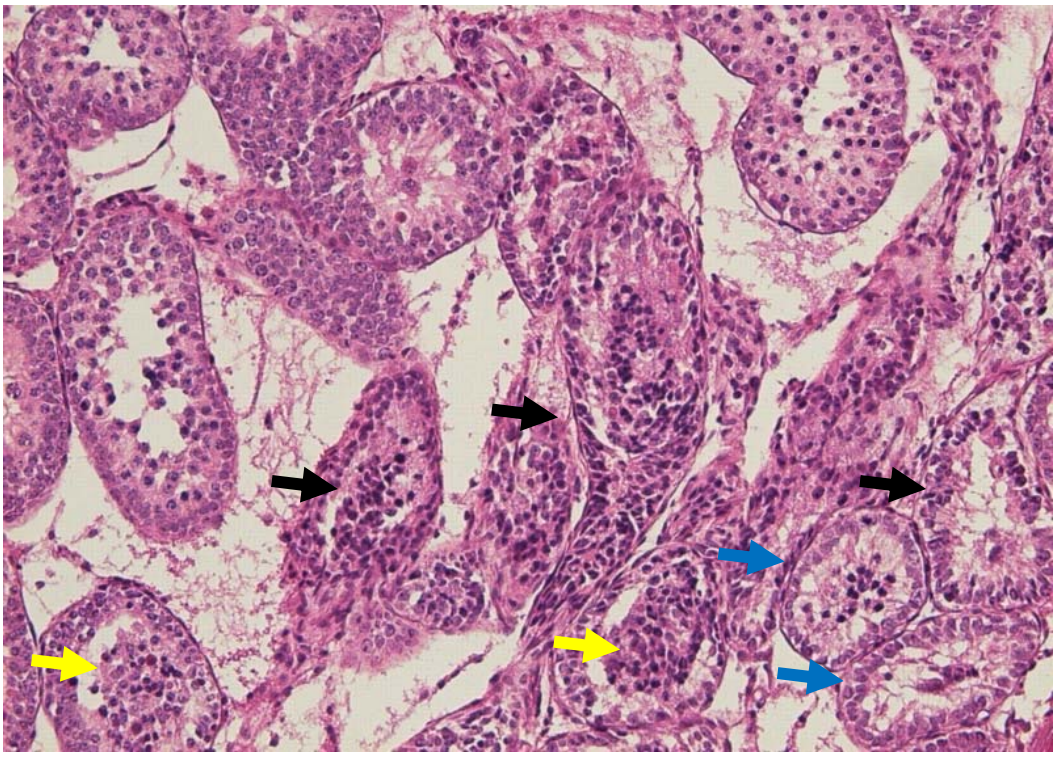
4.5.2. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu

Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümleri Şekil 4.26'da verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi erkek sıçanların testislerinde histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki puberte öncesi sıçanların testis dokusu incelendiğinde çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. Buna göre küçük büyütmede (Şekil 4.27) yüksek dozda DCHP verilen uygulama gruplarında a puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller ile hücrelerin bir kısmının tübül lümenine atıldığı (atılmış hücreler) gözlenmiştir. Büyük büyütmede yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü Şekil 4.28'de verilmiştir. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan hücreler (Şekil 4.29) ve ödem (Şekil 4.30) gözlenmiştir. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi erkek sıçanların testis dokusunda da

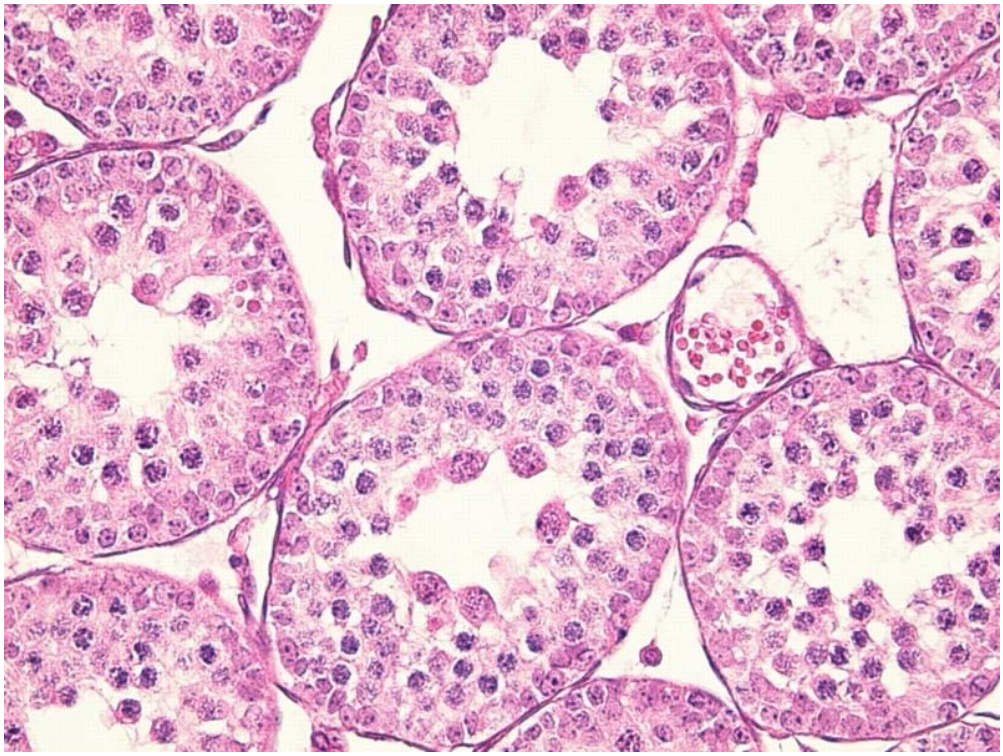
hücrelerin atıldığı, tübül yapılarının bozulduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31). Yüksek doz DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusu incelendiğinde ise atılan spermatojenik hücrelere (Şekil 4.32) rastlanmıştır. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler (Şekil 4.33) ve Sertoli hücre vakuolizasyonu (Şekil 4.33-35), atılan hücreler ve piknotik hücreler (Şekil 4.34) tespit edilmiştir. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ise piknotik hücrelere (Şekil 4.36), artmış apopitotik hücrelere (Şekil 4.37) ve sadece Sertoli hücrelerini içeren atrofik tübüllere (Şekil 4.38) rastlanmıştır. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusuna bakıldığında dokuda spermatojenik hücrelerin büyük kümeler şeklinde atıldığı (Şekil 4.39) tespit edilmiştir.



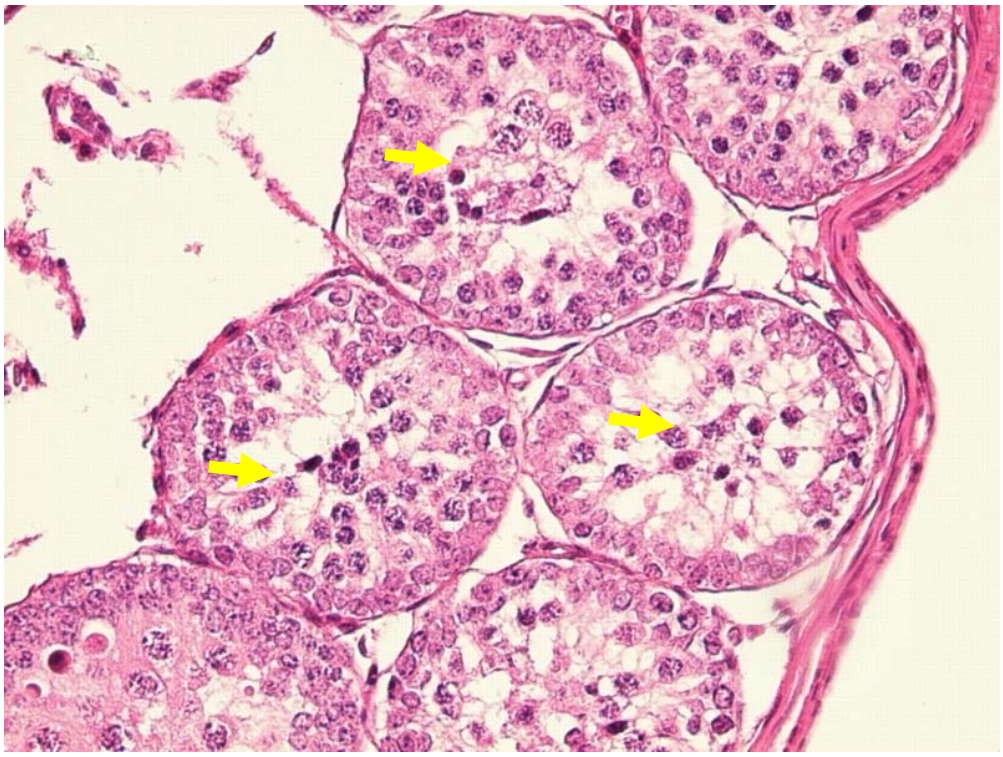
Şekil 4. 26. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



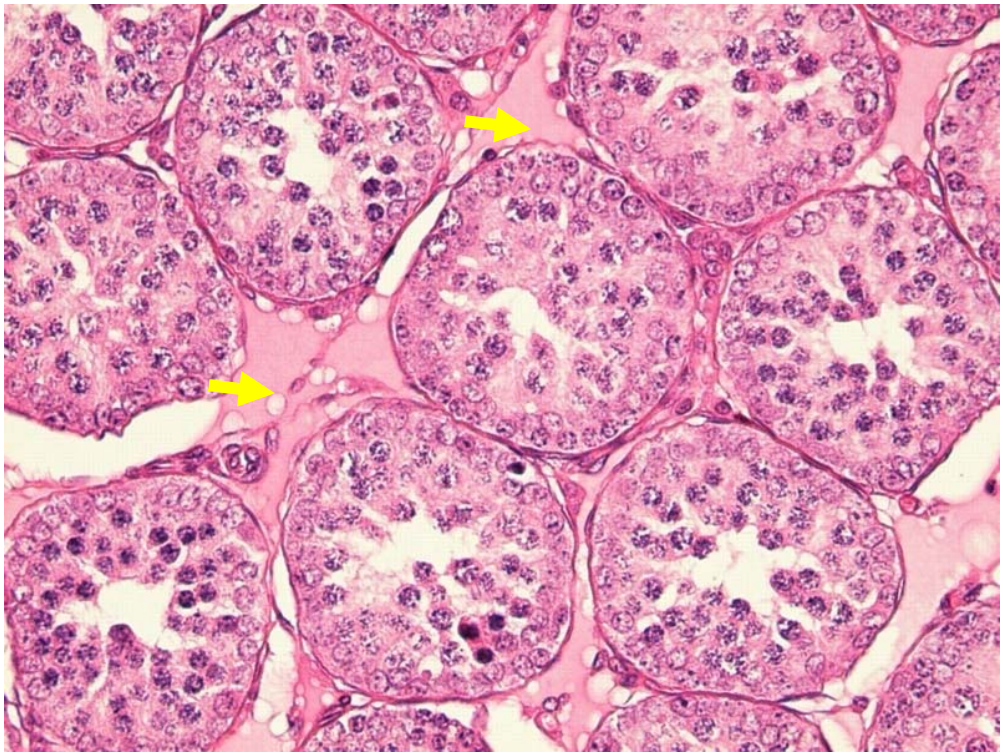
Şekil 4. 27. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda anormal tübüller (➡), atrofik tübüller (➡) ve atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



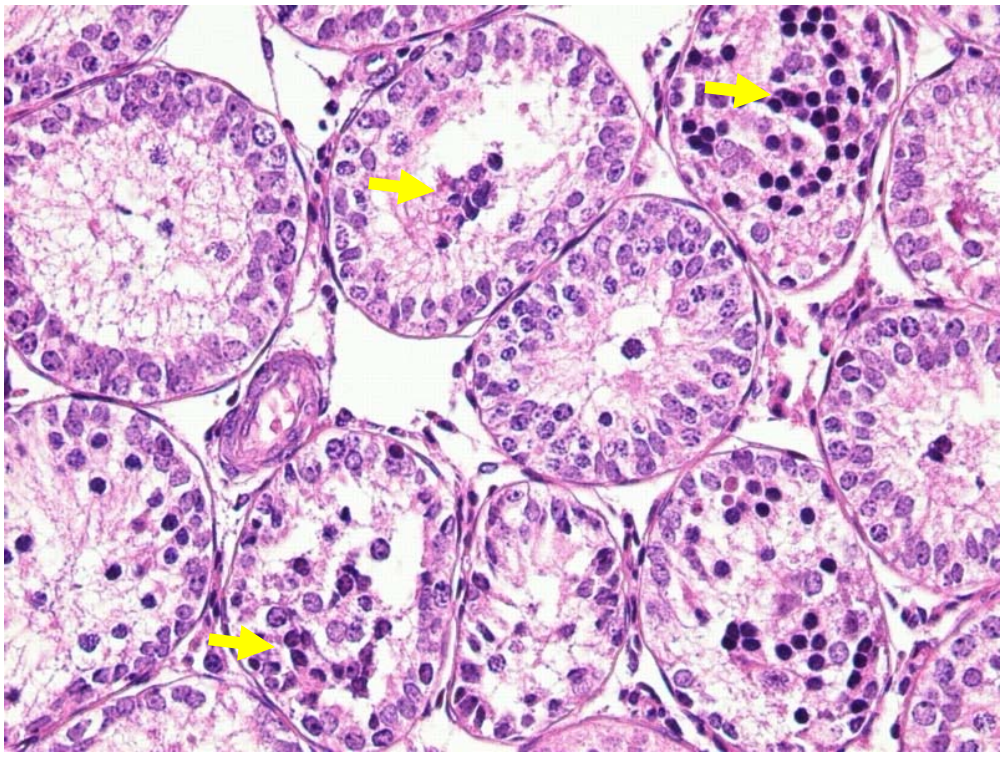
Şekil 4. 28. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200)



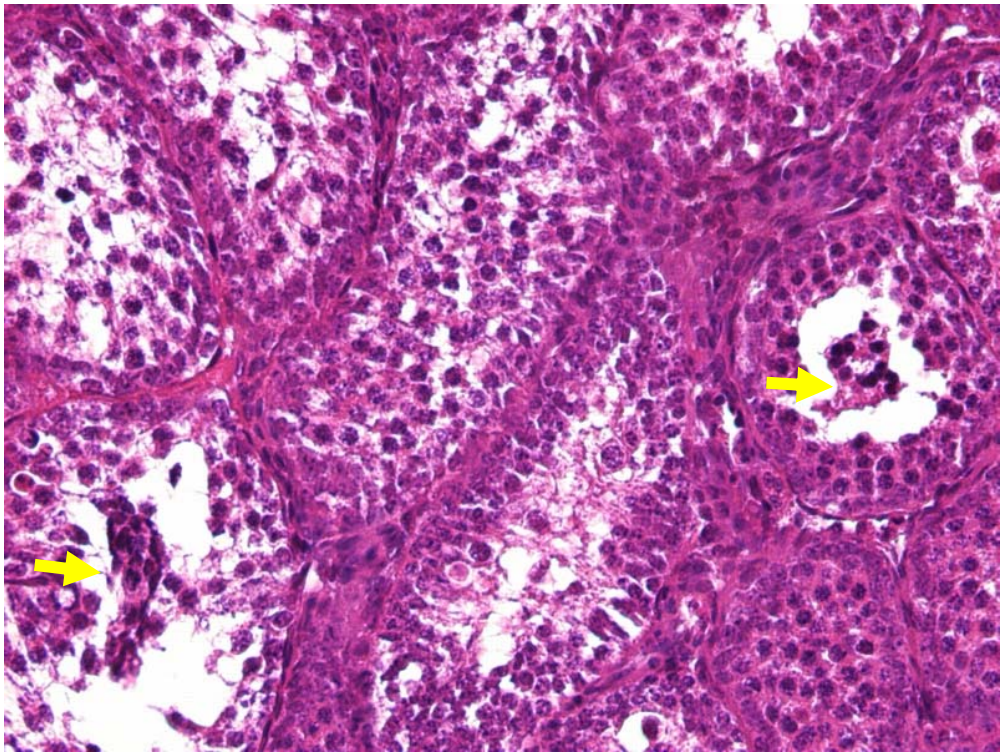
Şekil 4. 29. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan hücreler (➔). (H&E Boyama, x200)



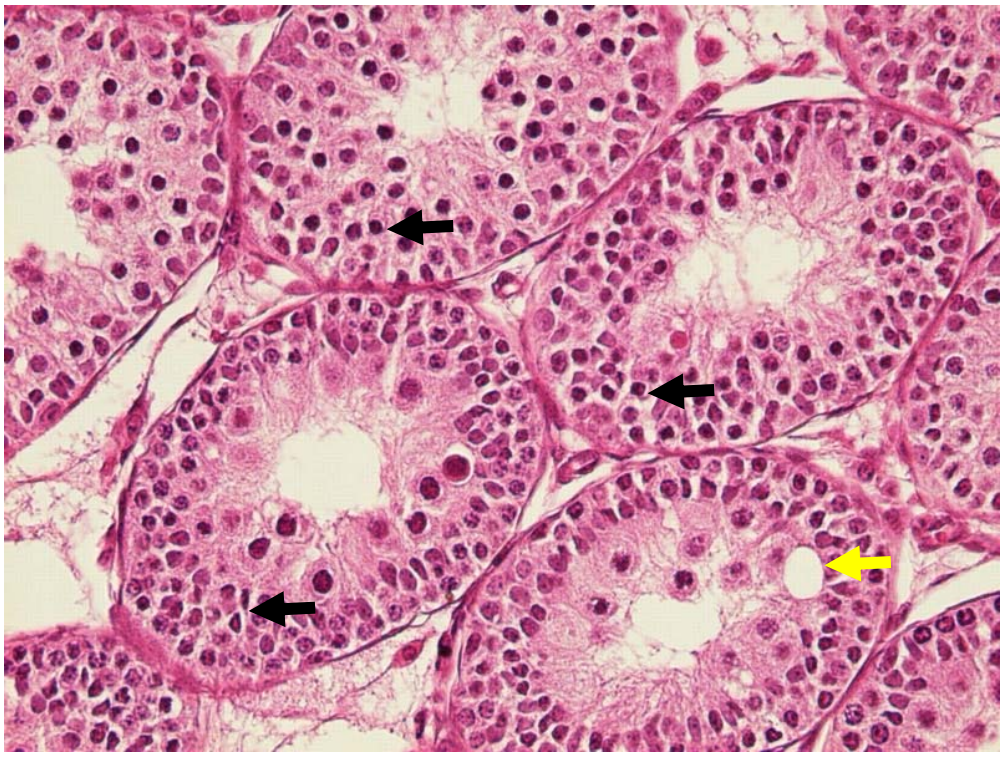
Şekil 4. 30. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ödem (➔). (H&E Boyama, x200)



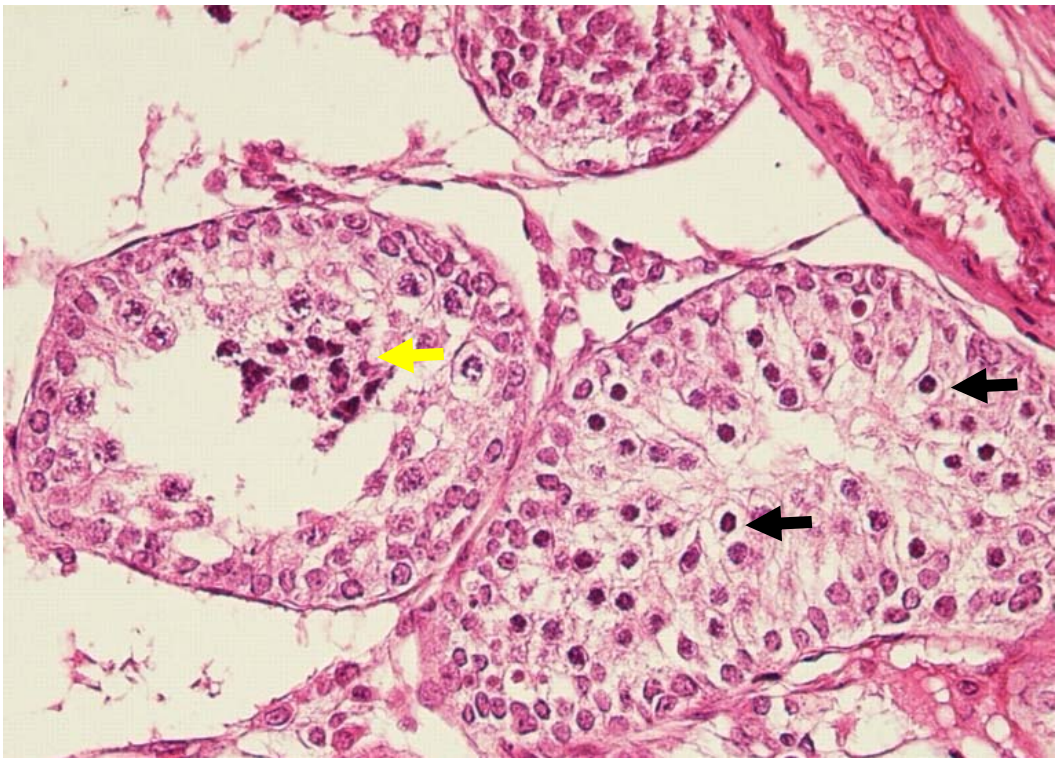
Şekil 4. 31. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan hücreler (➔). (H&E Boyama, x200)



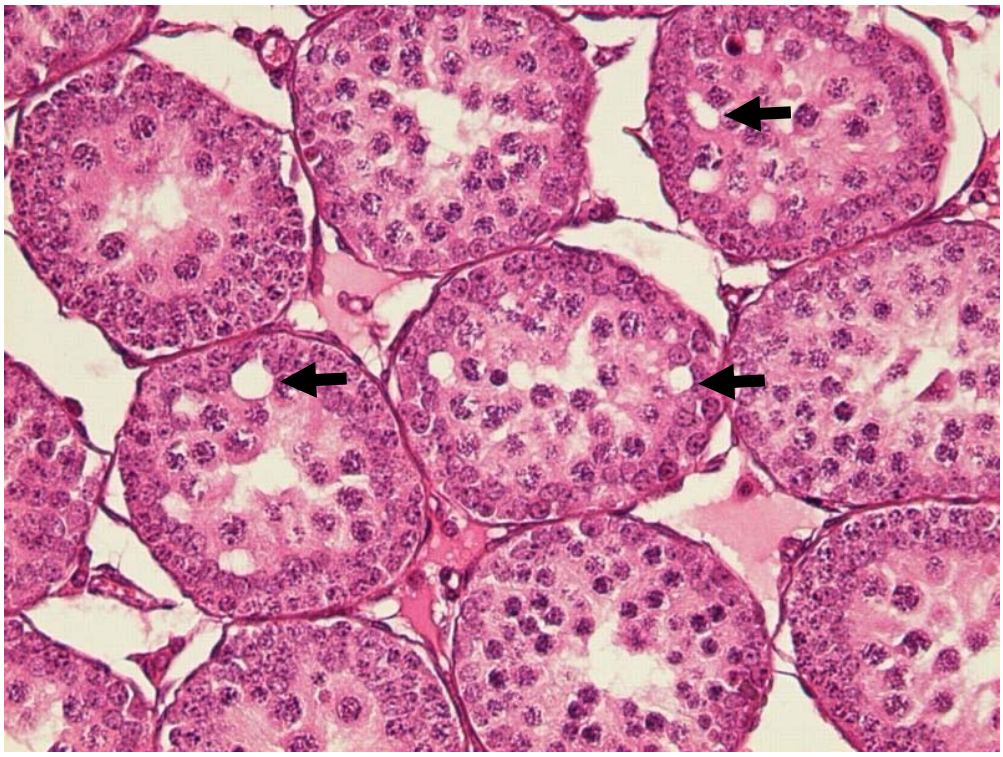
Şekil 4. 32. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan hücreler (➔). (H&E Boyama, x200)



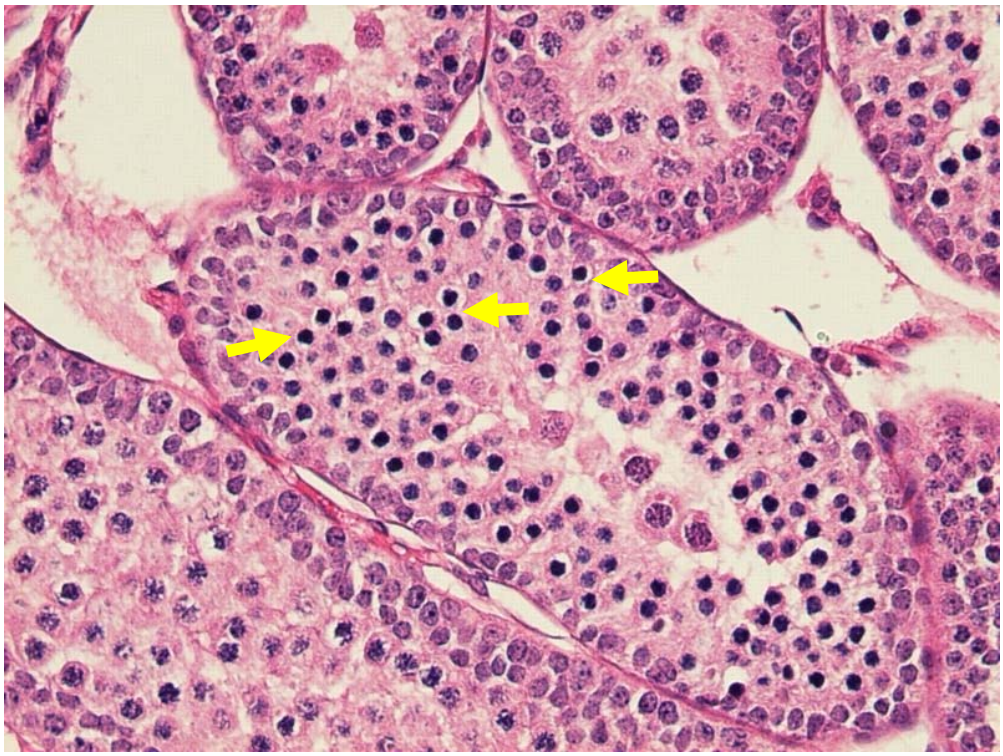
Şekil 4. 33. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler (➡) ve Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)



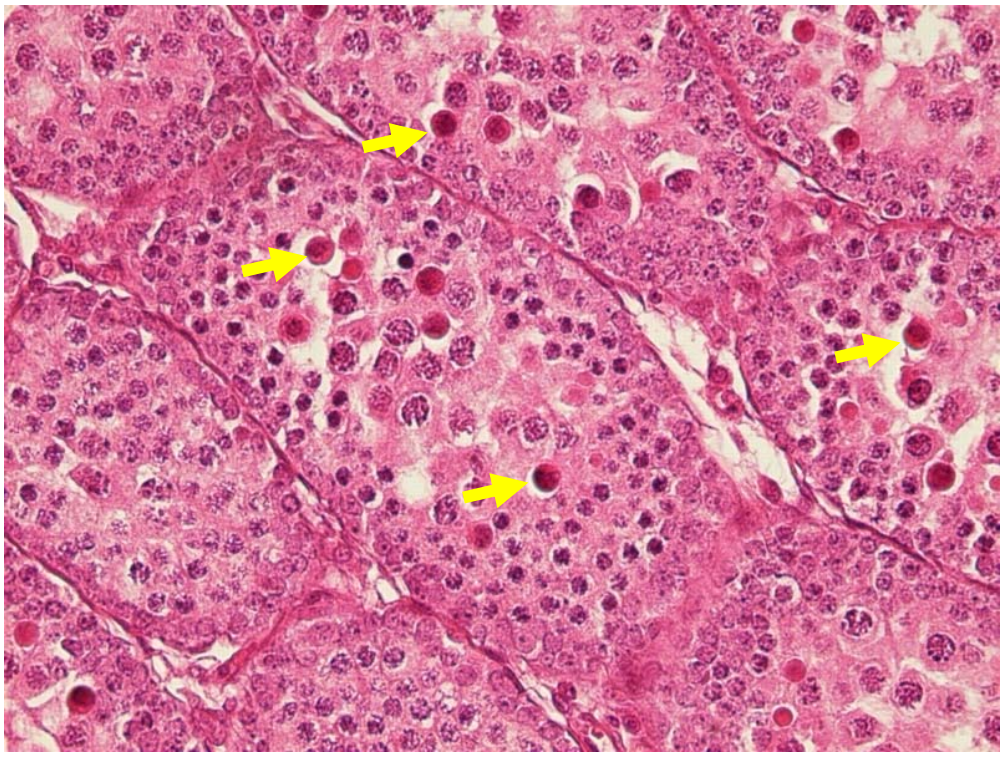
Şekil 4. 34. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan hücreler (➡) ve piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 35. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)



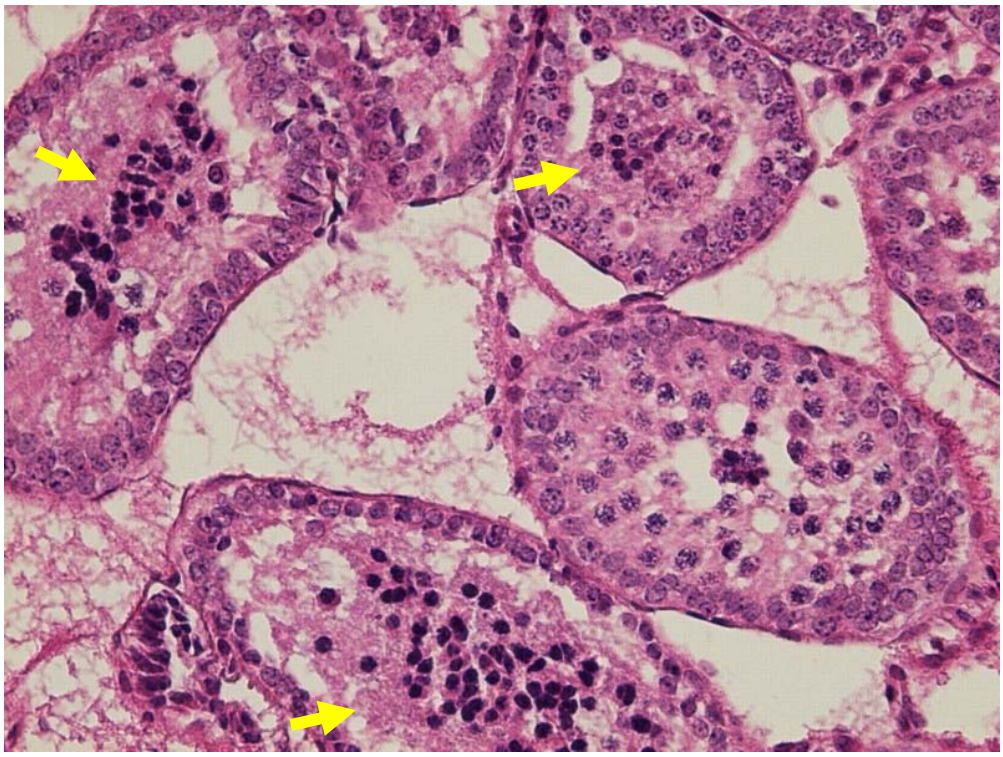
Şekil 4. 36. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 37. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda apopitotik hücrelerde artış (➡). (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 38. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda sadece Sertoli hücrelerini içeren tübül (➡). (H&E Boyama, x200)

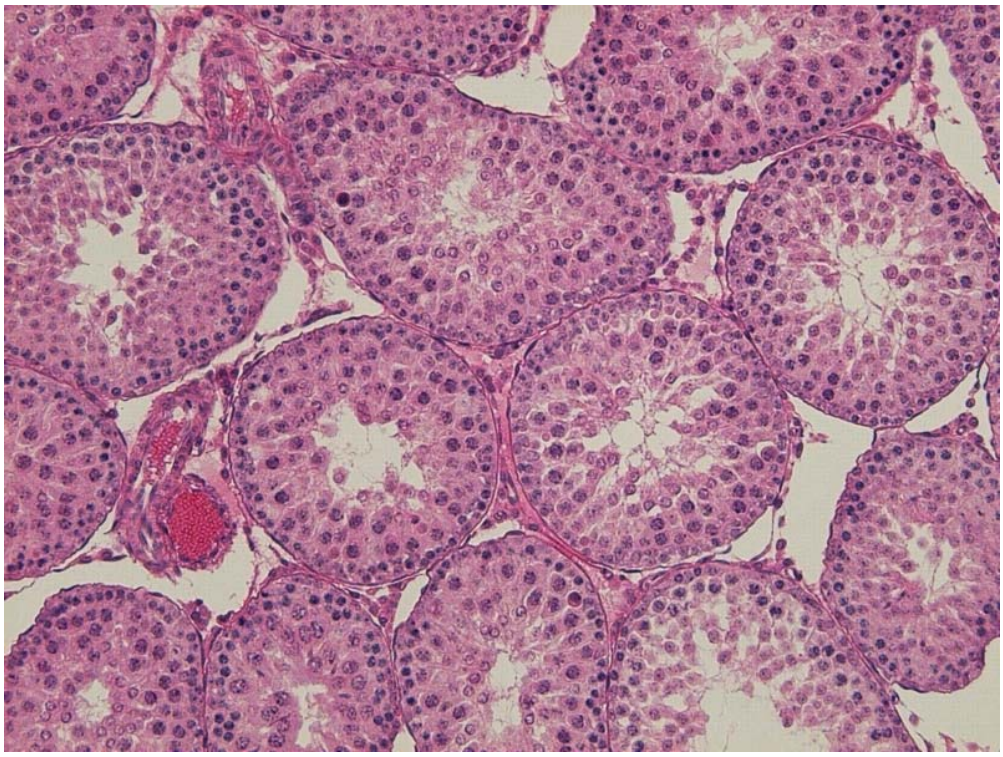


Şekil 4. 39. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümene atılan piknotik çekirdekli spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x200)

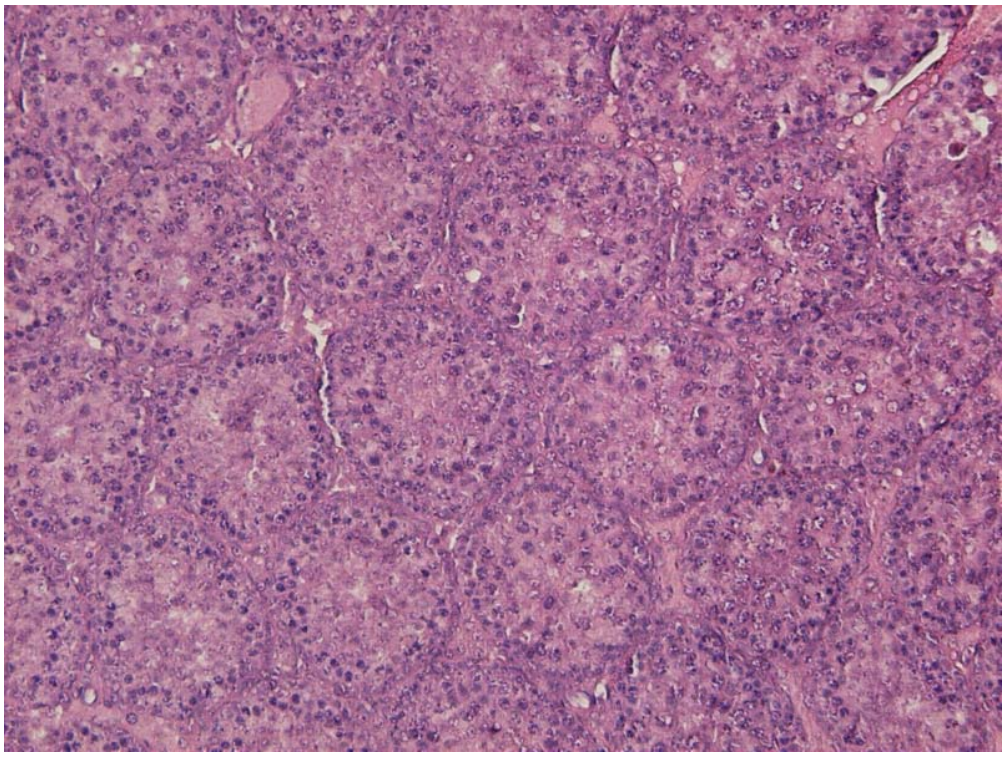
4.5.3. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu

Yağ kontrol grubunda bulunan pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümleri Şekil 4.40'da verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan pubertal erkek sıçanların testislerinde histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki pubertal dönemdeki sıçanların testis dokusu incelendiğinde çok çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümensiz tübüller tespit edilmiştir (Şekil 4.41). 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusu incelendiğinde atrofik ve şekilsiz tübüller (Şekil 4.42-44), atılan spermatojenik hücreler (Şekil 4.42) ve giant hücreler (hücrelerin birleşerek dev hücre oluşturması) (Şekil 4.43) gözlenmiştir. 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüllerin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.45 ve 4.46). Büyük büyütmede incelenen yağ kontrol grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümde olduğu görülmüştür (Şekil 4.47). 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların

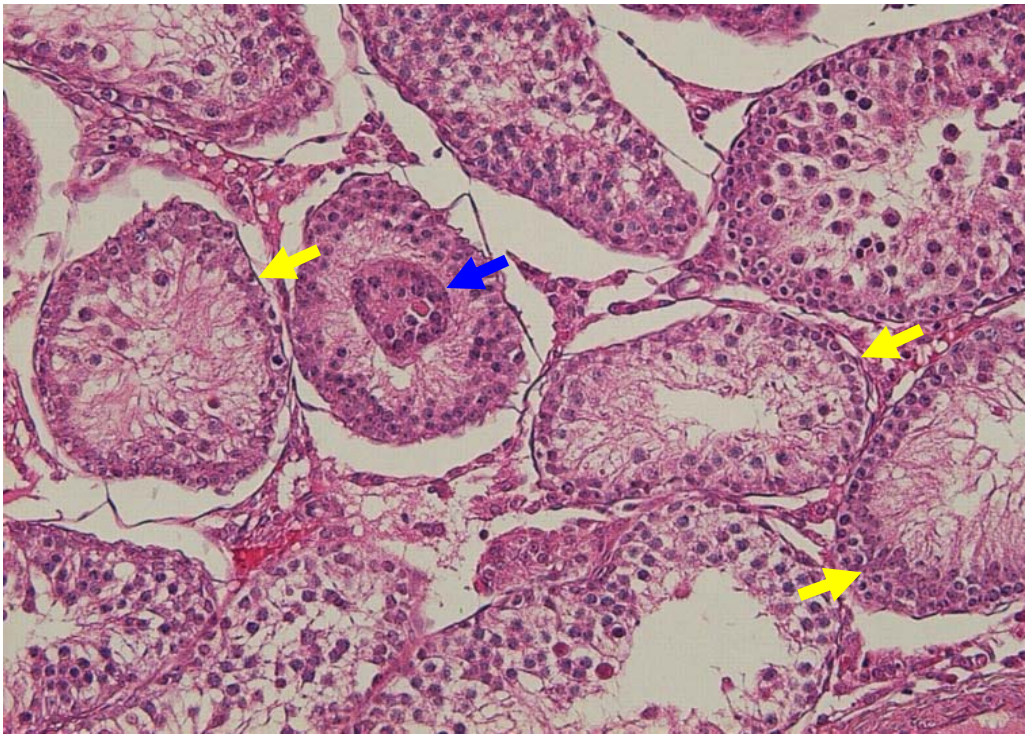
testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (Şekil 4.48-49), giant hücresi (Şekil 4.50), atrofik ve şekilsiz tübüller (Şekil 4.50) yanında bitişik seminifer tübüllere de rastlanmıştır (Şekil 4.51). 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüllerin ve ödemin (Şekil 4.52) olduğu tespit edilmiştir. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ise atrofiye uğrayan tübüllerin (Şekil 4.53) olduğu gözlenmiştir. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (Şekil 4.54) ve giant hücreler (Şekil 4.55) tespit edilmiştir.



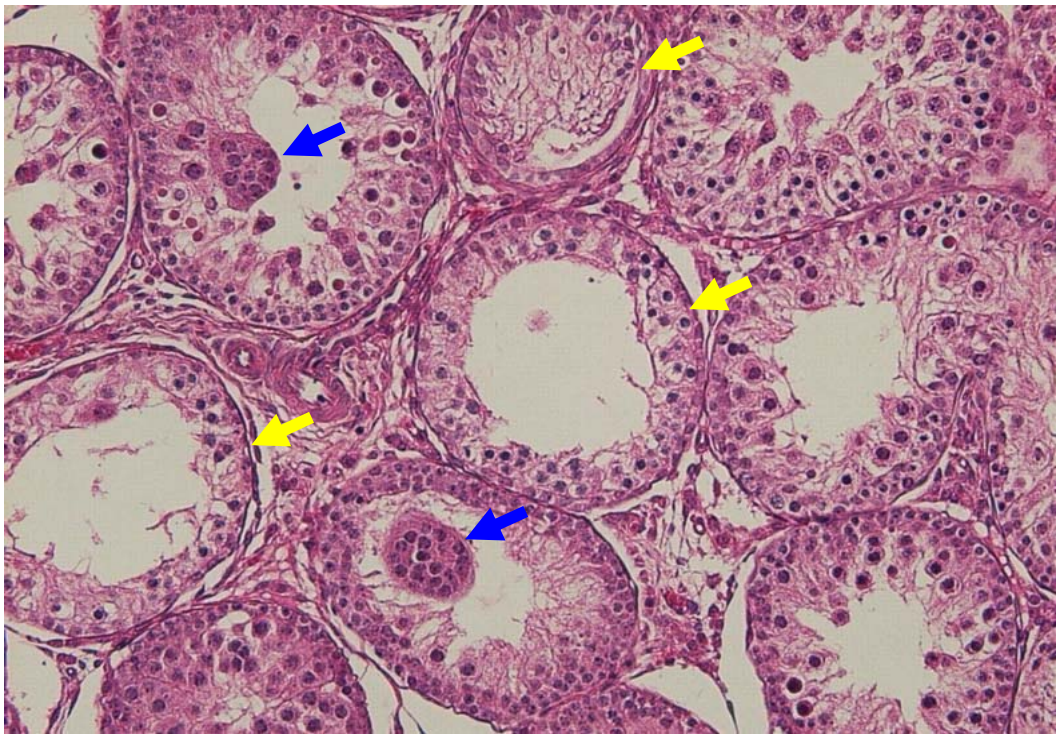
Şekil 4. 40. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



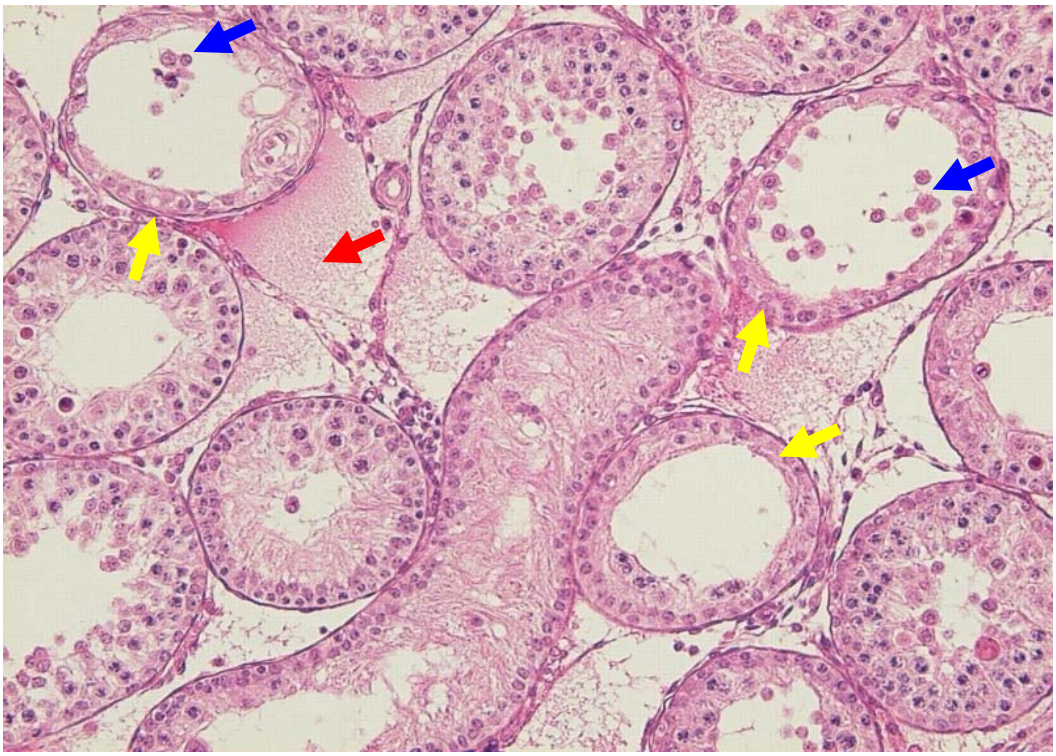
Şekil 4. 41. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda lümensiz tübüller. (H&E Boyama, x100)



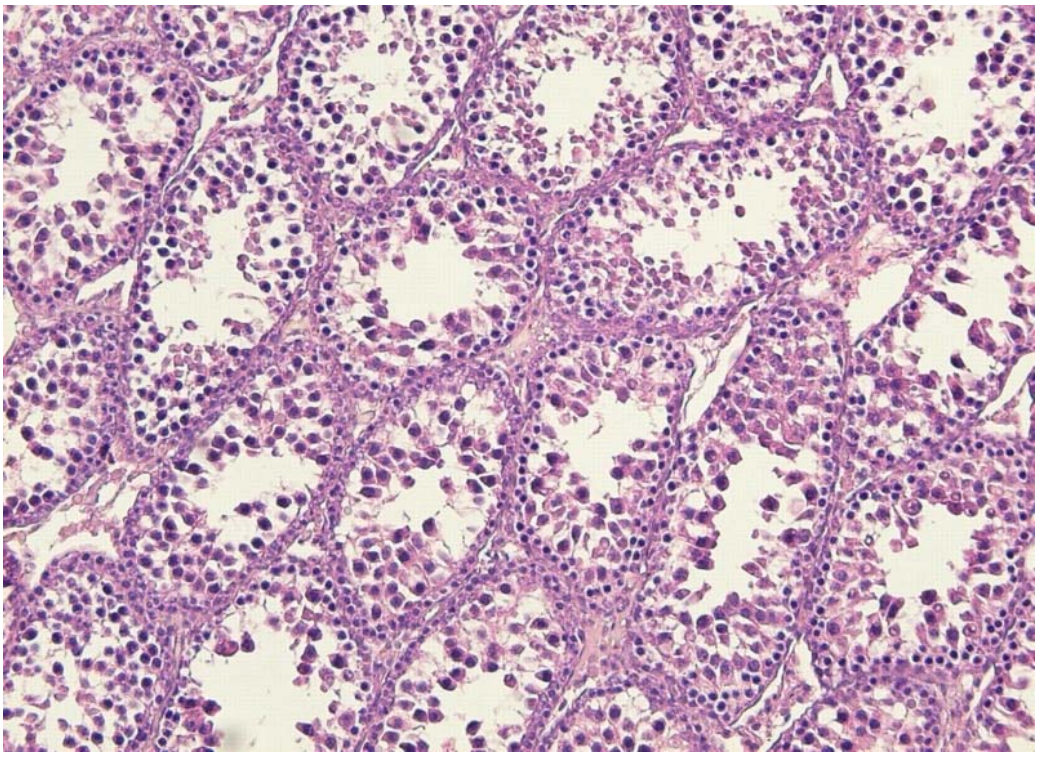
Şekil 4. 42. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atılan spermatojenik hücreler (➡), atrofik ve şekilsiz tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



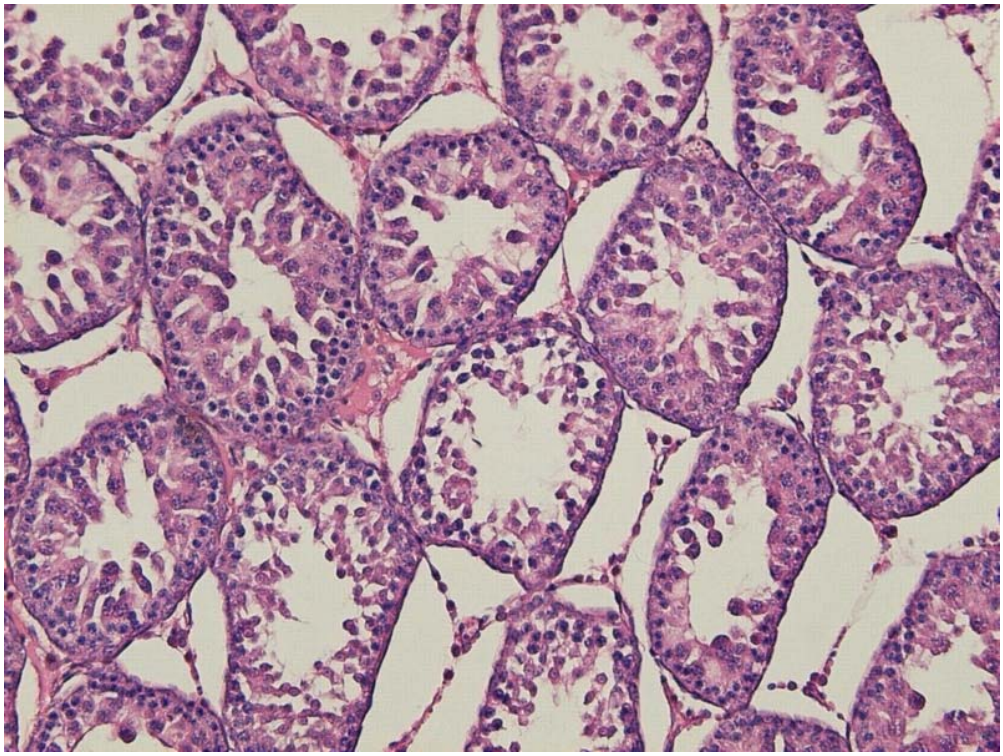
Şekil 4. 43. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik, şekilsiz tübüller (➡) ve giant hücreleri (➡). (H&E Boyama, x100)



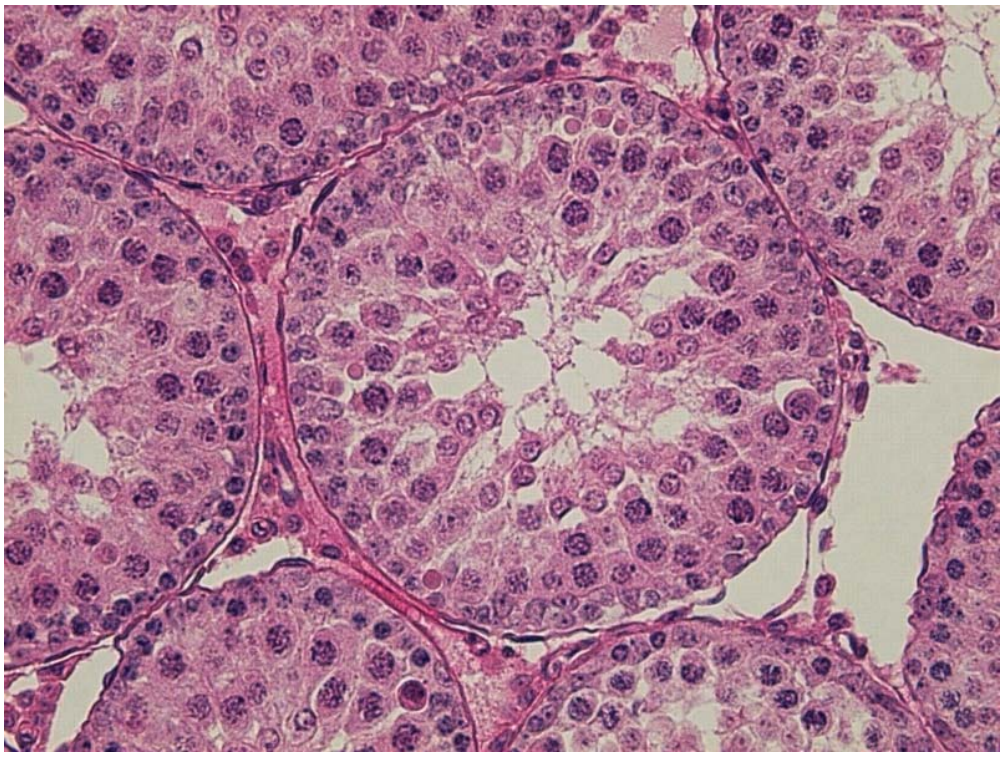
Şekil 4. 44. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡), ödem (➡) ve atılan hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



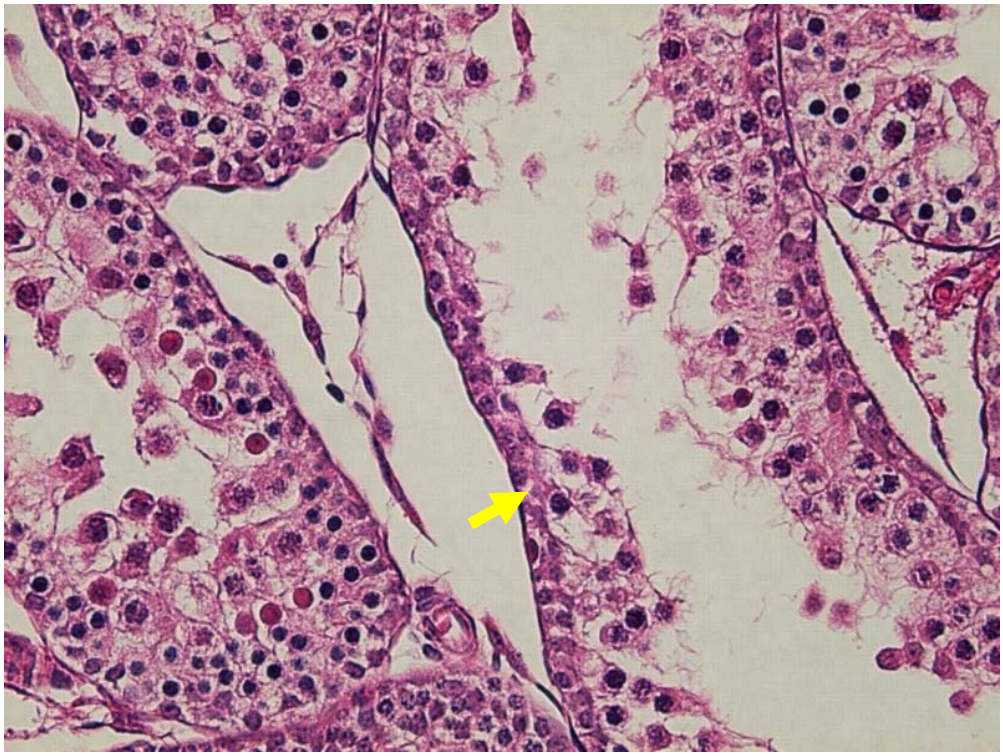
Şekil 4. 45. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller. (H&E Boyama, x100)



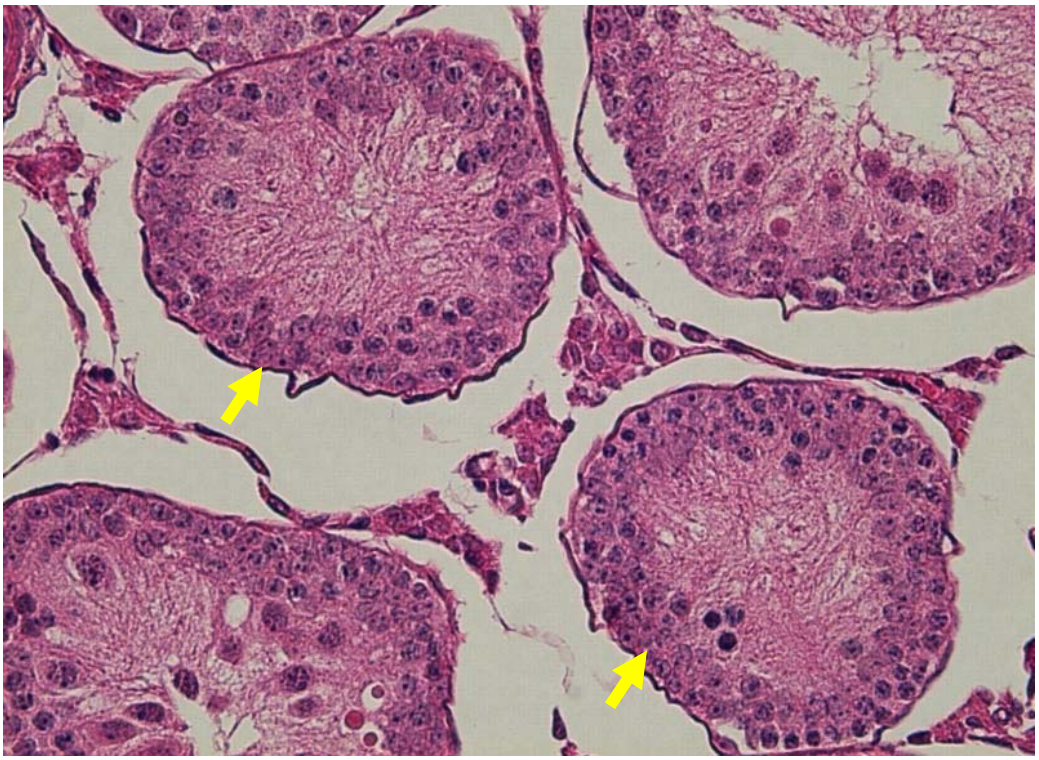
Şekil 4. 46. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller. (H&E Boyama, x100)



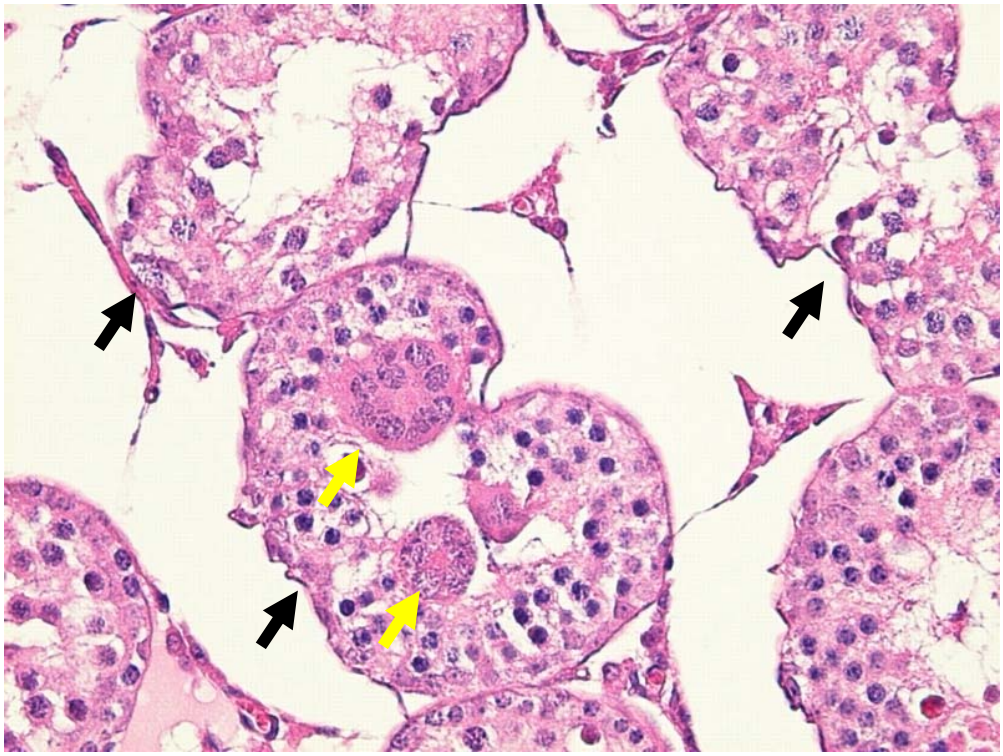
Şekil 4. 47. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200)



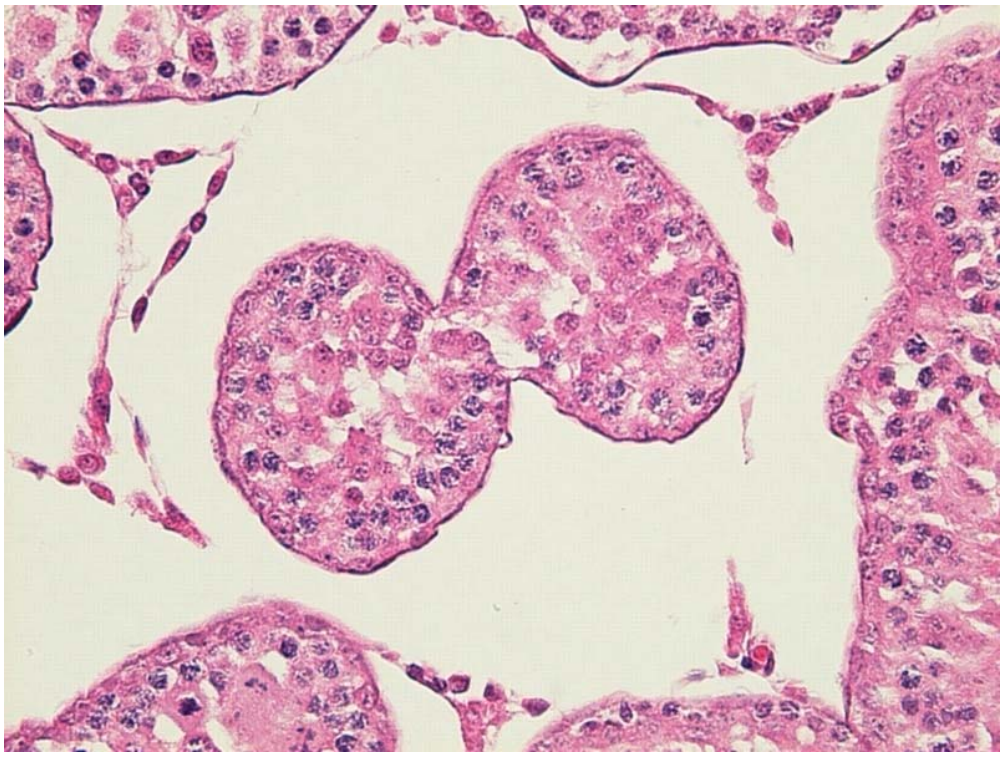
Şekil 4. 48. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübül (➡). (H&E Boyama, x200)



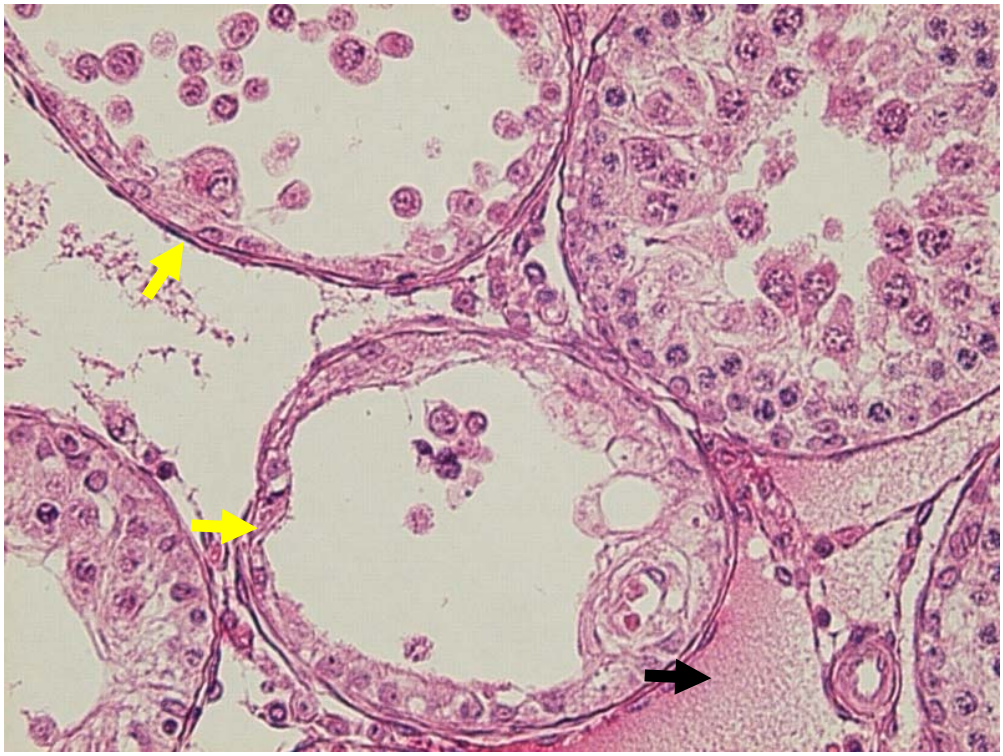
Şekil 4. 49. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➔). (H&E Boyama, x200)



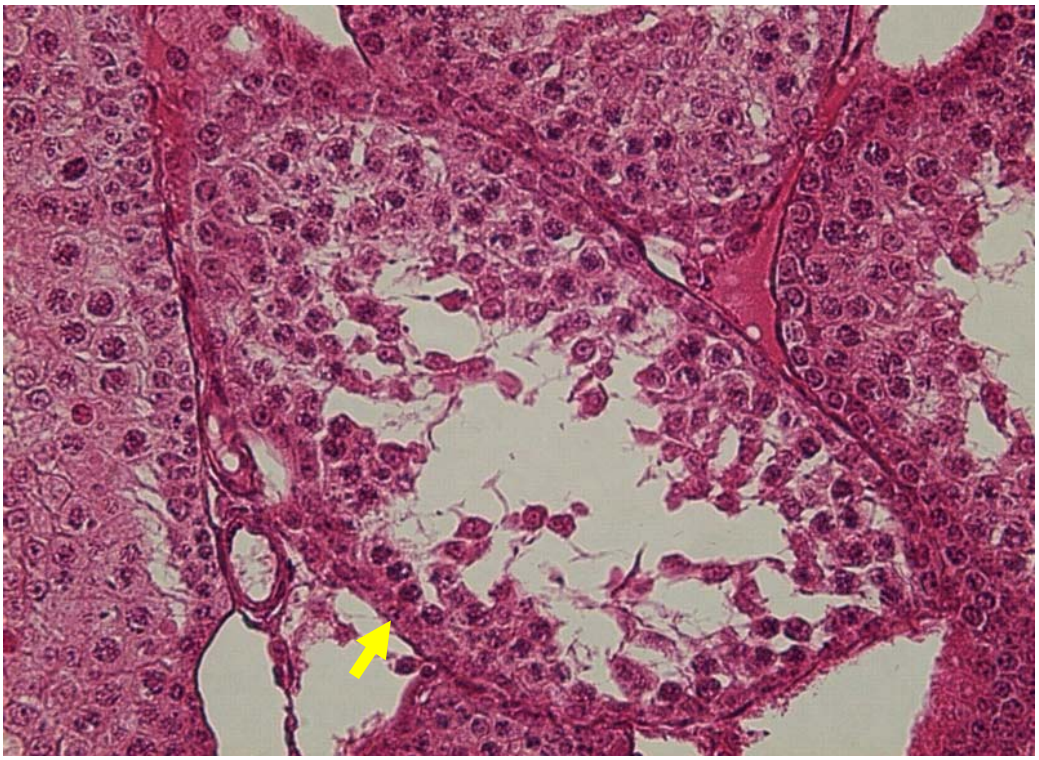
Şekil 4. 50. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik, şekilsiz tübüller (➔) ve giant hücreleri (➔). (H&E Boyama, x200)



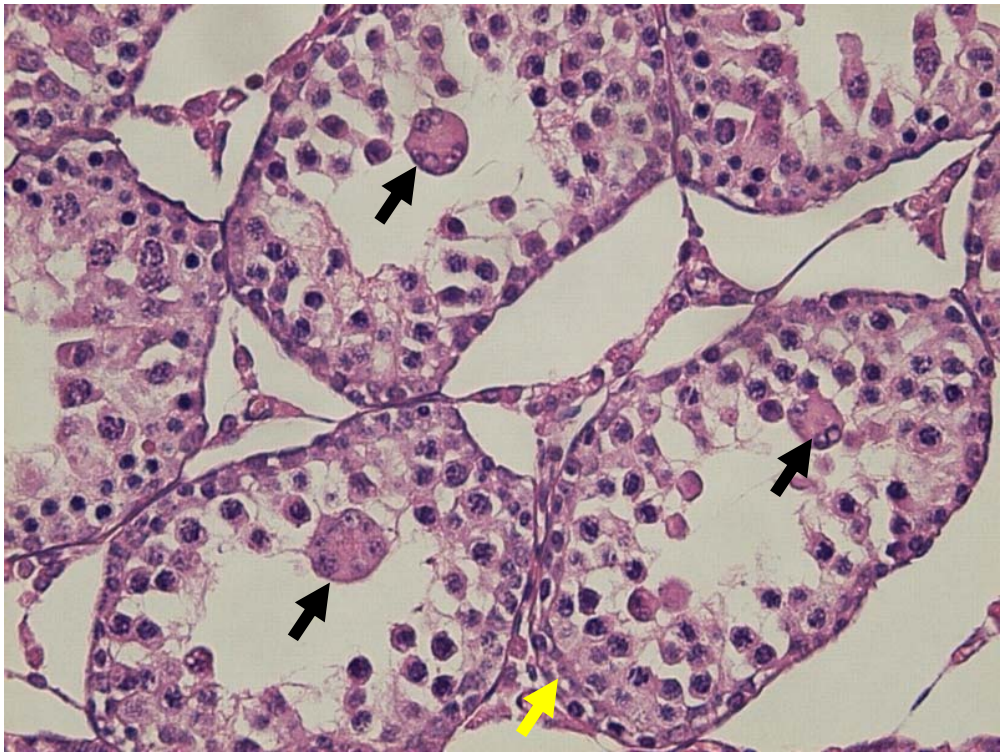
Şekil 4. 51. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda bitişik seminifer tübüller. (H&E Boyama, x200)



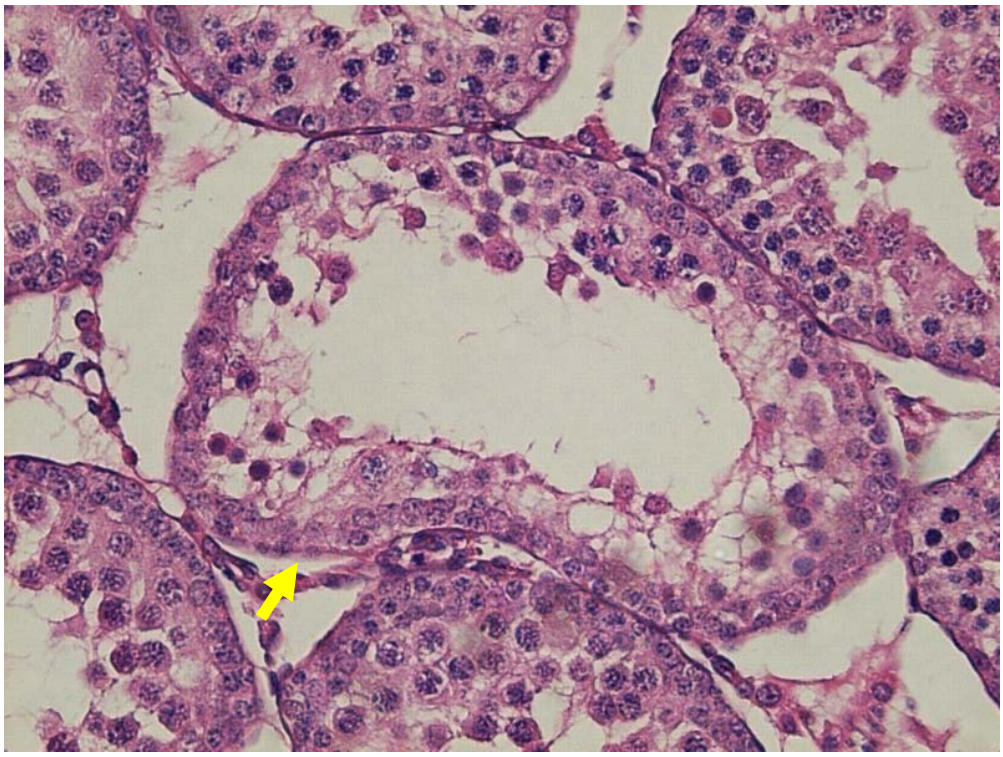
Şekil 4. 52. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➔) ve ödem (➡) (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 53. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (➡). (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 54. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübüller (➡) ve giant hücreleri (➡) (H&E Boyama, x200)

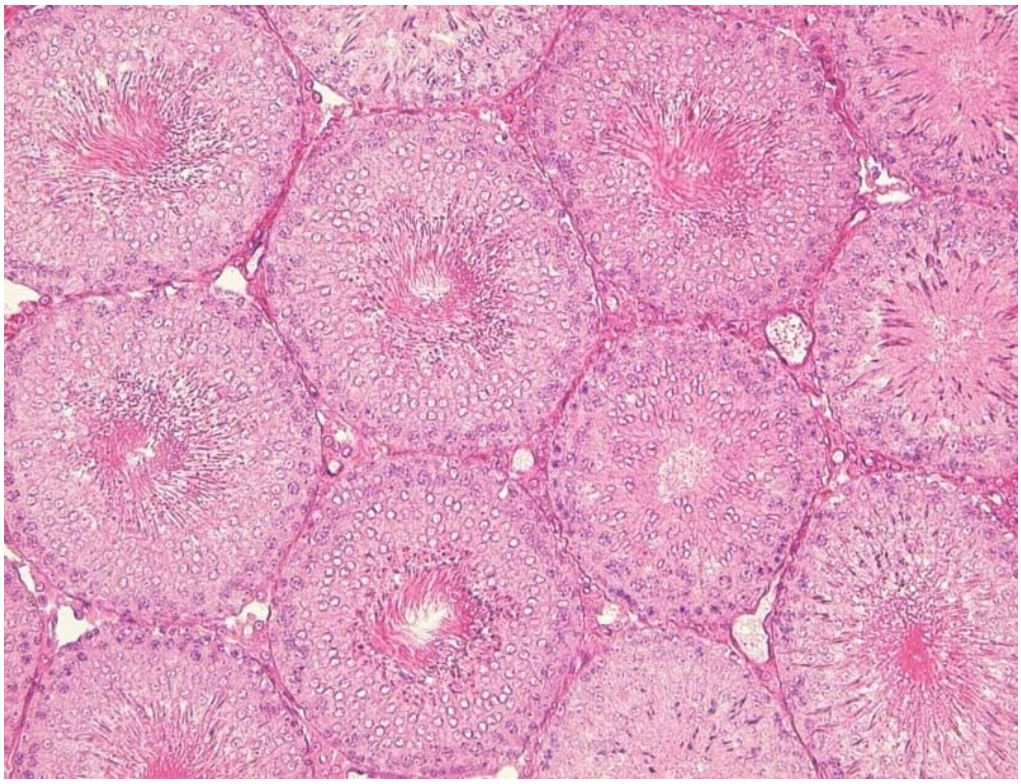


Şekil 4. 55. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofiye uğrayan tübül (➡). (H&E Boyama, x200)

4.5.4. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait testis dokusu

Yağ kontrol grubunda bulunan ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümleri Şekil 4.56'da verilmiştir. Bu grupda hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki ergin sıçanların testis dokusu incelendiğinde çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödem (Şekil 4.57) görülürken 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda atrofik tübüllere rastlanmıştır (Şekil 4.58). 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda testis dokusunda atrofik tübüller (Şekil 4.59), hasarlı tübüller ve tübüller arasında ödem (Şekil 4.60) tespit edilmiştir. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödeme (Şekil 4.61) rastlanırken 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında Leydig hücrelerinin sayısında artış görülmüştür (Şekil 4.62). 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ise tübüllerin hasarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.63). Büyük büyütmede incelenen yağ kontrol grubundaki

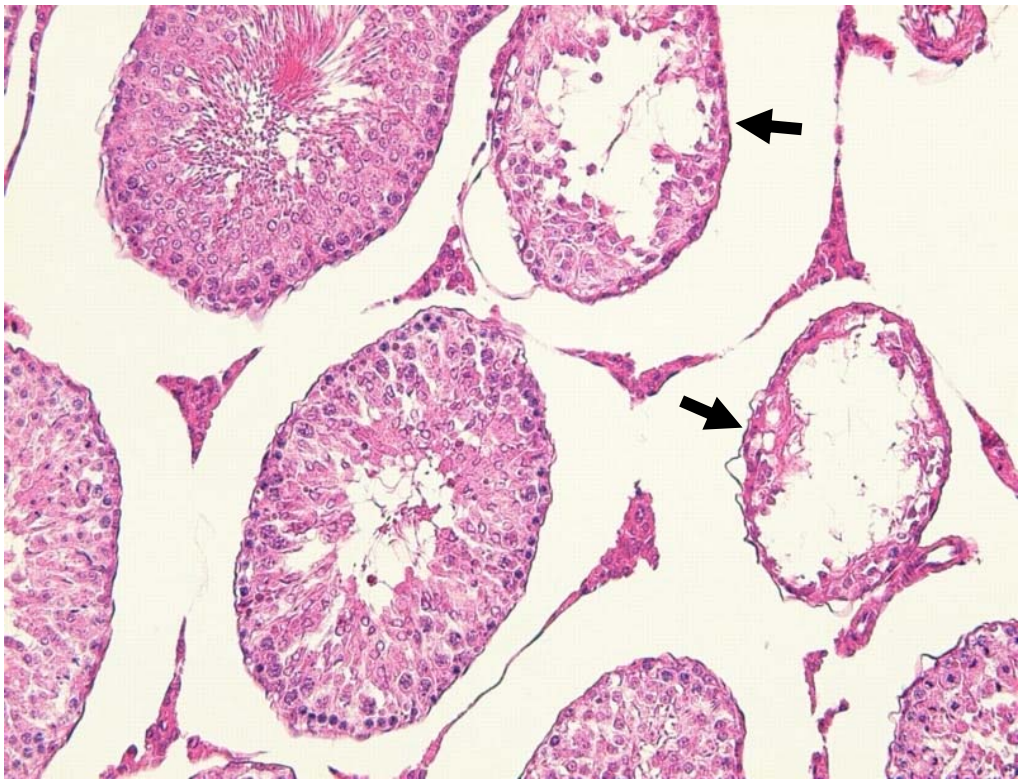
ergin dönem erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümde olduğu görülmüştür (Şekil 4.64). 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (Şekil 4.65), 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ise Sertoli hücre vakuolizasyonu ile birlikte atrofik tübüller olduğu görülmüştür (Şekil 4.66-67). 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda da atrofik tübüller (Şekil 4.68), Sertoli hücre vakuolizasyonu (Şekil 4.69) ve ödem tespit edilmiştir. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu, ödem ve şekilsiz, atrofik tübüller tespit edilmiştir (Şekil 4.70). Yüksek doz DCHP uygulama grubunda ergin erkek sıçanların testis dokularında ise tübüllerde bulunan hücrelerin sitoplazmalarında vakuolizasyon gözlemiştir (Şekil 4.71).



Şekil 4. 56. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



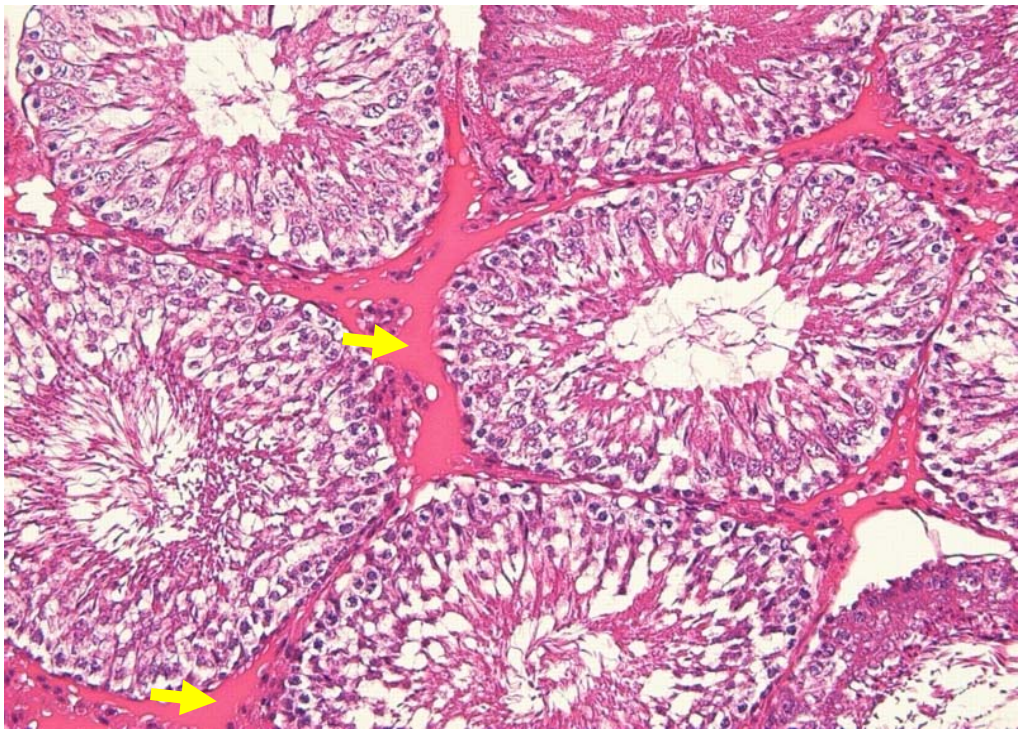
Şekil 4. 57. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100)



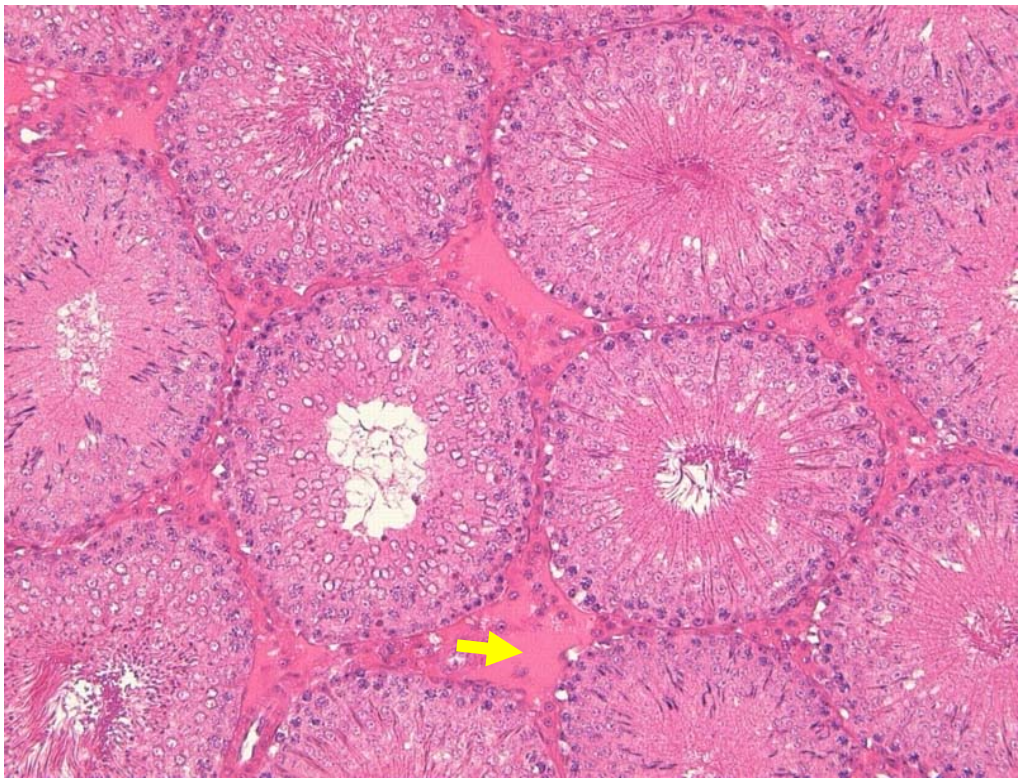
Şekil 4. 58. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



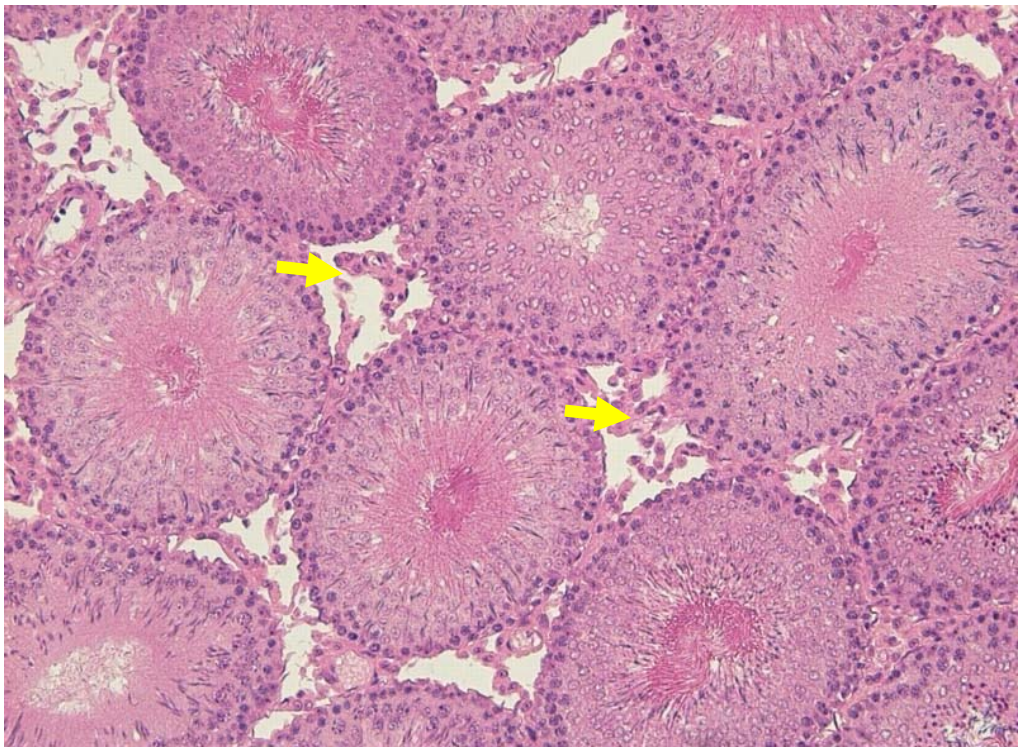
Şekil 4. 59. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



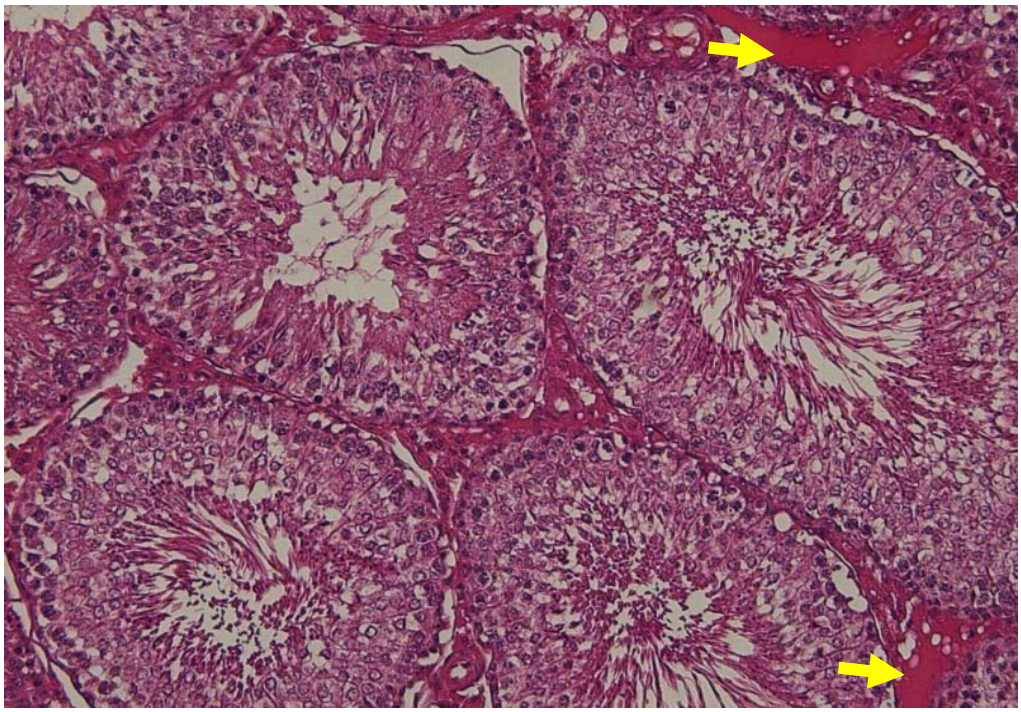
Şekil 4. 60. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda hasarlı tübüller ve tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100)



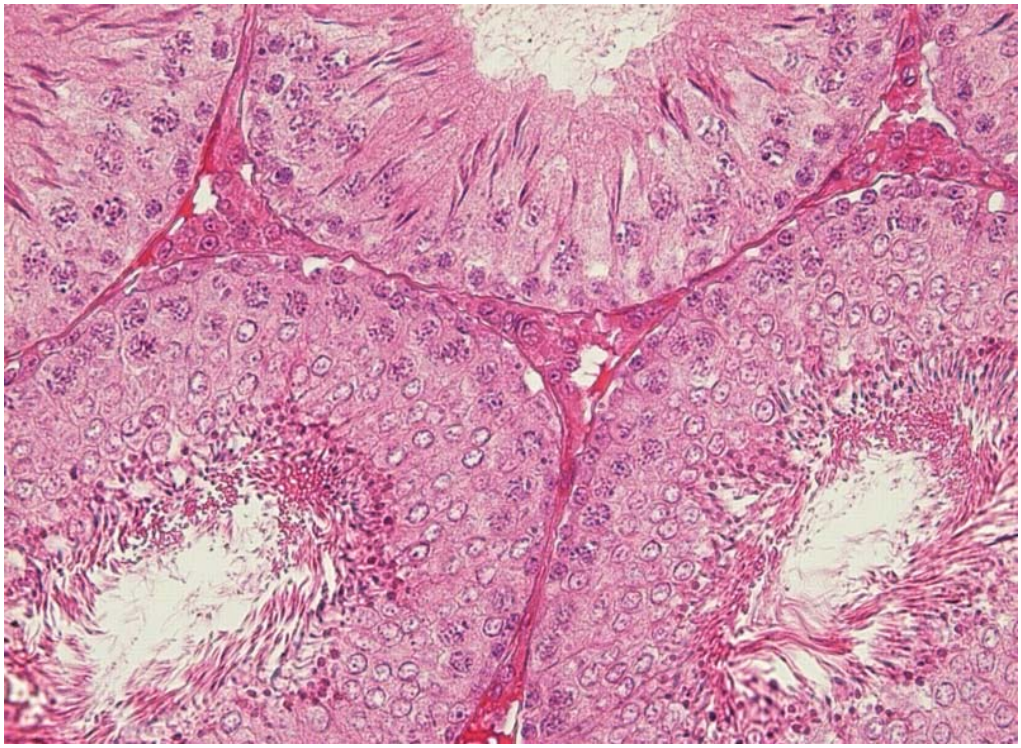
Şekil 4. 61. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında ödem (➡). (H&E Boyama, x100)



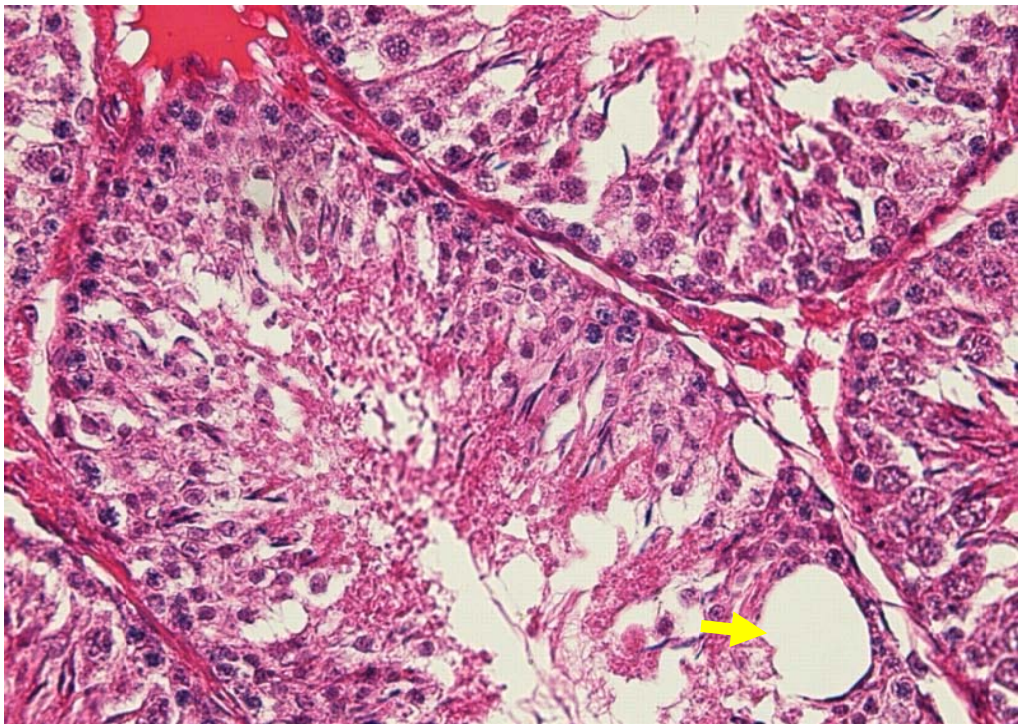
Şekil 4. 62. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında Leydig hücrelerinde artış (➡). (H&E Boyama, x100)



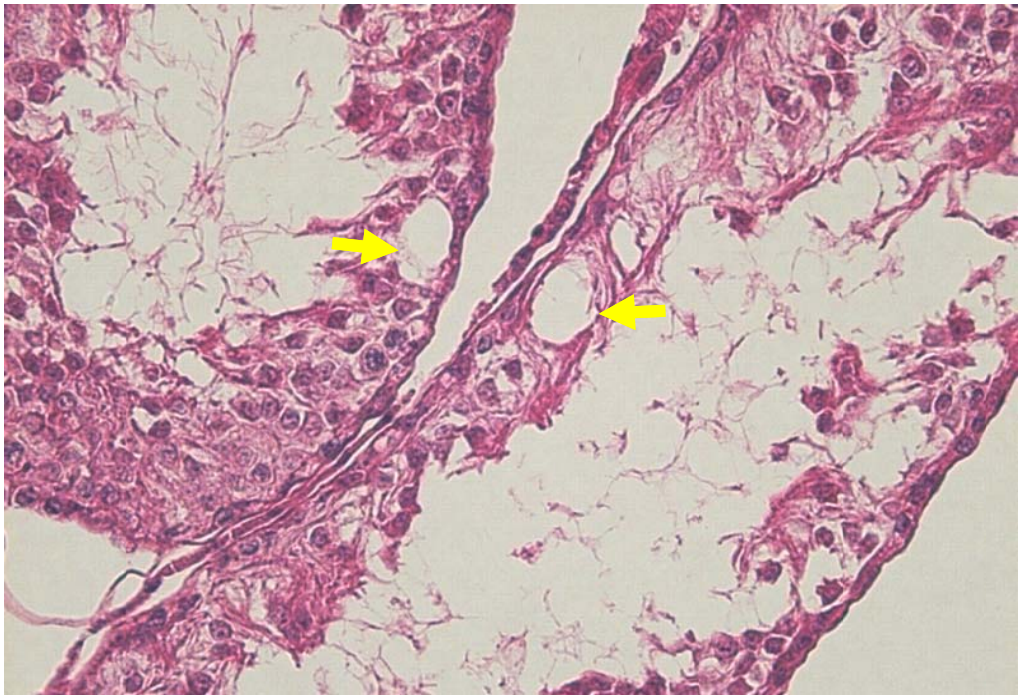
Şekil 4. 63. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda ödem (➔). (H&E Boyama, x100)



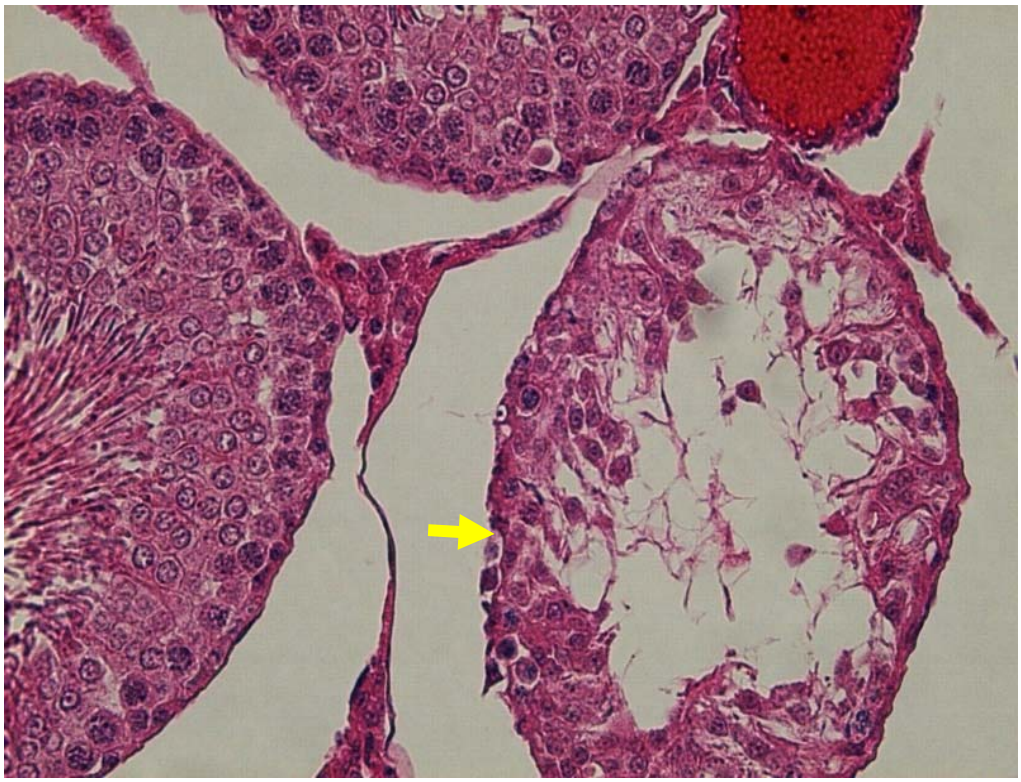
Şekil 4. 64. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x200)



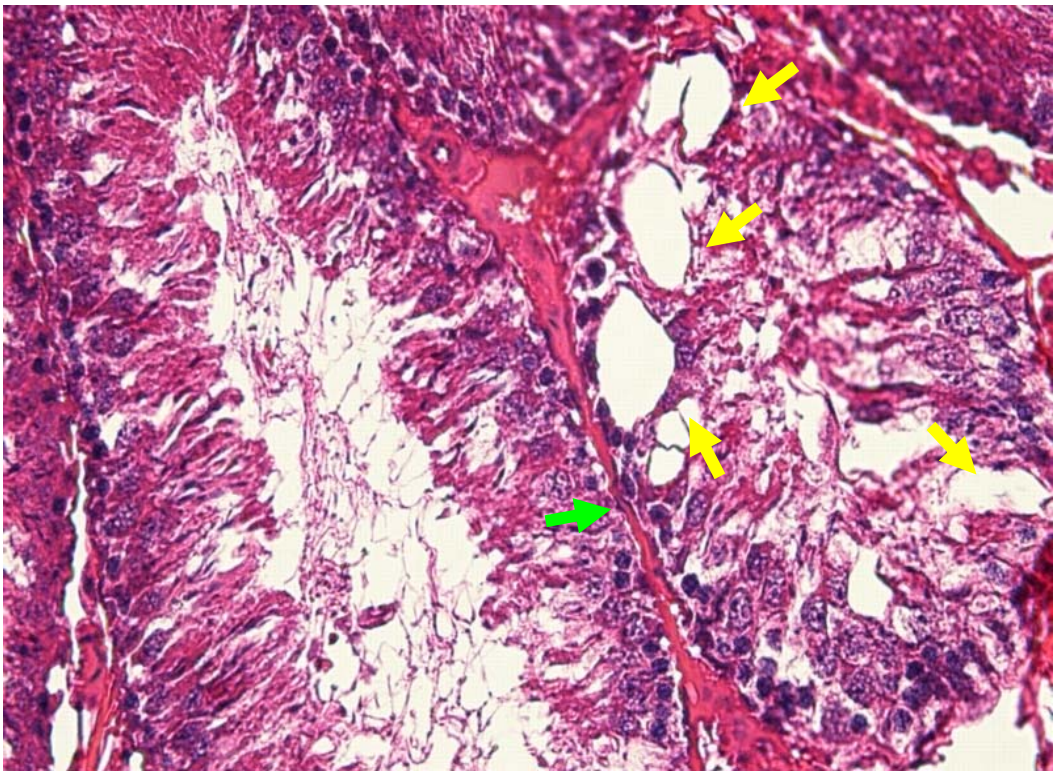
Şekil 4. 65. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)



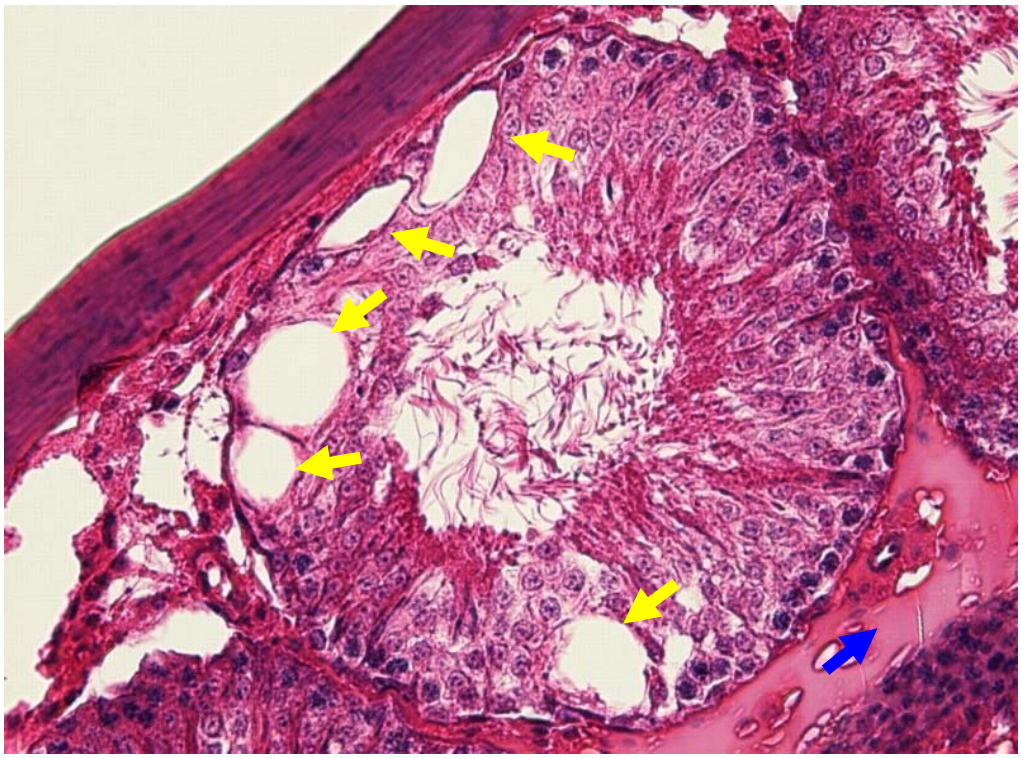
Şekil 4. 66. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübüllerde Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡). (H&E Boyama, x200)



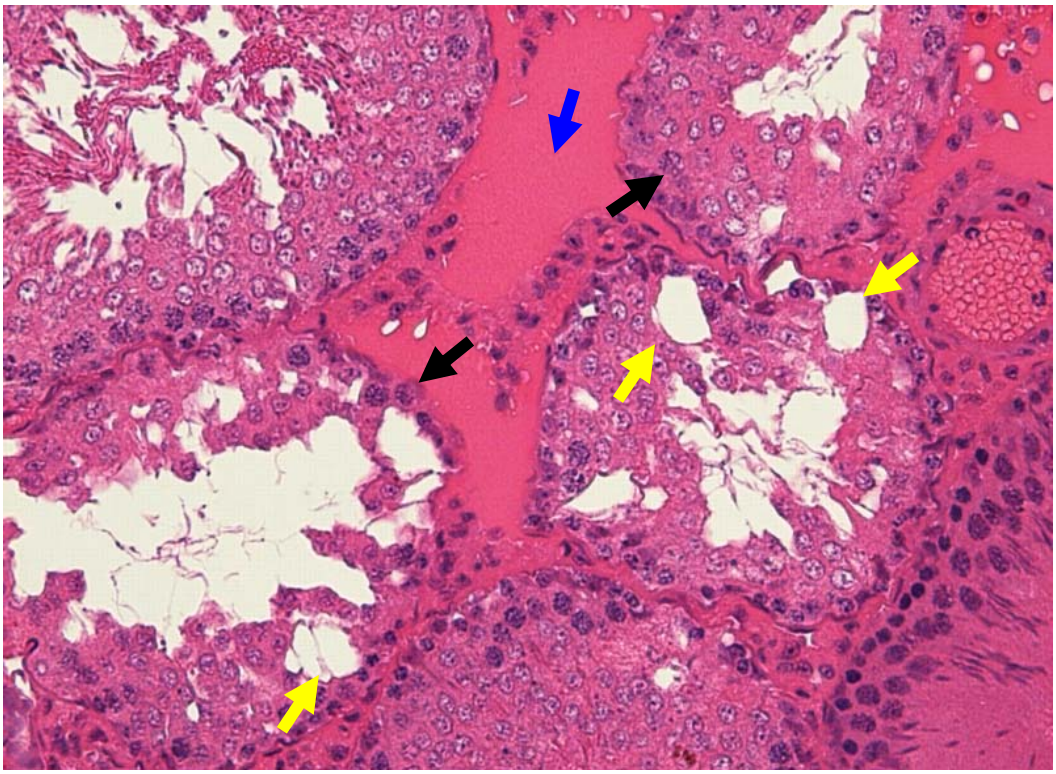
Şekil 4. 67. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübül (➡). (H&E Boyama, x200)



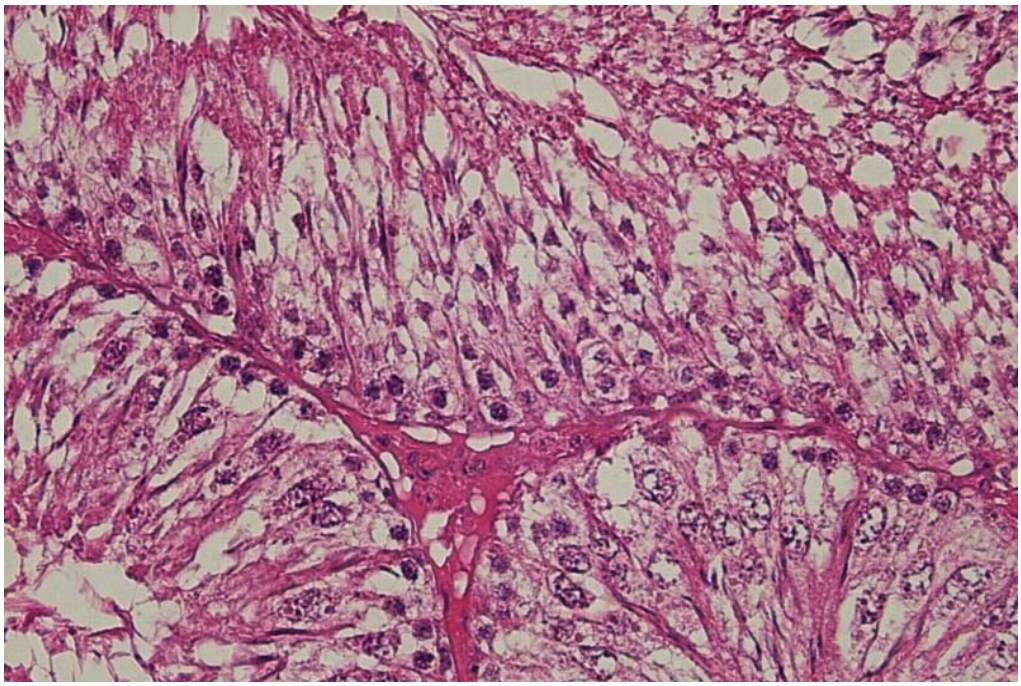
Şekil 4. 68. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda atrofik tübül (➡) ve Sertoli hücre vakuolizasyonu(➡). (H&E Boyama, x200)



Şekil 4. 69. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡) ve ödem (➡). (H&E Boyama, x200)



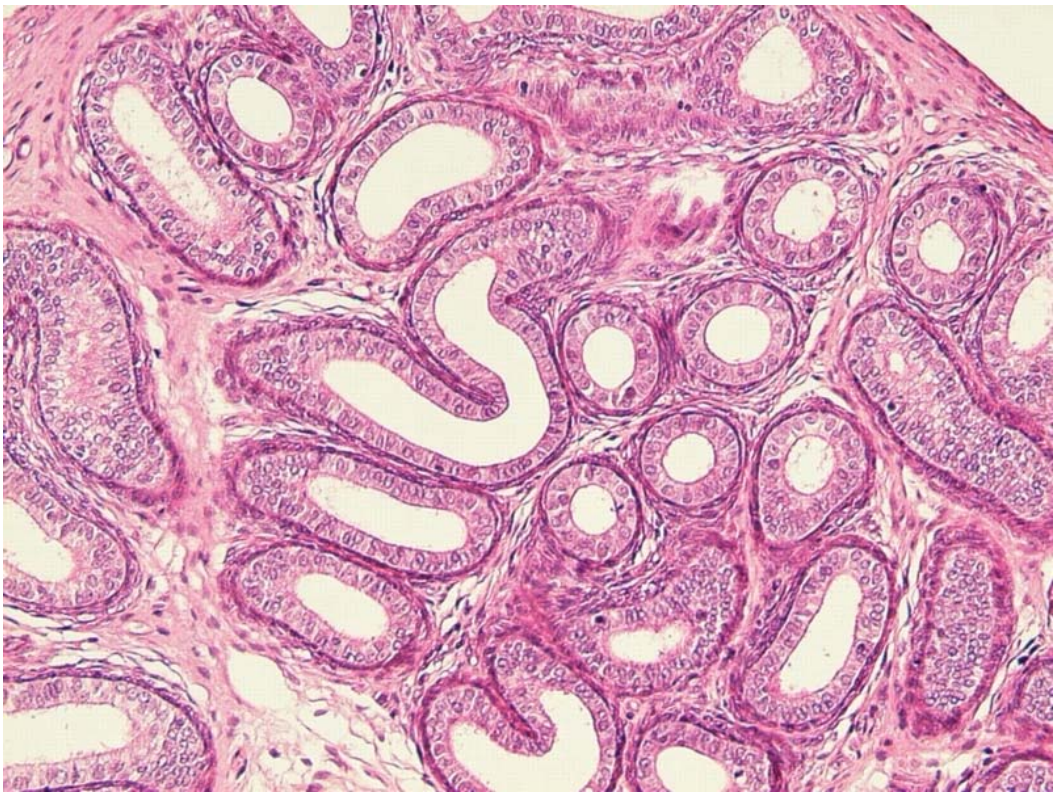
Şekil 4. 70. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Sertoli hücre vakuolizasyonu (➡), atrofik tübüller (➡) ve ödem (➡). (H&E Boyama, x200)



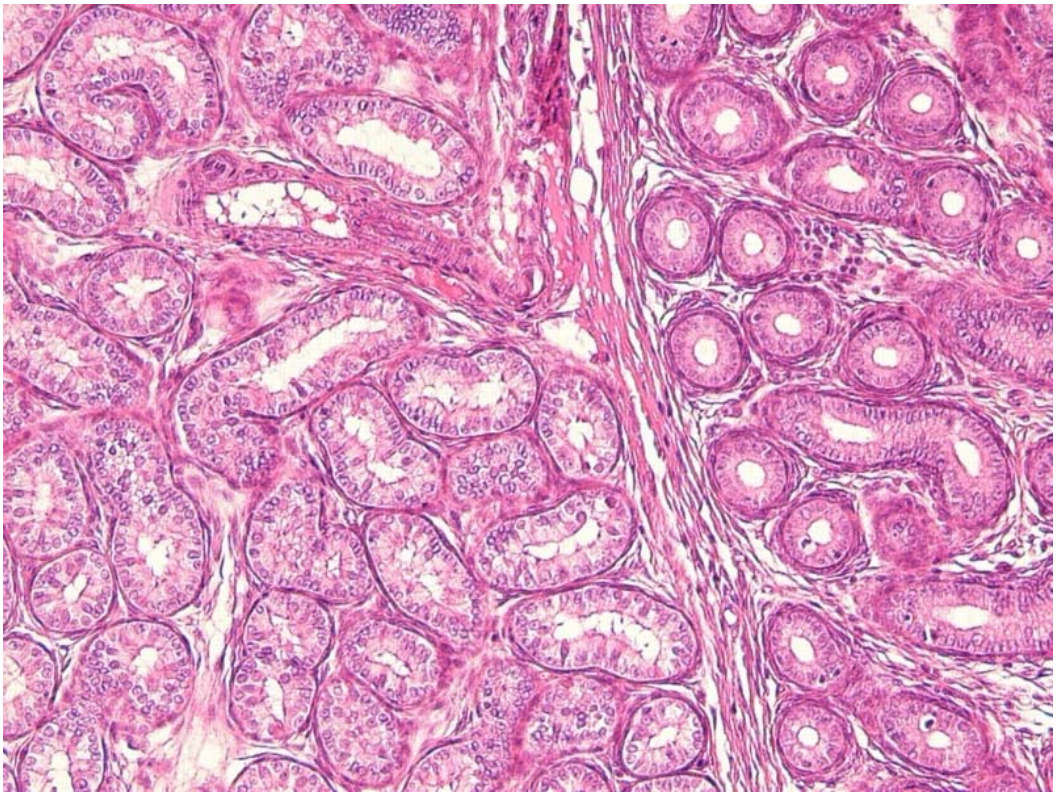
Şekil 4. 71. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda hücrelerde vakuolizasyon. (H&E Boyama, x200)

4.5.5. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu

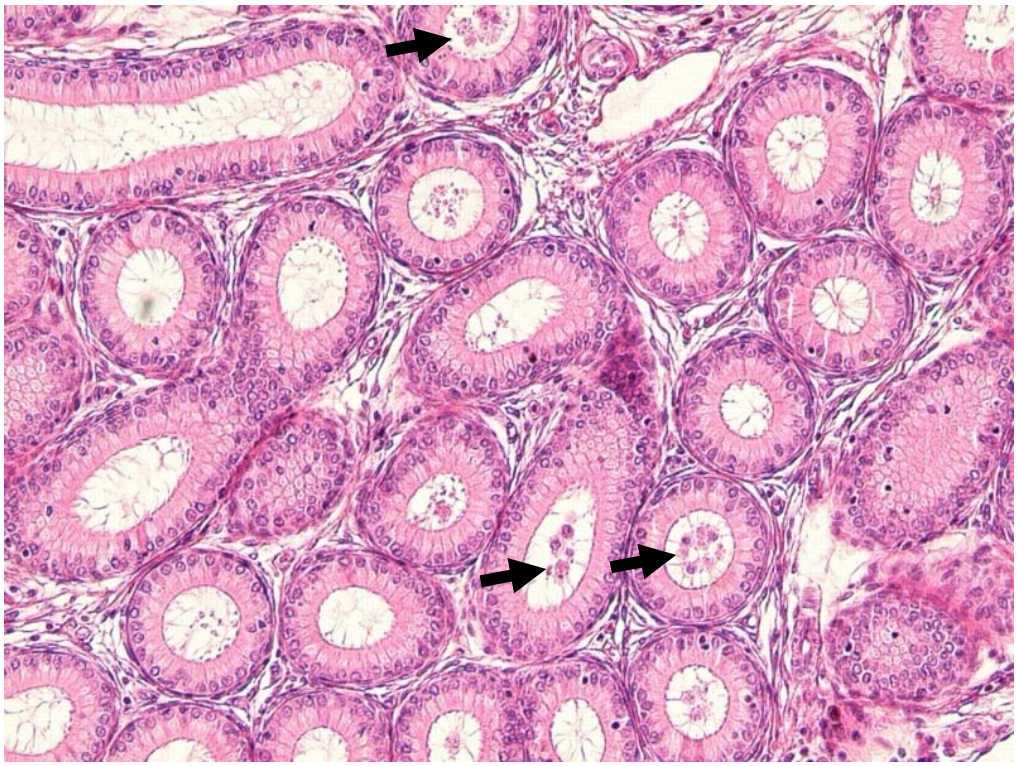
Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümleri Şekil 4.72'de verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi erkek sıçanların epididimislerinde histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki puberte öncesi sıçanların epididimis dokusu incelendiğinde çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünüşünün kontrol ve yağ kontrollerden farklı olmadığı görülmüştür (Şekil 4.73). 100 mg/kg/gün DHP (Şekil 4.74), 500 mg/kg/gün DHP (Şekil 4.75) ve tüm DCHP uygulama gruplarında (Şekil 4.76-78) puberte öncesi erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücrelerin olduğu görülmüştür. Ayrıca 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümenine atılmış spermatojenik hücreler yanında atrofik tübüllere de rastlanmıştır (Şekil 4.76).



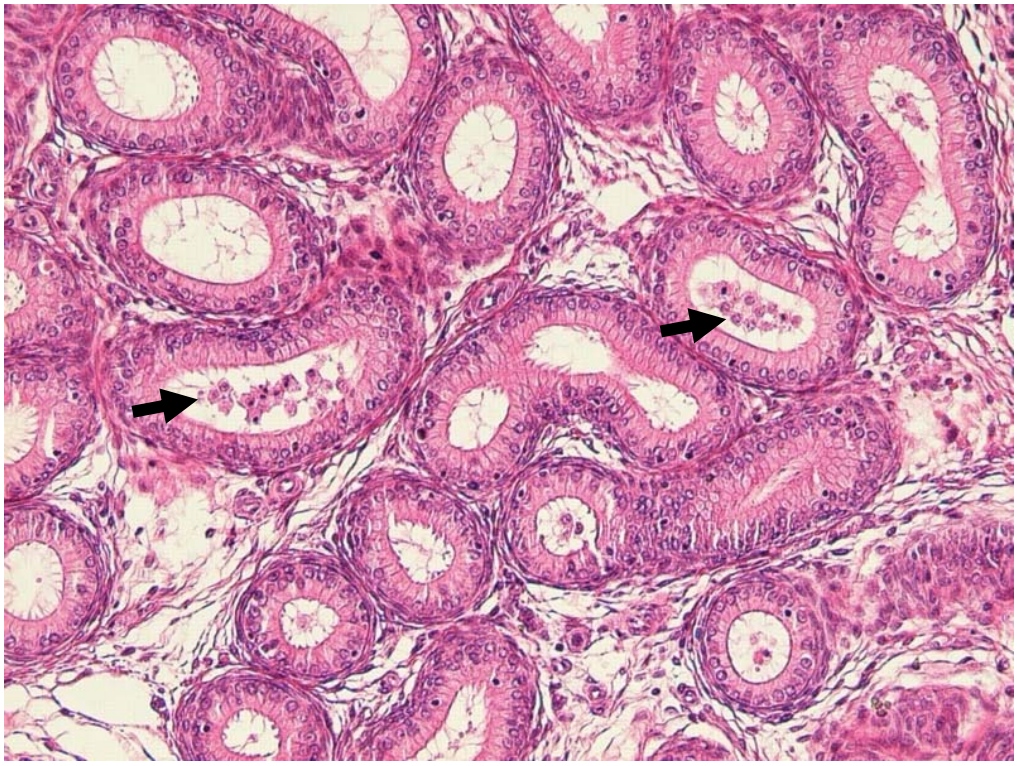
Şekil 4. 72. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 73. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünüşü. (H&E Boyama, x100)



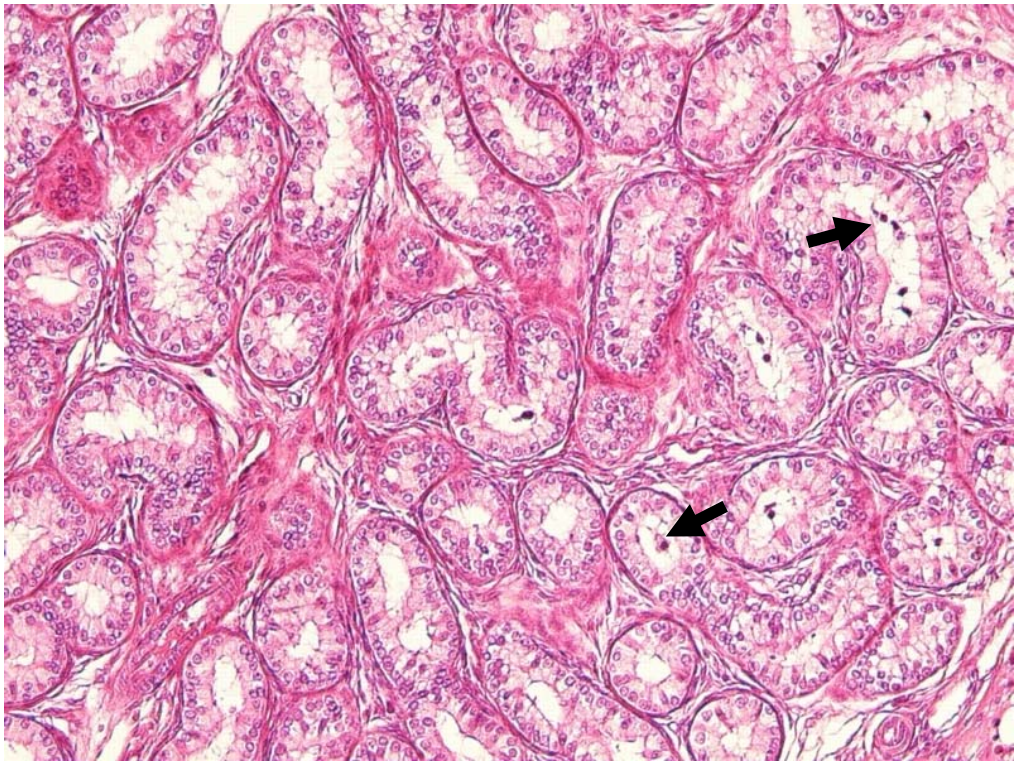
Şekil 4. 74. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



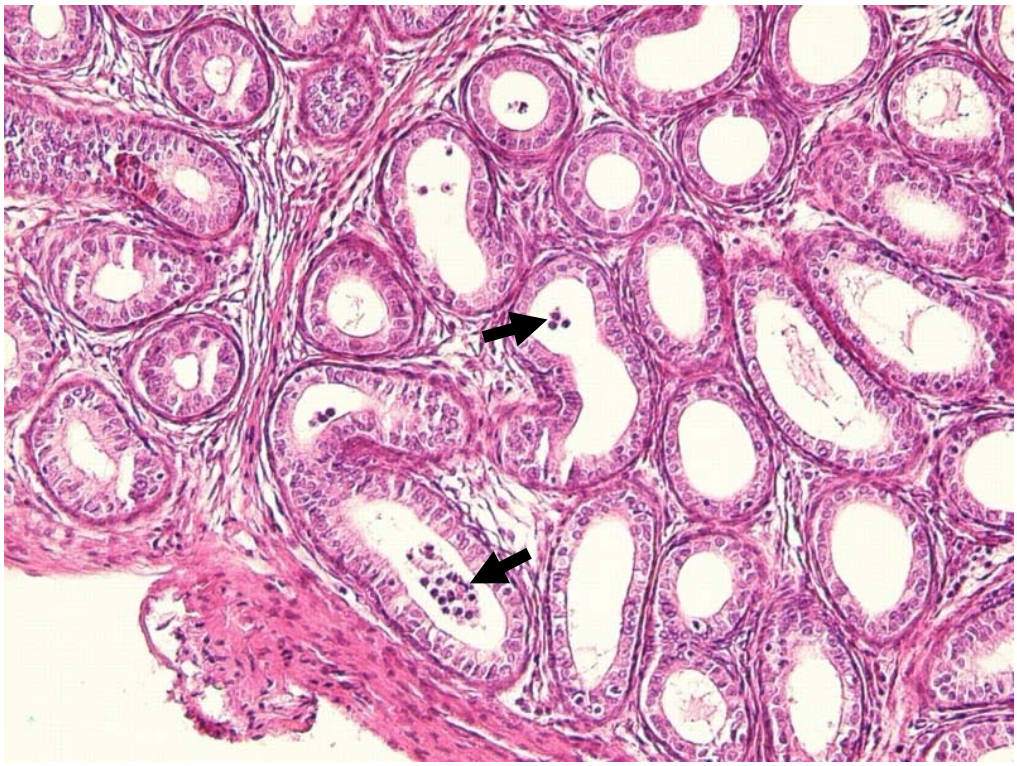
Şekil 4. 75. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 76. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡) ve atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



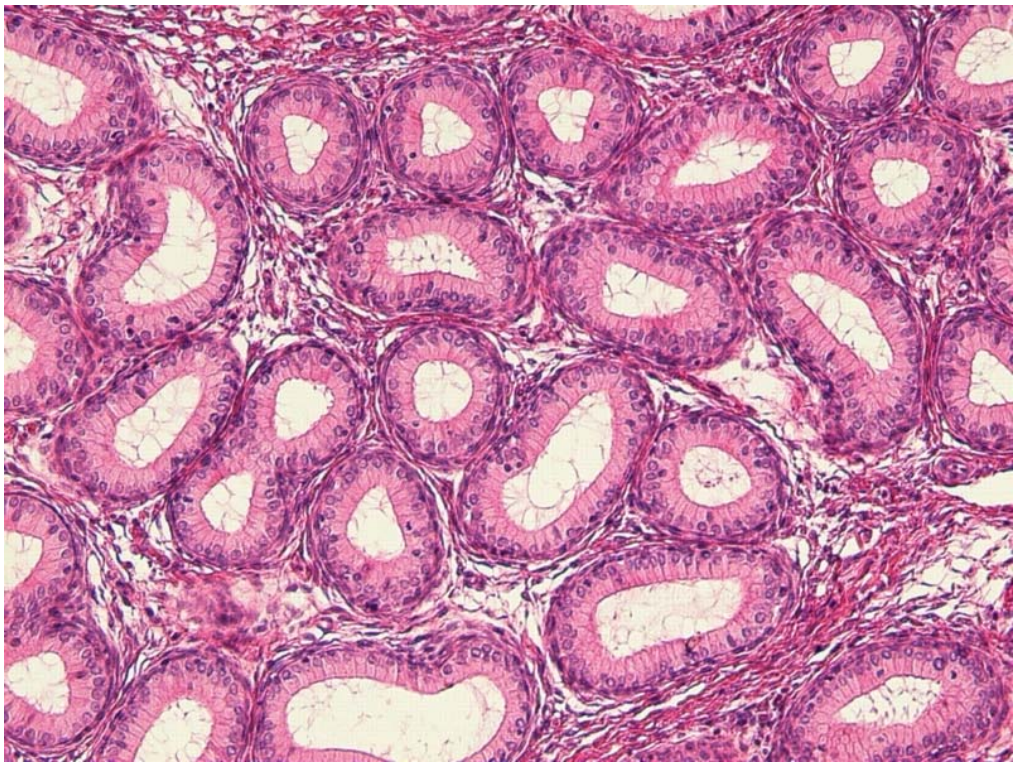
Şekil 4. 77. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



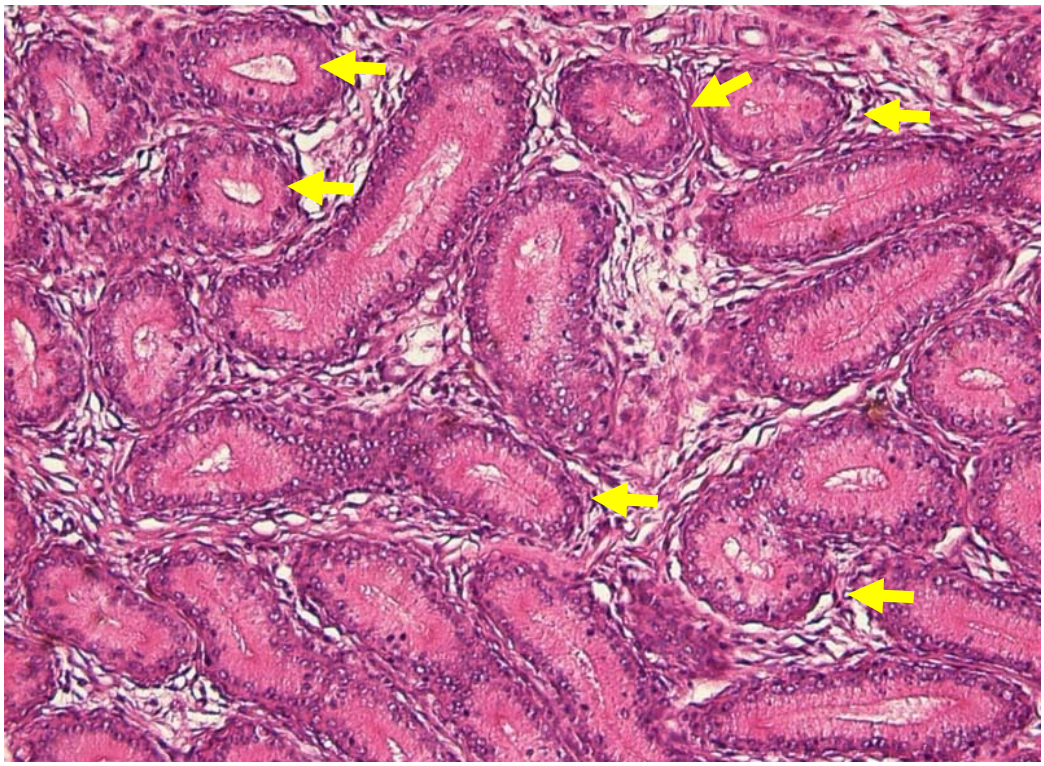
Şekil 4. 78. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)

4.5.6. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu

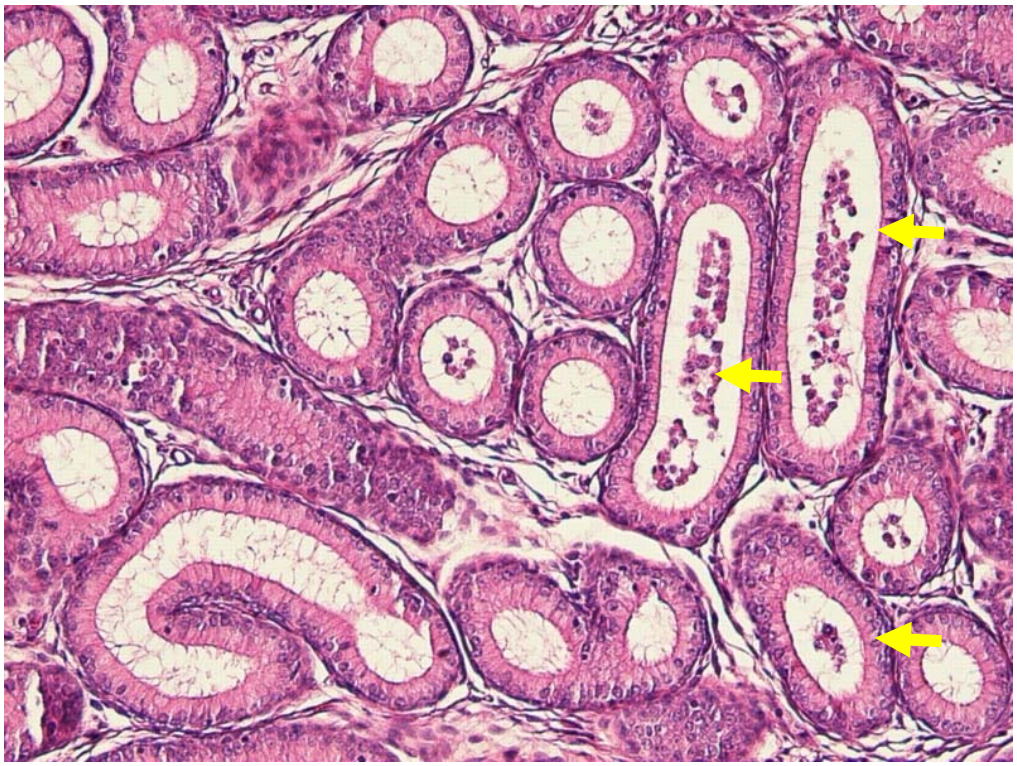
Yağ kontrol (Şekil 4.79) grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümde olduğu tespit edilirken 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda lümeni daralmış tübüllerin olduğu görülmüştür (Şekil 4.80). 100 mg/kg/gün DHP (Şekil 4.81), 20 (Şekil 4.82), 100 (Şekil 4.83) ve 500 (Şekil 4.84) mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda testisten atılmış spermatojenik hücrelerin varlığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 79. Yağ Kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 80. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda lümeni daralmış tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 81. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 82. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler. (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 83. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



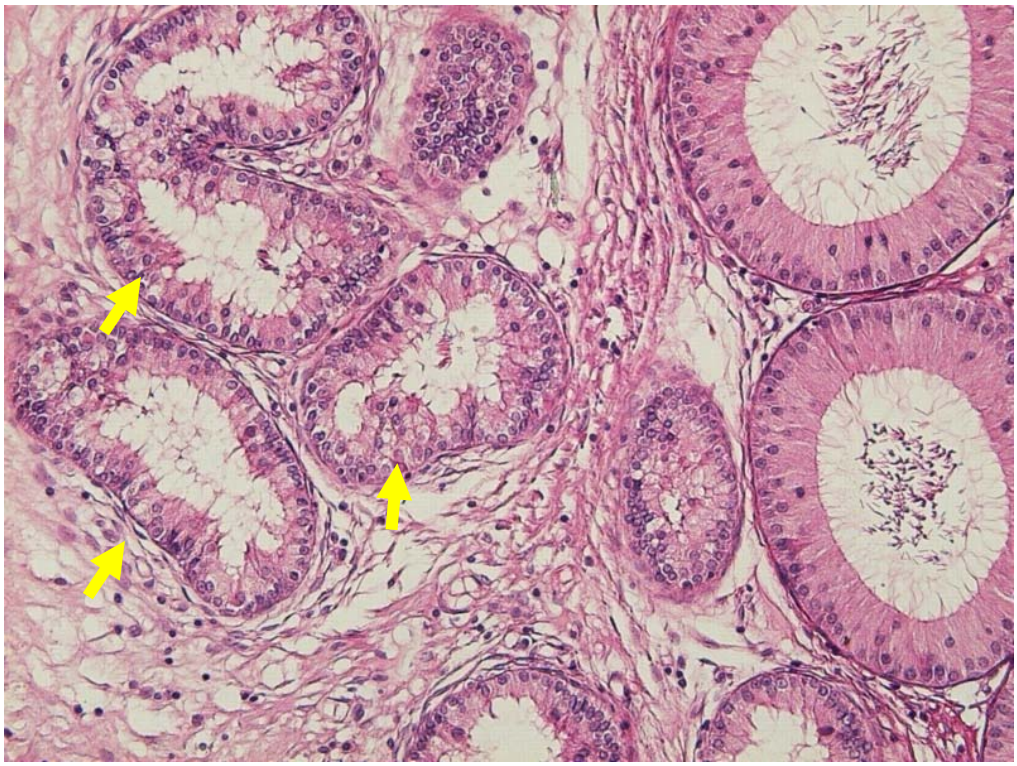
Şekil 4. 84. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)

4.5.7. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait epididimis dokusu

Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş (Şekil 4.85) ve kuyruk (Şekil 4.88) epididimis dokusunun normal görünümde olduğu tespit edilmiştir. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atrofik tübüllerin olduğu görülmüştür (Şekil 4.86).şekiller bold yazılmış sanırım olmayacak 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda testisten atılmış spermatojenik hücreler (Şekil 4.87) bulunduğu görülmüştür. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda kuyruk epididimis dokusunda lümende kontrole göre sperm sayısında azalma görülürken (Şekil 4.89) 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda sperm içermeyen tübüllere rastlanmıştır (Şekil 4.90).



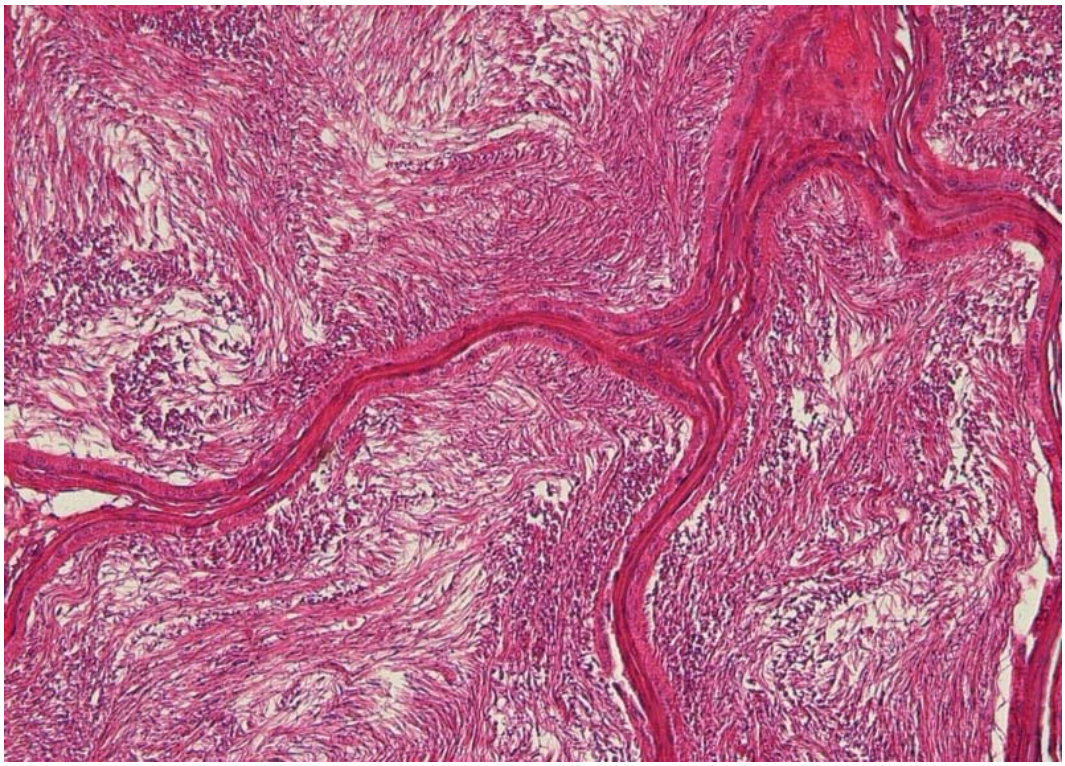
Şekil 4. 85. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



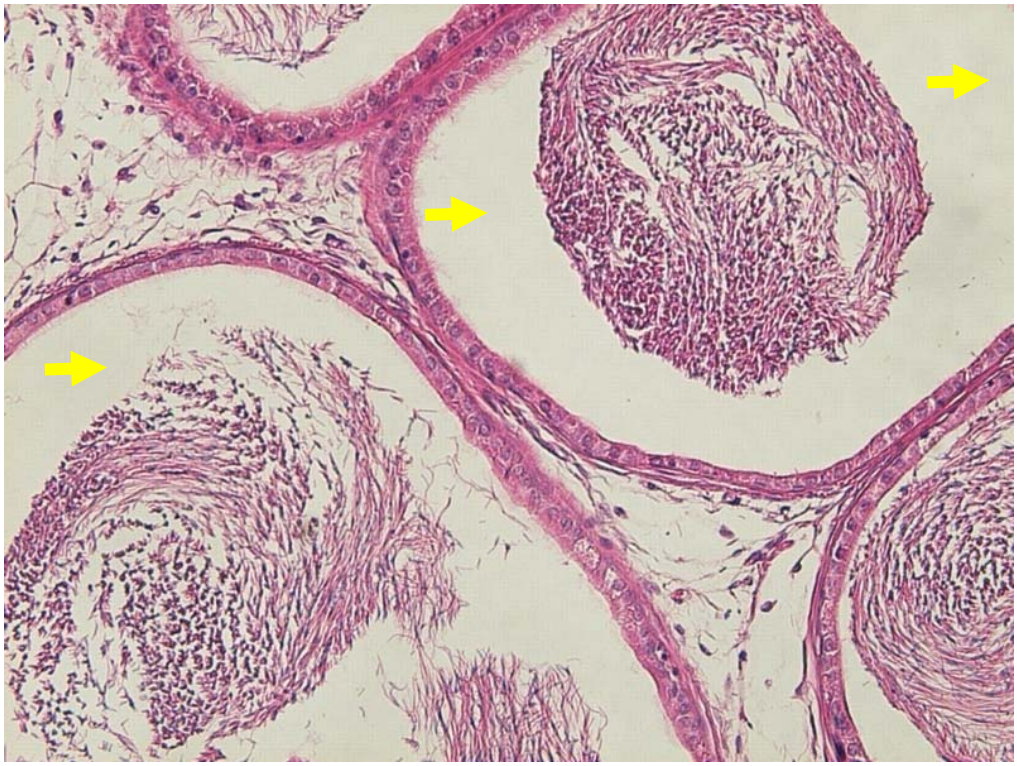
Şekil 4. 86. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 87. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atılmış spermatojenik hücreler (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 88. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



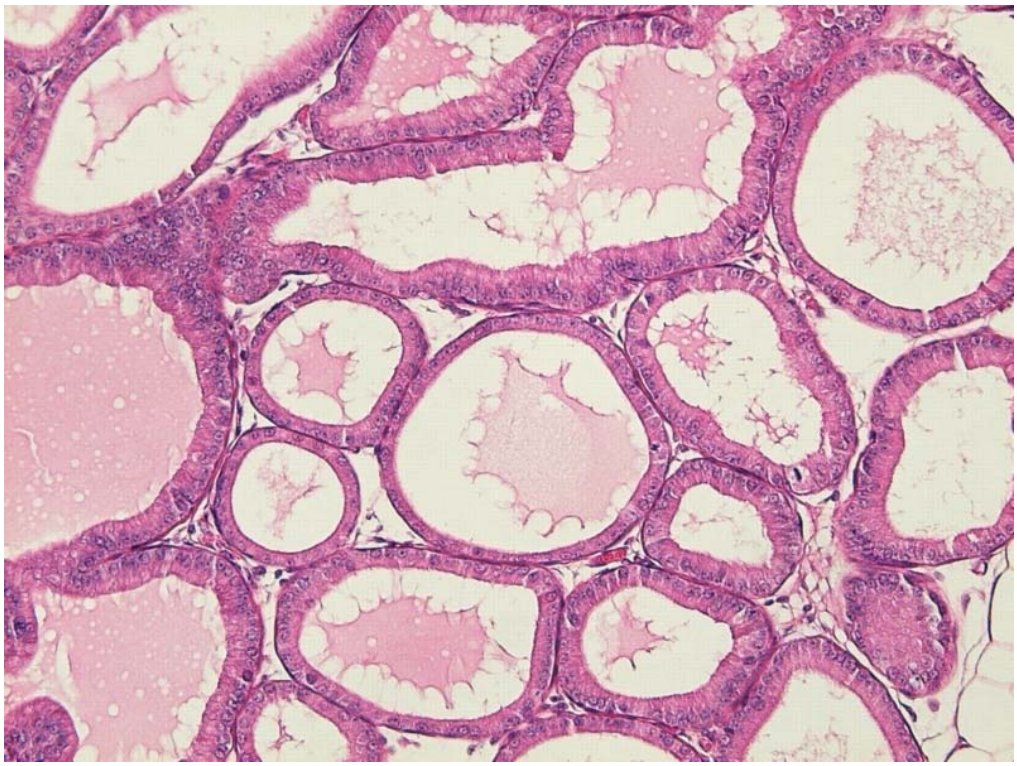
Şekil 4. 89. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunda lümende kontrole göre sperm azlığı (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 90. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların kuyruk epididimis dokusunda sperm içermeyen tübül (➡). (H&E Boyama, x100)

4.5.8. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu

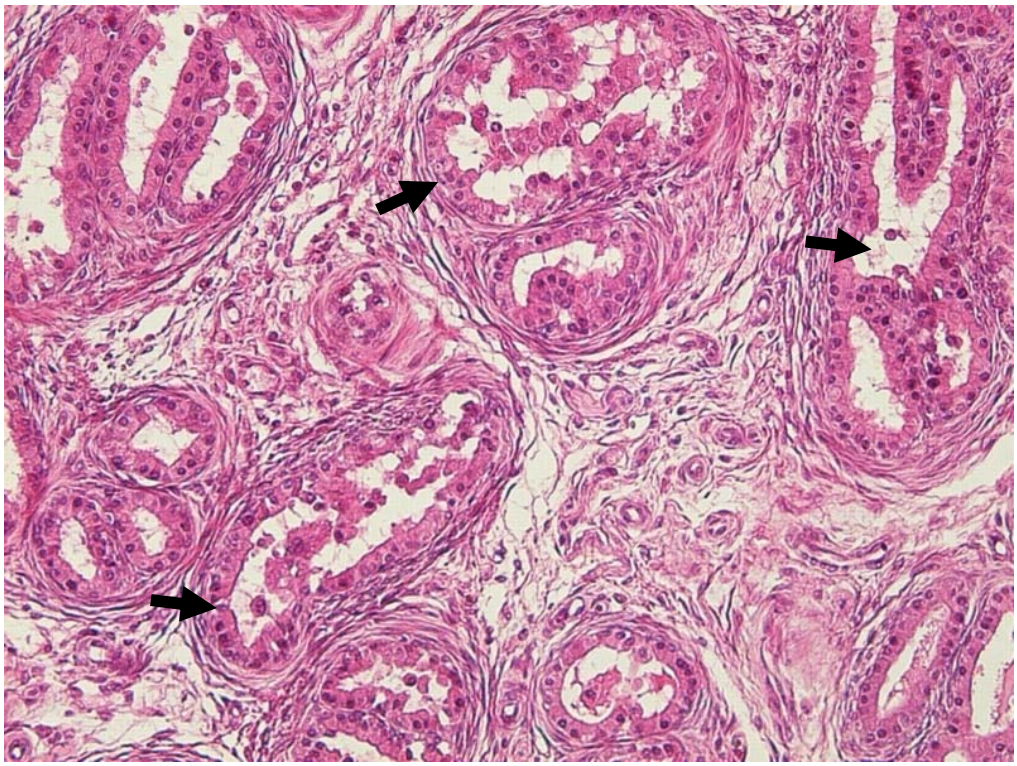
Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümleri Şekil 4.91'de verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan puberte öncesi erkek sıçanların prostat dokusunda histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki puberte öncesi sıçanların prostat dokusu incelendiğinde çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. 20, 100 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında prostat dokusunda normal tübüller arasında atrofik tübüller olduğu görülmüştür (Şekil 4.92, Şekil 3.94-96). Ayrıca 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi olduğu tespit edilmiş ve Şekil 4.93'de gösterilmiştir.



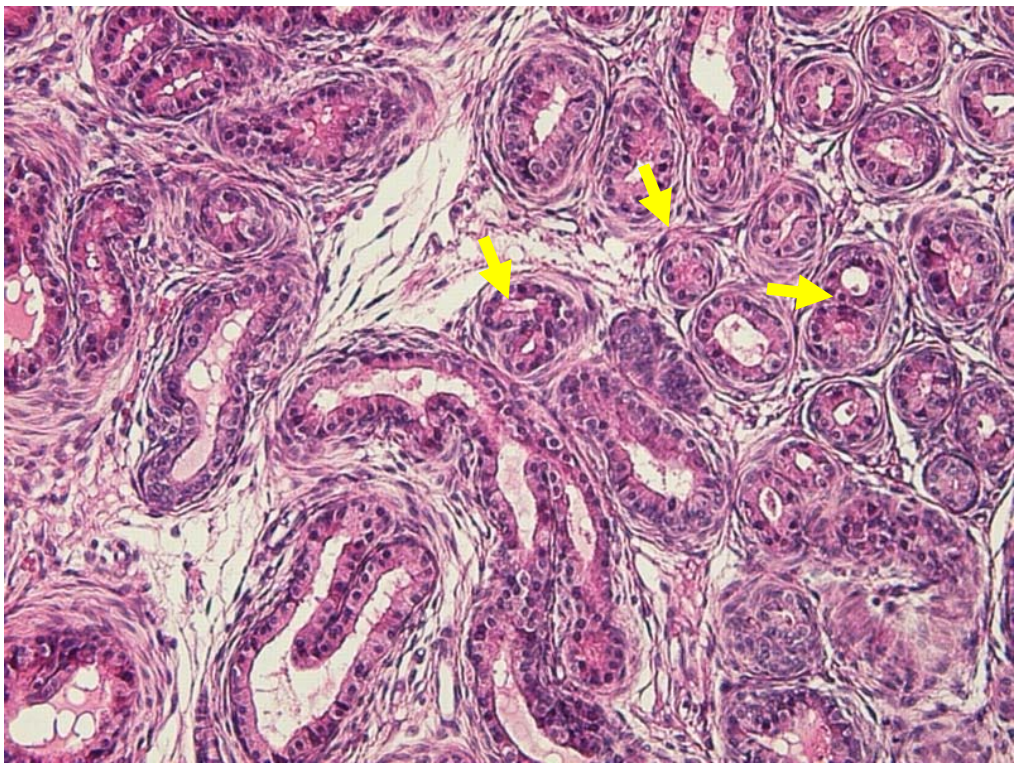
Şekil 4. 91. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



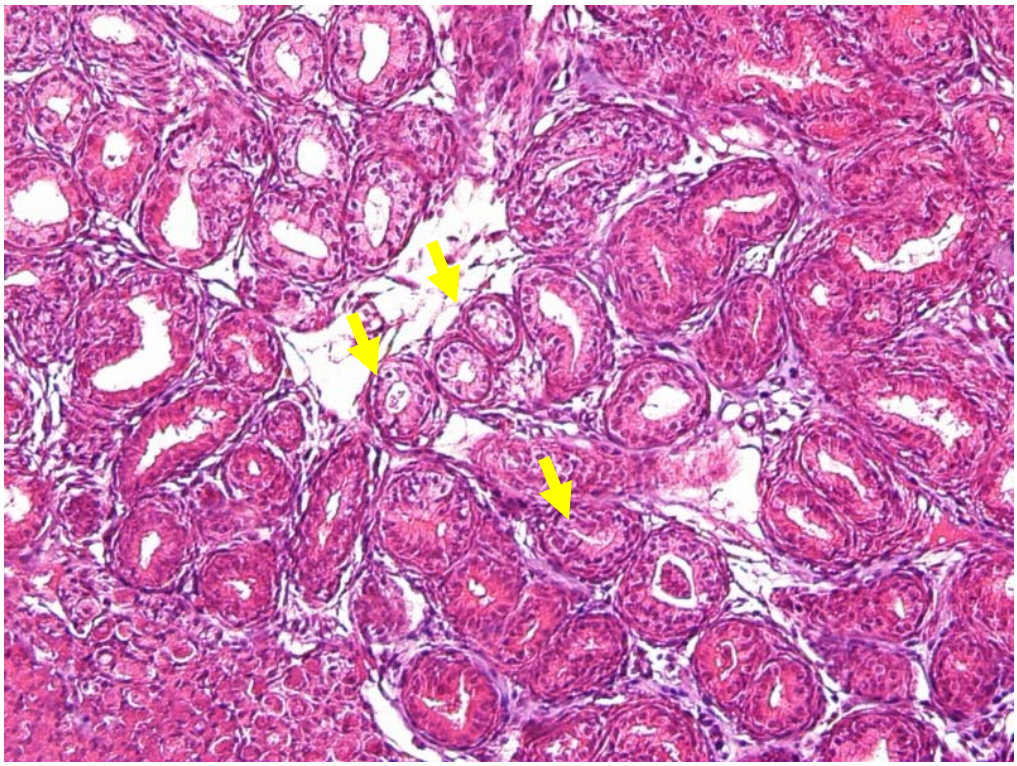
Şekil 4. 92. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda normal tübüller arasında atrofik tübüller (➡) (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 93. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 94. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



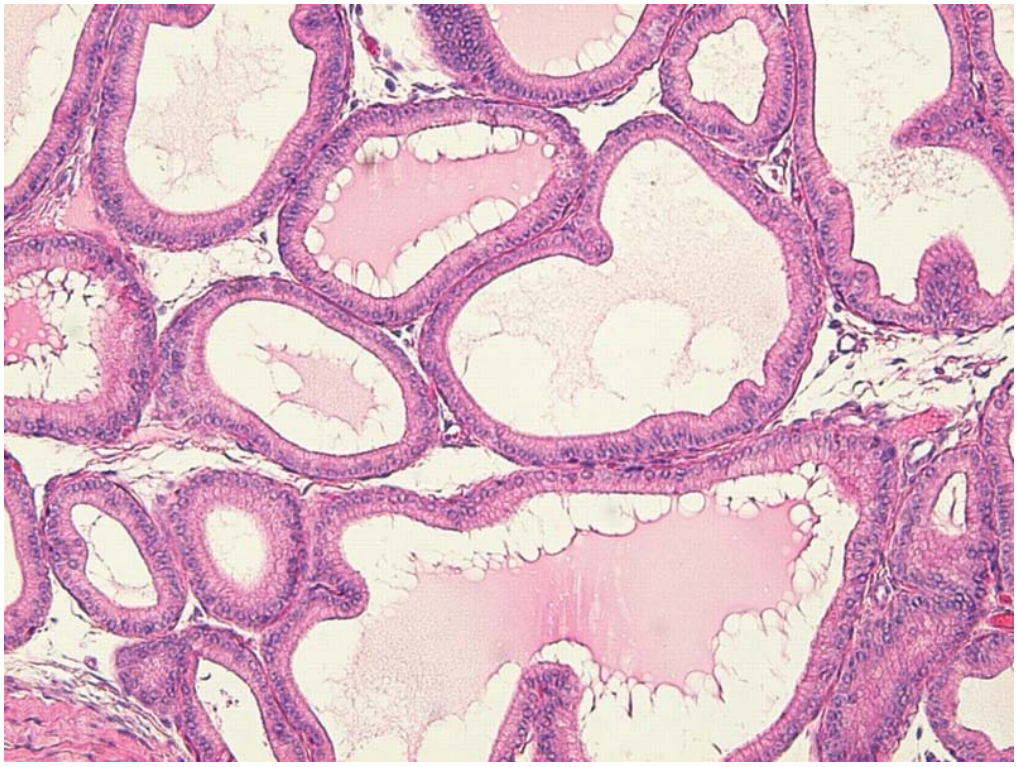
Şekil 4. 95. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



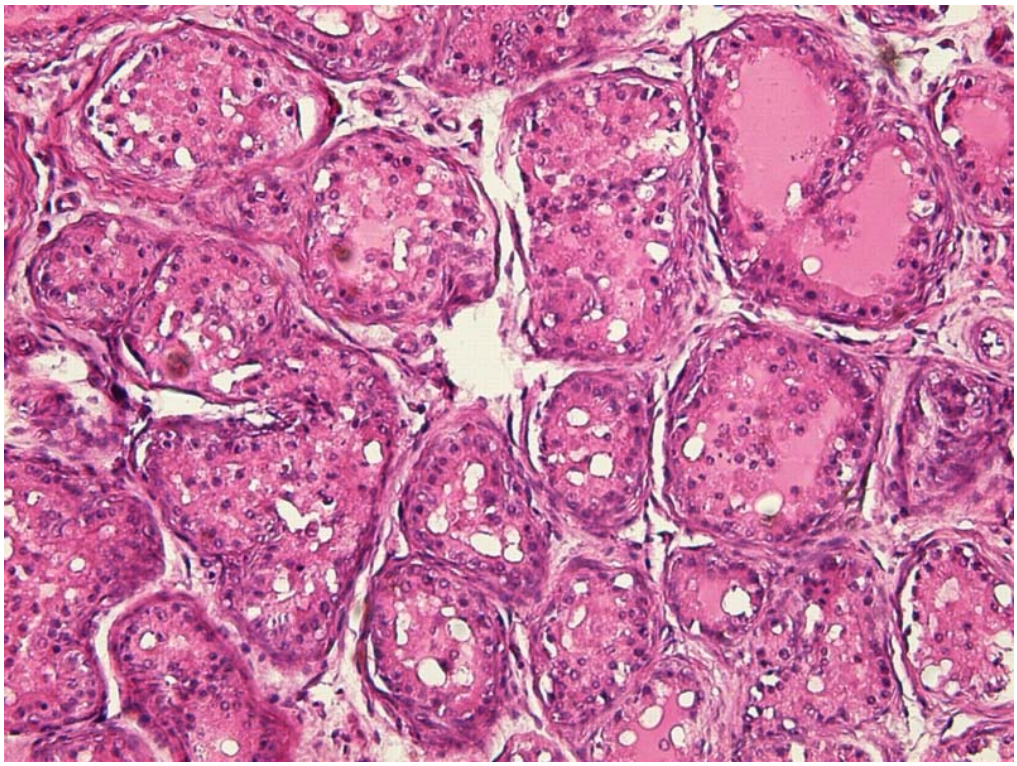
Şekil 4. 96. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)

4.5.9. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu

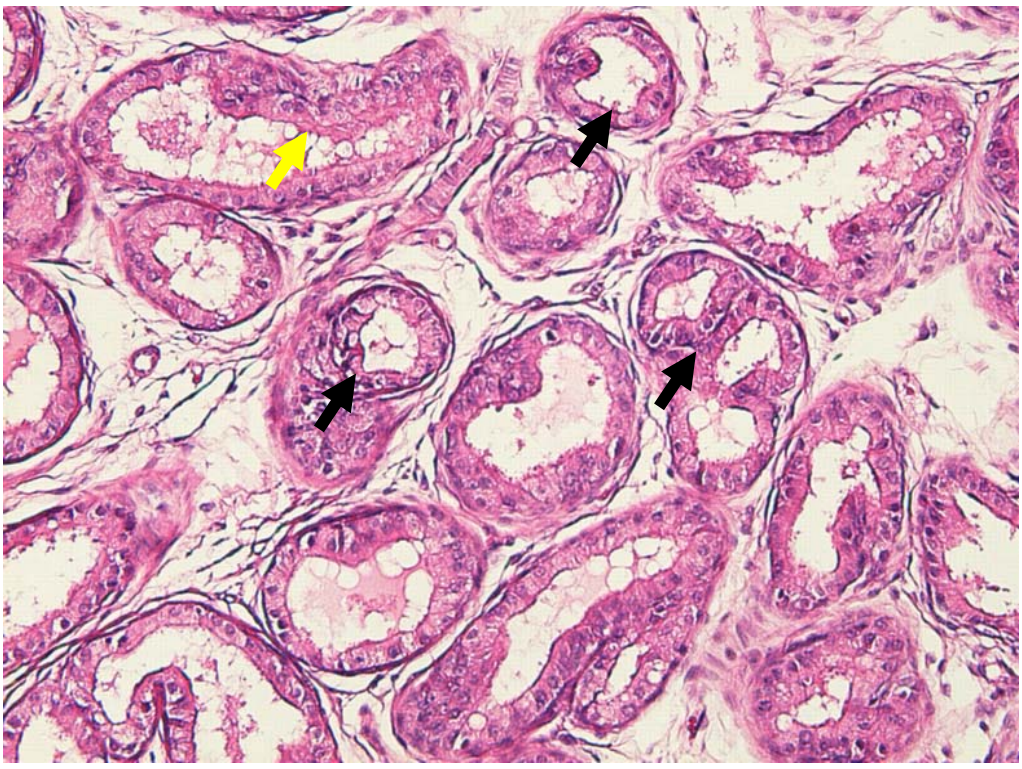
Yağ kontrol grubunda bulunan pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümleri Şekil 4.97'de verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan pubertal erkek sıçanların prostat dokusunda histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Buna karşılık uygulama gruplarındaki pubertal sıçanların prostat dokusu incelendiğinde çeşitli histopatolojik bulgular tespit edilmiş ve bu bulgular fotoğraflanarak sunulmuştur. 20 (Şekil 4.98), 100 (Şekil 4.99) ve 500 (Şekil 4.100) mg/kg/gün DHP ve 100 (Şekil 4.102) ve 500 (Şekil 4.103) mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında bulunan pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 100 (Şekil 4.99) ve 500 (Şekil 4.101) mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda normal tübüller yanında atrofik tübüller de olduğu tespit edilmiştir.



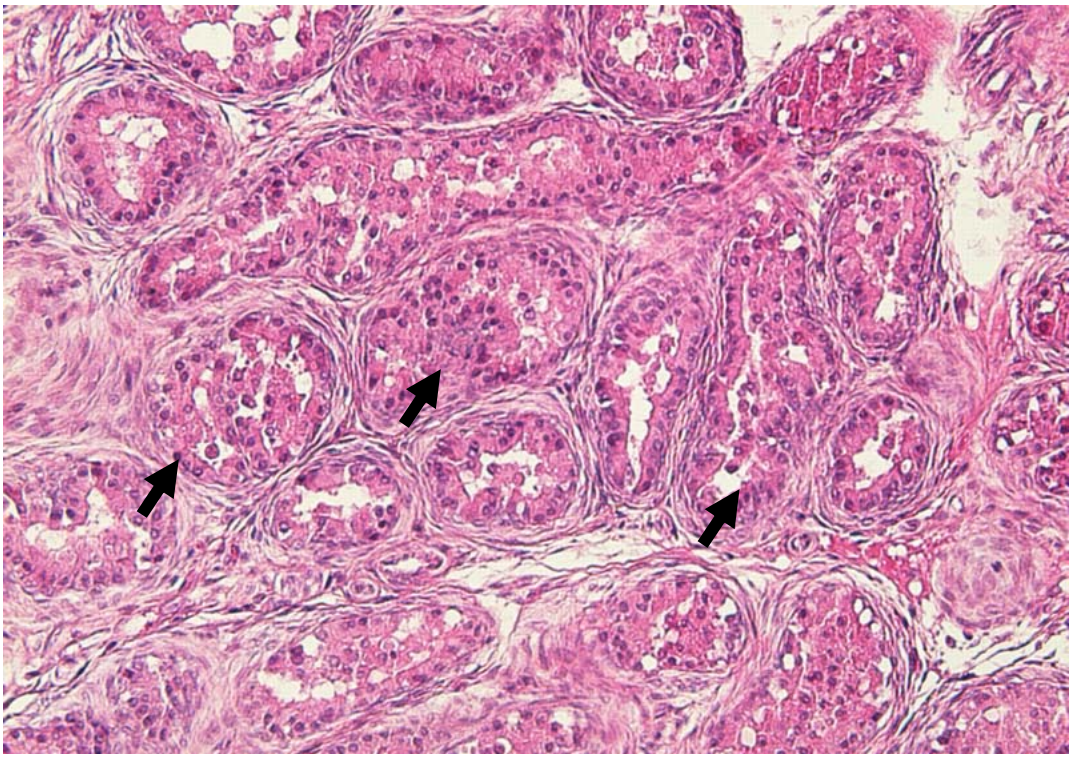
Şekil 4. 97. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



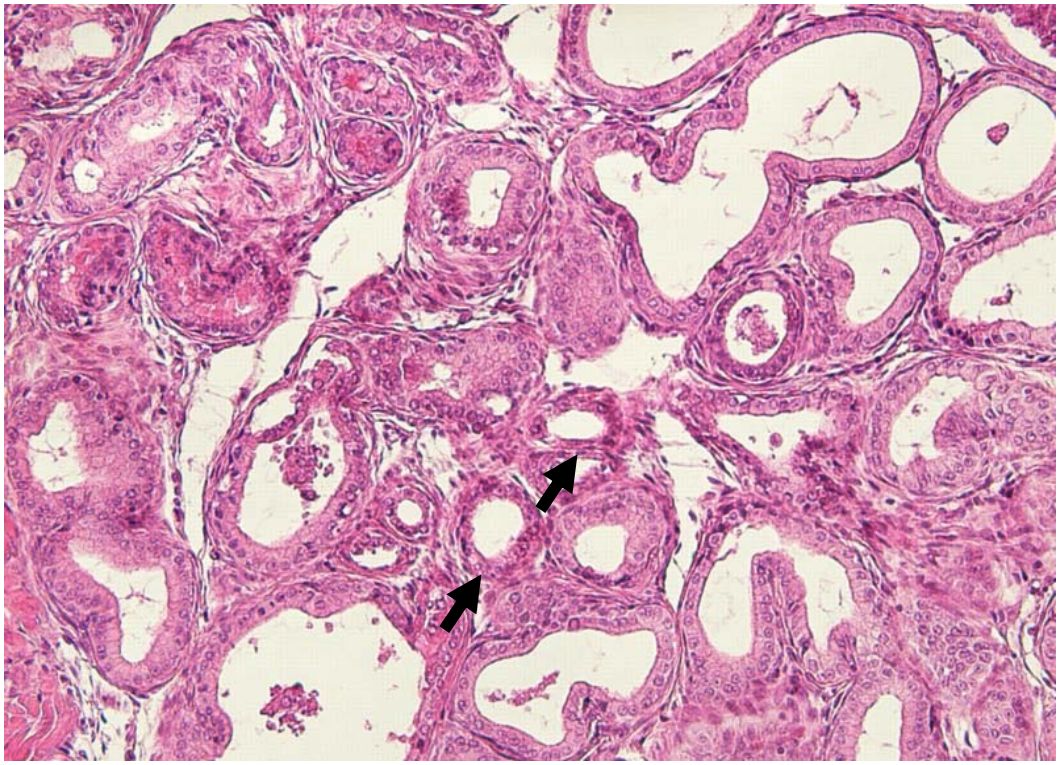
Şekil 4. 98. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100)



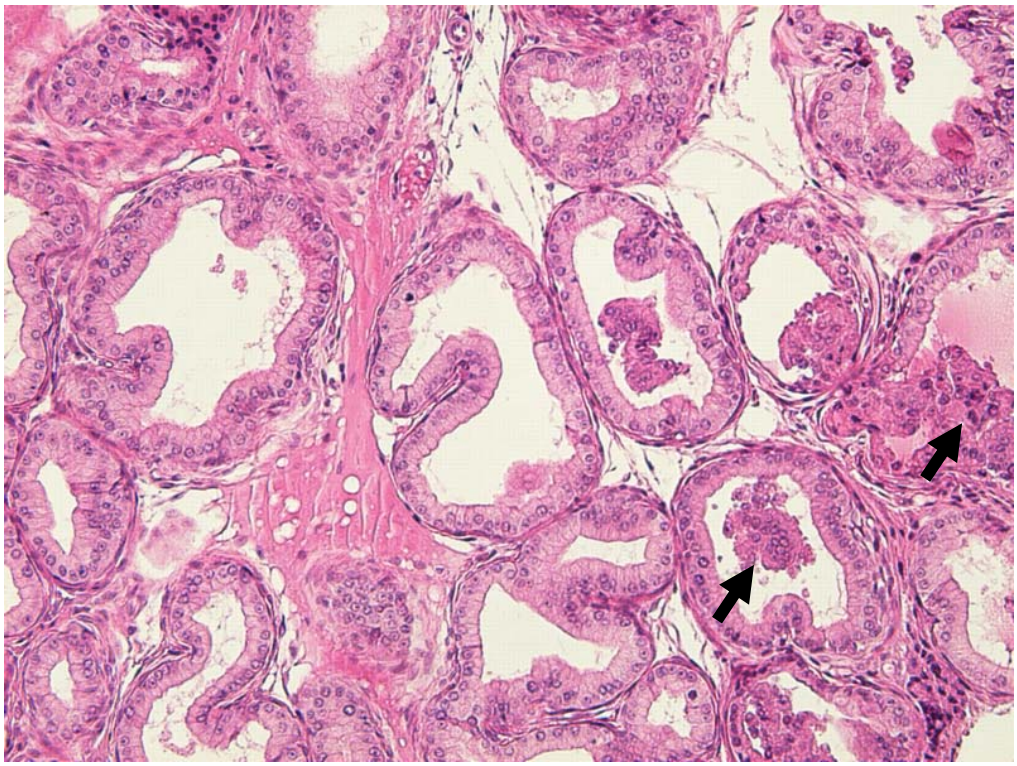
Şekil 4. 99. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡) ve intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)



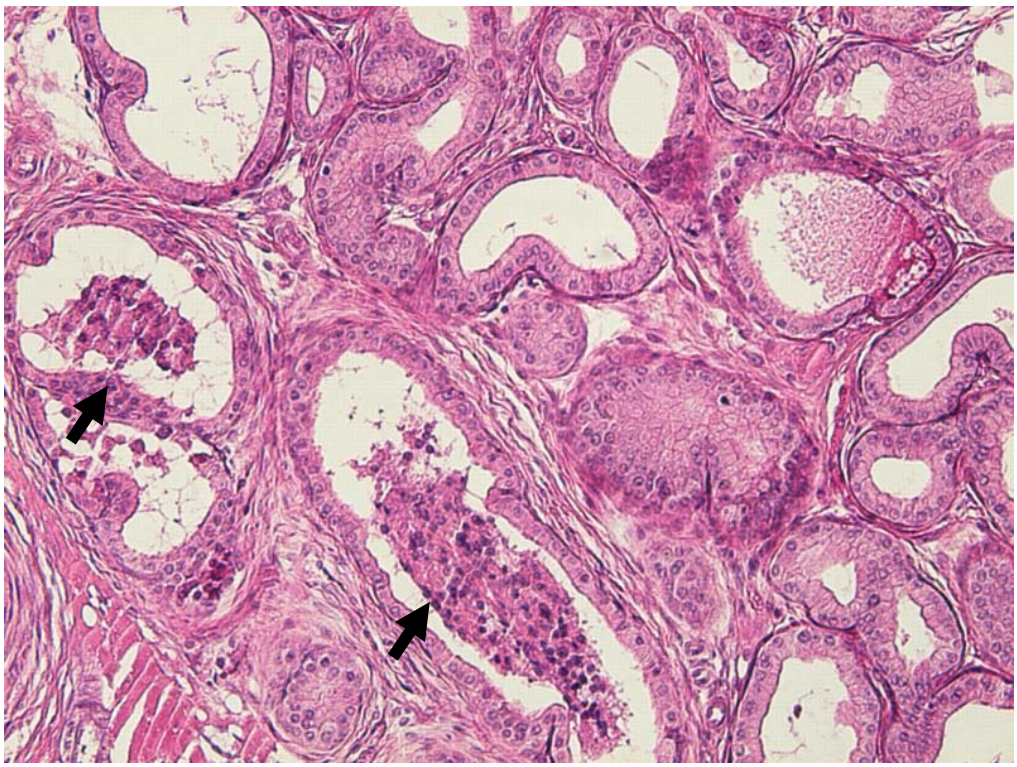
Şekil 4. 100. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda tüm tübüllerde prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 101. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda atrofik tübüller (➡). (H&E Boyama, x100)



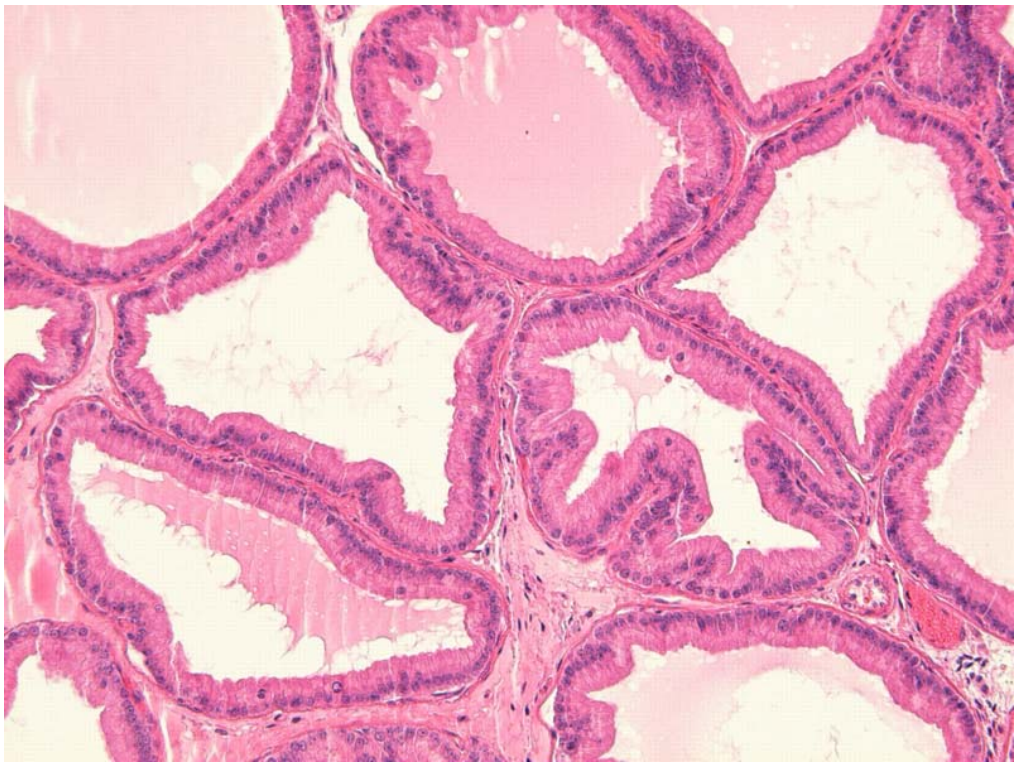
Şekil 4. 102. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)



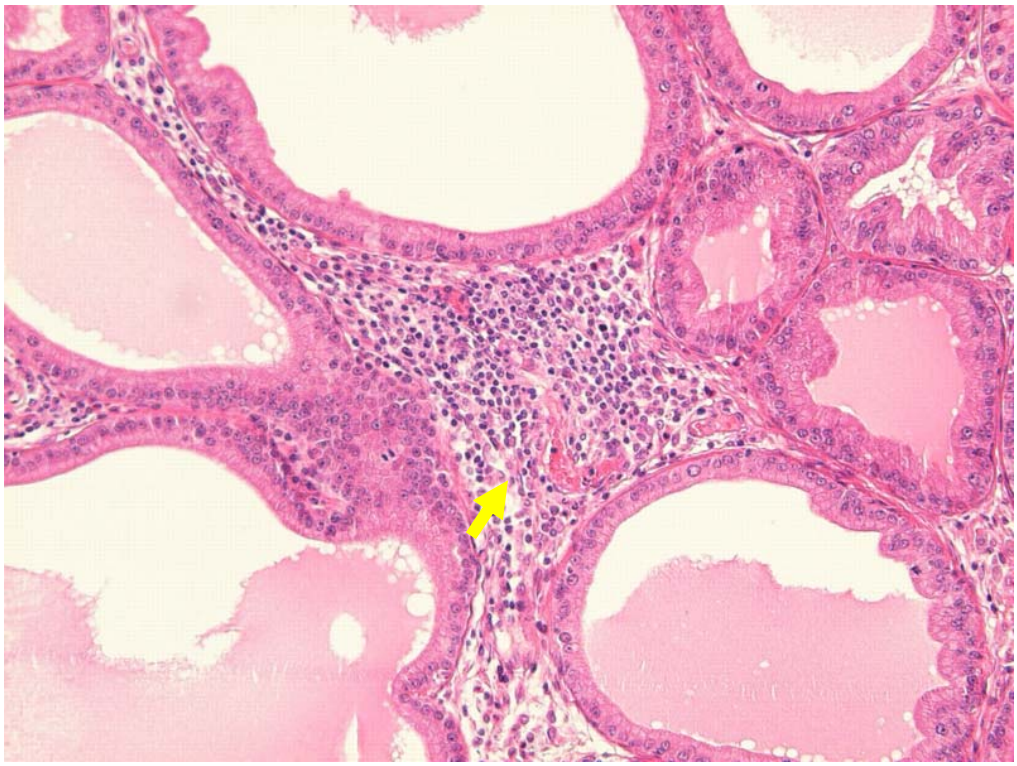
Şekil 4. 103. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡). (H&E Boyama, x100)

4.5.10. Ergin dönemdeki erkek sıçanlara ait prostat dokusu

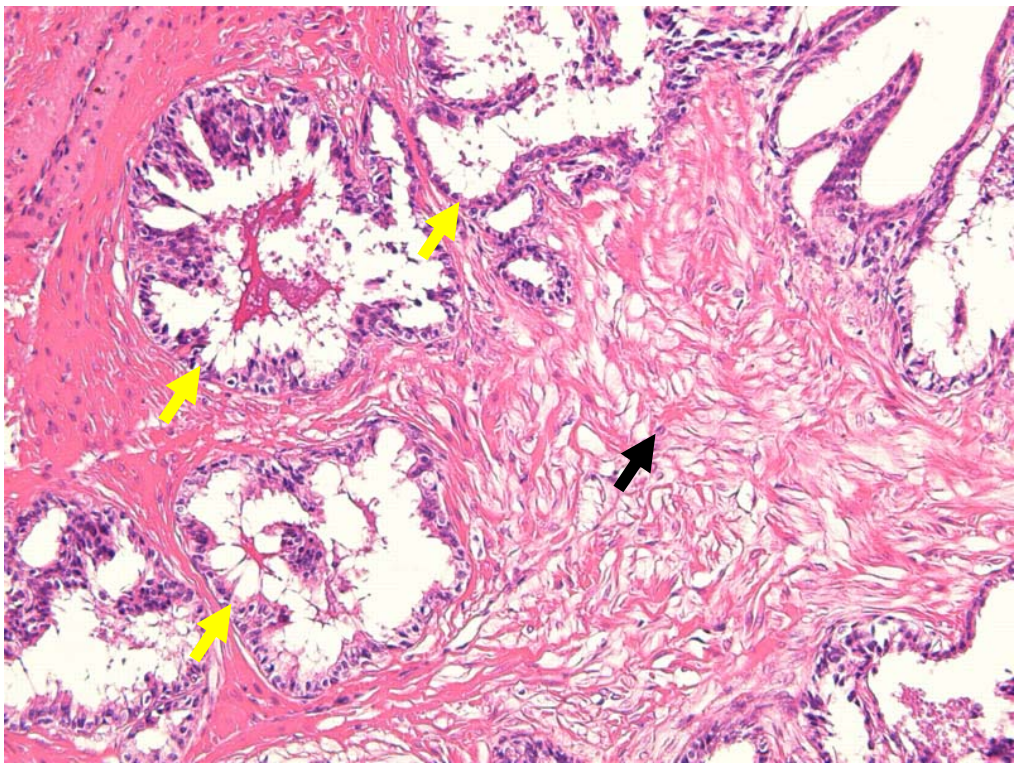
Yağ kontrol grubunda bulunan ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümleri Şekil 4.104'de verilmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan ergin erkek sıçanların prostat dokusunda histopatolojik hiçbir bulguya rastlanmamıştır. 20 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda tübüller arası bağ dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır (Şekil 4.105, Şekil 4.107 ve Şekil 4.111). Ayrıca tüm uygulama gruplarındaki ergin erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intra epitelyal neoplaziye rastlanmıştır (Şekil 4.106, Şekil 4.108-110, Şekil 4.112-113).



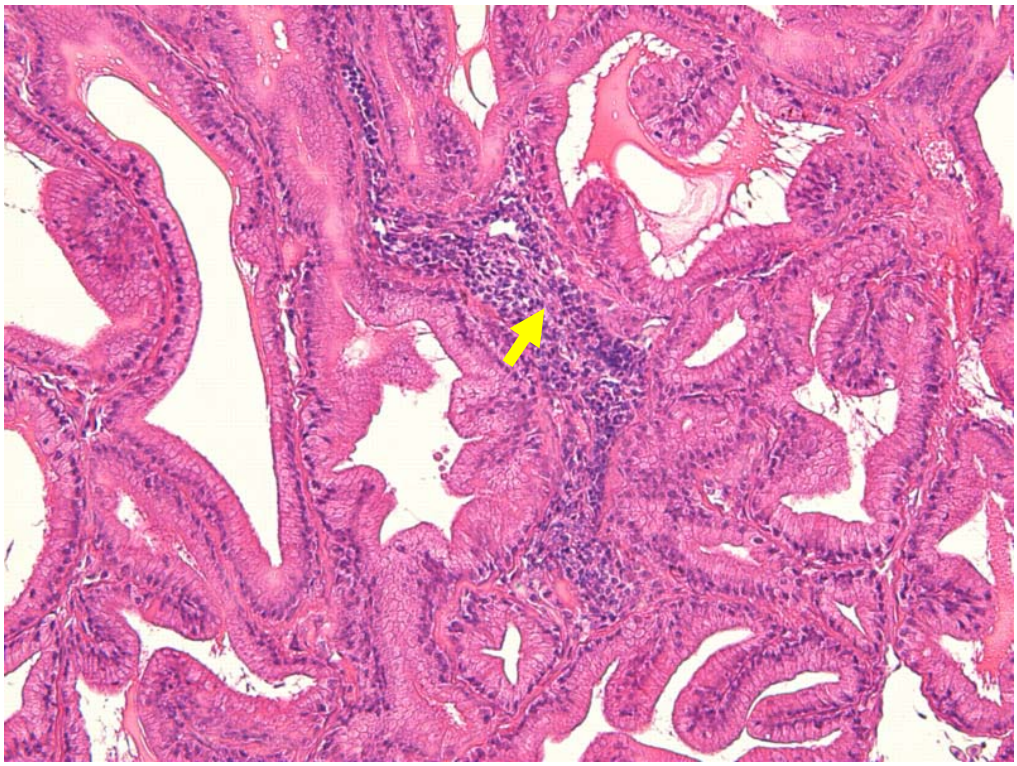
Şekil 4. 104. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunun normal görünümü. (H&E Boyama, x100)



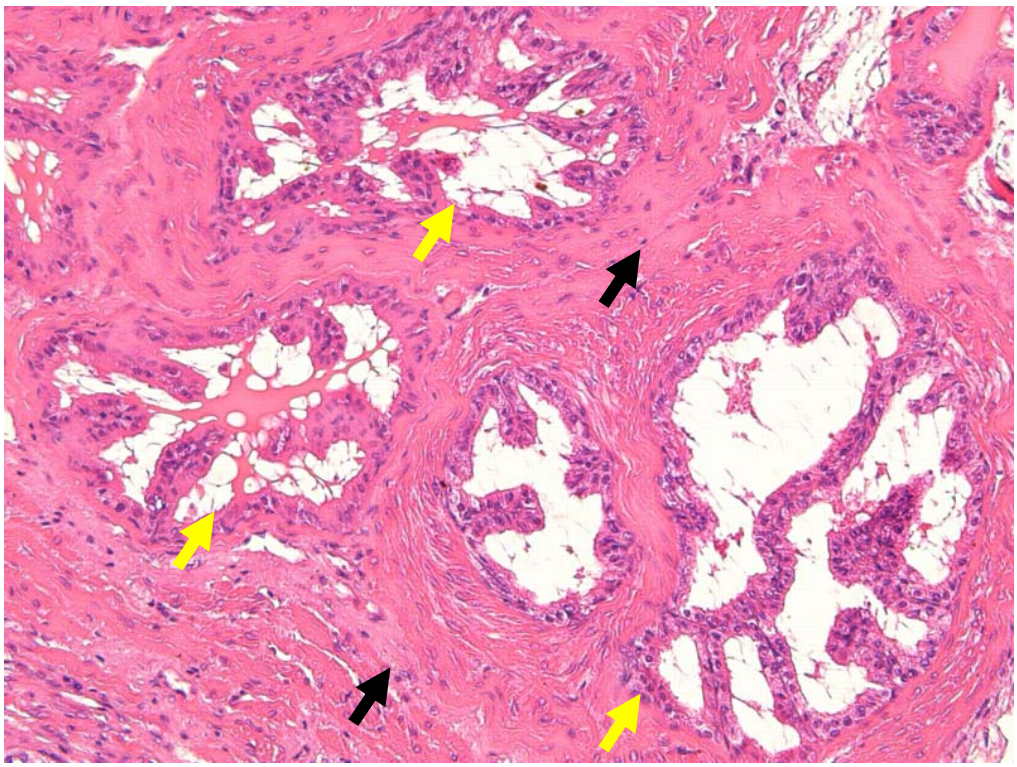
Şekil 4. 105. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100)



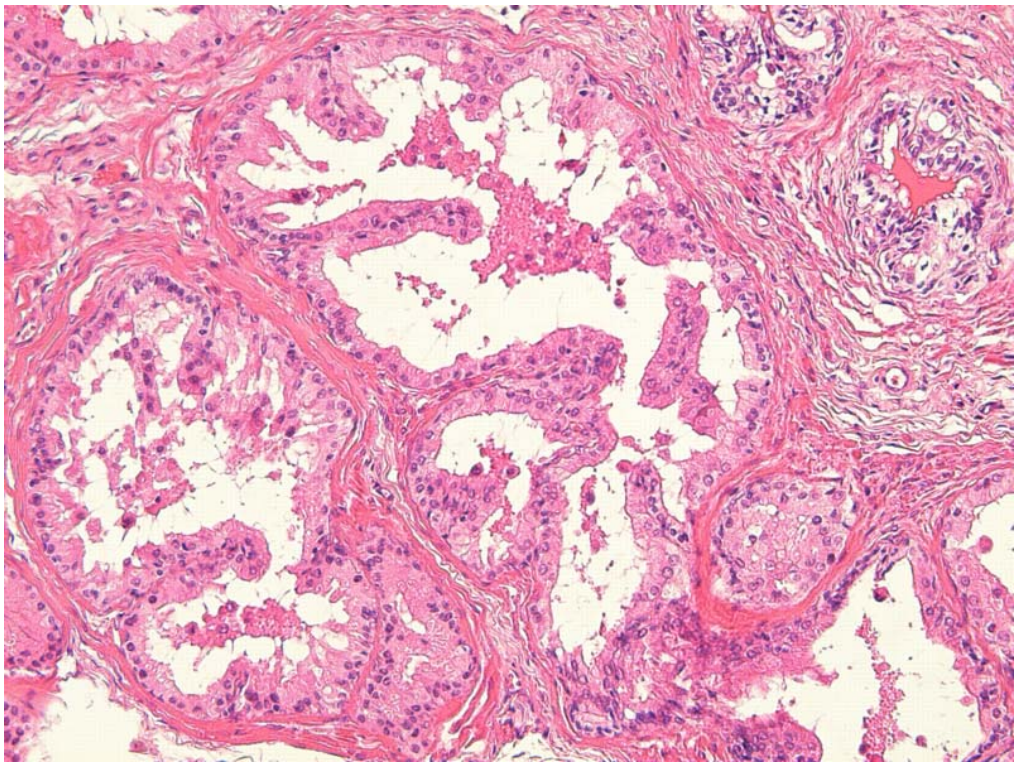
Şekil 4. 106. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡) ve bağ dokuda artış (➡). (H&E Boyama, x100)



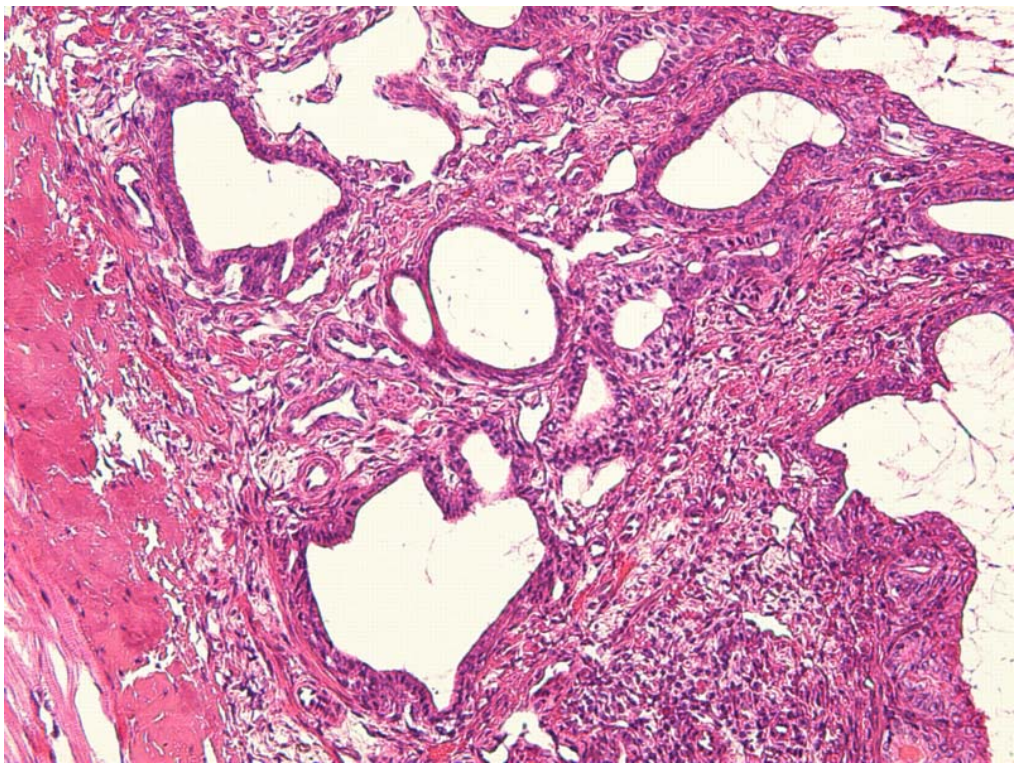
Şekil 4. 107. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100)



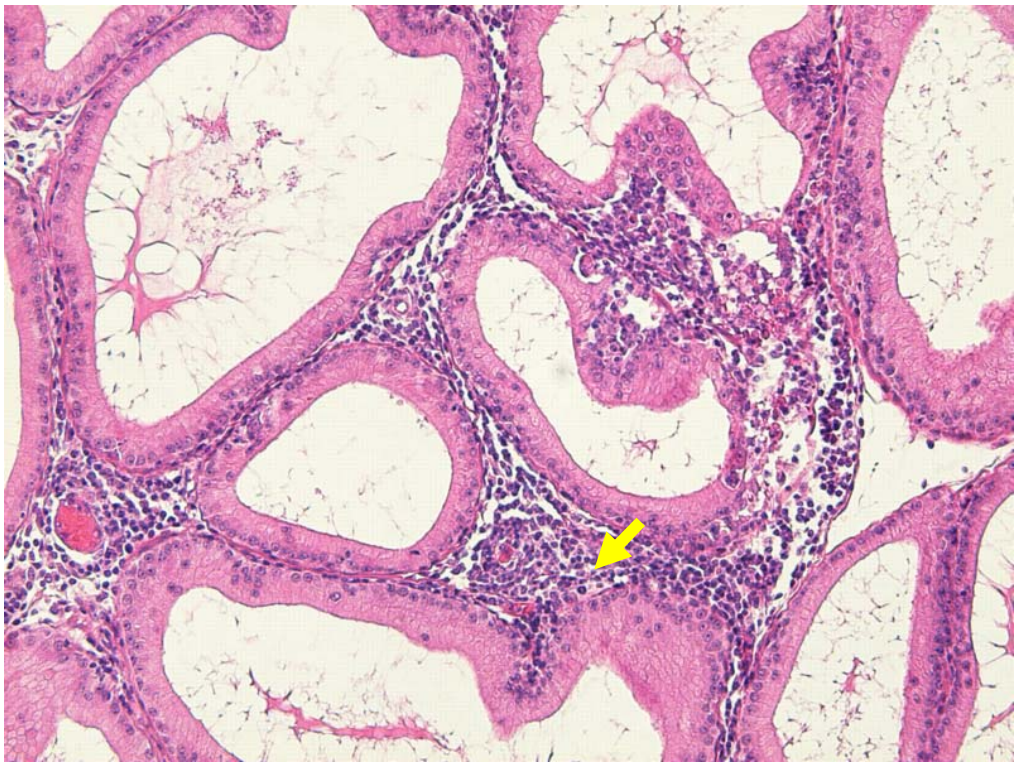
Şekil 4. 108. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi (➡) ve bağ dokuda artış (➡). (H&E Boyama, x100)



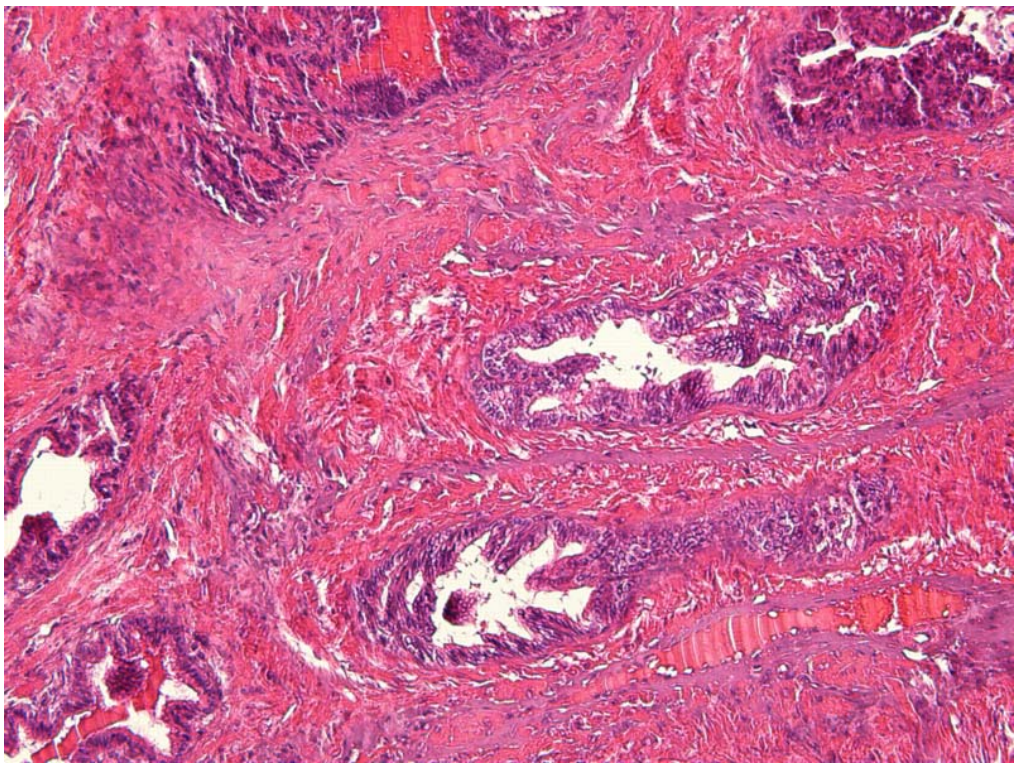
Şekil 4. 109. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100)



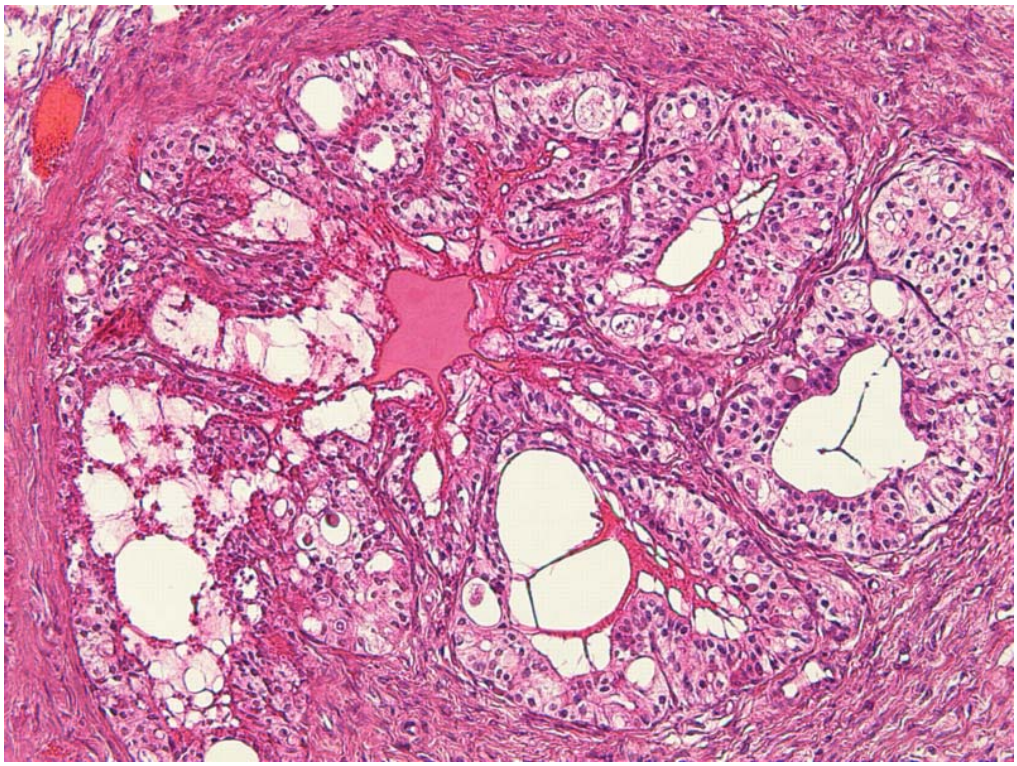
Şekil 4. 110. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda neoplazi. (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 111. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡). (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 112. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100)



Şekil 4. 113. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepitelyal neoplazi. (H&E Boyama, x100)

Yağ kontrol ve uygulama gruplarında puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemlerdeki hayvanlara ait dokularda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı Çizelge 4.6'da verilmiştir. Puberte öncesi testis dokusunda görülen atrofik tübül, atrofik ve bozulmuş tübül, atılan spermatojenik hücre ve piknotik hücre sıklığının tüm uygulama gruplarında yağ kontrole göre önemli derecede artmış olduğu tespit edilmiştir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokularında atrofik tübüllerin, atılan spermatojenik hücrelerin, apoptotik hücrelerin, atrofik ve bozulmuş tübüllerin, yapışık seminifer tübüllerin görülme sıklığı 100 ve 500 mg/kg/gün DHP ve DCHP uygulama gruplarında artmıştır. Ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokularına bakıldığında ise atrofik tübüllerin görülme sıklığı 100 ve 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrole göre artmıştır. Sertoli hücre vakuolizasyonu 500 mg/kg/gün DHP ve 20, 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarındaki ergin sıçanlarda yağ kontrole göre daha fazla gözlenmiştir. Epididimal tübül lümeninde tespit edilen spermatojenik hücrelerin görülme sıklığı ise uygulama gruplarındaki doğum sonrası dönemlerdeki erkek sıçanlarda yağ kontrole göre

artmış olduğu tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemde prostat dokusunda atrofik tübüllerin ve prostatik intraepitelyal neoplazi görülme sıklığının, yağ kontrole göre önemli derecede arttığı gözlenmiştir.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı.

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
TESTİS							
Puberte öncesi dönemdeki sıçanlara ait testis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	4 [a]	6 [a]	8 [a]	6 [a]	5 [a]	8 [a]
Atılan spermatojenik hücreler	0	4 [a]	2	5 [a]	3	6 [a]	9 [a]
Ödem	0	6 [a]	6 [a]	8 [a]	1	2	3
Sertoli hücre vakuolizasyonu	0	5 [a]	0	0	3	1	2
Piknotik hücreler	0	4 [a]	9 [a]	8 [a]	4 [a]	7 [a]	9 [a]
Apopitotik hücrelerde artış	0	2	6 [a]	0	3	7 [a]	10 [a]
Atrofik ve bozulmuş tübül	0	4 [a]	4 [a]	5 [a]	5 [a]	7 [a]	9 [a]
Lümensiz tübüller	0	2	3	6 [a]	0	2	4 [a]
Giant hücreleri	0	0	0	0	0	0	1
Yapışık seminifer tübüller	0	1	1	0	6 [a]	5 [a]	3
Leydig hücrelerinde artış	0	0	1	0	0	0	0

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
TESTİS							
Pubertal dönemdeki sıçanlara ait testis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**9**	**8**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	0	10 [a]	9 [a]	3	8 [a]	10 [a]
Atılan spermatojenik hücreler	0	0	9 [a]	9 [a]	3	10 [a]	10 [a]
Ödem	0	0	3	8 [a]	3	8 [a]	6 [a]
Sertoli hücre vakuolizasyonu	0	0	6 [a]	3	1	6 [a]	0
Piknotik hücreler	0	1	1	1	0	7 [a]	0
Apopitotik hücrelerde artış	0	6 [a]	8 [a]	9 [a]	2	6 [a]	10 [a]
Atrofik ve bozulmuş tübül	0	0	8 [a]	6 [a]	3	6 [a]	10 [a]
Lümensiz tübüller	0	10 [a]	2	2	3	3	0
Giant hücreleri	0	0	9 [a]	2	1	3	2
Yapışık seminifer tübüller	0	0	10 [a]	6 [a]	0	7 [a]	4 [a]
Leydig hücrelerinde artış	0	7 [a]	0	0	2	0	0

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Ergin dönemdeki sıçanlara ait testis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	0	4 [a]	4 [a]	2	0	2
Atılan spermatojenik hücreler	0	2	2	4 [a]	2	0	0
Ödem	0	6 [a]	8 [a]	3	10 [a]	4 [a]	0
Sertoli hücre vakuolizasyonu	0	2	2	6 [a]	6 [a]	4 [a]	8 [a]
Piknotik hücreler	0	0	0	0	2	0	5 [a]
Atrofik ve bozulmuş tübül	0	2	5 [a]	2	0	0	0
Lümensiz tübüller	0	0	0	2	8 [a]	10 [a]	0
Giant hücreleri	0	0	2	0	0	0	0
Yapışık seminifer tübüller	0	0	0	0	0	0	0
Leydig hücrelerinde artış	0	0	0	0	10 [a]	10 [a]	10 [a]

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
EPİDİDİMİS							
Puberte öncesi dönemdeki sıçanlara ait epididimis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler	0	4 [a]	5 [a]	8 [a]	4 [a]	6 [a]	8 [a]
Atrofik tübüller	0	3	3	2	3	6 [a]	9 [a]
Lümeni daralmış tübüller	0	3	1	2	0	3	4 [a]
Pubertal Dönemdeki Sıçanlara Ait Epididimis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**9**	**8**	**10**	**10**
Tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler	0	5 [a]	10 [a]	9 [a]	8 [a]	10 [a]	10 [a]
Atrofik tübüller	0	0	5 [a]	6 [a]	8 [a]	7 [a]	7 [a]
Lümeni daralmış tübüller	0	0	0	0	1	4 [a]	5 [a]

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı (devam ediyor).

	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Ergin dönemdeki sıçanlara ait epididimis dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Tübül lümeninde atılmış spermatojenik hücreler	0	5 [a]	9 [a]	7 [a]	2	5 [a]	8 [a]
Atrofik tübüller	0	3	0	3	6 [a]	4 [a]	6 [a]
Lümeni daralmış tübüller	0	3	0	4 [a]	4 [a]	0	4 [a]
Lümende kontrole göre sperm azlığı	0	3	9 [a]	3	4 [a]	7 [a]	10 [a]
Sperm içermeyen tübül	0	3	2	2	2	5 [a]	4 [a]
PROSTAT							
Puberte öncesi dönemdeki sıçanlara ait prostat dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	8 [a]	7 [a]	7 [a]	7 [a]	9 [a]	5 [a]
Prostatik intraepitelyal neoplazi	0	8 [a]	7 [a]	7 [a]	7 [a]	9 [a]	5 [a]
Mononükleer hücre infiltrasyon	0	2	0	0	0	2	0

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

Çizelge 4. 6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarında bulunan erkek sıçanlarda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığı (devam ediyor).

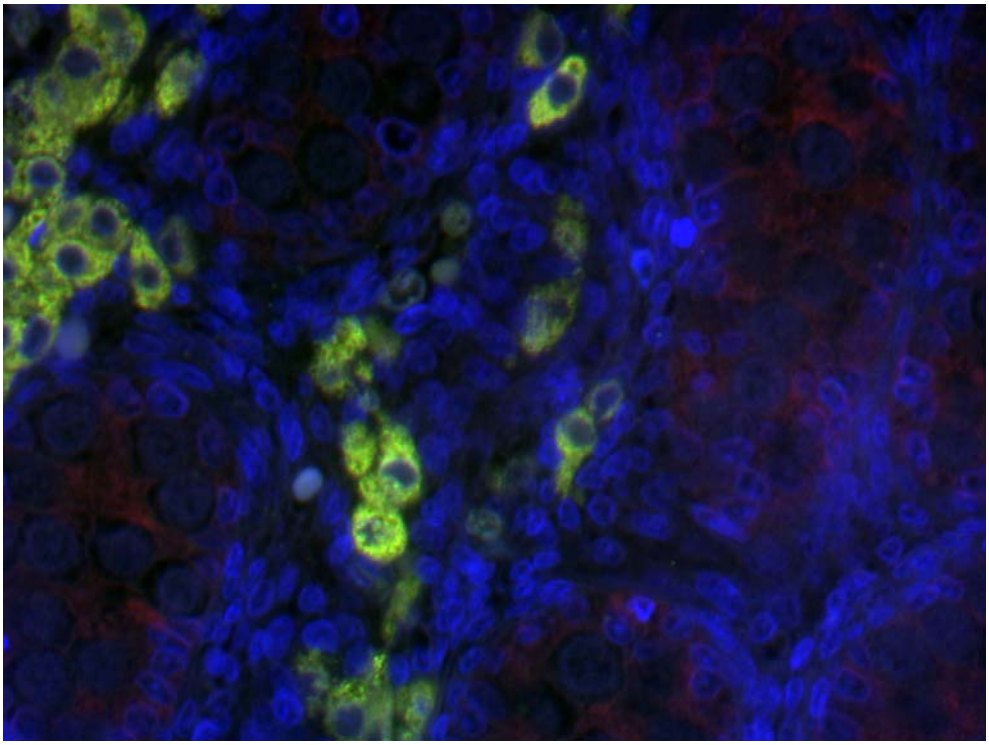
	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
Pubertal dönemdeki sıçanlara ait prostat dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**9**	**8**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	8 [a]	8 [a]	9 [a]	5 [a]	10 [a]	10 [a]
Prostatik intraepitelyal neoplazi	0	8 [a]	4 [a]	9 [a]	3	10 [a]	10 [a]
Ergin Dönemdeki Sıçanlara Ait Prostat dokusu (n)	**10**	**10**	**10**	**8**	**10**	**10**	**10**
Atrofik tübüller	0	2	0	7 [a]	5 [a]	8 [a]	10 [a]
Prostatik intraepitelyal neoplazi	0	4 [a]	4 [a]	7 [a]	5 [a]	8 [a]	8 [a]
Mononükleer hücre infiltrasyon	0	2	2	3	5 [a]	5 [a]	2

(n) İncelenen preparat sayısı ; [a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; Gruplara Fisher's Exact testi uygulanmıştır.

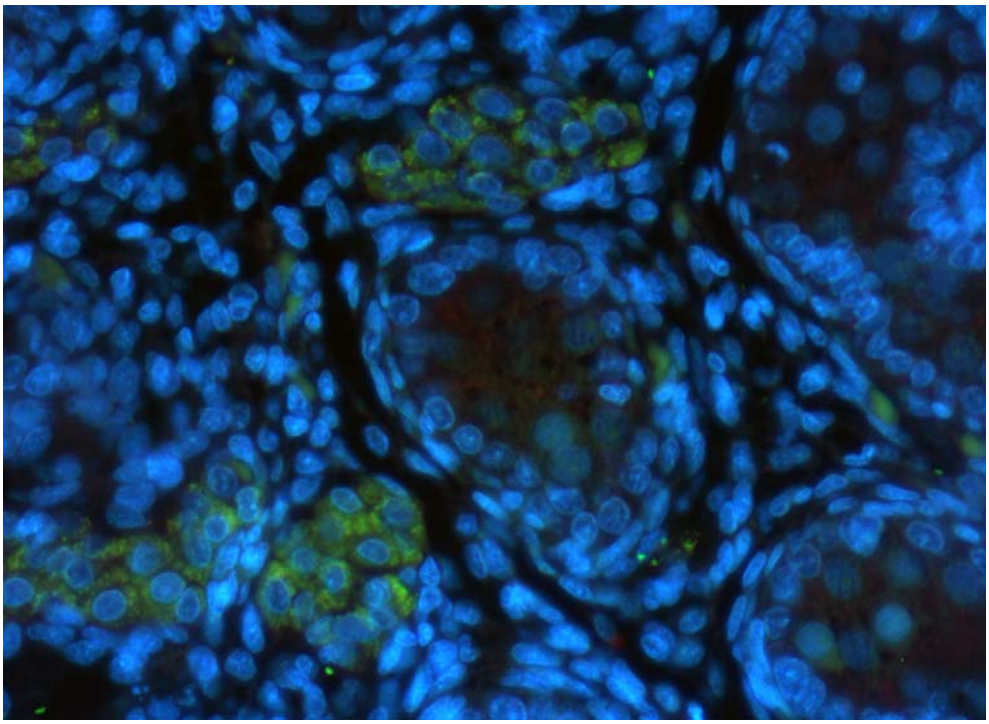
4.6. Testis Dokularında 3β-HSD ve MIS/AMH İfadeleri

4.6.1. Prenatal testis dokularında 3β-HSD ve MIS/AMH ifadeleri

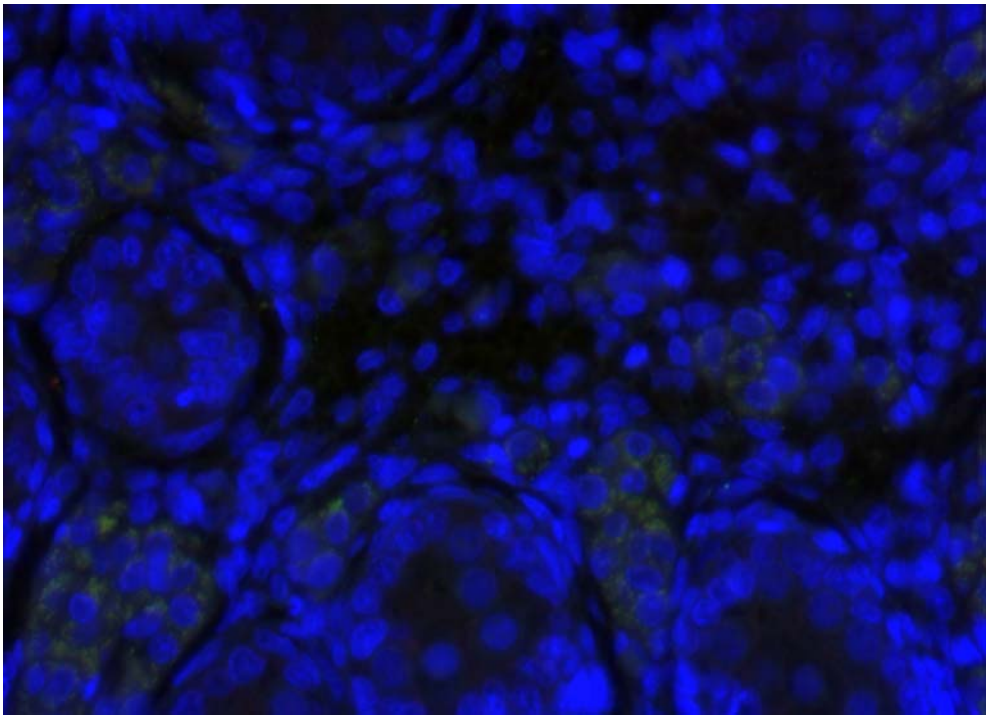
Prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis kesitleri 3β-HSD ve MIS/AMH ifadelerini görmek amacı ile immunofloresan boyama tekniği ile işaretlenmiştir. Her iki molekül aynı kesit üzerinde farklı renkteki floresan boyalarla işaretlenmiştir. 3β-HSD enzimi şekillerde sarı renkle ayırt edilirken MIS/AMH kırmızı renkle işaretlenmiştir. Fotoğraflarda mavi renkle çekirdekler DAB boyası ile ayrıca işaretlenmiştir. Yağ kontrol grubunda bulunan prenatal erkek sıçanların testislerinde 3β-HSD ve MIS/AMH ifadelerinin görünümü Şekil 4.114'de verilmiştir. Buna göre yağ kontrol grubundaki testislerde Leydig hücrelerinde 3β-HSD ifadesinin ve Sertoli hücrelerinde ise MIS/AMH ifadesinin normal olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık uygulama gruplarında (Şekil 4.115-120) bu moleküllerin ifadesinde doza bağlı olarak azalma olduğu tespit edilmiştir.



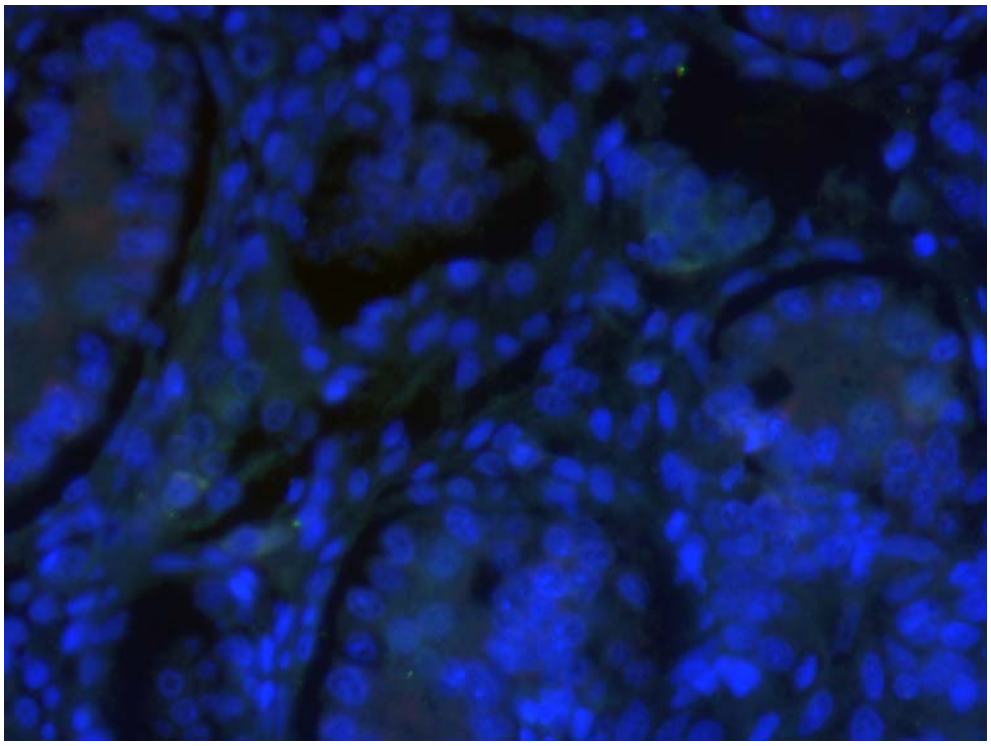
Şekil 4. 114. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



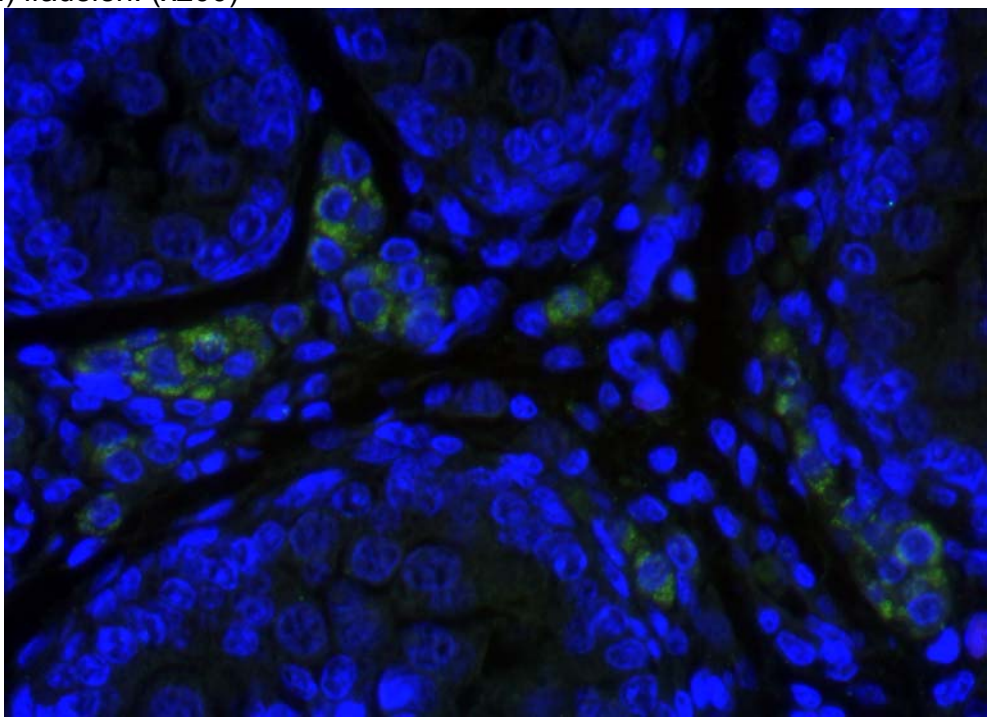
Şekil 4. 115. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



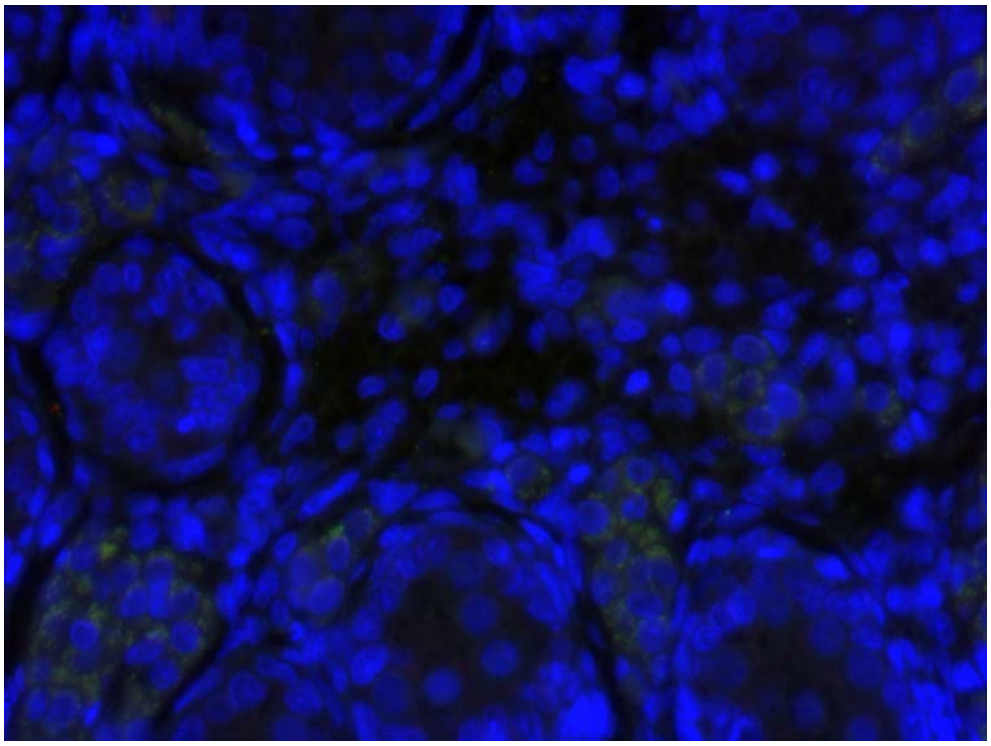
Şekil 4. 116. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



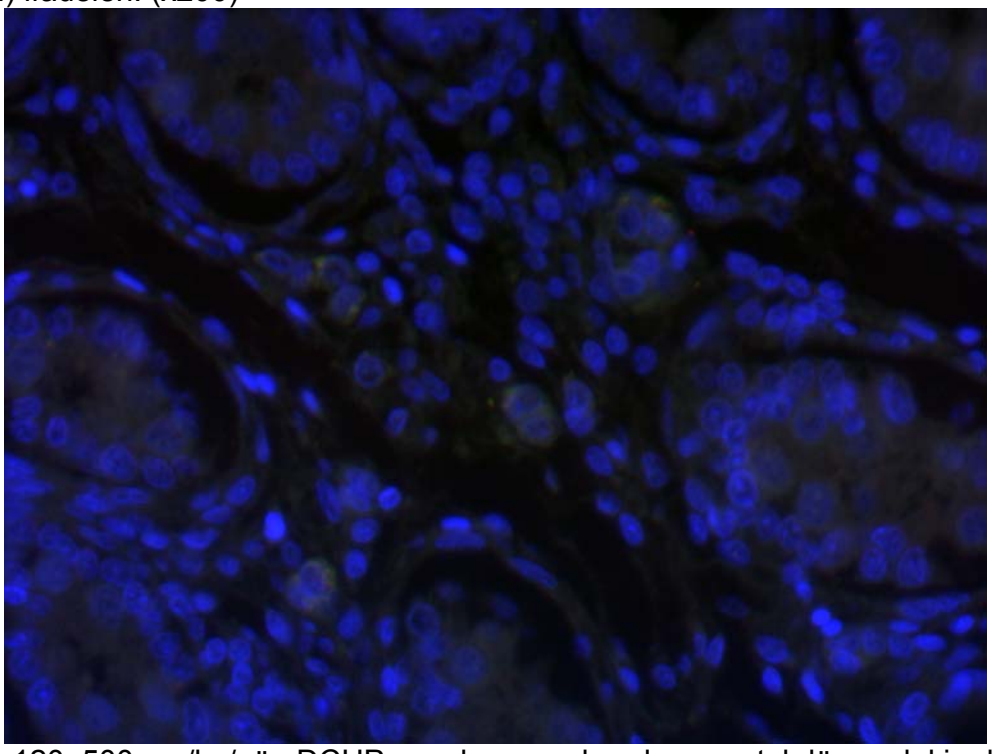
Şekil 4. 117. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



Şekil 4. 118. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



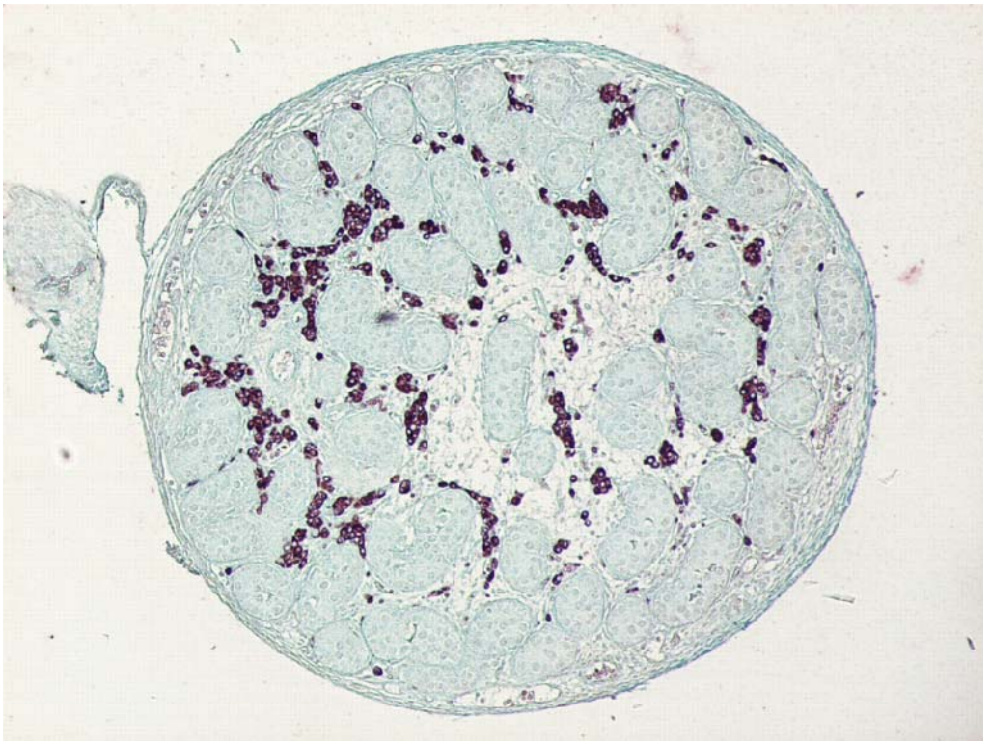
Şekil 4. 119. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)



Şekil 4. 120. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda yağ kontrole göre azalmış 3β-HSD (sarı) ve AMH (kırmızı) ifadeleri. (x200)

4.6.2. Prenatal dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi

Prenatal dönemde DHP ve DCHP uygulamasının testis dokusunda sentezlenen 3β-HSD üzerine etkilerini gözlemek amacı ile bu tübüller immunohistokimyasal olarak işaretlenmiş ve mikroskopta gözlenerek fotoğraflanmıştır. İşaretlenmiş kısımlar doku üzerinde kahverengi görülmektedir. Testis dokularında 3β-HSD ifadesini Leydig hücreleri gerçekleştirmektedir. Buna göre yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesinin normal düzeyde olduğu ve Leydig hücrelerinin normal dağılım gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 4.121). Buna karşılık uygulama gruplarındaki prenatal dönem erkek sıçanların testis dokularında Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir (Şekil 4.122-127).



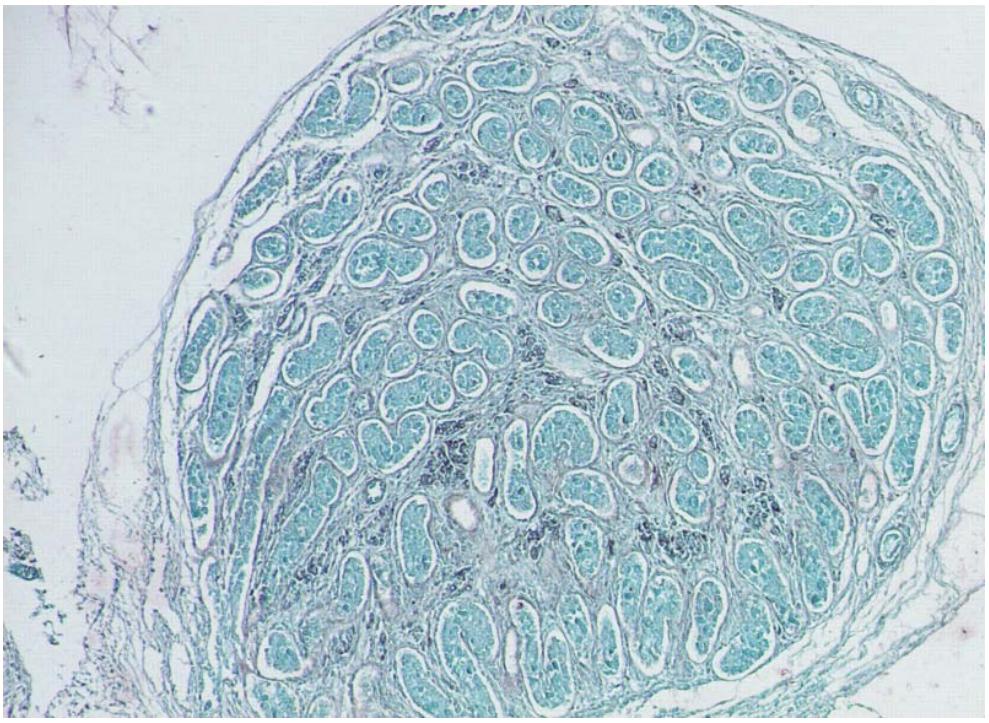
Şekil 4. 121. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinin normal dağılımı ve normal 3β-HSD ifadesi görülmektedir. (x50)



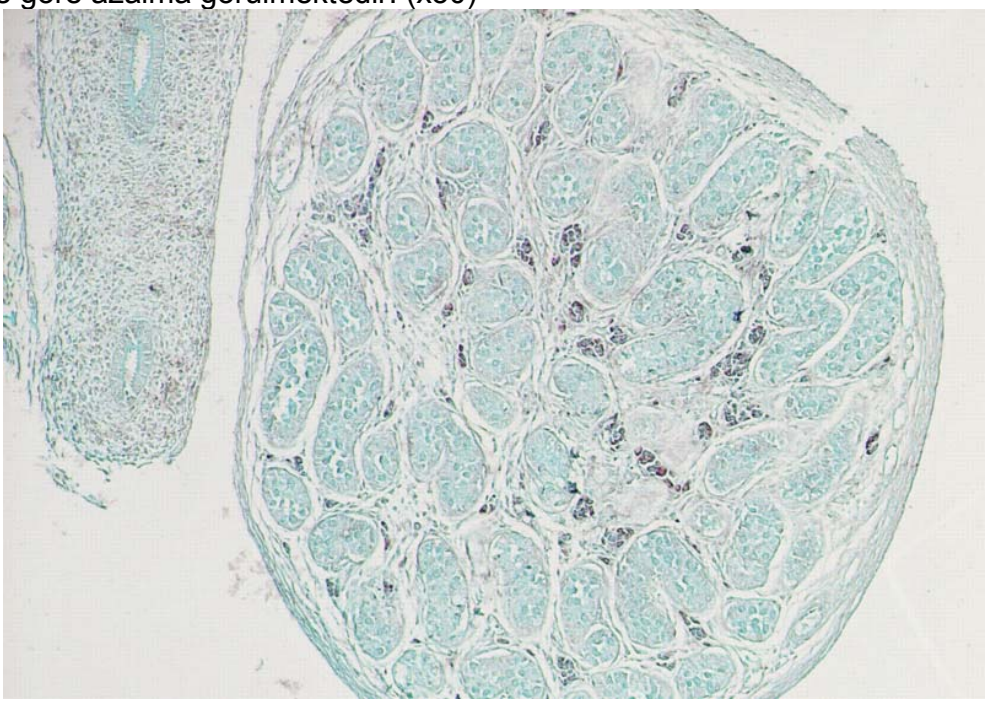
Şekil 4. 122. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)



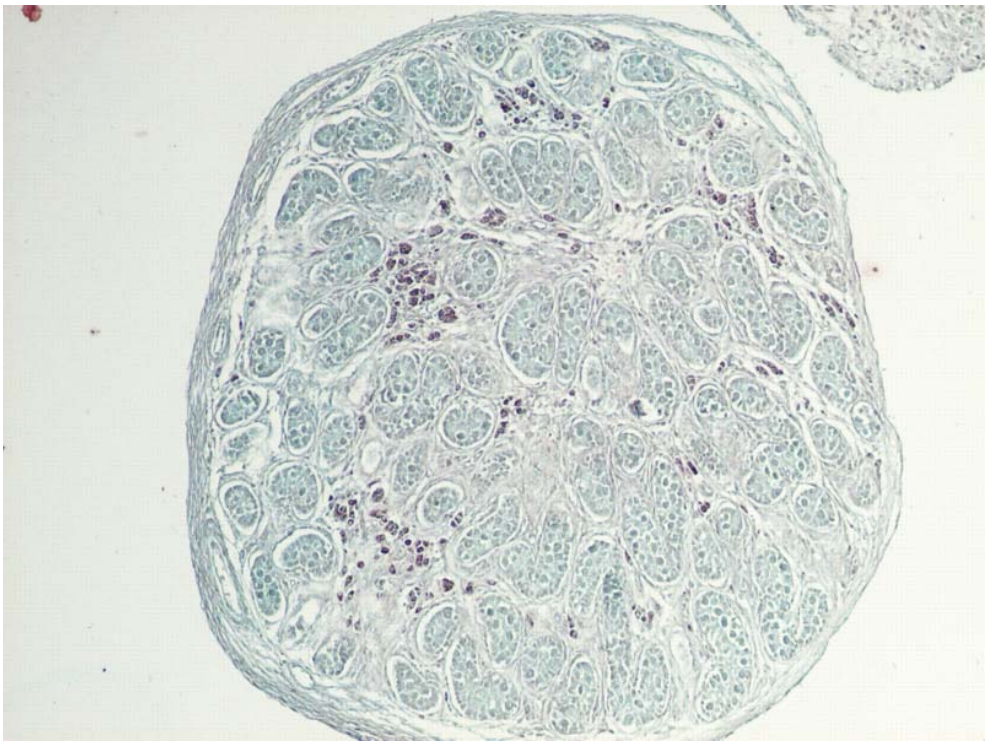
Şekil 4. 123. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)



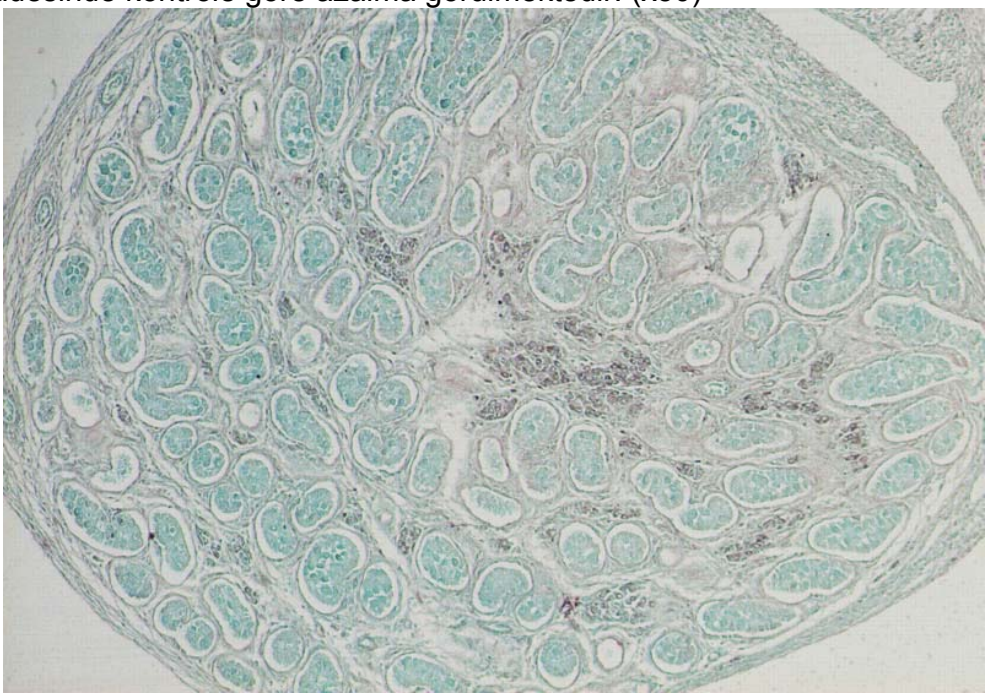
Şekil 4. 124. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)



Şekil 4. 125. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)



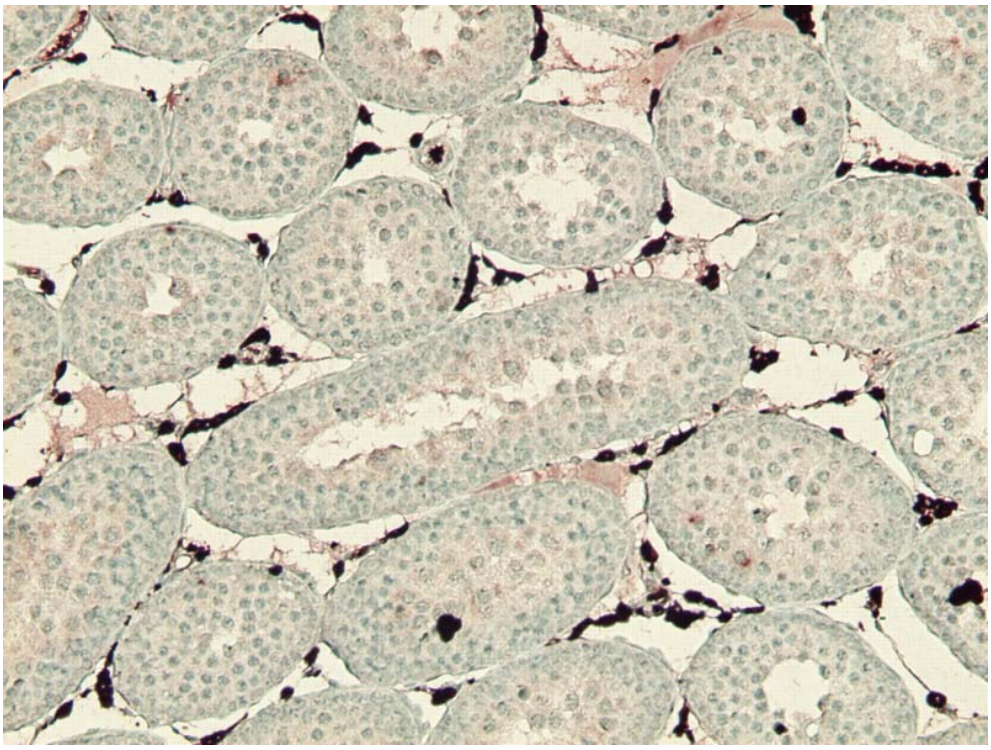
Şekil 4. 126. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)



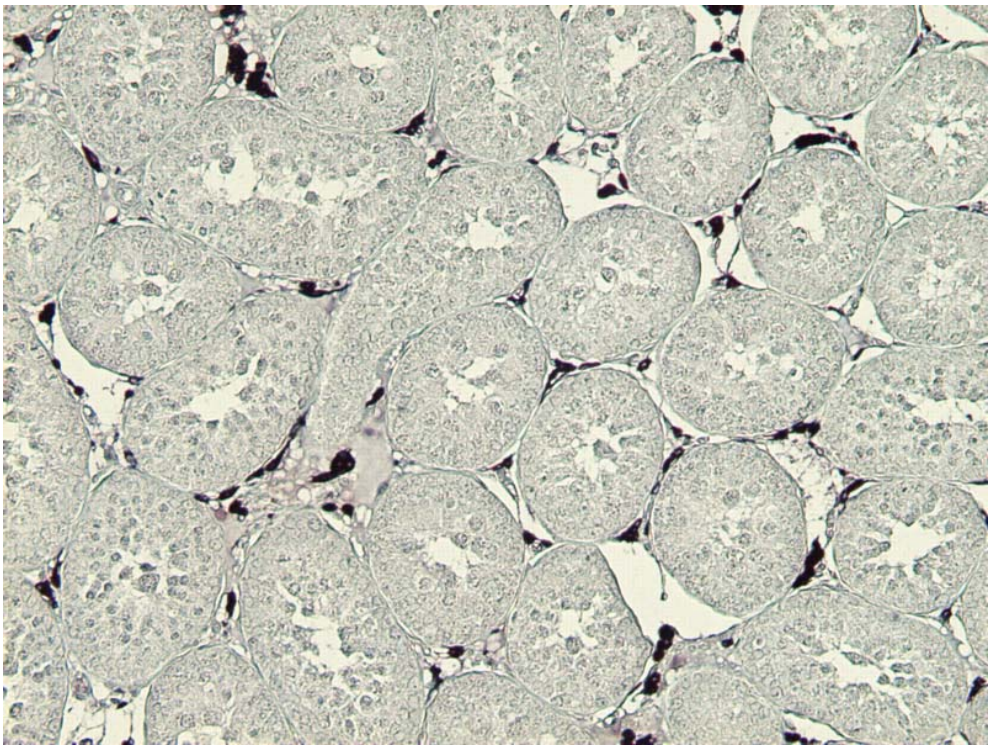
Şekil 4. 127. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. (x50)

4.6.3. Puberte öncesi dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi

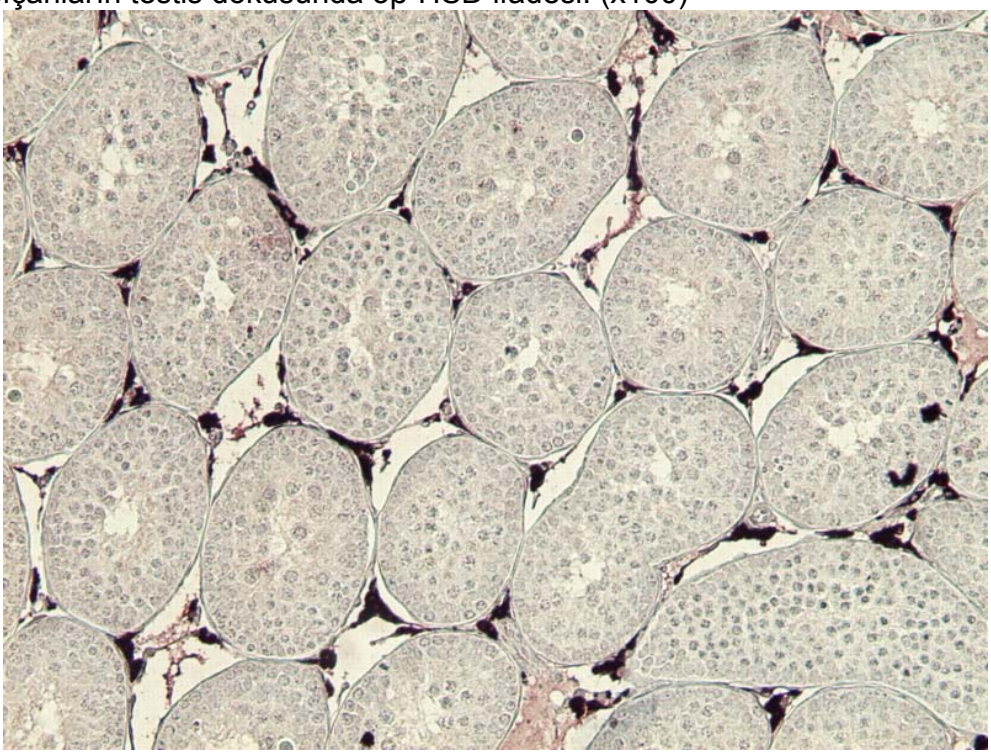
Yağ kontrol grubundaki puberte öncesi dönem erkek sıçanların testis dokularındaki 3β-HSD ifadesi Şekil 4.128'de, uygulama gruplarındaki 3β-HSD ifadeleri ise Şekil 4.129-134'de verilmiştir. Buna göre yağ kontrol ve uygulama grupları arasında 3β-HSD ifadesinde ve bunu sentezleyen Leydig hücrelerinde bir değişikliğe rastlanmamıştır.



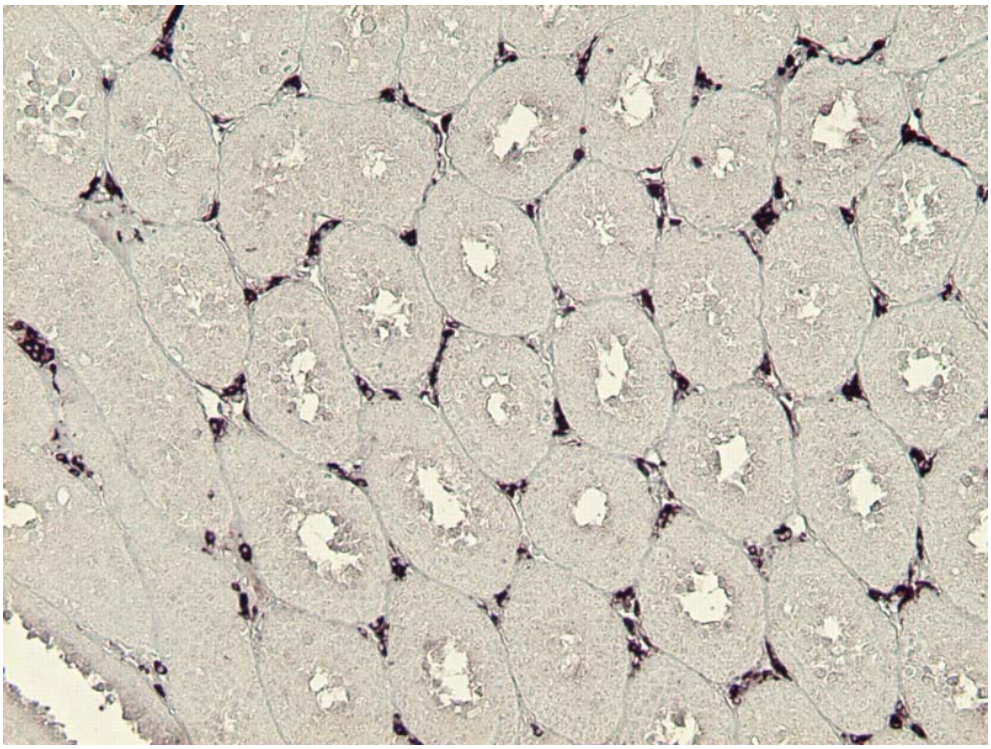
Şekil 4. 128. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



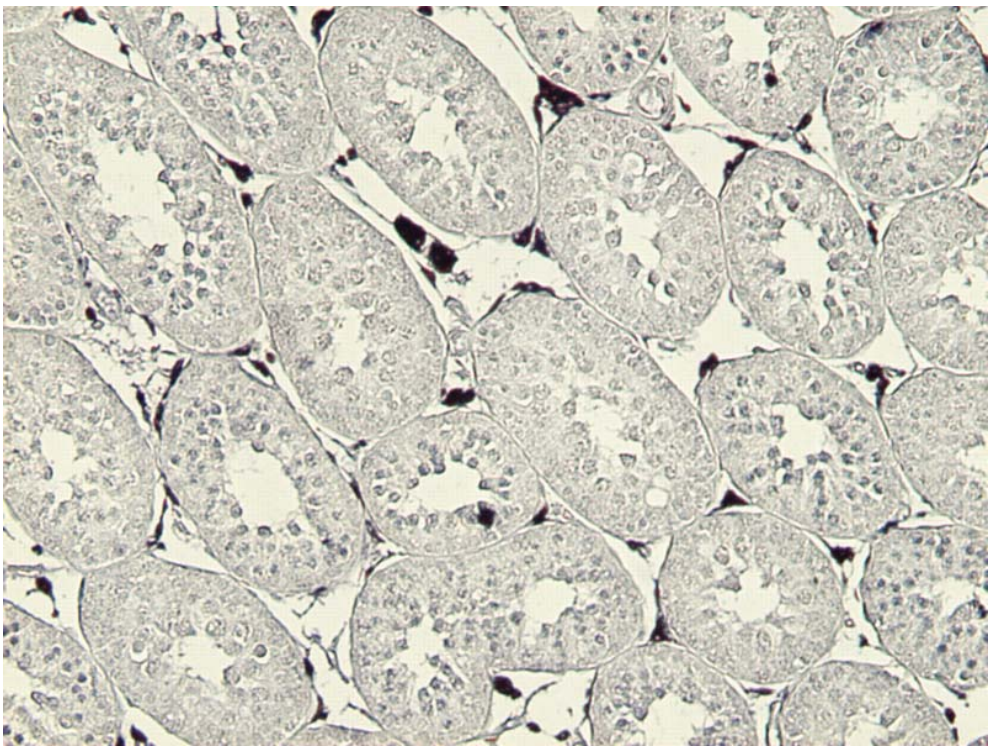
Şekil 4. 129. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



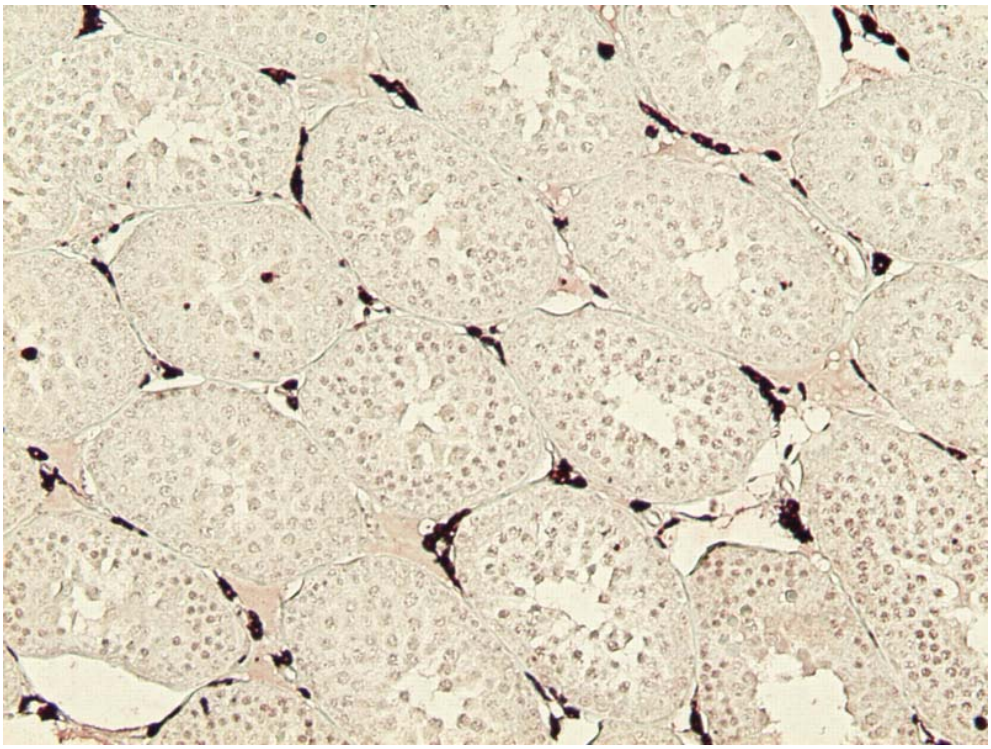
Şekil 4. 130. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



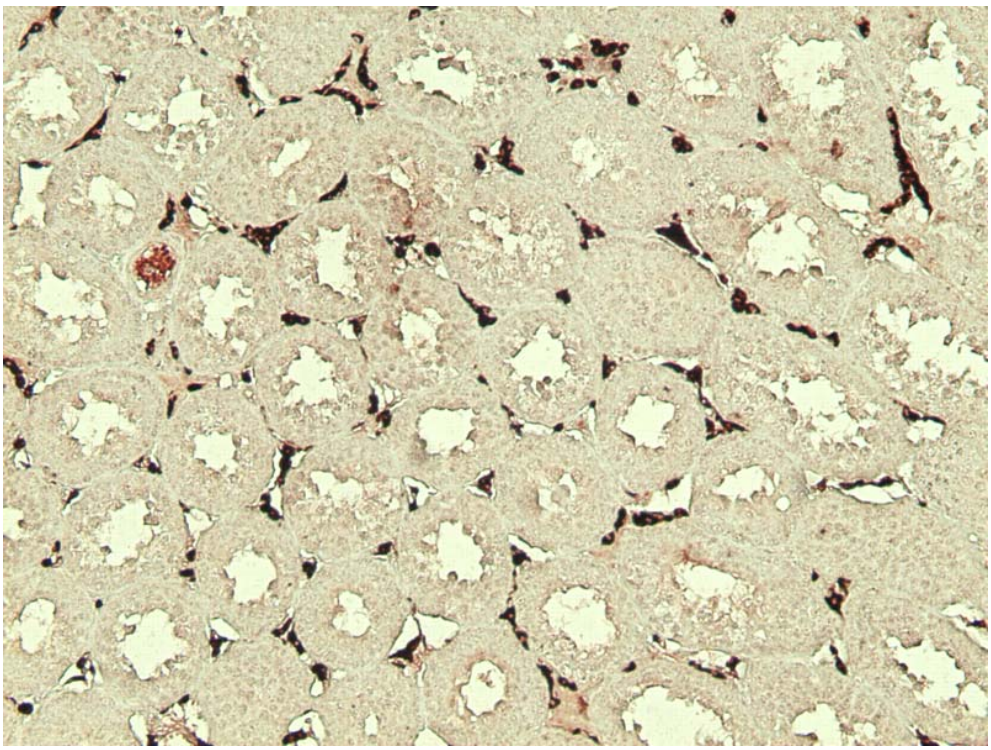
Şekil 4. 131. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



Şekil 4. 132. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



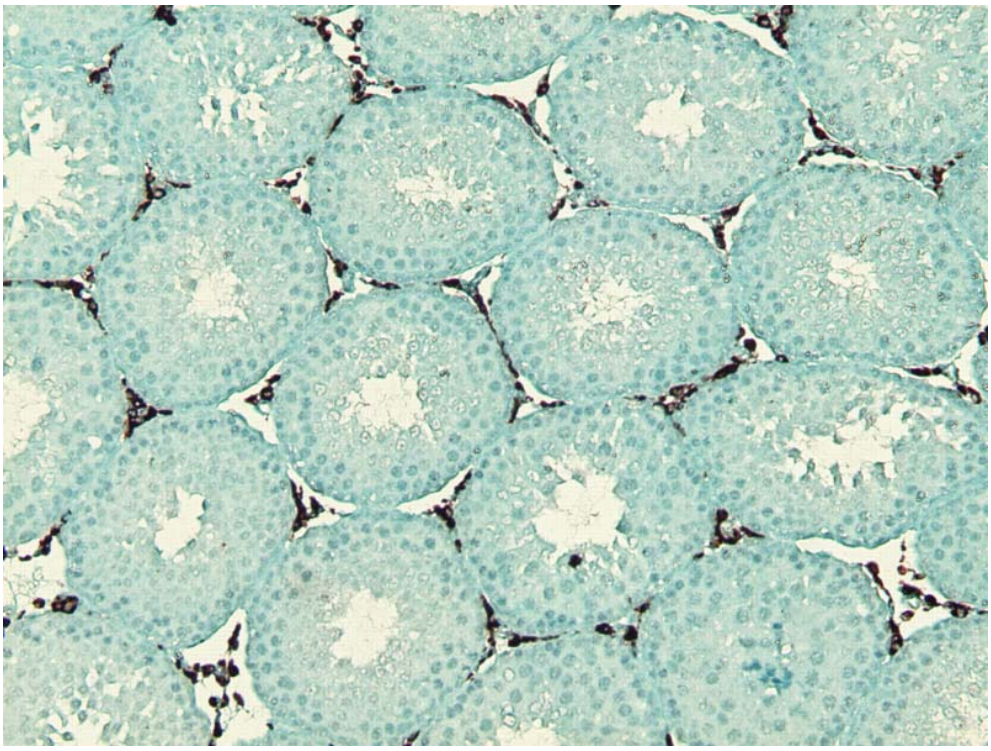
Şekil 4. 133. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



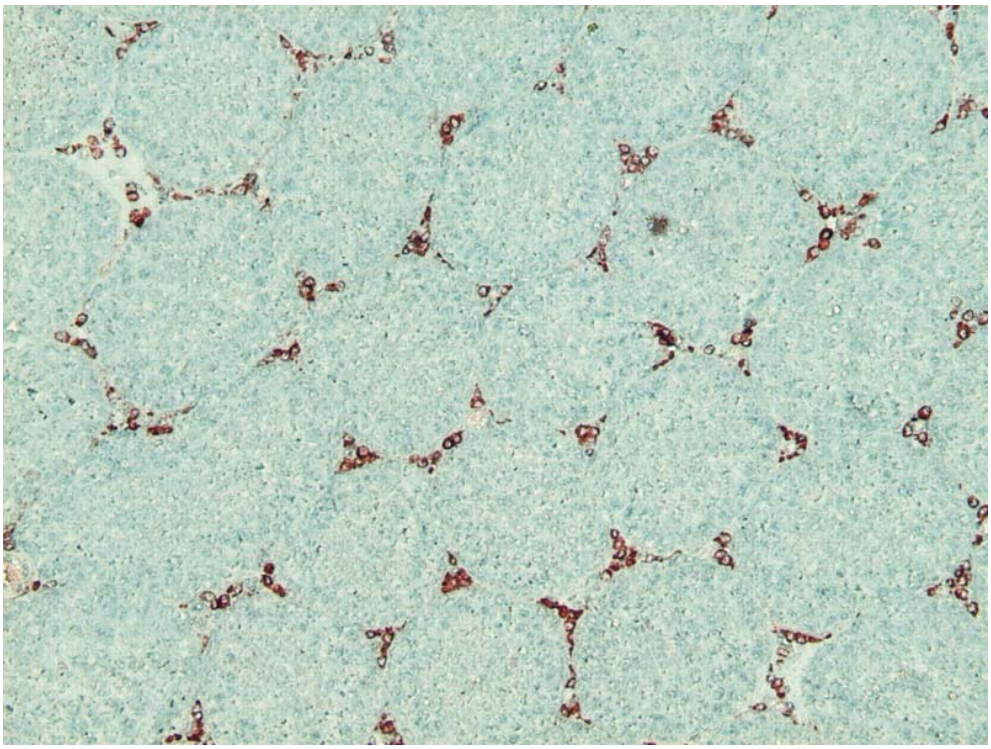
Şekil 4. 134. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)

4.6.4. Pubertal dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi

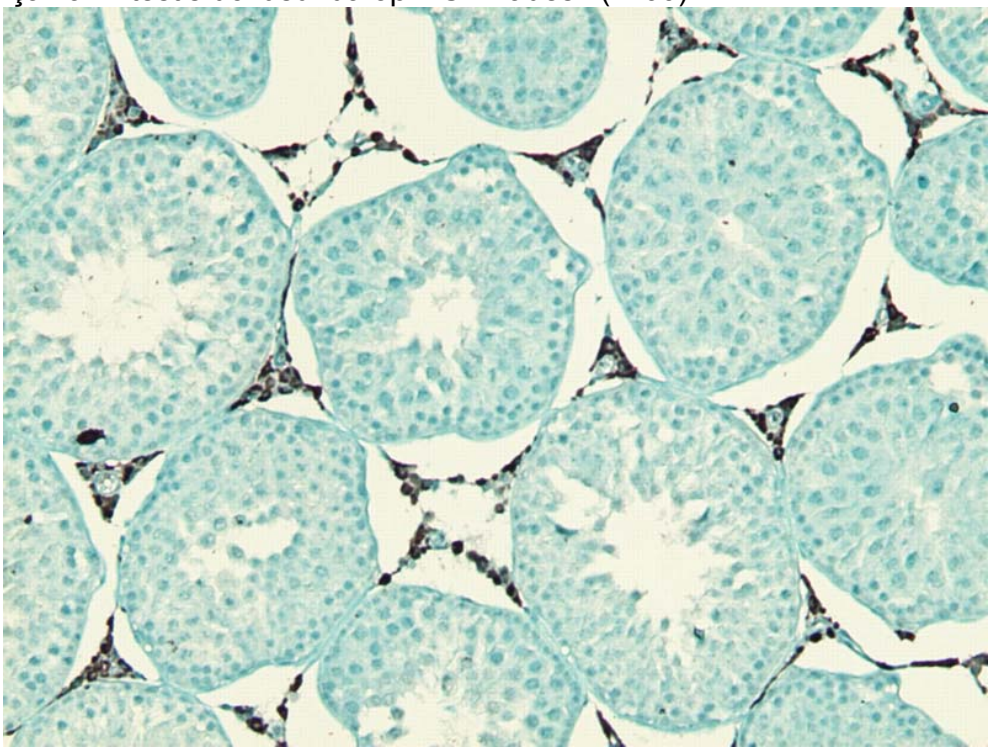
Yağ kontrol grubundaki pubertal dönem erkek sıçanların testis dokularındaki 3β-HSD ifadesi Şekil 4.135'de, uygulama gruplarındaki 3β-HSD ifadeleri ise Şekil 4.136-141'de verilmiştir. Buna göre yağ kontrol ve uygulama grupları arasında 3β-HSD ifadesinde ve bunu sentezleyen Leydig hücrelerinde önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır.



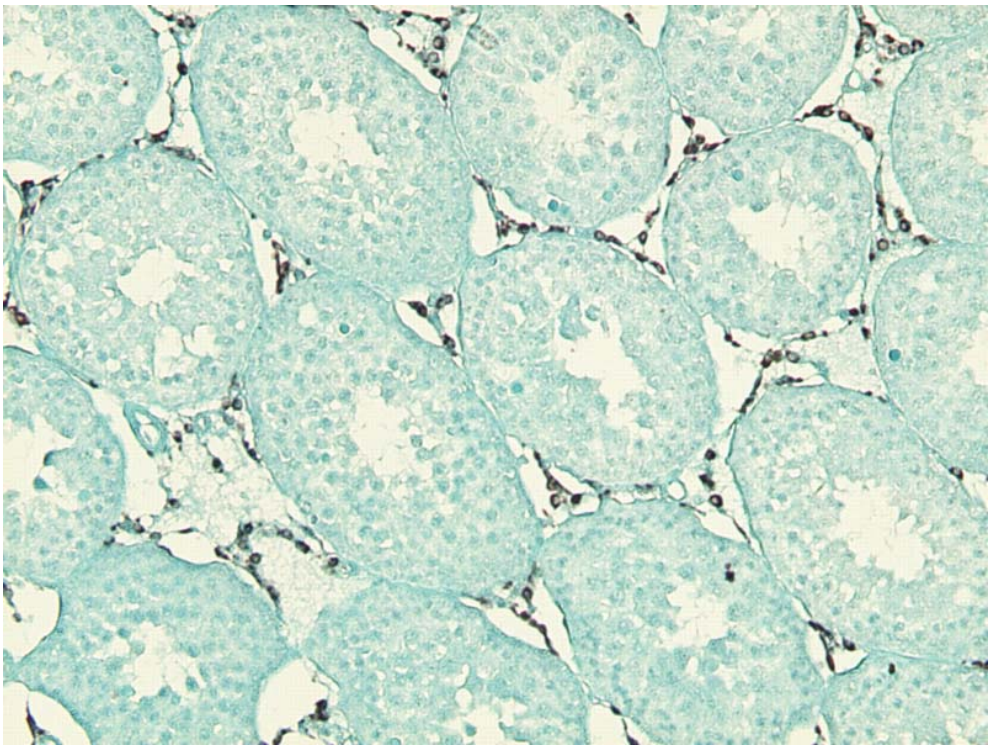
Şekil 4. 135. Yağ kontrol grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



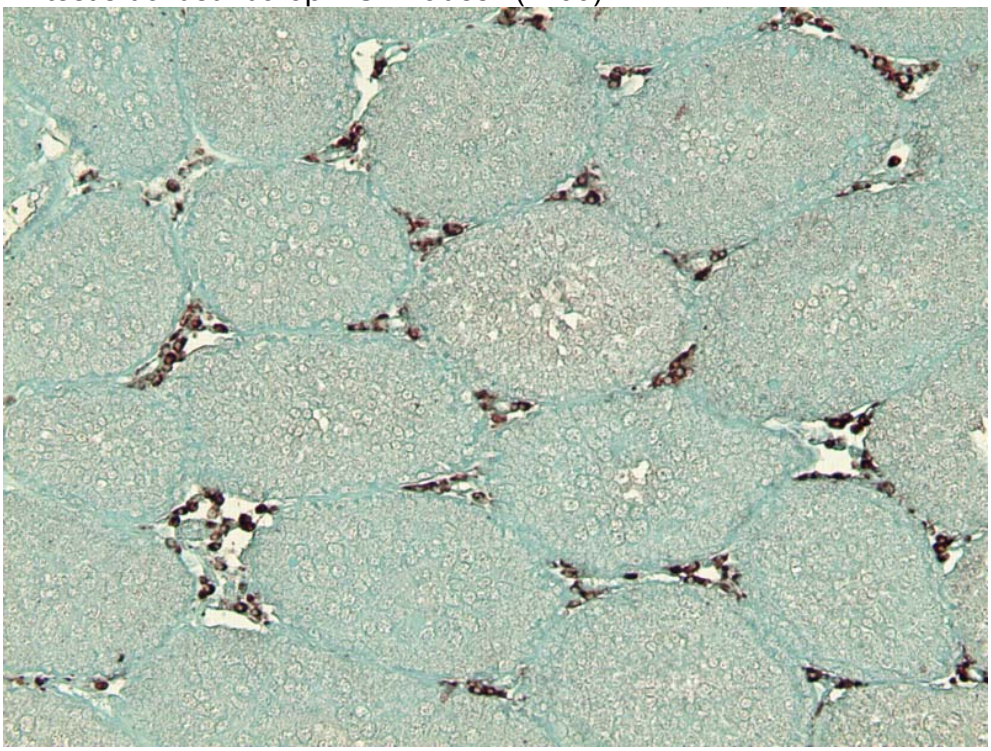
Şekil 4. 136. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



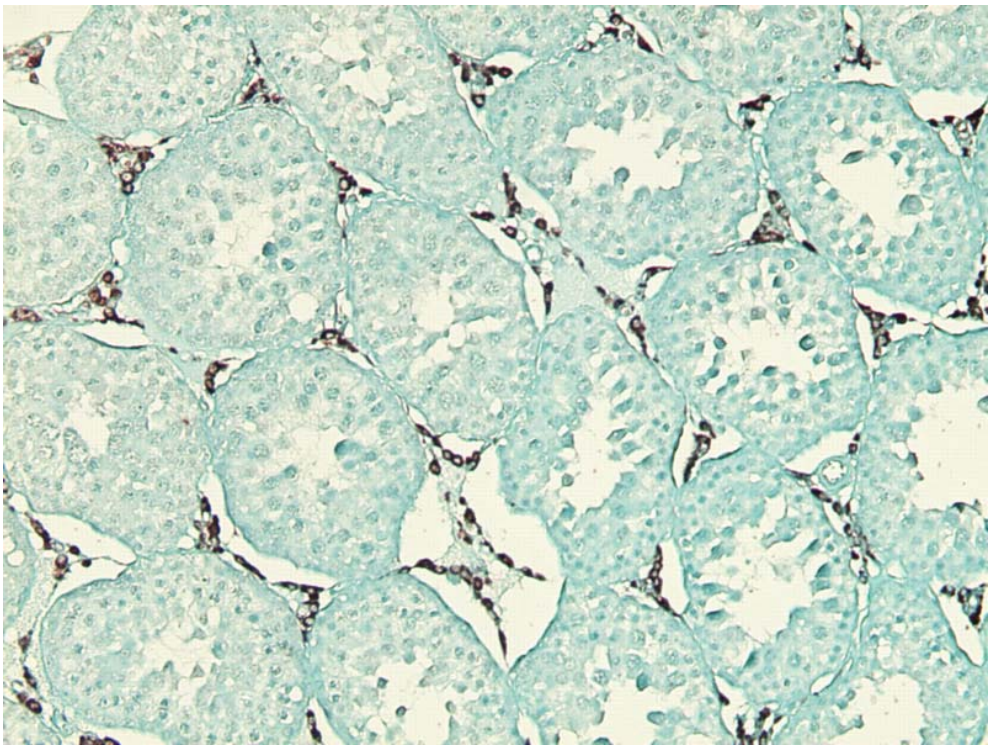
Şekil 4. 137. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100).



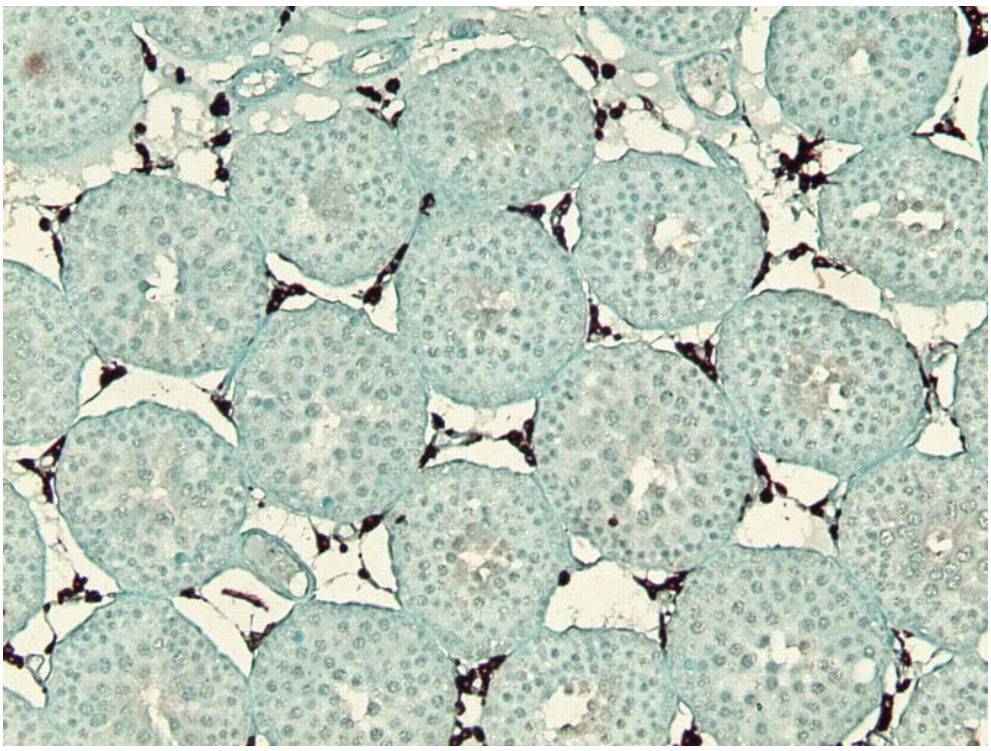
Şekil 4. 138. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



Şekil 4. 139. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



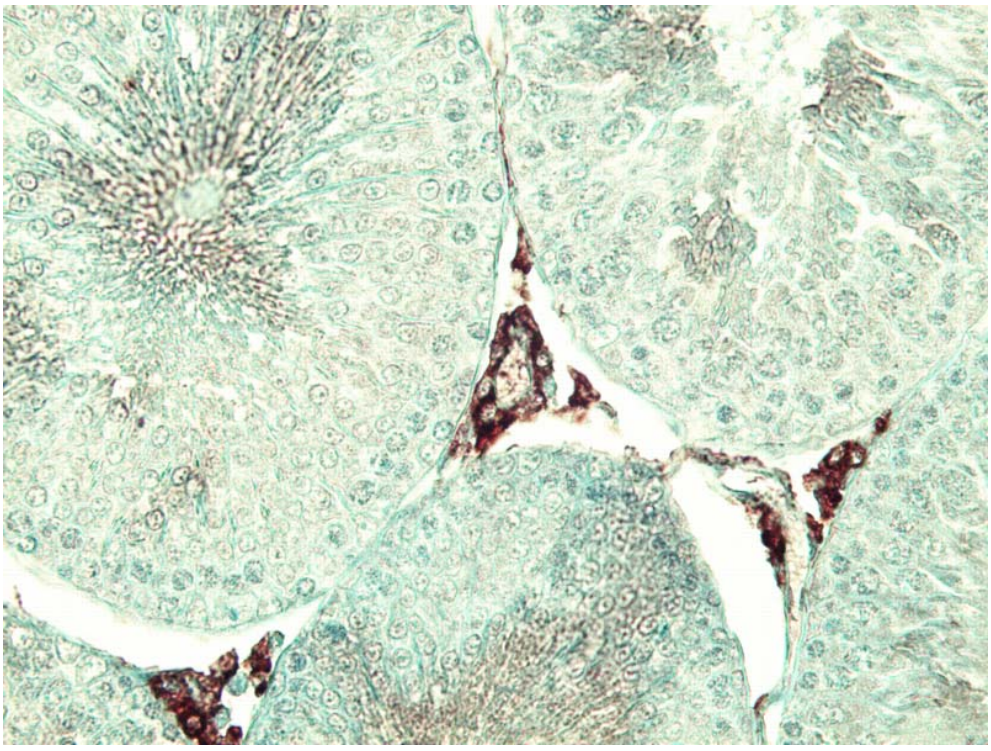
Şekil 4. 140. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



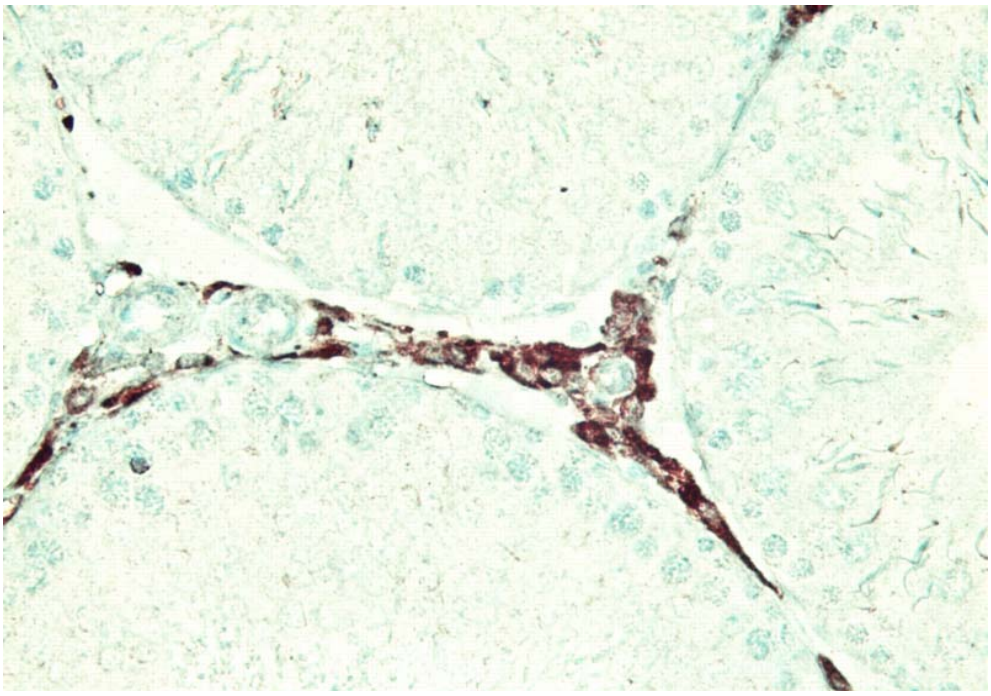
Şekil 4. 141. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)

4.6.5. Ergin dönemdeki sıçanların testis dokularında 3β-HSD ifadesi

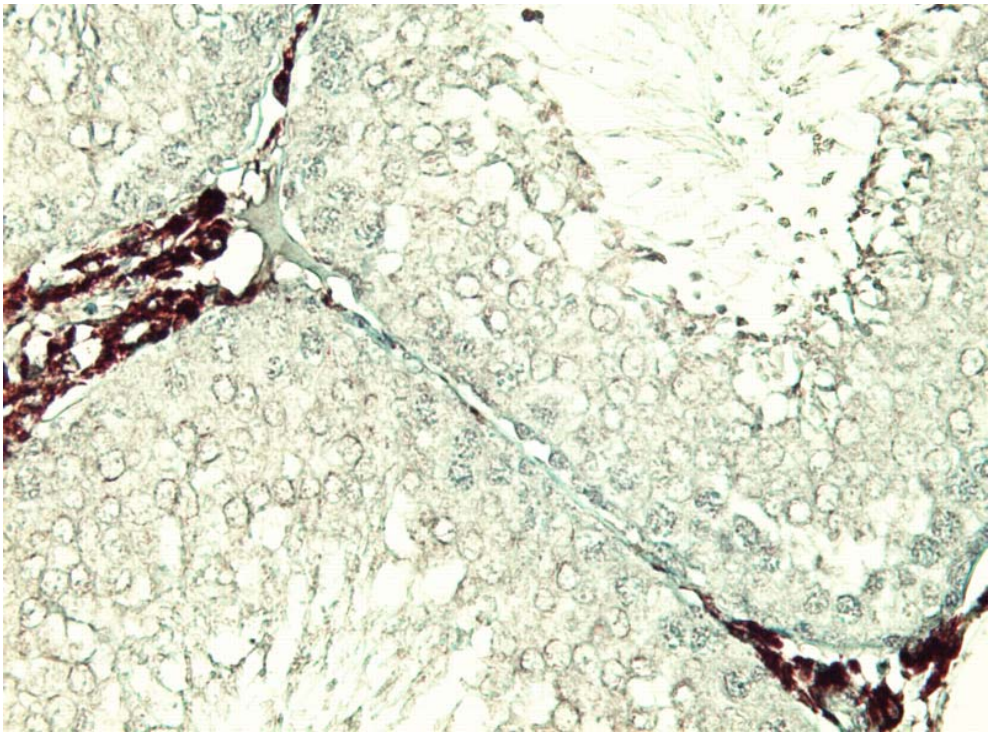
Yağ kontrol grubundaki ergin dönem erkek sıçanların testis dokularındaki 3β-HSD ifadesi Şekil 4.142'de, uygulama gruplarındaki 3β-HSD ifadeleri ise Şekil 4.143-148'de verilmiştir. Buna göre yağ kontrol ve uygulama grupları arasında Leydig hücrelerindeki 3β-HSD ifadesinde bir değişikliğe rastlanmamıştır (Şekil 4.480-487). 500 mg/kg/gün DHP (Şekil 4.145), 20 (Şekil 4.146) ve 100 (Şekil 4.147) mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında sentezleyen Leydig hücrelerinin sayısında yağ kontrolle karşılaştırıldığında artış görülmektedir.



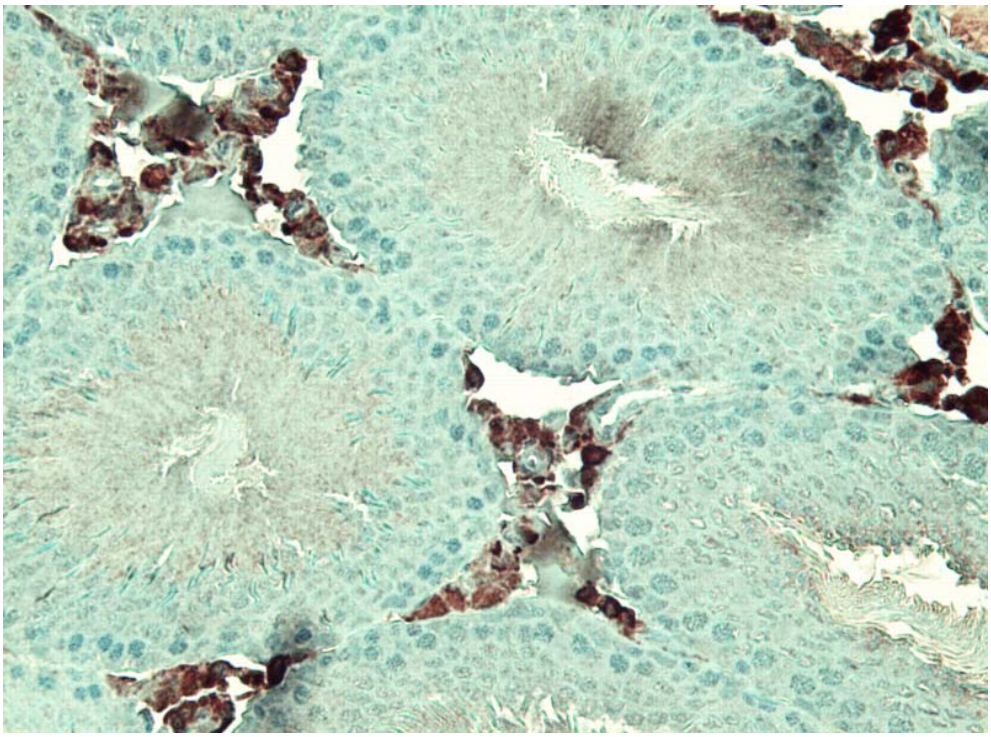
Şekil 4. 142. Yağ kontrol grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x200)



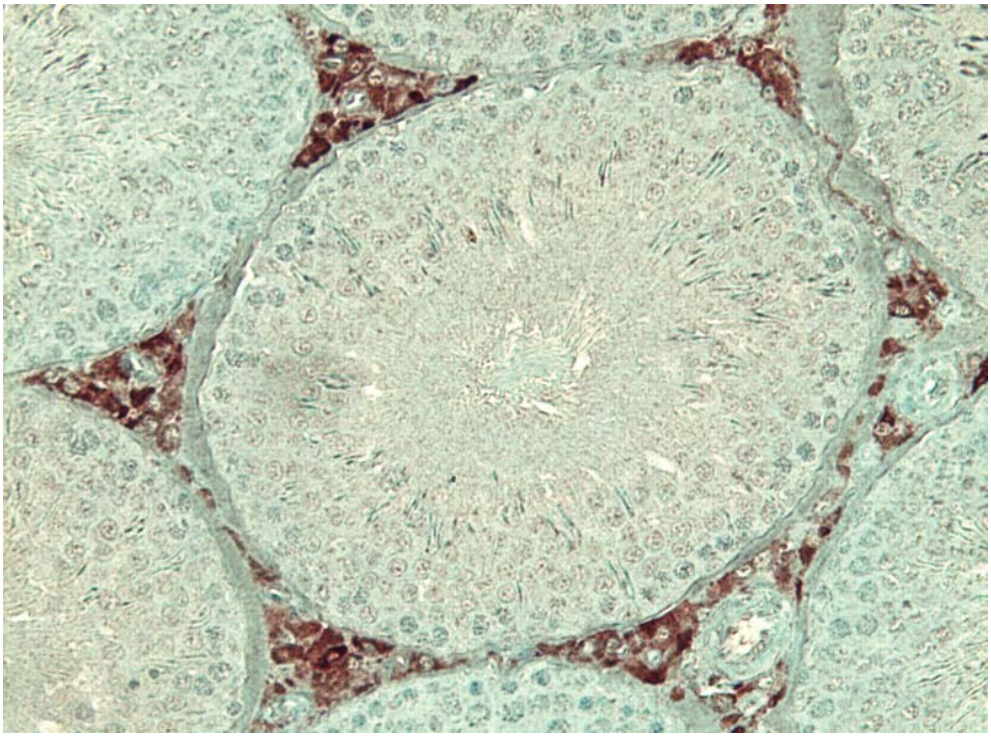
Şekil 4. 143. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



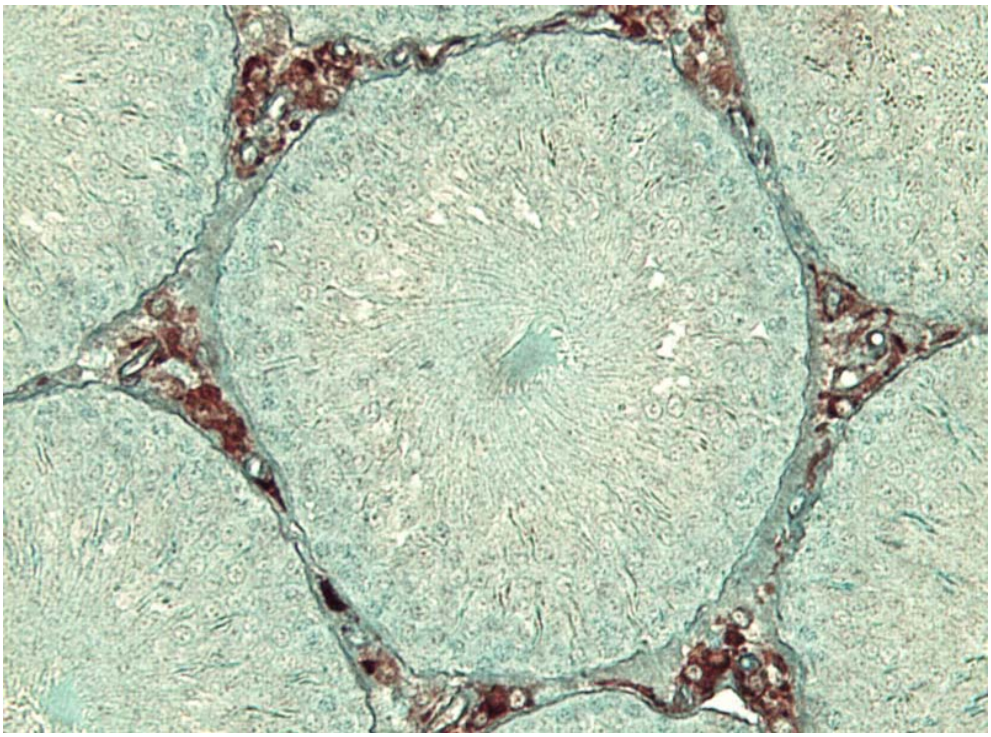
Şekil 4. 144. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



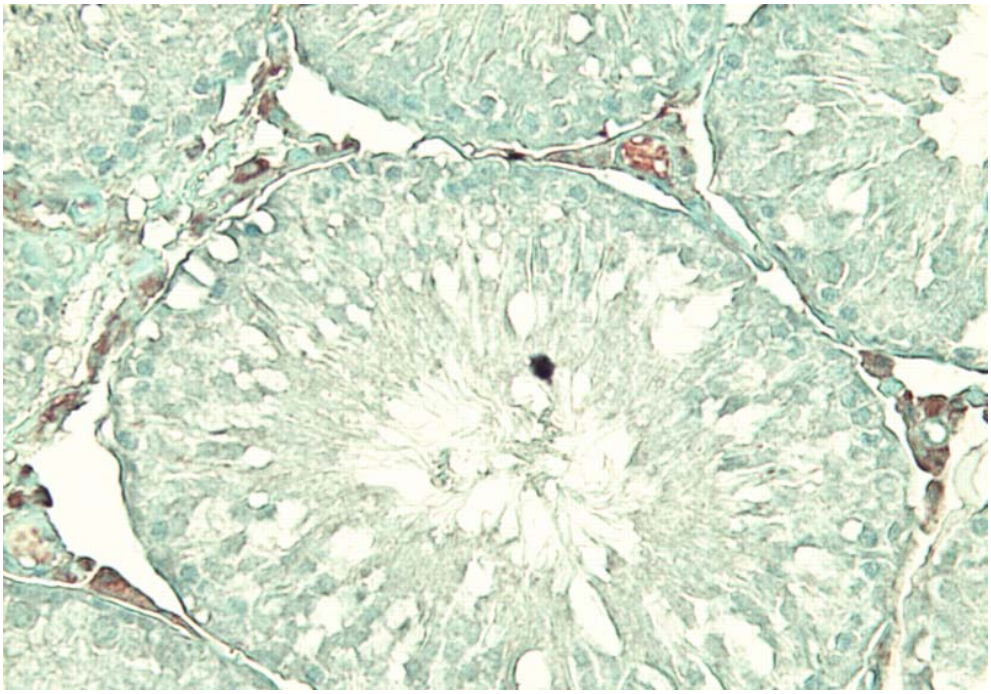
Şekil 4. 145. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi, Leydig hücrelerinde çoğalma. (x100)



Şekil 4. 146. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi, Leydig hücrelerinde çoğalma. (x100)



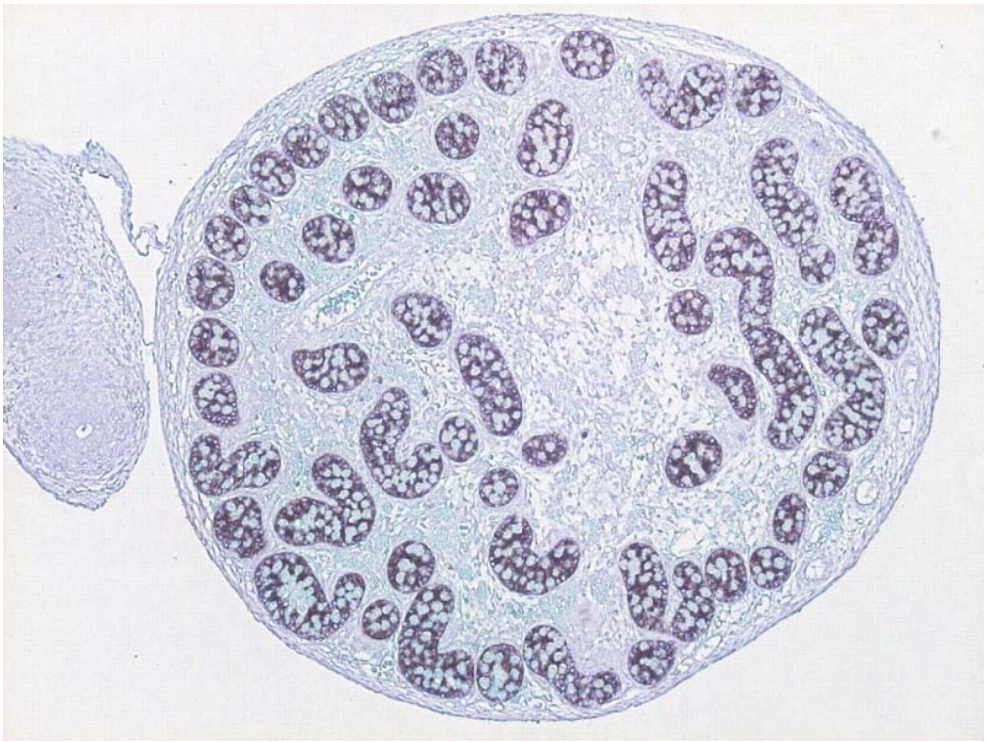
Şekil 4. 147. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)



Şekil 4. 148. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda 3β-HSD ifadesi. (x100)

4.6.6. Prenatal dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi

Prenatal dönemde DHP ve DCHP uygulamasının testis dokusunda Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen ve Sertoli hücre olgunlaşmasını gösteren MIS/AMH hormonunun doku üstündeki miktarını gözlemek amacı ile bu tübüller immunohistokimyasal olarak işaretlenmiş ve mikroskopta gözlenerek fotoğraflanmıştır. Buna göre yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesinin normal düzeyde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.149). Buna karşılık uygulama gruplarındaki prenatal dönem erkek sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir (Şekil 4.150-155).



Şekil 4. 149. Yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



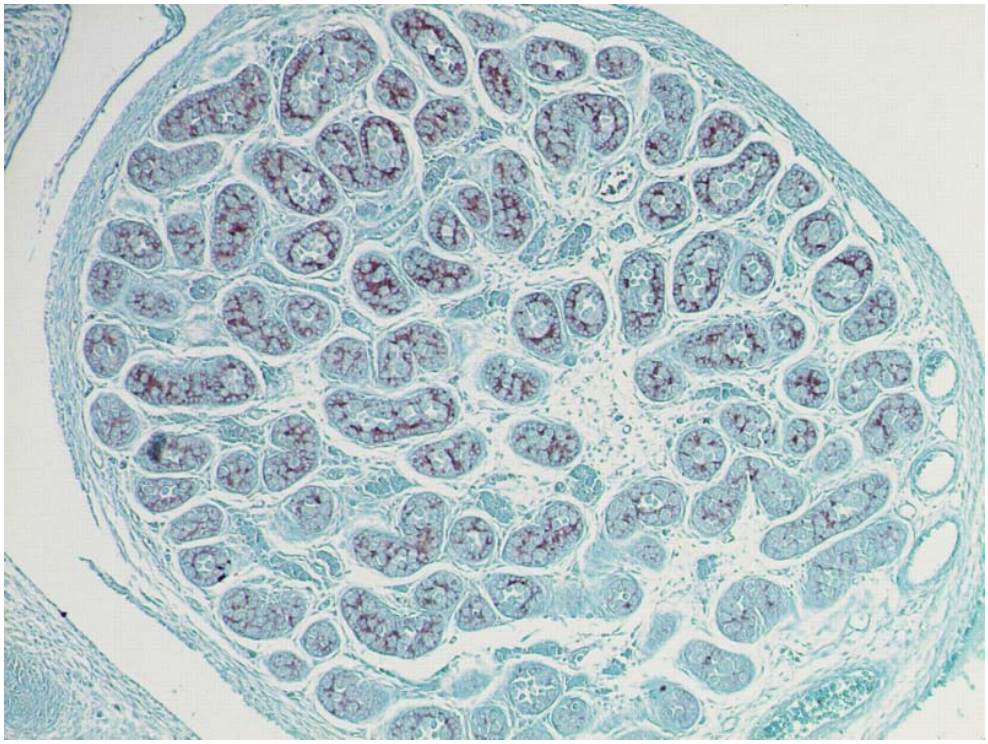
Şekil 4. 150. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



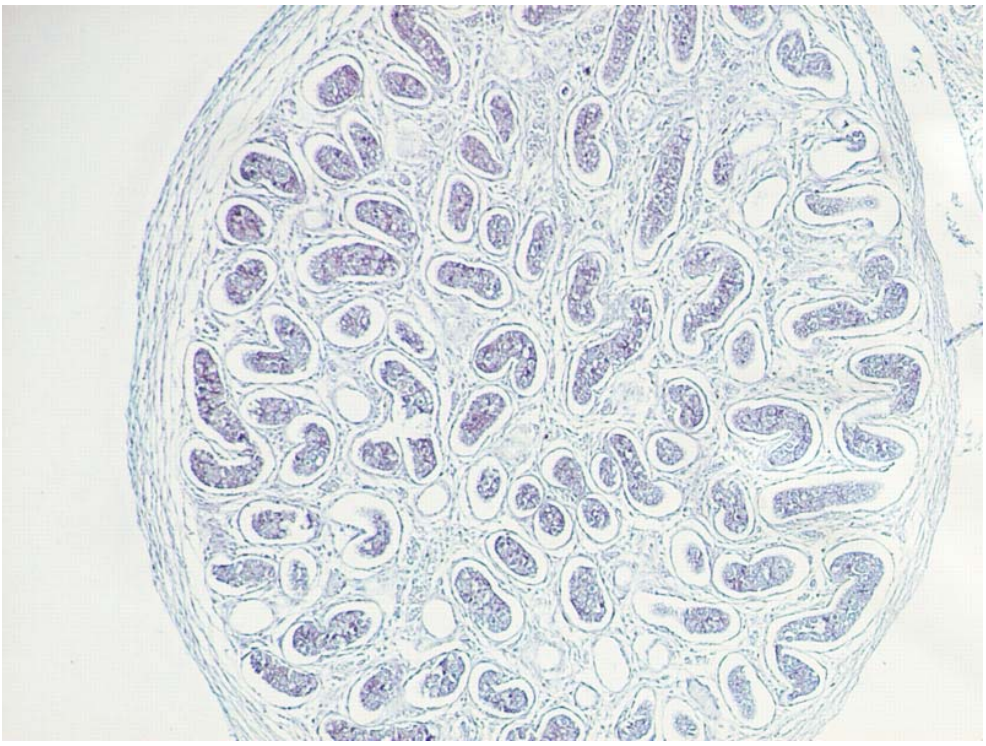
Şekil 4. 151. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



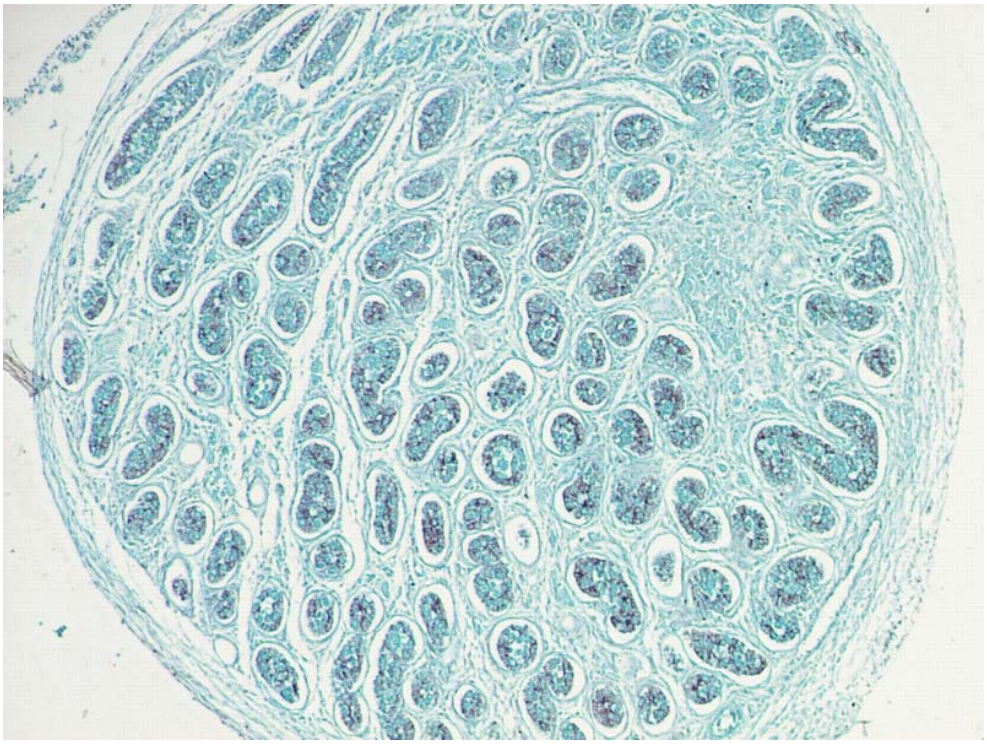
Şekil 4. 152. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



Şekil 4. 153. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



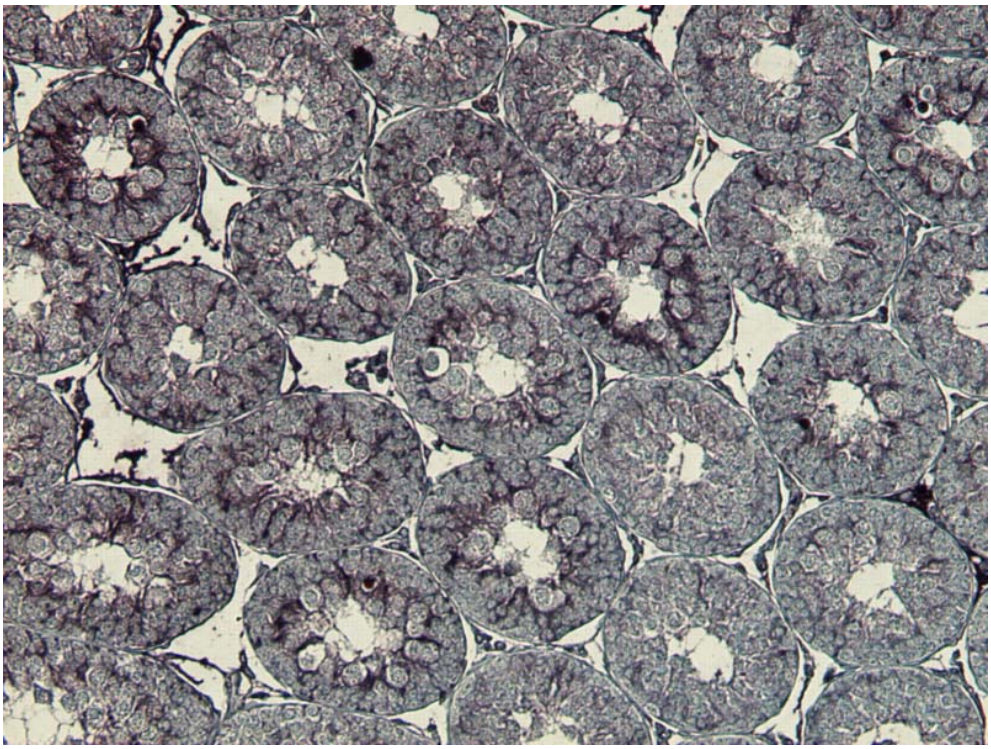
Şekil 4. 154. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)



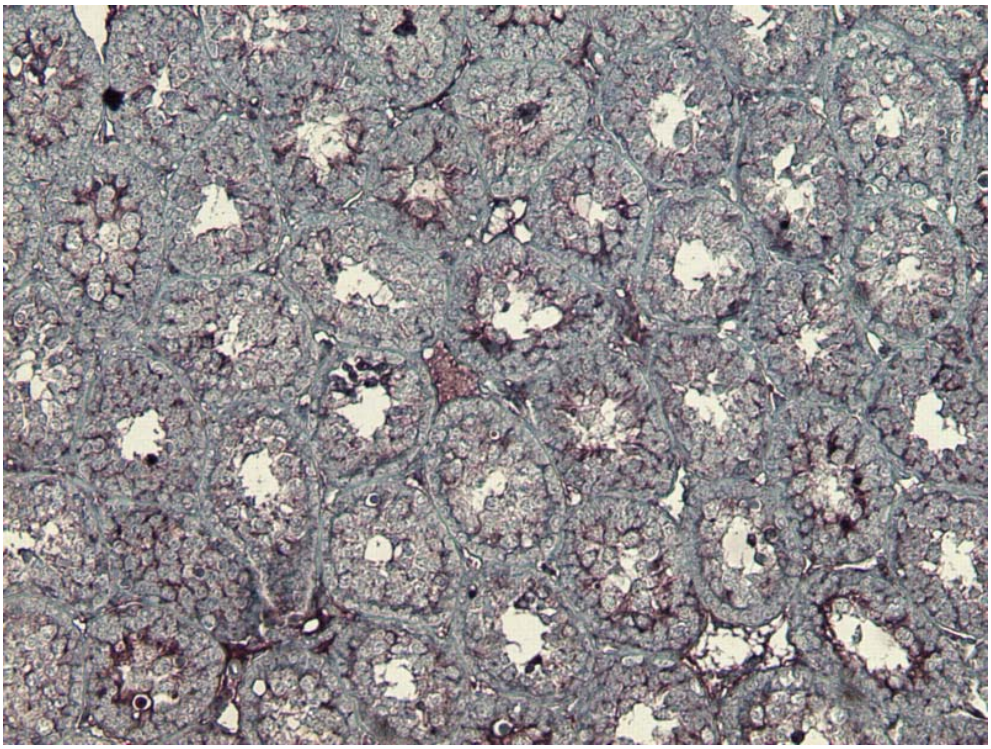
Şekil 4. 155. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x50)

4.6.7. Puberte öncesi dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi

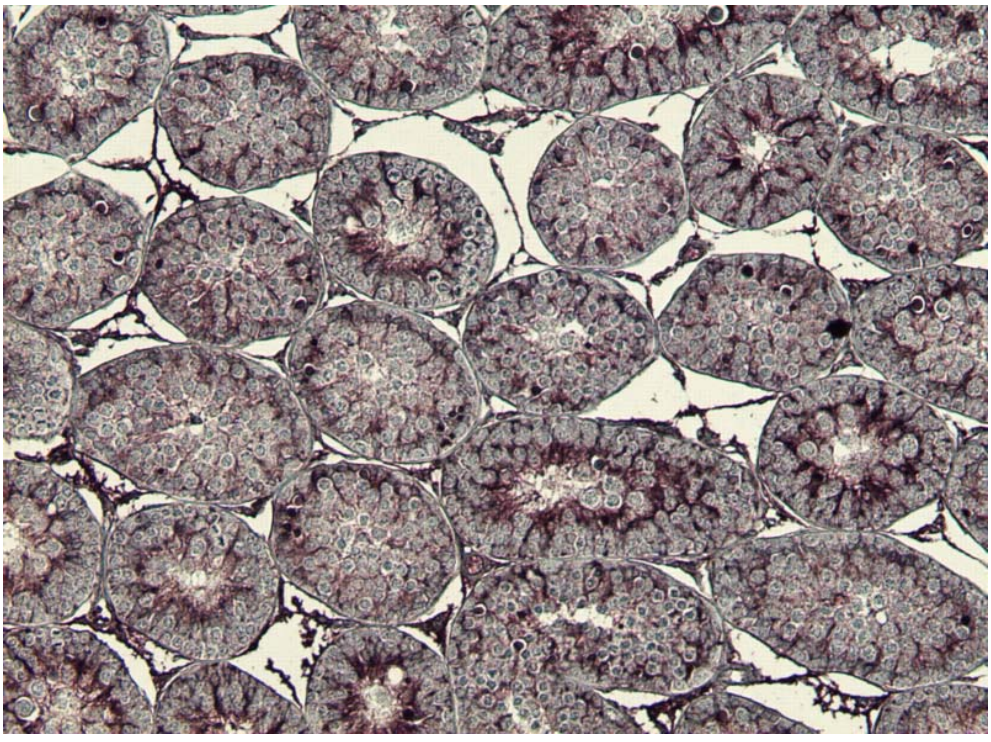
Yağ kontrol grubundaki puberte öncesi dönem erkek sıçanların testis dokularındaki MIS/AMH ifadesi Şekil 4.156'da, uygulama gruplarındaki MIS/AMH ifadeleri ise Şekil 4.157-162'de verilmiştir. Buna göre yağ kontrol ve uygulama grupları karşılaştırıldığında 100 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 500 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokularındaki MIS/AMH sentezinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.158-159 ve Şekil 4.162).



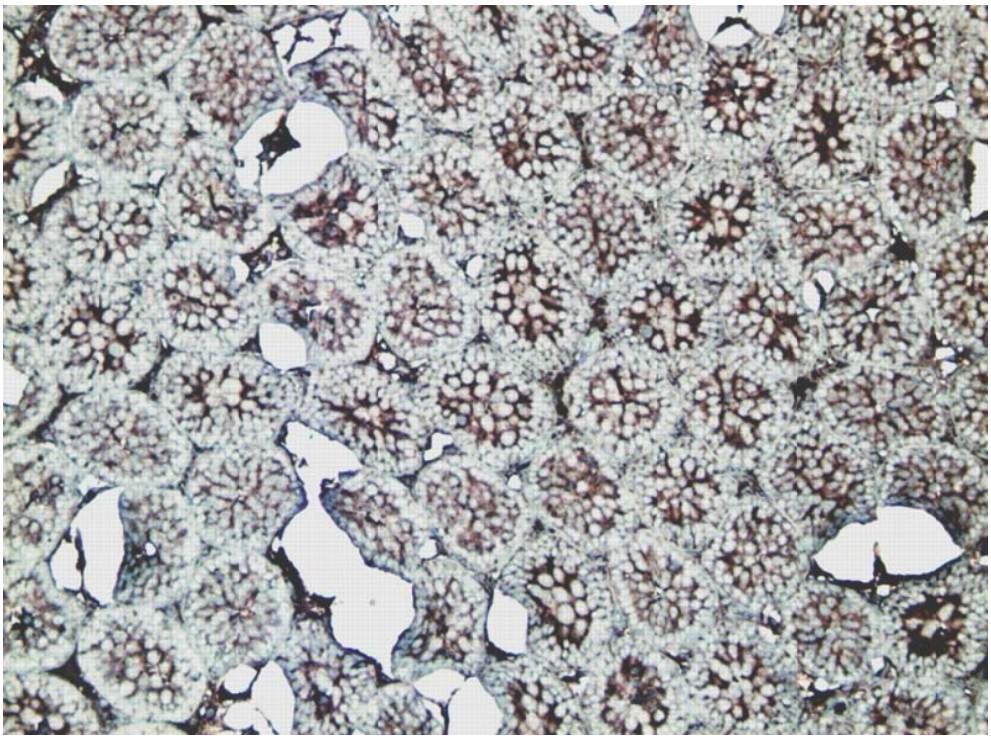
Şekil 4. 156. Yağ kontrol grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



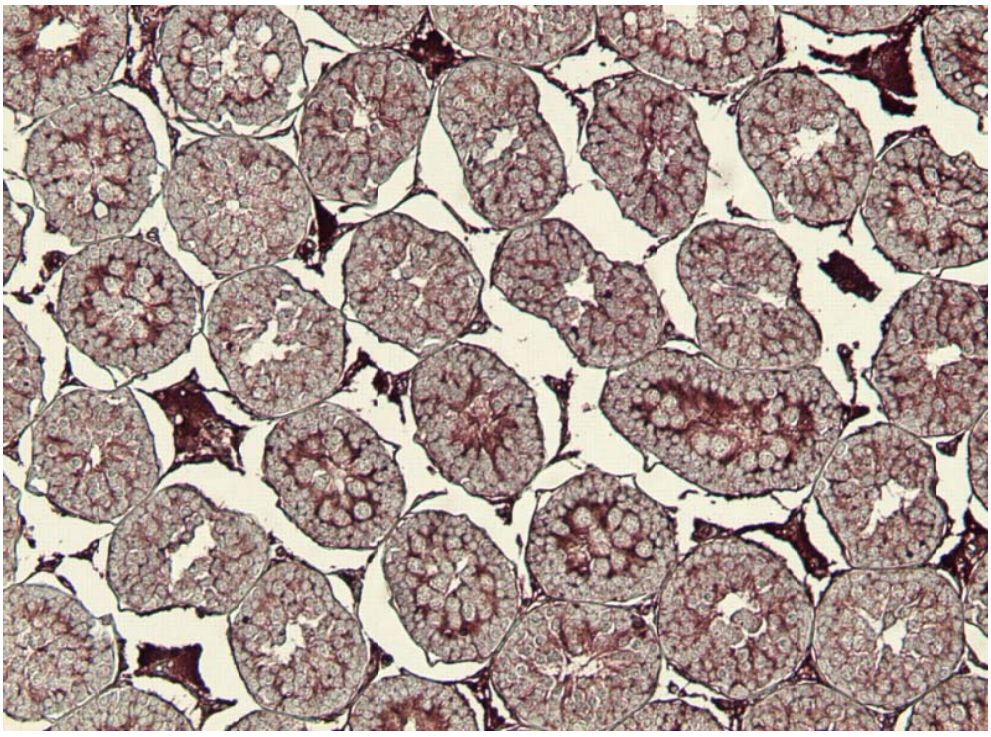
Şekil 4. 157. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



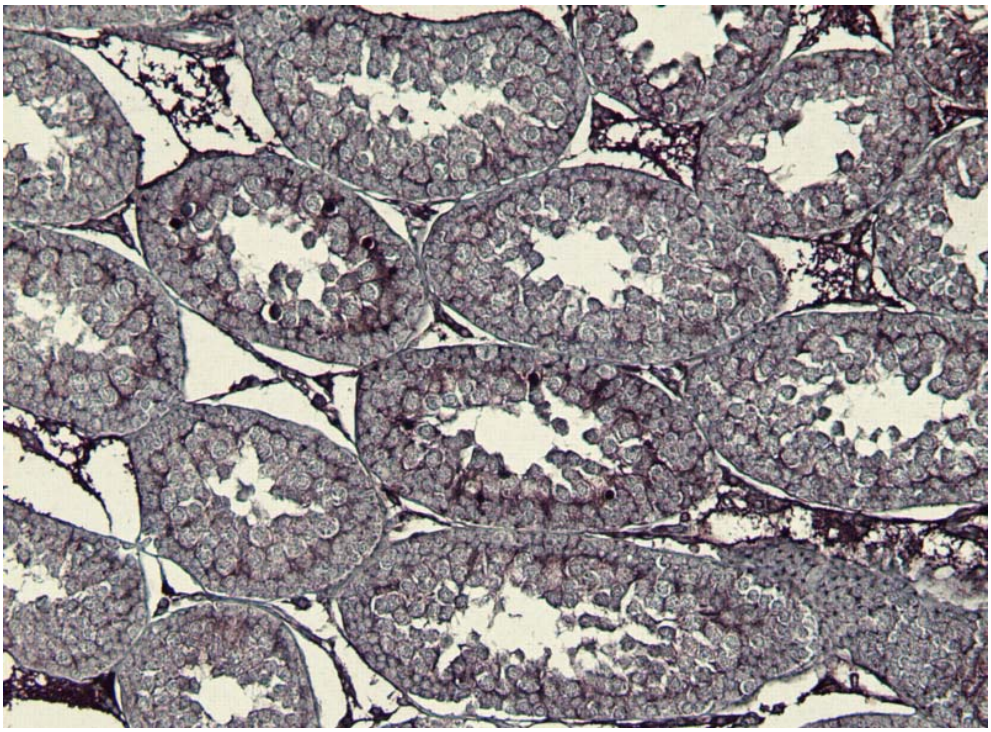
Şekil 4. 158. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



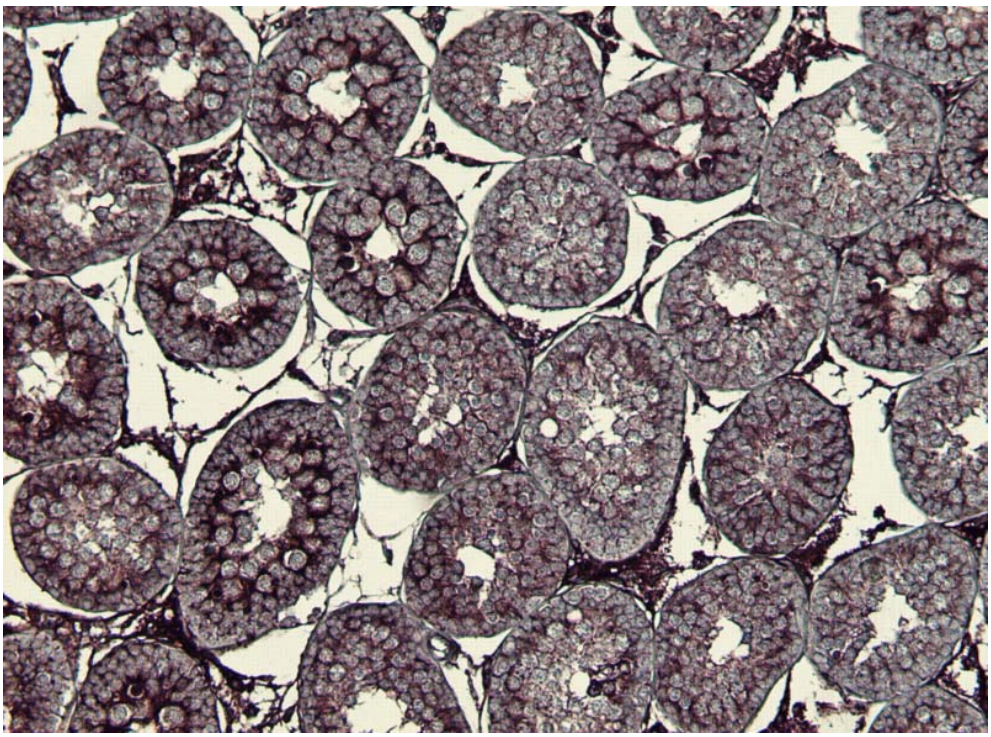
Şekil 4. 159. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



Şekil 4. 160. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



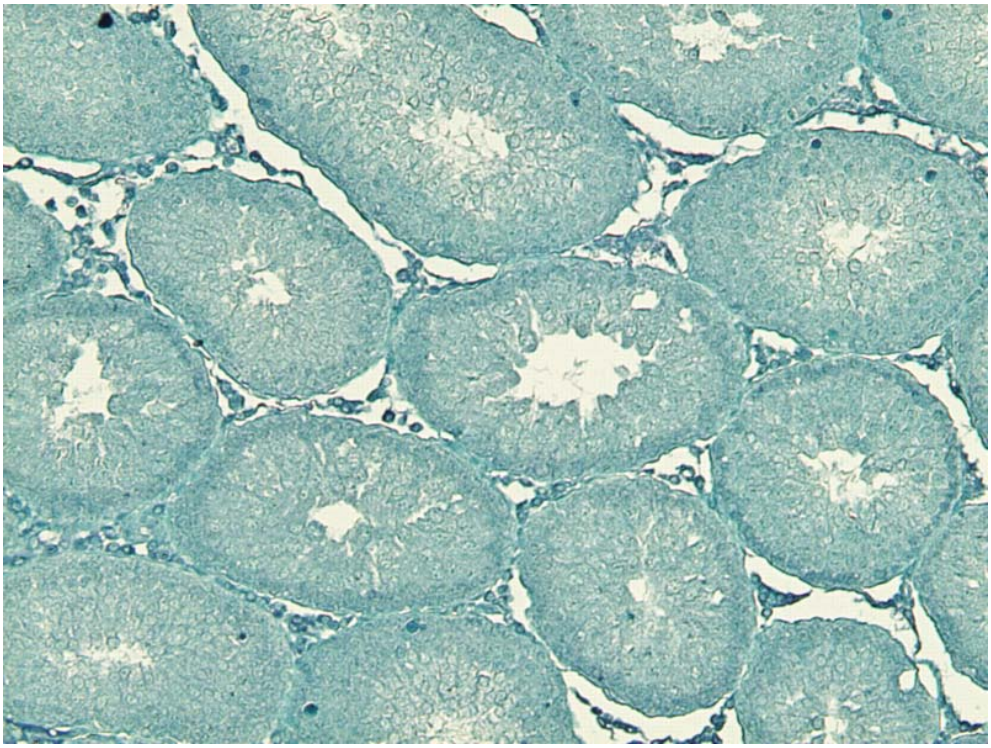
Şekil 4. 161. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



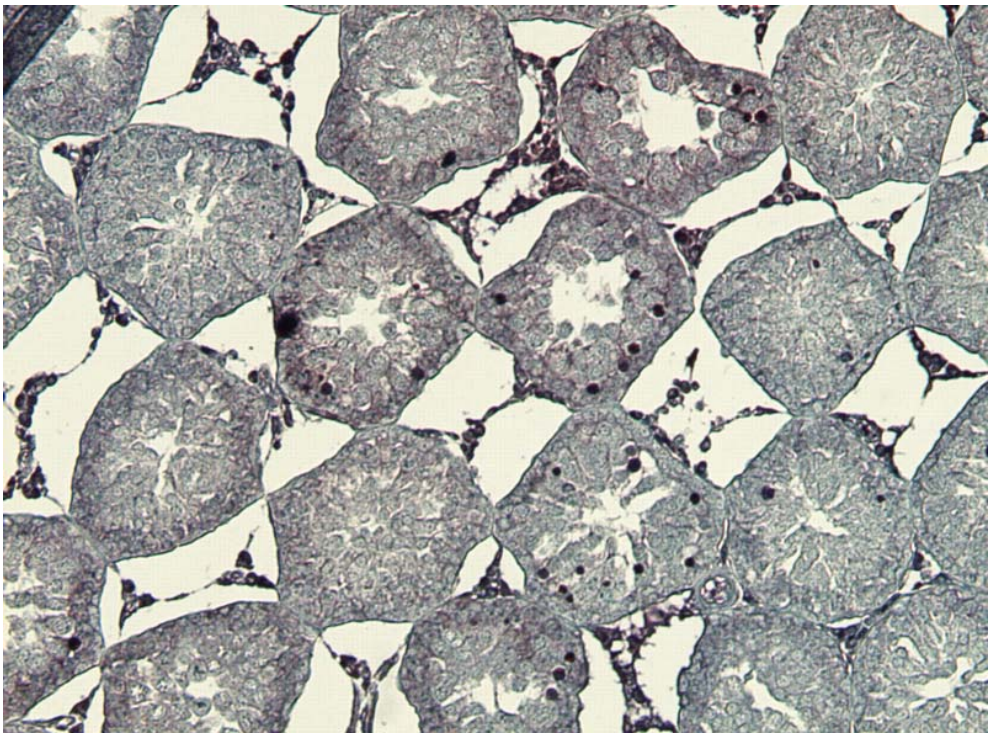
Şekil 4. 162. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)

4.6.8. Pubertal dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH ifadesi

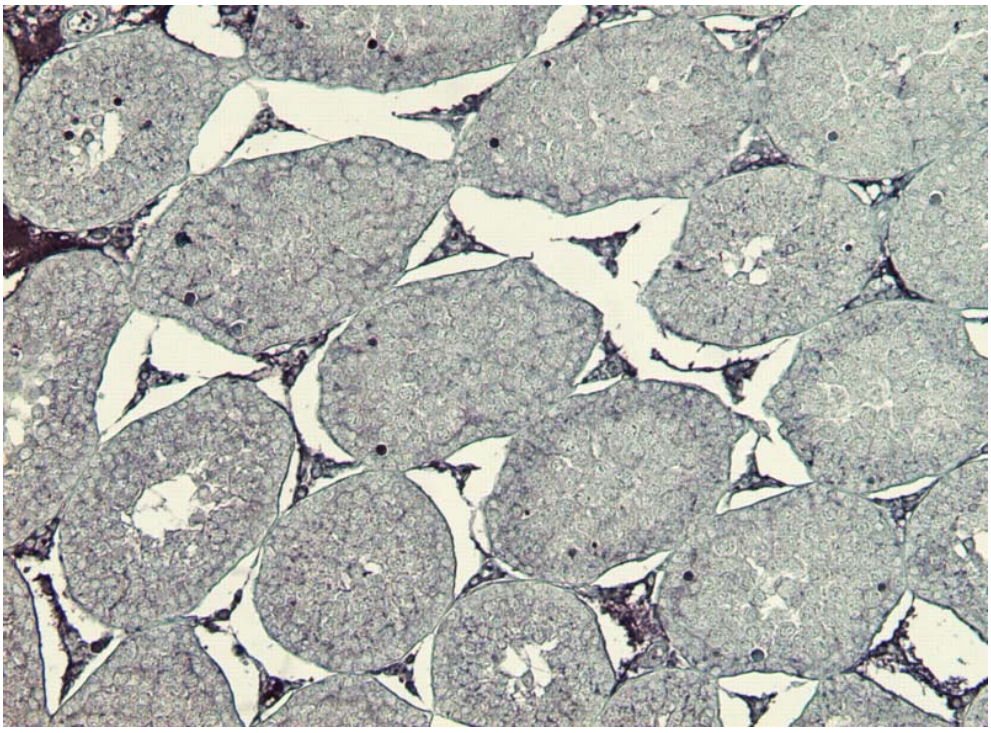
Yağ kontrol grubundaki pubertal dönem erkek sıçanların testis dokularındaki MIS/AMH ifadesi Şekil 4.163'de, uygulama gruplarındaki MIS/AMH ifadeleri ise Şekil 4.164-165'da verilmiştir. Buna göre pubertal erkek sıçanlarda yağ kontrol gruplarındaki MIS/AMH işaretlemesi çok zayıf tespit edilmişken 500 mg/kg/gün DHP (Şekil 4.164) ve DCHP (Şekil 4.165) uygulama gruplarında bu işaretlemenin fazla olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 163. Yağ kontrol grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x100)



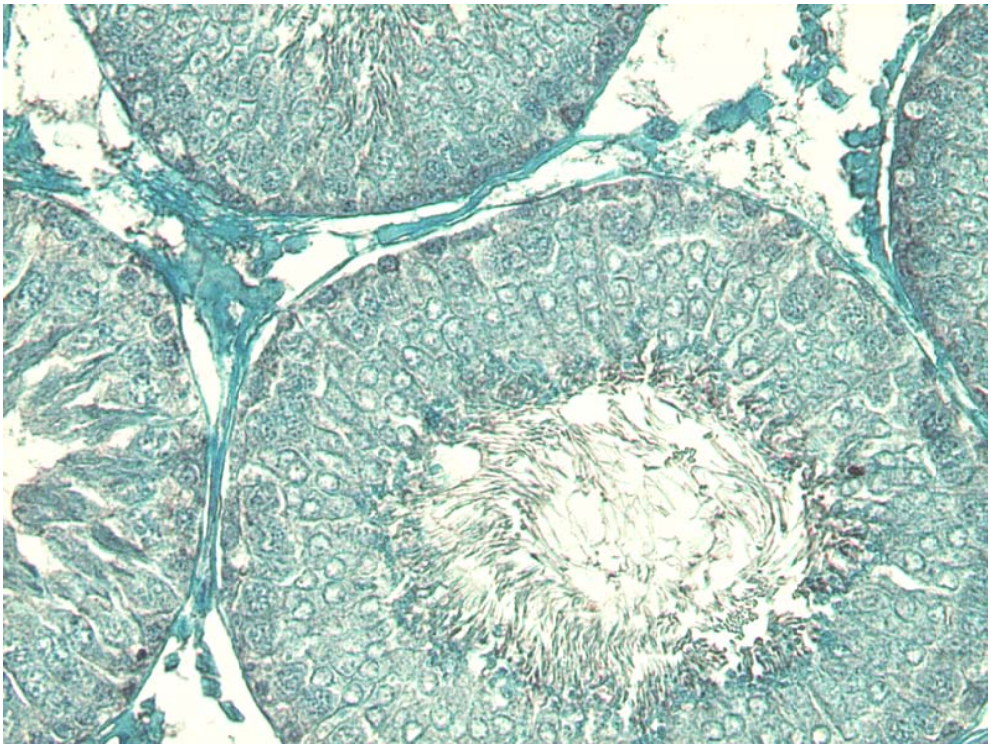
Şekil 4. 164. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda artmış MIS/AMH ifadesi. (x100)



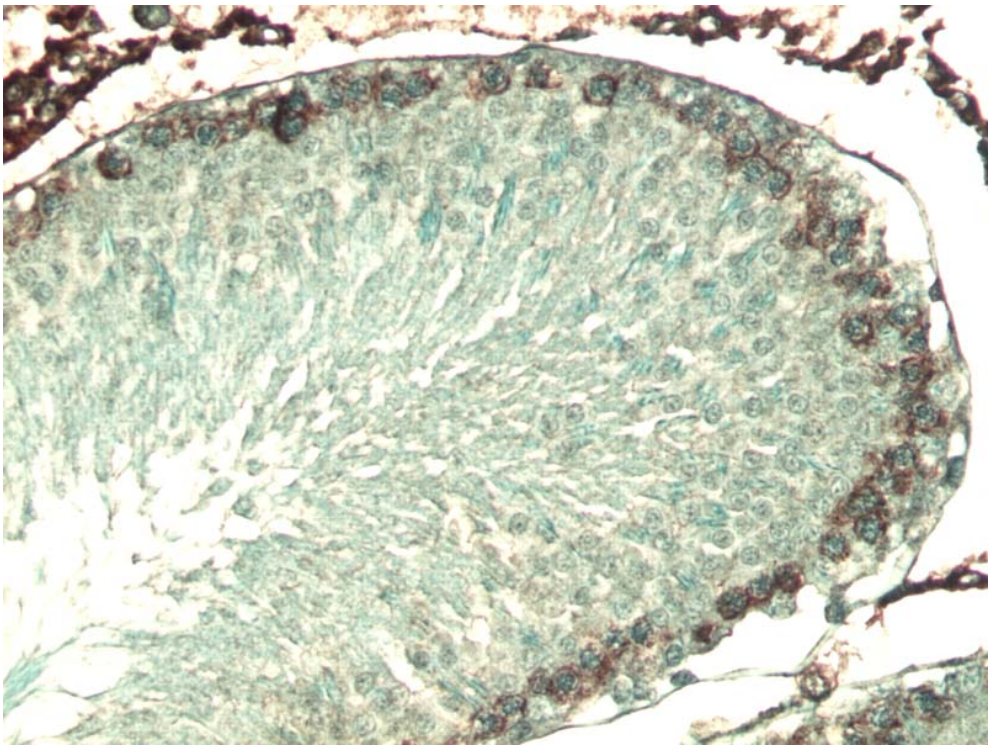
Şekil 4. 165. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda artmış MIS/AMH ifadesi. (x100)

4.6.9. Ergin dönemdeki sıçanların testis dokularında MIS/AMH İfadesi

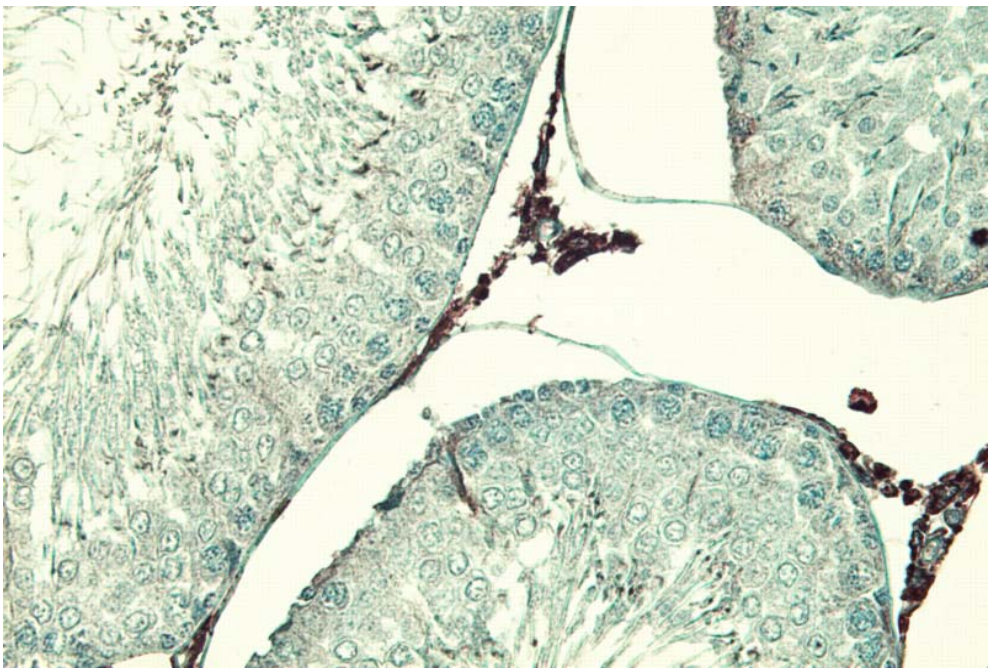
Yağ kontrol grubundaki ergin dönem erkek sıçanların testis dokularındaki MIS/AMH ifadesi Şekil 4.166'da, uygulama gruplarındaki MIS/AMH ifadeleri ise Şekil 4.167-172'de verilmiştir. Buna göre ergin erkek sıçanlarda yağ kontrol gruplarındaki MIS/AMH ifadesi tespit edilmemişken uygulama gruplarında MIS/AMH ifadesinin olduğu görülmüştür.



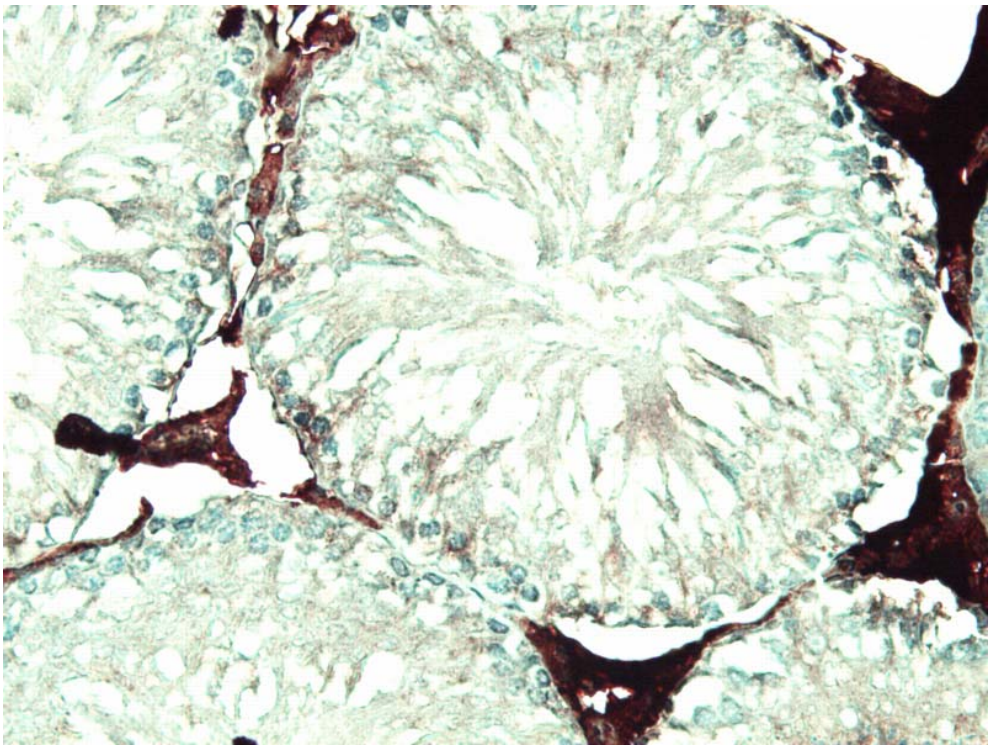
Şekil 4. 166. Yağ kontrol grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



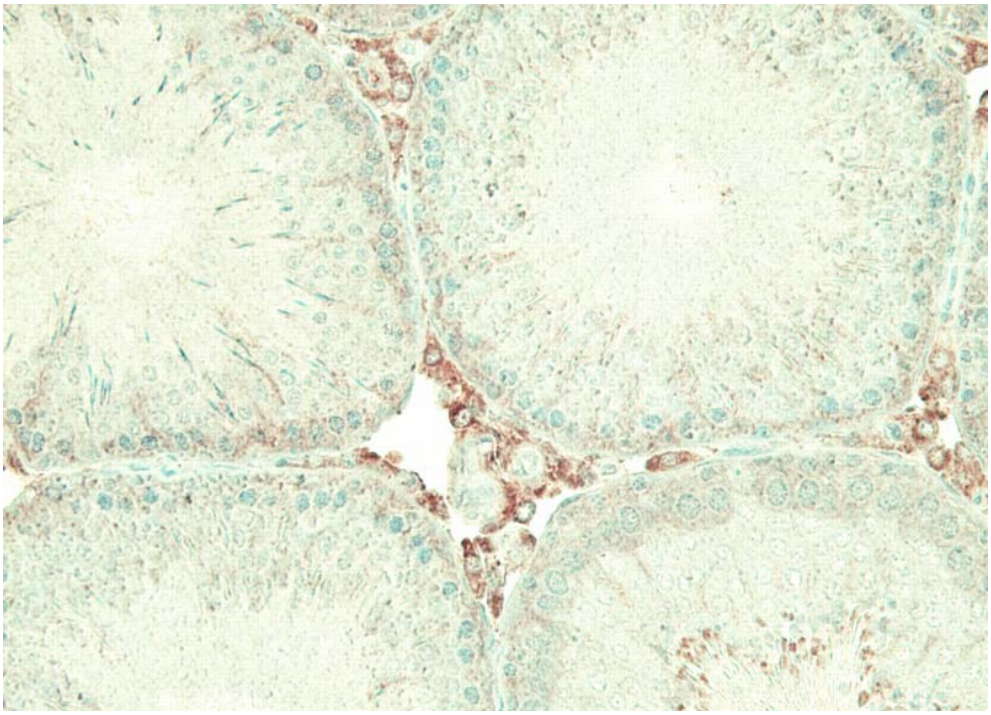
Şekil 4. 167. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



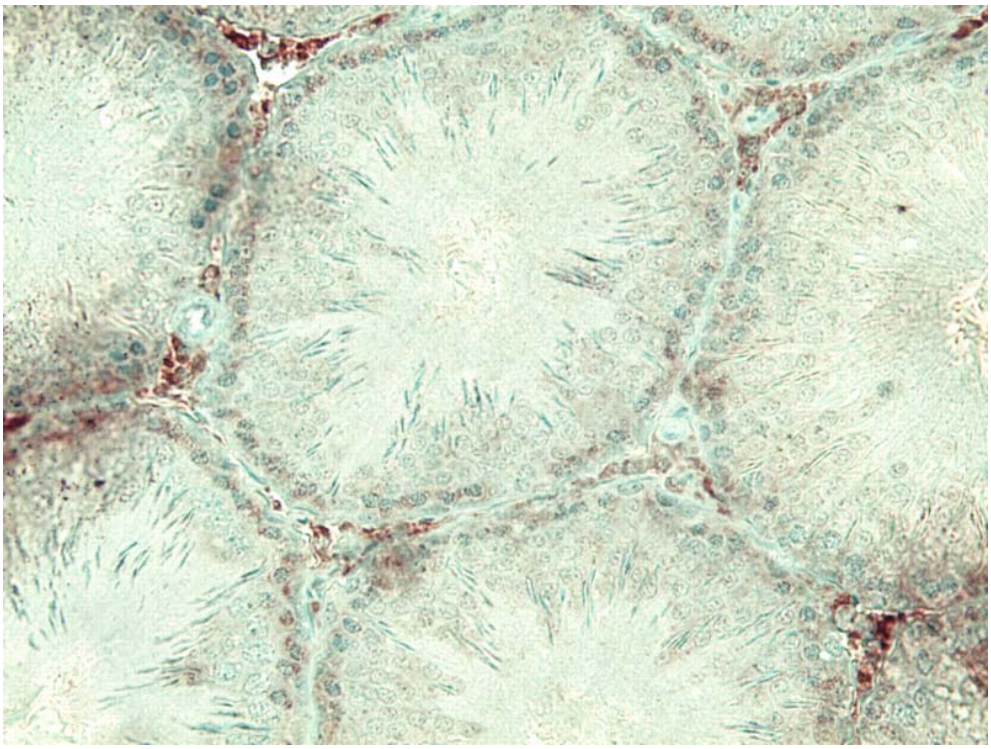
Şekil 4. 168. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



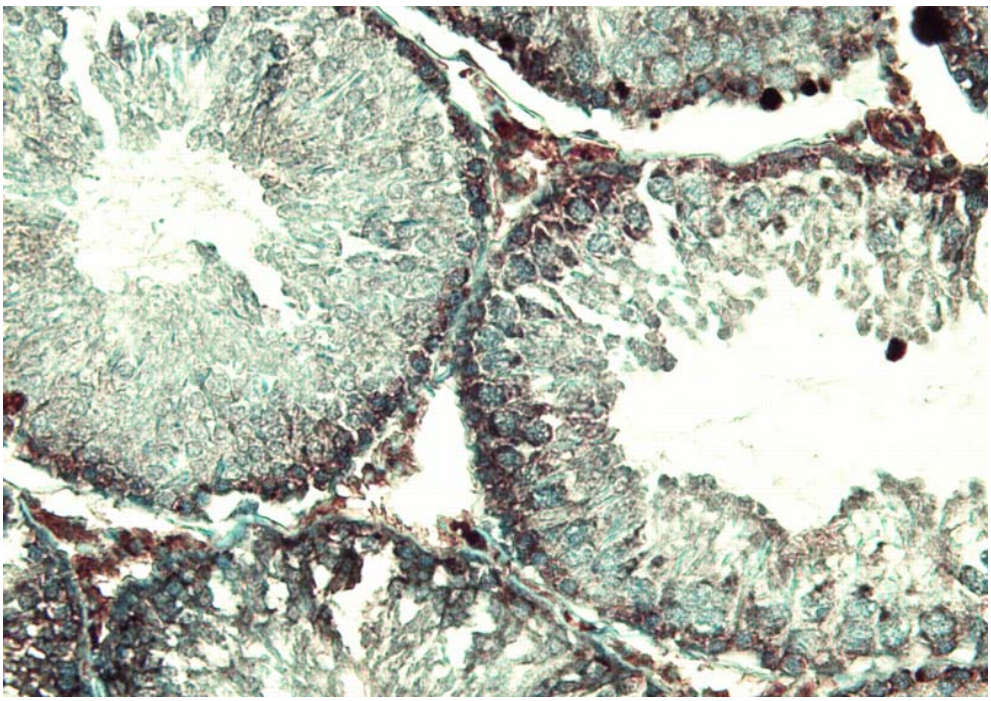
Şekil 4. 169. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



Şekil 4. 170. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



Şekil 4. 171. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)



Şekil 4. 172. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesi. (x200)

4.7. Sperm Analiz Sonuçları

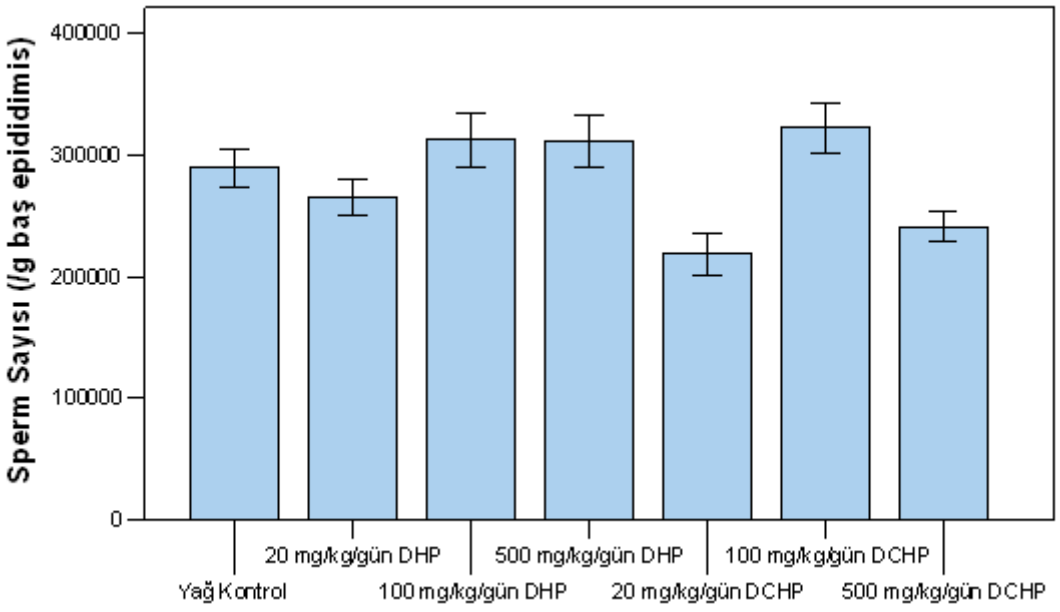
Prenatal dönemde DHP ve DCHP uygulamasının sperm üretimi ve kalitesi üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile kontrol ve uygulama gruplarındaki ergin erkek bireylerin sperm sayımları ve bu hayvanlardan elde edilen spermlerin morfolojileri incelenmiştir. Sperm sayısı kaput epididimis başına Çizelge 4.7'de verilmiştir. Aynı zamanda sperm sayım verileri grafik olarak Şekil 4.173'de verilmiştir. Buna göre sperm sayısında yağ kontrol ve uygulama grupları arasında fark gözlenmemiştir. Normal ve anormal sperm sayım verileri ise grafik olarak Şekil 4.174'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre normal sperm yüzdesinin yağ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulama yapılan gruplarda önemli derecede düşerken, anormal sperm yüzdelerinin arttığı tespit edilmiştir. Anormal spermler belirlenirken baş, boyun ve kuyruk bölgesinde anomali içeren spermler sınıflandırılmıştır ve Şekil 4.175'de grafik olarak verilmiştir. Boyun defektine sahip sperm yüzdesine bakıldığında uygulama gruplarında yağ kontrole göre artış tespit edilmemişken baş defektli sperm yüzdesinde 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda yağ kontrole göre artış görülmüştür. Kuyruk defektli sperm yüzdesine bakıldığında DHP uygulama gruplarında ve 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubunda yağ kontrole göre arttığı saptanmıştır. Yağ kontrol gruplarında bulunan normal spermler Şekil 4.176'de verilmiştir. Buna karşılık Şekil 4.177-182'de uygulama gruplarında tespit edilen anormal spermler resimlenmiştir. Bu spermler arasında kıvrık kuyruğa sahip spermler, kamçı kuyruğa sahip spermler, boyun kısmından geriye dönük başa sahip spermler, kuyruksuz baş ve başsız kuyruğa sahip spermler, anormal şekilli, küçük başa sahip spermler gösterilmiştir.

Çizelge 4. 7. Yağ kontrol ve uygulama gruplarındaki ergin erkek sıçanlara ait sperm sayım değerleri

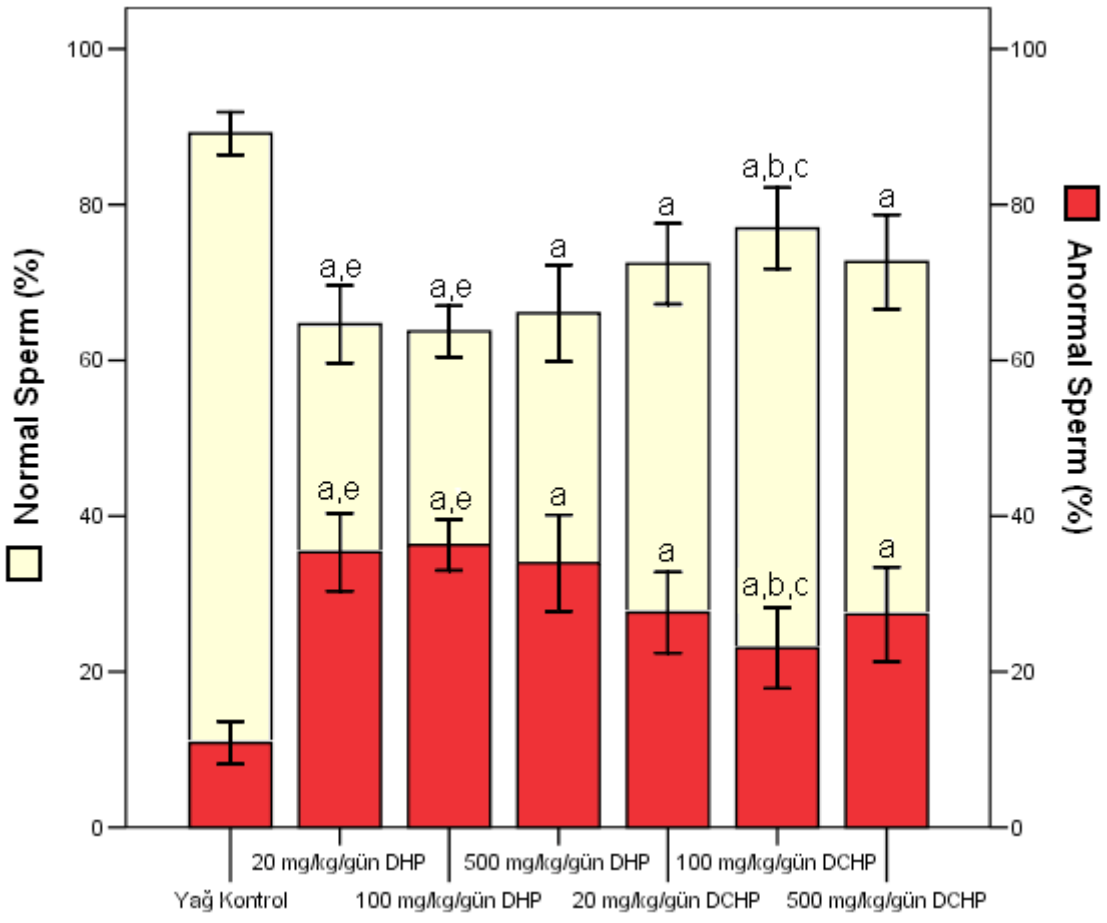
	Yağ kontrol	20 mg/kg/gün DHP	100 mg/kg/gün DHP	500 mg/kg/gün DHP	20 mg/kg/gün DCHP	100 mg/kg/gün DCHP	500 mg/kg/gün DCHP
n	10	10	10	8	10	10	10
Vücut Ağırlığı(g)	256 ± 10,5	256 ± 7,4	261 ± 5,5	265 ± 7,1	247 ± 10,6	260 ± 6,3	267 ± 6,3
Kaput epididimis (g)	0,22 ± 0,011	0,21 ± 0,008	0,25 ± 0,011	0,25 ± 0,013	0,25 ± 0,007 [b]	0,22 ± 0,005 [e]	0,22 ± 0,013
Sperm sayısı (10^{-5}/g baş epididimis	2,89 ± 0,215	2,66 ± 0,208	3,12 ± 0,311	3,11 ± 0,301	2,18 ± 0,235	3,22 ± 0,294	2,41 ± 0,169
Normal sperm (%)	89,1 ± 1,12	64,6 ± 2,21 [a,e]	63,7 ± 1,45 [a,e]	66,1 ± 2,62 [a]	72,4 ± 2,19 [a]	77,0 ± 2,30 [a,b,c]	72,6 ± 2,69 [a]
Anormal sperm (%)	10,9 ± 1,12	35,4 ± 2,20 [a,e]	36,3 ± 1,45 [a,e]	34,0 ± 2,62 [a]	27,6 ± 2,19 [a]	23,0 ± 2,30 [a,b,c]	27,4 ± 2,69 [a]

n Deneyde kullanılan hayvan sayısı

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$

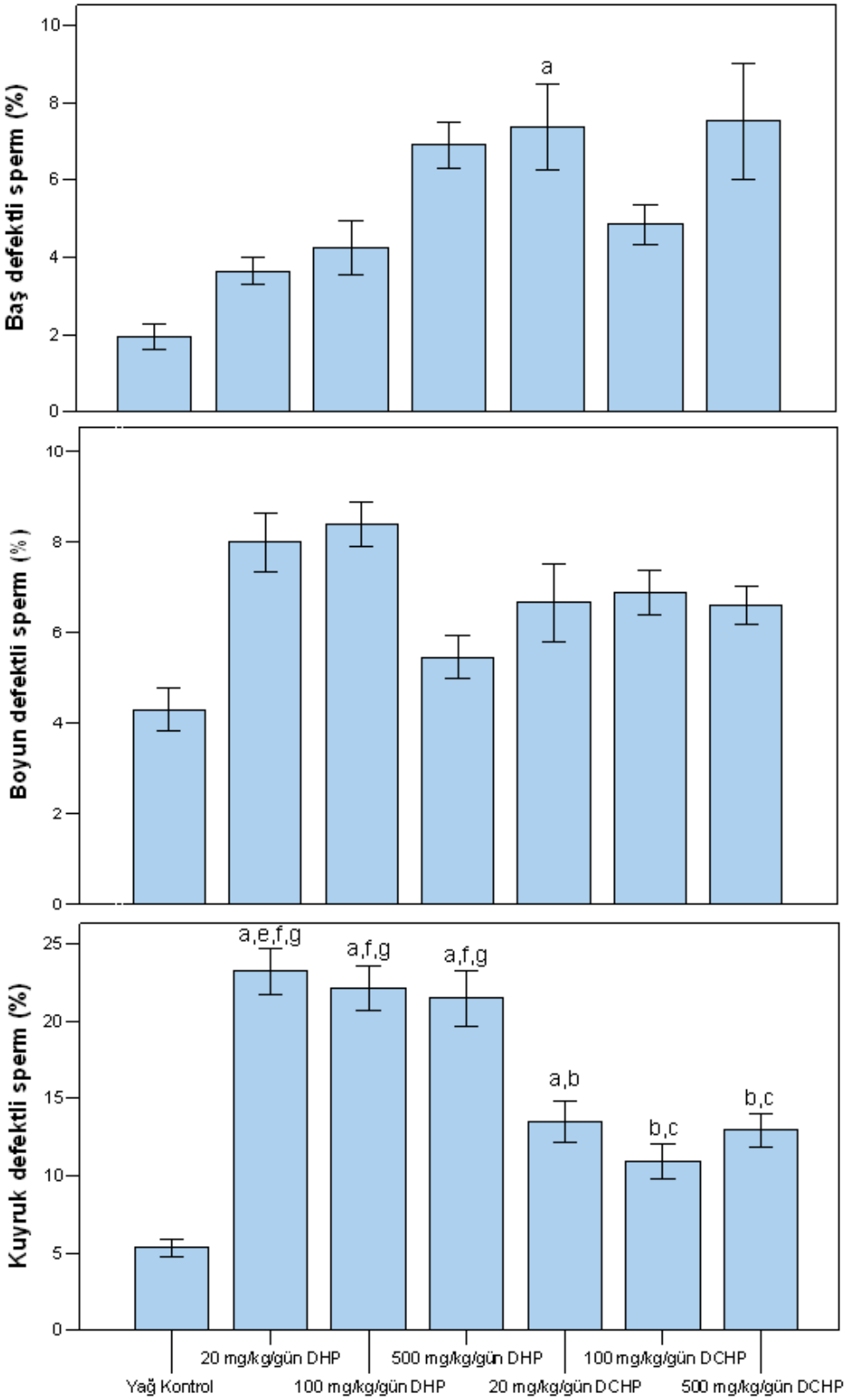


Şekil 4. 173. Ergin erkek sıçanlara ait sperm sayım verileri



Şekil 4. 174. Ergin erkek sıçanlara ait normal ve anormal sperm yüzdeleri

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı.



Şekil 4. 175. Ergin erkek sıçanlara ait baş, boyun ve kuyruk defektli sperm yüzdeleri.

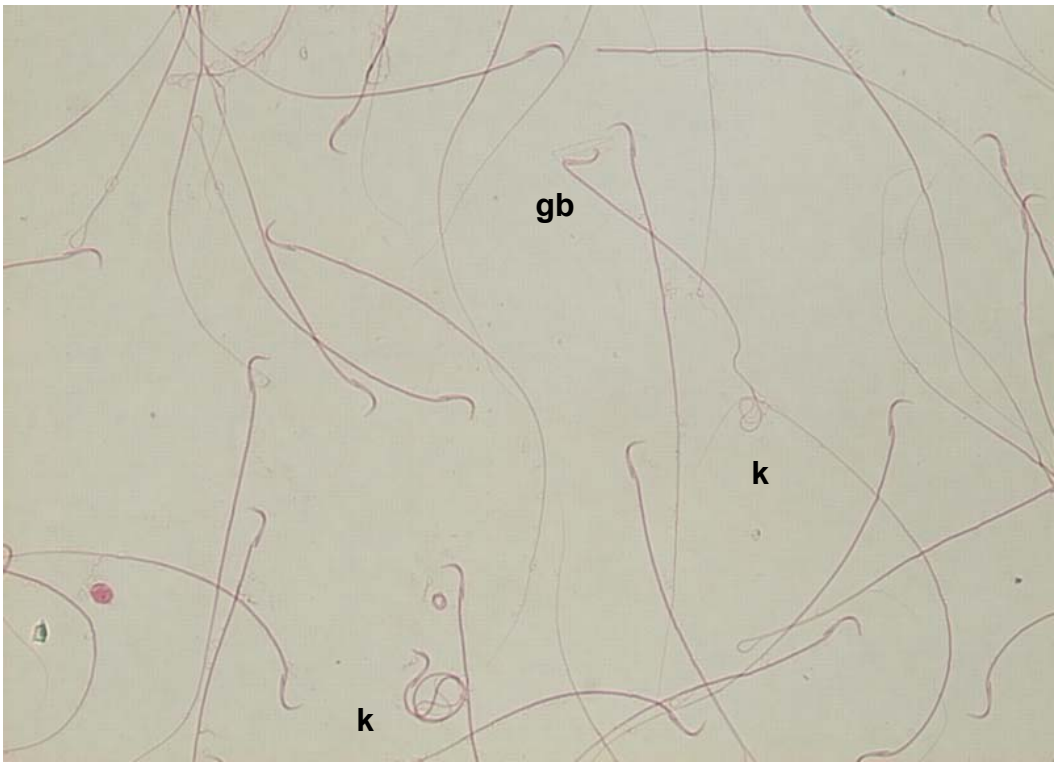
[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı.



Şekil 4. 176. Yağ kontrol grubundaki ergin erkek sıçanlarda normal spermlerin görünümü. (Eosin Y boyama, X200)



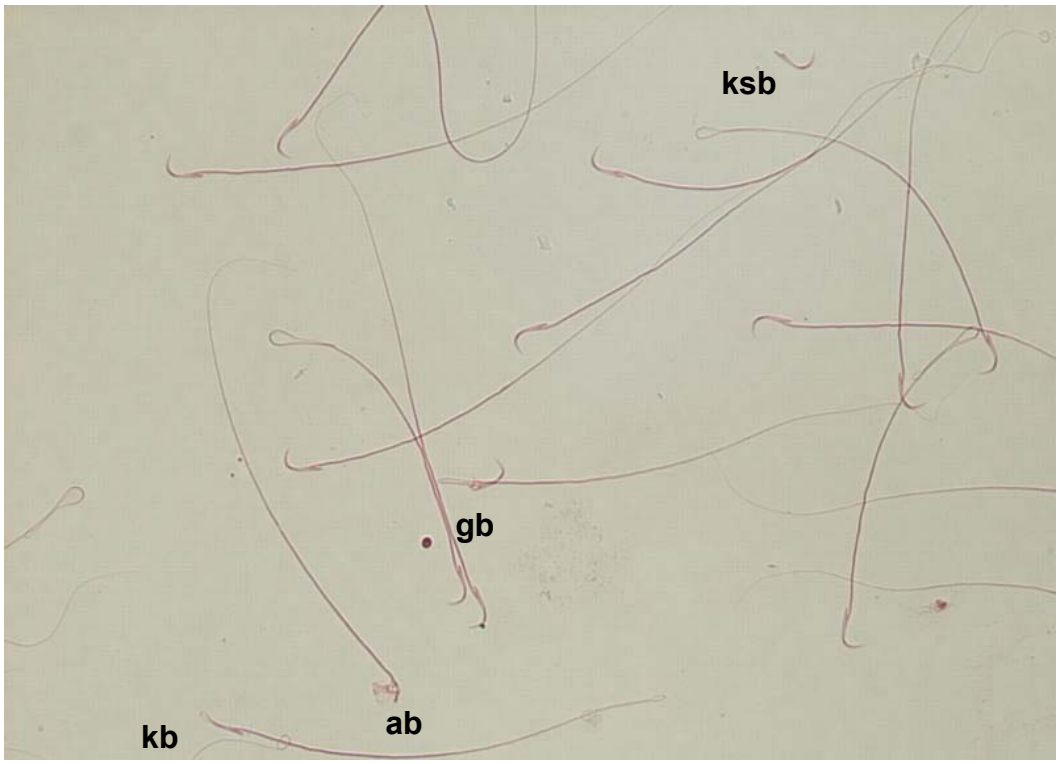
Şekil 4. 177. 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve kamçı kuyruk (kk). (Eosin Y boyama, X200)



Şekil 4. 178. 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200)



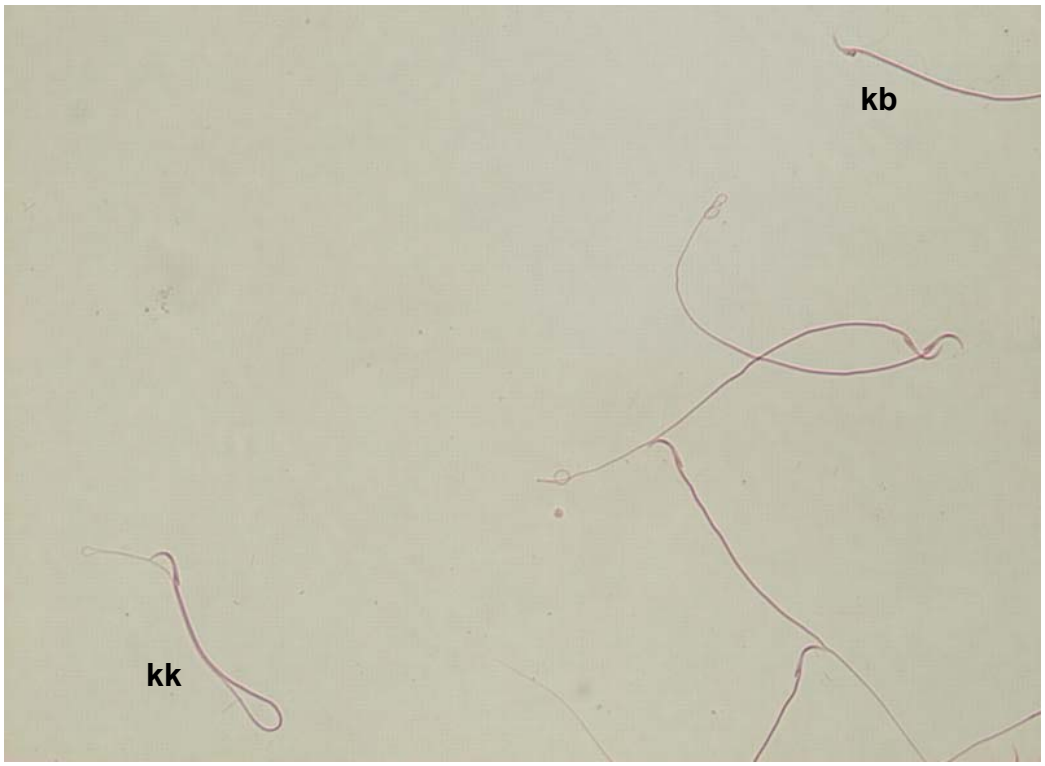
Şekil 4. 179. 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Kıvrık kuyruk (k) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200)



Şekil 4. 180. 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Küçük baş (kb), anormal şekilli baş (ab), kuyruksuz baş (ksb) ve geriye dönük baş (gb). (Eosin Y boyama, X200)



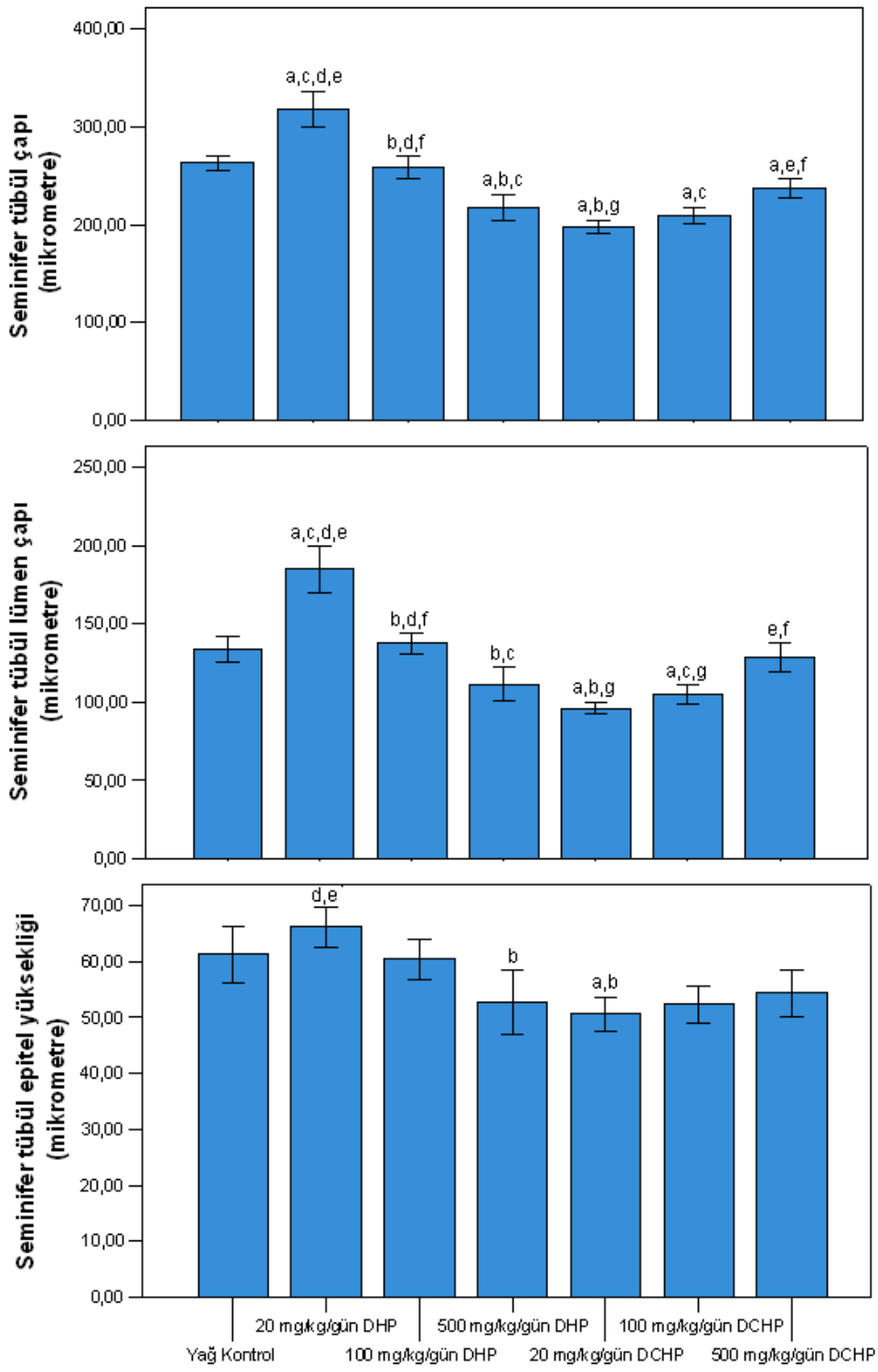
Şekil 4. 181. 100 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Anormal şekilli baş (ab) ve başsız kuyruk (bsk). (Eosin Y boyama, X200)



Şekil 4. 182. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki ergin erkek sıçanlara ait anormal spermler: Küçük baş (kb) ve kamçı kuyruk (kk). (Eosin Y boyama, X200)

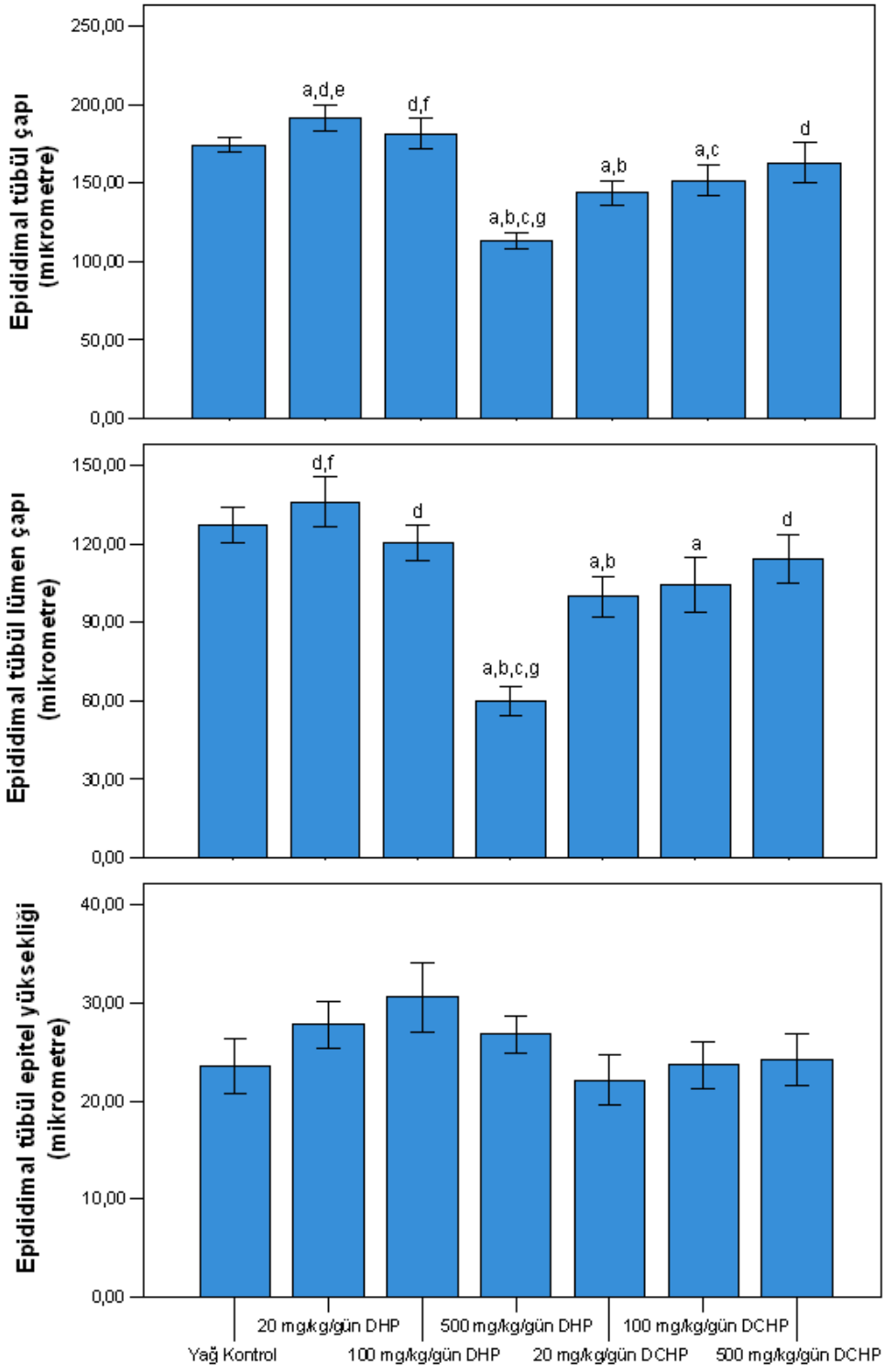
4.8. Seminifer ve Epididimis Tübül Ölçüm Sonuçları

Prenatal dönemde DHP ve DCHP uygulamasının seminifer ve epididimal tübül çapı, tübül lümeni ve epiteli üzerine etkilerini gözlemek amacı ile bu tübüller mikroskopta ölçülmüştür. Elde edilen veriler grafik olarak Şekil 4.183'de ve Şekil 4.184'de verilmiştir. Buna göre testiste seminifer tübül çapı ve lümen çapı 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrol, 100 ve 500 mg/kg/gün DHP ve 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grupları ile karşılaştırıldığında önemli derecede artmış olduğu görülmüştür. 500 mg/kg/gün DHP, 20 ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarındaki seminifer tübül çapları ise yağ kontrole göre önemli derecede azalmıştır. 500 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki seminifer tübül çapının yağ kontrole göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. DHP uygulama gruplarındaki seminifer tübül ve lümen çapları doza bağlı olarak azalırken DCHP uygulama gruplarındaki seminifer tübül ve lümen çapları doza bağlı olarak artmıştır. Seminifer tübüllerdeki germinal epitel yüksekliğine bakıldığında, 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki epitel yüksekliği yağ kontrole göre azalmıştır. Epididimiste bulunan yuvarlak tübüllerin çaplarına bakıldığında, 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki çapın yağ kontrole göre arttığı gözlenmiştir. Epididimal tübül ve lümen çapları 500 mg/kg/gün DHP, 20 ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. DHP uygulama gruplarındaki epididimal tübül çapı ve lümen çapı doza bağlı olarak azalırken DCHP uygulama gruplarındaki seminifer tübül çapları doza bağlı olarak artmıştır. Epididimiste bulunan yuvarlak tübülleri döşeyen epitel yüksekliğinde, gruplar arasında fark gözlenmemiştir.



Şekil 4. 183. Ergin erkek sıçanlarda seminifer tübül ve lümen çapı, epitel yüksekliği ölçüm sonuçları

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı.



Şekil 4. 184. Ergin erkek sıçanlarda epididimal tübül ve lümen çapı, epitel yüksekliği ölçüm sonuçları

[a] Yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [b] 20 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [c] 100 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [d] 500 mg/kg/gün DHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [e] 20 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$; [f] 100 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı, $p<0,05$ [g] 500 mg/kg/gün DCHP grubundan istatistiksel olarak farklı.

5. TARTIŞMA

İnsanoğlunun ürettiği kimyasal maddelerin (ksenobiyotiklerin) insan üreme sağlığını olumsuz olarak etkileyebileceği konusuna yıllardır dikkat çekilmeye çalışılmaktadır. Bu konuyla ilgili olarak kimyasal bileşikler, ilaçlar, uçucu solventler ve çevresel kirleticilerin östrojen ve androjenler gibi steroid hormonları antogonize edebileceklerine veya bu hormonlar gibi davrandıklarına dair pek çok çalışma mevcuttur. Bu bileşikler ksenoöstrojenler olarak adlandırılmaktadır. Bu ksenoöstrojenler, pestisitler (p.p'DDE, o.p'DDT, endosülfan gibi), boyalar (fenol red gibi) veya plastik materyaller (fitalatlar gibi) son derece yaygın olarak kullanılan kimyasallardır (Çok ve Öztok, 2003).

Çevresel kimyasalların son yıllarda giderek artan kullanımları sonucu, insan ve doğal populasyonlarda üreme organlarının anormal gelişimi ve üreme bozukluklarının oluşum sıklığında artışın olduğu ileri sürülmektedir (Carlsen, 1992). Çevresel kirleticiler memeli hücreleri üzerinde toksik ve östrojenik etkiler göstermekte, özellikle, fötal dönemde fazla miktarda östrojenik bileşiklere maruziyetin önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (Toppari ve ark., 1996). Üreme organları, organların gelişimi ve eşeysel farklılaşmanın olduğu fötal yaşam boyunca, östrojenik yapıdaki bu bileşiklere karşı yüksek derecede hassastır (Hong ve ark., 2003).

Sentetik ve doğal yolla oluşan kimyasallara maruz kalmanın endokrin sistem üzerinde bozucu ya da yıkıcı olası zararlı sonuçları hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (Sharpe ve ark., 1993). Üreme toksikantları ile ilişkili olarak ortaya çıkan testis kanseri, kriptorşidizm, hipospadias, sperm sayısında azalma ve pubertede gecikme gibi üreme bozuklukları fötal ve ergin dönemde ortaya çıkabilmektedir. Bu bozuklukların tümü testiküler disgenez sendromu (TDS) olarak adlandırılmaktadır. TDS genetik ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak meydana gelebilir. TDS'nin muhtemel sebebinin, fötal dönemde erkek eşey farklılaşması boyunca normal Sertoli ve Leydig hücrelerinin fonksiyonlarında meydana gelen bozulmaların olduğu ileri sürülmektedir (Skakkebæk ve ark., 2001; Hu ve ark., 2009). TDS'ye bağlı ortaya çıkan Leydig hücre fonksiyonlarındaki azalma sonucu hipospadias ve kriptorşidizm gelişirken, Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarındaki bozukluk sonucu ise testiküler kanser ve semen kalitesinde azalma görülebilir (Skakkebæk ve ark., 2001; Weber ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda fitalatların

TDS'ye neden olduğu ileri sürülmektedir (Skakkebæk ve ark., 2001; Foster ve ark., 2001; Hu ve ark., 2009). Fitalatların indüklediği TDS Sertoli hücre sitolojisindeki bozukluk nedeniyle, T üretimi Leydig ve Sertoli hücreleri arasındaki disfonksiyonel etkileşimin bir sonucu olarak bozulabilmektedir (Mahood ve ark., 2005; Ge ve ark., 2007).

Bu çalışmada, üreme organlarının ve eşeysel farklılığın meydana geldiği fötal dönemde DCHP ve DHP'ye maruziyetin erkek üreme sistemi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu nedenle fötal dönemde DCHP ve DHP'ye maruz kalmış sıçanlar, fötal (doğum öncesi 20. gün), puberte öncesi (doğum sonrası 20. gün), pubertal (doğum sonrası 32. gün) ve ergin (3 aylık) dönem olmak üzere erkek sıçanlar gruplandırılmıştır. Bu şekilde bir sınıflandırma ile büyüme, gelişme ve erginleşme süreçlerinde meydana gelebilecek etkilerin tespit edilebilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle testis, prostat, seminal vezikül ve epididimis dokuları histopatolojik olarak incelenmiş, sperm sayımı yapılmış ve anormal sperm yüzdeleri belirlenmiştir. Organ ağırlıkları (testis, prostat, seminal vezikül ve epididimis) ve organ/vücut ağırlık oranları da organ toksisitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Bunların yanında gelişim sürecinde önemli etkilere sahip olan hormonların analizleri de yapılarak seviyeleri belirlenmiştir.

Saillenfait ve ark. (2009a)'nın yaptıkları çalışmada, DHP ve DCHP'ın gelişimsel toksik potansiyellerini belirlemek amacı ile sıçanlara 0, 250, 500 ve 750 mg/kg/gün DHP ve DCHP gebeliğin 6-20 günleri arasında gavaj olarak uygulanmıştır. Yapılan çalışmada DHP'nin maternal ağırlık, yem ve su alınımı üzerine etkisinin olmadığı, buna karşılık 500 ve 750 mg/kg/gün DCHP'nin maternal ağırlık artışında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ise kontrol ve uygulama gruplarında yer alan gebe sıçanlara ait ağırlık artışı, besin ve su tüketim verilerine bakıldığında ağırlık artışı, besin ve su tüketimlerinin uygulama gruplarında kontrolden farklı olmadığı görülmüştür. Hayvan çalışmalarında bir maddenin embriyo üzerindeki etkisinin doğrudan mı yoksa dolaylı mı olduğunu ayırt etmek zordur. Birçok durumda gelişimsel toksisite, maternal toksisiteye maruz kalma sonucu sekonder olarak ortaya çıkmaktadır (Chahoud ve ark., 1999). Bu nedenle bu çalışmada fötuslarda oluşan herhangi bir anormalliğin, annenin yetersiz besin ve su alınımından kaynaklanmadığı söylenebilir.

Fötal verilere bakılınca implantasyon sayısı, doğan yavru sayısı, erkek ve dişi yavru sayıları, erkek/dişi yavru oranında gruplar arasında fark tespit edilmemiştir. Buna karşılık rezorbsiyonlu döl sayısına bakıldığında hemen hemen tüm uygulama gruplarında artış olduğu saptanmıştır. Ayrıca gruplarda tek batında görülen rezorbsiyon yüzdesinin tüm uygulama gruplarında artış gösterdiği, bu artışın DCHP uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir. Uygulama gruplarında rezorbsiyon oranındaki bu artış, DHP ve DCHP'nin fötus gelişimi üzerindeki embriyotoksik etkisine dayandırılabilir.

Erkek yavru ağırlıkları düşük ve orta doz DHP uygulama gruplarında yağ kontrolden önemli derecede azalırken yüksek doz DHP, düşük ve orta doz DCHP uygulama gruplarında yağ kontrolden önemli derecede arttığı görülmüştür. Düşük doz gruplarındaki erkek yavru ağırlıklarının yağ kontrolden düşük olması, bu gruplardaki rezorbsiyon yüzdesinin düşük olması ile implantasyon sayısının yüksek olmasından kaynaklanabilir. Rezorbsiyon oranının düşük olması, canlı yavru sayısının yüksek olmasına, bu da her yavruya düşen besin miktarının azalmasına neden olmaktadır. Yani beslenen canlı yavru sayısının artması yavru ağırlığının azalmasına yol açmaktadır. Aynı şekilde, rezorbsiyon yüzdesinin yüksek olduğu gruplarda da erkek yavru ağırlığının da yüksek olduğu tespit edilmiştir.

T ve dihidrotestosteron erkek fenotipinin oluşturulmasını sağlayan önemli androjenlerdir (Jost ve ark., 1973). İnsanlarda, yüksek miktarda fitalata maruz kalmış annelerin çocuklarında anogenital aralığın kısaldığı gösterilmiştir (Swan ve ark., 2005; Swan, 2006). Anogenital aralık, dış genital bölgenin farklılaşmasını gösteren gelişimsel bir işarettir ve genellikle kemirgenlerde eşey farklılaşmasının hormonal olarak duyarlı bir parametresi olarak kullanılmaktadır (Rhees ve ark., 1997b). Yamasaki ve ark. (2009), sıçanlara 0, 20, 100 ve 500 mg/kg/gün DCHP'yi gebeliğin 6-20 günleri arasında gavaj olarak uygulamışlar. Yapılan çalışmada sadece yüksek doz DCHP uygulanan grupta anogenital aralığın azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da anogenital aralık ölçülerek DHP ve DCHP'nin dış eşey karakteri üzerindeki etkisine bakılmıştır. Buna göre erkek yavrulara ait anogenital aralık uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. Bu değer vücut ağırlığına oranlandığında yüksek doz DHP ve tüm DCHP gruplarında yağ kontrole göre azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle fitalatların

erkek ve dişi anogenital aralıkta önemli düşüşlere neden olduğu gösterilmiştir (Rhees ve ark., 1997b; Borch ve ark., 2004). Saillenfait ve ark. (2009a)'nın yaptıkları çalışmada da, DHP ve DCHP'nin anogenital aralığın azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada bu parametrenin uygulama gruplarında azalıyor olması bu maddenin erkek dış genital bölgesinde dişileşmeye neden olabileceğini düşündürmektedir.

Anogenital aralığın gelişimi androjen bağımlıdır ve bu aralığın azalması fötal dönemde T yetersizliğinden kaynaklanmaktadır (Borch ve ark., 2004). Anogenital aralığın azalması özellikle prenatal dönemde anti-androjenik fitalatlara maruziyet sonucunda oluştuğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Gray ve ark., 2000; Ema ve Miyawaki, 2002; Ema ve ark., 2003; Borch ve ark., 2004; Swan ve ark., 2005; Jarfelt ve ark., 2005; Swan, 2006; Andrade ve ark., 2006a; Scott ve ark., 2007). Bu nedenle bu çalışmada uygulanan fitalatların da anti-androjenik etki gösterdiği söylenebilir. Anogenital aralığın DHP ve DCHP uygulanan tüm gruplarda düşmüş olmasına rağmen, bu değer vücut ağırlığı ile oranlandığında tüm DCHP uygulama gruplarında ve sadece yüksek doz DHP uygulama grubunda düştüğü görülmüştür. Bu nedenle DCHP'nin DHP'ye göre daha güçlü bir anti-androjenik madde olduğu söylenebilir. Saillenfait ve ark. (2009)'nın yaptıkları çalışmada da, DCHP'nin anogenital aralık üzerindeki etkisine bakılarak anti-androjenik olduğu belirtilmiştir.

Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis ağırlıklarında gruplar arasında orta doz DCHP uygulama grubu hariç fark gözlenmemiştir. Bu gruptaki testiküler artıştaki fark, göreli testis ağırlığına bakıldığında ortadan kalkmakta ve vücut ağırlığının fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Pubertal erkek sıçanlarda orta ve yüksek doz DHP ve DCHP uygulama gruplarındaki testis ağırlığında ve göreli ağırlığında meydana gelen düşme bu gruplarda testis histopatolojisinde görülen atrofik tübüllerden ve atılan spermatojenik hücrelerden kaynaklanabilir. Epididimal ağırlıkların da düşmüş olması bu organdaki atrofi ve tübüler çaptaki azalmadan kaynaklanmaktadır. Ergin dönemdeki erkek sıçanlarda testis ağırlıklarında azalma gözlenirken göreli ağırlıklarında fark gözlenmemiştir.

Prenatal dönemdeki erkek sıçanların T seviyeleri düşük doz DCHP uygulama grubu dışındaki tüm uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmıştır. Çeşitli çalışmalarla anti-androjenik oldukları belirlenen fitalatlara prenatal dönemde maruziyet sonucu erkek fötusların T değerlerinin düştüğü gösterilmiştir (Mylchreest ve ark., 1998; Mylchreest ve ark., 2000; Parks ve ark., 2000; Ema ve ark., 2003; Carruthers ve ark., 2005). Bu çalışmada da DHP ve DCHP prenatal dönemde uygulandıklarında fötal T seviyesinin düşmesine neden olmuştur.

Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların T seviyesinin yüksek doz DHP ve orta doz DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı görülmektedir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların serum T seviyesinin düşük ve yüksek doz DHP ve DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol grubundan önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Hoshino ve ark. (2005)'nın yaptıkları iki nesil üreme toksisitesi çalışmasında fötal dönemde 0, 240, 1200 ve 6000 ppm DCHP uygulanan erkek sıçanlarda ergin dönemde T seviyesinde artış gözlenirken bu artışın sadece 1200 ppm DCHP uygulama grubunda önemli olduğu tespit edilmiştir. LH ve FSH seviyelerinde ise önemli bir fark görülmemiştir. Yapılan bu çalışmada ise ergin dönemdeki erkek sıçanların serum T miktarında uygulama gruplarında yağ kontrole göre farklılık tespit edilmemiştir. Prenatal dönemde fitalat uygulaması, fötal T üretimini belirgin bir şekilde düşürse de ergin dönemde T üretimi üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı bilinmektedir (Gray ve ark., 2000). Bu nedenle prenatal dönemde uygulanan DHP ve DCHP'nin T üretimi üzerindeki etkisinin ergin dönemde ortadan kalktığını söyleyebiliriz. Andrade ve ark. (2006b)'nın yaptıkları çalışmada, *in utero* ve laktasyonel dönemde DEHP düşük doz (0,015, 0,045, 0,135, 0,405 ve 1,215 mg/kg/gün) ve yüksek dozda (5, 15, 45, 135 ve 405 mg/kg/gün) sıçanlara uygulandığında ergin dönemde T miktarının 0,045, 0,405 ve 405 mg/kg/gün DEHP uygulanan grupta artış olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada T seviyesinin ve elde edilen diğer verilerin doza bağlı olarak artmadığı görülmüştür (Andrade ve ark., 2006b). Bu çalışmada da DHP ve DCHP'nin etkisinin T üzerinde prenatal dönem dışında doza bağlı olarak artma ya da azalma gösterdiği tespit edilmemiştir.

Prenatal MIS/AMH hormon seviyelerinin bu dönemdeki erkek yavrularda düşük doz DCHP uygulama grubu hariç tüm uygulama gruplarında yağ kontrole göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. MIS/AMH, seminifer tübüllerde bulunan

Sertoli hücrelerinden salınmaktadır. Bu hormon ile dişi üreme kanallarının gerilemesi sağlanır ve yaşla birlikte bu hormonun salınması da azalır (Sharpe ve ark., 2003). Scott ve ark. (2007), fötal T seviyesinin androjen reseptörü olmayan (ARKO) farelerde Sertoli hücre sayısı üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada ARKO ve feminize testise sahip farelerde düşük fötal T seviyesinin giant hücre oluşumuna, Leydig hücre kümelenmesine ve Sertoli hücre sayısının azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Fötal yaşam boyunca germ hücrelerinde ve Sertoli hücrelerinde androjen reseptörü olmamasından dolayı DBP ile uyarılan bu hücrelerdeki değişikliklerin doğrudan olmayan bir mekanizma ile oluşturulduğu sonucuna varılmıştır. Mylchreest ve ark. (1998)'nın yaptıkları çalışmada hormon analizi yapılmamasına karşın erkek yavrularda dişi üreme sistemi ile ilgili herhangi bir kalıntının olmamasını Sertoli hücrelerinden yeterli miktarda MIS/AMH salgılandığı sonucuna varılmıştır. Fötal dönemde bu hormon seviyesinin yağ kontrole göre uygulama gruplarında az olması Sertoli hücre gelişiminin ve çoğalmasının gerilediğini göstermektedir. Yapılan bu çalışmada da Müller kanalı kalıntılarına rastlanmamıştır. Bu nedenle Sertoli hücrelerinden salgılanan MIS/AMH hormon seviyesinin uygulama gruplarında düşmesine rağmen Müller kanalının gerilemesini sağlayacak kadar yeterli olduğunu göstermektedir.

Puberte öncesi erkek sıçanlarda MIS/AMH seviyeleri düşük ve yüksek DHP ve DCHP uygulama gruplarında yağ kontrolden belirgin bir derecede artmıştır. Orta doz DHP ve DCHP gruplarında ise bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Doğum sonrası dönemde MIS/AMH'ın serumdaki miktarı Sertoli hücrelerinin maturasyonu ile ilişkilidir ve MIS/AMH sadece olgunlaşmamış Sertoli hücrelerince salgılanmaktadır. Sertoli hücreleri de spermatogenezin düzgün gerçekleşmesini sağlayan önemli bir hücredir (Sharpe ve ark., 2003). Puberte başlangıcı ile birlikte bu hormonun salgılanması da azalmaktadır (Pierik ve ark., 2003). Puberte öncesi dönemde serumda fazla miktarda MIS/AMH bulunması Sertoli hücrelerinin olgunlaşmasının geciktiğine işarettir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanlarda düşük doz DHP ve orta doz DCHP uygulama gruplarında MIS/AMH seviyesi yağ kontrol grubuna göre azalmıştır. Ergin sıçanlarda 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrolden ve diğer DHP gruplarından önemli derecede arttığı görülmüştür. Yapılan bu çalışma ile her iki maddenin de Sertoli hücre olgunlaşmasında gecikmeye neden olduğu söylenebilir.

Sertoli hücrelerinden salgılanan bir diğer hormon ise inhibin B'dir. Hipotalamus-hipofiz-testis ekseninde bu hormon LH ve FSH üretimini bloke ederek spermatogenez hızını düzenler. Ayrıca prepubertal dönemde bu hormon seviyesinin gelecekte erkek infertilitesini belirleyebilen Sertoli hücrelerinin bütünlüğünü ve sayısını gösteren önemli bir belirteç olduğu düşünülmektedir (Pierik ve ark., 2003). Bu çalışmada inhibin B seviyesinin tüm uygulama gruplarındaki prenatal erkek yavrularda yağ kontrole göre arttığı görülmüştür. Bu dönemde uygulama gruplarında FSH hormon seviyesi de azalmış olan T seviyesini artırmak için uygulama gruplarında artmıştır. İnhibin B ise FSH seviyesini düşürmek için yükselmiş olabilir. Fakat bir taraftan da T miktarındaki düşüş FSH üretimini tetiklemektedir. Dolayısıyla hipofiz-testis hormon ekseninin bozulduğu söylenebilir. Puberte öncesi dönemde inhibin B pik yapmaktadır (Majdic ve ark., 1997; Andersson ve ark.,1998; Meachem ve ark., 2001). Yapılan bu çalışmada ise puberte öncesi erkek sıçanlarda düşük ve yüksek doz DHP ve DCHP uygulama gruplarında inhibin B seviyesinin yağ kontrole göre azaldığı görülmüştür. Sertoli hücrelerinin gelişimindeki gerilik veya sayısında azalma doğum sonrasında inhibin B salgılanmasındaki azalma ile de kendini göstermektedir. İnhibin B hormon seviyesi pubertal sıçanlarda yüksek doz DHP uygulama grubunda yağ kontrolden önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir. Serum inhibin B seviyeleri ergin sıçanlarda ise orta ve yüksek doz DCHP uygulama gruplarında yağ kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede azalmış olduğu görülmektedir. MIS/AMH ve inhibin B hormonları, özellikle Sertoli hücrelerinin olgunlaştığını ve özelleştiğini göstermektedirler. Buna göre bu çalışmada serum MIS/AMH seviyesinin artmış olması ve inhibin B miktarındaki azalma Sertoli hücrelerinin yeterince olgunlaşmadığını ve sayısının yeterli olmadığını açıkça göstermektedir.

FSH hormon seviyelerinin prenatal dönemdeki erkek sıçanlarda düşük doz DHP, düşük ve orta doz DCHP uygulama gruplarında yağ kontrole göre arttığı görülmüştür. FSH'daki bu artış azalmış olan T seviyesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmanın sonuçlarından prenatal dönemde uygulanan DHP ve DCHP'nin testis dokusunun histolojisi üzerindeki etkilerine bakıldığında, bu iki maddenin de sıçan testisinin fötal gelişim döneminde olumsuz etkilere neden olduğu söylenebilir. Yağ kontrol grubundaki prenatal testis dokusunun normal

görünümde, seminifer tübül yapısının gelişmiş olduğu ve Leydig hücrelerinin düzgün dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşılık düşük doz DHP uygulama grubunda bulunan sıçanların testis dokularına bakıldığında seminifer tübül yapısının kısmen oluştuğu gözlenmiştir. Orta ve yüksek doz DHP uygulama grubundaki prenatal sıçanların testis dokusunda ise yine seminifer tübüllerin gelişmesinde gecikme ile birlikte tübüller arasında yer alan Leydig hücrelerinde kümelenme tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek doz DHP uygulama grubunda tübüller içinde giant hücrelerin olduğu gözlenmiştir. Düşük doz DCHP uygulama grubundaki prenatal erkek sıçanların testis dokularında tübüllerin geliştiğini ancak normalden daha küçük oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca tübüllerin bitişik olarak geliştiği gözlenmiştir. Orta doz DCHP uygulama grubunda ise prenatal testislerde atrofik tübüller tespit edilmiştir. Ayrıca tübüller içinde bulunan hücrelerin tübül çeperi ile bağlantılarının bozulduğu ve piknotik hücrelerin olduğu gözlenmiştir. Düşük doz DCHP uygulama grubunda gözlenen birleşik tübüllere bu grupta da rastlanmıştır. Yüksek doz DCHP uygulama grubunda atrofik tübüllerin yanında Leydig hücre kümelenmesi ve bitişik tübüller tespit edilmiştir. Bazı tübüllerin sadece Sertoli hücrelerinden oluştuğu gözlenmiştir. Genel olarak uygulama gruplarında bitişik seminifer tübüllerin görülmesi bu tübüllerin anormal gelişim gösterdiğine işaret etmektedir. Anormal seminifer tübül oluşumu *in utero* DBP uygulaması sonrasında tanımlanmıştır (Fisher ve ark., 2003). Peritübüler myoid hücreler, seminifer tübüllerin dış çevresinde bulunur ve tübülleri intersistiyal alandan belirgin bir şekilde ayırır. Bu hücrelerde meydana gelen bozukluk, Sertoli hücrelerini ve gonositleri içeren anormal seminifer tübül oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca bu tübüller doğum sonrası dönemlerde daha belirgin hale gelmektedir (Fisher, 2004). Morfolojik olarak düzgün oluşmamış seminifer tübüllere, testis kanserli hastaların kolateral testislerinden alınan biopsilerde gözlenmiştir ve bu durumun TDS'nin bir özelliği olabileceği düşünülmektedir (Hoei-Hansen ve ark., 2003). Bu çalışmada da DHP ve DCHP'nin fötal dönemde seminifer tübüllerin şekillenmesinde önemli rolü olan peritübüler miyoid hücreler üzerinde olumsuz etki gösterdiği ve tübüllerin anormal şekilde gelişmesine neden olduğu sonucuna varılabilir.

DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testislerinde amorf tübüller, lümene atılan spermatojenik hücreler, yapısı bozuk

tübüller, atrofik tübüller ve Sertoli hücre vakuolizasyonunun olduğu tespit edilmiştir. DCHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda piknotik hücreler, Sertoli hücre vakuolizasyonu, artmış apoptotik hücreler, atrofik tübüller, konjesyon, lümene atılan spermatojenik hücreler tespit edilmiştir. Pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda DHP uygulama gruplarında lümensiz tübüller, atrofik ve şekilsiz tübüller, yapışık seminifer tübüller, atılan spermatojenik hücreler ve giant hücreler (hücrelerin birleşerek dev hücre oluşturması) gözlenmiştir. DCHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda giant hücreler, atrofiye uğrayan tübüller ve lümensiz tübüller gözlenmiştir. DHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında atrofik tübüller, hasarlı tübüller, Sertoli hücre vakuolizasyonu ve tübüller arasında konjesyon tespit edilmiştir. DCHP uygulama grubunda ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda tübüller arasında Leydig hücrelerinin sayısında artış, hasarlı tübüller, Sertoli hücre vakuolizasyonu ve şekilsiz, atrofik tübüller olduğu görülmüştür. Andrade ve ark. (2006b)'nın yaptıkları çalışmada da *in utero* ve laktasyonel dönemde DEHP uygulamasının atrofik seminifer tübüllere, germ tabaka sayısının azalmasına ve giant hücre oluşumuna neden olduğu görülmüştür.

Yağ kontrol ve uygulama gruplarında puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemlerdeki hayvanlara ait dokularda tespit edilen histopatolojik bulguların sıklığına bakıldığında puberte öncesi testis dokusunda atrofik tübül, atrofik ve bozulmuş tübül, atılan spermatojenik hücre ve piknotik hücre sıklığının; pubertal dönemdeki erkek sıçanların testis dokularında atrofik tübüllerin, atılan spermatojenik hücrelerin, apoptotik hücrelerin, atrofik ve bozulmuş tübüllerin, yapışık seminifer tübüllerin görülme sıklığının; ergin dönemdeki erkek sıçanların testis dokularında ise atrofik tübüllerin, Leydig hücre sayısının ve Sertoli hücre vakuolizasyonunun görülme sıklığının uygulama gruplarında artmış olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda fitalatların testiste apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Richburg ve Boekelheide, 1996; Richburg ve ark., 1999; Richburg ve ark., 2000; Park ve ark., 2002; Bhattacharya ve ark., 2005). Bhattacharya ve ark. (2005)'nın yaptıkları çalışmada 1200 mg/kg doz DEHP'yi tek doz olarak sıçanlara verdikten sonra 0, 3, 6, 9, 12, 16 ve 24. saatlerde testis dokusunu histolojik olarak

incelediklerinde apopitotik hücrelerin sayısında artış olduğunu belirtmişlerdir. Park ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, 25 günlük sıçanlara 2 g/kg/gün DEHP 1, 2, 3, 5, 7, 10 ve 14 gün boyunca uygulanmış ve testiste apoptozun oluştuğu gözlenmiştir. Apoptoz, sadece normal germ hücrelerinde değil toksik etki sonrasında normal hücrelerde de meydana gelmektedir (Wyllie, 1980; Billig ve ark., 1995). Borch ve ark. (2005)'nın yaptıkları çalışmada DEHP uygulamasının puberte öncesi ve ergin sıçanlarda seminifer tübül dejenerasyonunda önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Parks ve ark. (2000), testiste DEHP uygulama sonrası oluşan apoptozun, nekroz ile birlikte oluşan önemli bir mekanizma olduğu ve bu yüzden germ hücre kayıplarının gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Fitalatlarla yapılan çalışmalarda testiste oluşan germ hücre apoptozunun muhtemelen Fas yolu ile meydana gelmektedir ve öne sürülen mekanizmaya göre fitalatlar Sertoli hücrelerinde Fas ligand ifadesini, germ hücrelerinde ise Fas ifadesini artırmaktadır. Sertoli hücrelerinde üretilen Fas ligandının germ hücrelerindeki Fas'a bağlanması ile germ hücre ölümü başlatılmaktadır (Richburg ve ark., 1999). Aynı şekilde yapılan bu çalışmada da testiste apoptotik hücreler artmıştır. Apoptotik hücreler, DHP ve DCHP uygulama sonrasında Sertoli ve germ hücrelerinde meydana gelen bu mekanizma ile oluşmuş olabilir.

Uygulama gruplarında seminifer tübülde Sertoli hücre vakuolizasyonuna rastlanmıştır. Oluşan bu vakuolizasyonun, Sertoli hücresinde düz endoplazmik retikulumda oluşan genişlemenin bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir ve bu vakuolizasyon Sertoli hücrelerinin toksik maddelere maruziyeti sonrasında oluşan en yaygın patolojidir (Creasy, 2001; Creasy ve Foster, 2002). Fitalatların Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında genişlemeye neden olduğu ve bu nedenle vakuolizasyonun gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca, germ hücrelerindeki bozukluk, organizasyon bozukluğu ve spermatojenik hücrelerin lümene atılması yine Sertoli hücrelerindeki fonksiyonel bozukluklardan kaynaklanmaktadır (Creasy, 2001). DHP ve DCHP toksik etki göstererek Sertoli hücrelerinde hücre geçirgenliğini azalttığı ve bu nedenle bu vakuollerin oluştuğu sonucuna varılabilir. Ayrıca bu bozukluklar sonrasında tübül lümeninde giant hücre oluşumu, spermatogenez sırasında germ hücrelerinin de atılmış olması, bu etkinin çok odaklı olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra giant hücrelerinin, kriptorşit çocuklardan alınan biopsilerde görülmüştür ve bunu testiküler kanserle ilişkili olduğu belirtilmiştir

(Cortes ve ark., 2003). Fitalat esterlerin, tübül lümeninde yapısı bozulmamış spermatojenik hücrelerin atılmasına neden olduğu gösterilmiştir (Creasy ve ark., 1987). Bunun nedeni olarak Sertoli hücreleri ve germ hücreleri arasındaki bağlantı bölgelerindeki bozuklukların olduğu ileri sürülmüştür. Sobarzo ve ark. (2006), 21 günlük sıçanlara 2 mg/kg/gün DEHP'i uyguladıklarında germ hücre apoptozunda ve N-cadherin ve catenin protein ifadesinde artış gözlemişlerdir. Ayrıca germ hücreleri ile Sertoli hücreleri arasındaki bağlantıların koptuğu ve germ hücrelerinin lümene atıldığı belirtilmiştir. Sertoli-Sertoli hücre ve Sertoli hücresi-germ hücreleri arasındaki bağlantı bölgelerinde bu proteinlerin fazla ifade edilmesinin hücre adhezyon moleküllerinin düzensizleşmesine neden olduğu belirtilmiştir. Sertoli hücrelerinin bu proteinleri, germ hücrelerinin atılmasını önlemek için fazla ifade ettiği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde Sertoli-germ hücrelerinin birlikte kültüründe fitalat uygulamasının germ hücrelerinde fazla miktarda ayrılmaya neden olduğu saptanmıştır (Gray ve Gangolli, 1986; Li ve ark., 1998). Richburg ve Boekelheide (1996)'in yaptıkları çalışmada ise MEHP uygulaması Sertoli hücrelerinde bağlantılarla ilişkili vimentin ara filamentlerin germ hücre apoptozundaki son noktadan hemen önce toplandığı görülmüştür ve bunun Sertoli-germ hücreleri arasındaki bağlantıların erken dönem belirteci olduğu belirtilmiştir. Bu bağlantı proteinleri testis için önemli olan kan-testis bariyerini oluşturmaktadır ve Sertoli hücrelerini etkileyen sitotoksik ajanlar bu bağlantı proteinlerini ilk önce etkilemektedir (Fiorini ve ark., 2004). Yapılan bu çalışmada doğum öncesi DHP ve DCHP uygulaması sonrasında fötal, puberte öncesi, pubertal ve ergin sıçanlarda spermatojenik hücrelerin lümende görülmesi Sertoli hücrlerindeki bağlantı komplekslerinin bozulduğuna işaret etmektedir. Doğum sonrası dönemlerde seminifer tübüllerde spermatosit ve spermlerin görülmemesi ya da atrofik tübüllerin bulunması, germ hücrelerinin çoğalmasının ve farklılaşmasının fötal dönemde kalıcı olarak olumsuz şekilde değişmiş olduğunu göstermektedir. Ayrıca doğum sonrasında görülen anormal şekilli tübüller, daha önce belirtildiği üzere fötal dönemde peritübüler miyoid hücrelerin anormal gelişimi sonucunda oluşmaktadır ve yine bu özelliğin kalıcı olduğu söylenebilir.

Orta ve yüksek doz DHP ve tüm DCHP uygulama gruplarında puberte öncesi erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümenine atılmış spermatojenik hücrelerin olduğu görülmüştür. Ayrıca düşük doz DCHP uygulama

grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda tübül lümenine atılmış spermatojenik hücreler yanında atrofik tübüllere de rastlanmıştır. Orta doz DHP ve tüm DCHP uygulama gruplarında pubertal dönemdeki erkek sıçanların epididimis dokusunda testisten atılmış spermatojenik hücrelerin olduğu görülmüştür. DHP uygulama gruplarında ergin dönemdeki erkek sıçanların baş epididimis dokusunda atrofik tübüllerin, lümende testisten atılmış spermatojenik hücreler olduğu tespit edilmiştir. Epididimal tübül lümeninde tespit edilen spermatojenik hücrelerin görülme sıklığına bakıldığında, uygulama gruplarındaki puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemdeki erkek sıçanlarda yağ kontrole göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Epididimiste lümende bulunan germ hücreleri aynı zamanda testiküler hasarında bir göstergesidir.

Prostat, fizyolojik rolünün yanında ayrıca yaşla birlikte insanlarda anormal gelişimi ve tümor oluşumuna neden olmasından dolayı araştırmacılar tarafından ilgi çeken erkek üreme sisteminde yardımcı üreme bezidir. Günümüzde prostat kanseri, Amerika'daki erkeklerin kanserden dolayı ölümlerinden sorumlu ikinci neden olduğu tespit edilmiştir (Jemal ve ark., 2006). Uzun zamandan beri, prostat bezinde steroidler tarafından düzenlenen erken gelişim olaylarının, ergin erkeklerde hastalık riskine yatkınlığı belirleyen en önemli ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Price, 1963).

Embriyonik olarak mesodermal Wolff kanallarından gelişen diğer erkek üreme sistemine ait yardımcı bezlerin aksine, prostat bezi ürogenital sinustan köken alır ve endodermal orijinlidir. Prostatik gelişimin başlangıcı fötal testiste üretilen androjenlere bağımlıdır (Price, 1963). Normal gelişim, farklılaşma ve salgısal aktivitenin başlangıcı, gelişim boyunca androjenlerin varlığına gereksinim duymaktadır (Donjacour ve Cunha, 1995). Androjen reseptörünün doğum sonrası 1-3. günler boyunca sıçan prostat epitelinde üretilmesinden dolayı, androjen tarafından yürütülen epiteliyal uyarıların aynı zamanda prostat gelişimi ve farklılaşmasına da katkıda bulunması muhtemeldir (Prins ve Birch, 1995). Gelişen prostat bezinde aynı zamanda östrojen reseptörleri de ifade edilmektedir. Androjenlere benzer olarak dolaşıma katılan östradiol seviyeleri, hem insanlarda hem de kemirgenlerde fötal ve erken yenidoğan dönem boyunca yüksektir (Dohler ve Wuttke, 1975). Bu nedenle gelişen prostat bezi bu östrojenlere duyarlıdır. İnsanlarda üçüncü trimester boyunca maternal östrojen seviyesinin artması ile

östrojen/T oranı da yükselir. Östrojendeki bu göreli artışın, doğrudan gelişen prostattaki epitelde yassı metaplaziye neden olduğu görülmüştür. Prostatik gelişim boyunca fazla östrojene maruz kalmanın, yaşla birlikte erkek populasyonunda yüksek insidansta iyi huylu prostatik hiperplaziye ve prostatik kansere neden olduğu ileri sürülmektedir. Yüksek dozda östrojene yenidoğan dönemde maruziyeti takiben, epitel ve stromal hücrelerin hem çoğalmasında hem de farklılaşmasında hayvanların yaşamları boyunca sahip olacağı hasarlara neden olan belirgin bozukluklar meydana gelmektedir (Prins ve Birch, 1995). Bu bakımdan, epiteliyal hücre farklılaşmasındaki bozukluklar, özellikle yaşla birlikte artan prostatik intraepiteliyal neoplazi lezyonlarının en yüksek insidansına sahip ventral prostatta en belirgin olduğu dikkat çekmektedir (Prins, 1997). Östrojenlere gelişim döneminde maruziyet, daha sonraki hücre bölünmelerinde kalıtsal olarak aktarılabilen epigenetik değişikliklere yol açmaktdır. Bu başlangıçta, prostat gelişirken farklılaşma defektlerine sahip projenitör hücrelerin çoğalması ile sonuçlanır. Bu nedenle gelişen prostatta hiperplazi ve daha ciddi olarak prostatik intraepitelyal neoplazi gelişir (Prins ve ark., 2007).

Yapılan bu çalışmada DHP ve DCHP uygulama gruplarında puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda normal tübüller arasında atrofik tübüller olduğu görülmüştür, ayrıca 100 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepiteliyal neoplazi olduğu tespit edilmiştir. DHP ve DCHP uygulama gruplarında bulunan pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda prostatik intraepiteliyal neoplazi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 100 ve 500 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda pubertal dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda normal tübüller yanında atrofik tübüller de saptanmıştır. DHP ve DCHP uygulama gruplarında ergin dönemdeki erkek sıçanların prostat dokusunda tübüller arası bağ dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonuna, küçük atrofik tübüller ve tüm uygulama gruplarında prostatik intraepiteliyal neoplaziye rastlanmıştır. Uygulama gruplarındaki puberte öncesi, pubertal ve ergin dönemdeki erkek sıçanlarda prostat dokusunda atrofik tübüllerin ve prostatik intraepiteliyal neoplazi görülme sıklığının, yağ kontrole göre arttığı gözlenmiştir. DHP ve DCHP uygulama gruplarında puberte öncesi dönemden başlayıp ergin döneme kadar gittikçe artan miktarda prostatik intraepiteliyal neoplazinin

görülmesi, bu iki kimyasalın fötal dönemde östrojenik etki göstererek prostat gelişiminde olumsuz etkilere neden olduğu söylenebilir.

Prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis kesitlerinde 3β-HSD ve MIS/AMH ifadelerini görmek amacı ile immunofloresan boyama tekniği ile işaretlendiğinde her iki molekülün ifadesinde aynı kesit üzerinde uygulama gruplarında doza bağlı olarak azalma olduğu tespit edilmiştir. 3β-HSD, Leydig hücrelerinde bulunan ve T üretiminde rol alan önemli bir enzimdir. Aynı zamanda bu enzim testiste Leydig hücresini spesifik olarak göstermek için kullanılan önemli bir belirteçtir (Parks ve ark., 2000). 3β-HSD ifadesinin uygulama gruplarında azalmış olması, bu gruplardaki T seviyesinin azalmasını açıklamaktadır.

Prenatal dönemdeki erkek yavruların testislerinde immunofloresan olarak 3β-HSD ve MIS/AMH işaretlemesinin yanında bu moleküller aynı zamanda immunohistokimyasal olarak da işaretlenmiştir. Prenatal testis dokusunda 3β-HSD işaretlemesine bakıldığında, yağ kontrol grubunda bu enzim ifadesinin normal düzeyde olduğu ve Leydig hücrelerinin normal dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Uygulama gruplarında ise prenatal dönem erkek sıçanların testis dokularında Leydig hücrelerinde kümelenme ve 3β-HSD ifadesinde uygulama gruplarında kontrole göre doza bağlı olarak azalma görülmektedir. Fötal Leydig hücrelerindeki bu kümelenme, anti-androjenik olarak nitelendirilen fitalatlar ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Parks ve ark., 2000; Gray ve ark., 2000; Mahood ve ark., 2005). Fötal ve doğum sonrası dönemde Leydig hücreleri T üretiminden sorumludur. Fötal Leydig hücrelerinde T üretimi, sıçanda ilk olarak doğum öncesi 15. günde belirir, 18-19. günlerde maksimum seviyeye ulaşır ve gebeliğin geri kalan döneminde de yüksek seviyede kalır. Doğum sonrasında ise T miktarı hemen düşmektedir (Tapanainen ve ark., 1984; Huhtaniemi ve Pelliniemi, 1992). Bu süre içinde fötal Leydig hücreleri yoğun steroidojenik aktiviteye sahiptir. Yapılan bu çalışmada da DHP ve DCHP'nin Leydig hücrelerinde T sentez mekanizmasında yer alan 3β-HSD ifadesini etkileyerek hormon üretimini azalttığını söyleyebiliriz. Başka bir deyişle DHP ve DCHP'nin steroidojenik enzim inhibitörü olduğu düşünülebilir.

Mylchreest ve ark. (2002)'nın yaptıkları çalışmada fötal dönemde DBP uygulamasının Leydig hücrelerinin anormal çoğalmasına yol açtığı görülmüştür. Ayrıca Leydig hücrelerinde görülen bu anormal çoğalmanın, T yetersizliğine bağlı

olarak testiküler steroidogenezi artırmak için bir dengeleyici mekanizma olabileceğini belirtmişlerdir. Mahood ve ark. (2005)'ı yaptıkları çalışmada ise yine fötal dönemde DBP uygulanan sıçanlarda Leydig hücrelerinin fötal testis merkezinde kümelendiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar bu kümelenmenin Leydig hücre sayısının artışından kaynaklanmadığını hatta bu hücrelerin sayısının azaldığını rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada fötal T seviyesi düşmüş olmasına karşılık fötal dönemde Leydig hücrelerinde çoğalma görülmemiştir. Ayrıca DHP ve DCHP fötal Leydig hücrelerinin kümeler oluşturmasına neden olmuştur. Leydig hücre kümelenmesinin bu hücre göçündeki bozukluktan kaynaklandığı söylenebilir (Mahood ve ark., 2005). Ayrıca T miktarının düşük olmasına karşılık Leydig hücre sayısında, artış olmaması dengeleyici mekanizmaların da bozulmuş olduğuna işaret etmektedir. Bu durum özellikle Sertoli hücreleri ile Leydig hücreleri arasındaki etkileşimlerin bozulmasından da kaynaklanabilir. Çünkü, fötal dönem boyunca Sertoli hücreleri, hipofizer LH tarafından düzenlenmediği için fötal Leydig hücrelerinin farklılaşmasını ve fonksiyonunu düzenleyen birçok parakrin faktör salgılamaktadır (El-Gehani ve ark., 1998). DHP ve DCHP, Sertoli hücrelerini etkileyerek bu parakrin faktörlerin salgılanmasının bozulmasına neden olarak fötal Leydig hücre çoğalmasının düzenini bozmuş olabilir.

Fötal Sertoli hücrelerinde östrojen reseptör β bulunurken androjen reseptörü bulunmamaktadır. Bu nedenle Sertoli hücreleri östrojenlerin hedef hücreleridir. Androjen reseptörleri ancak Sertoli hücreleri farklılaşmaya başladıklarında ifade edilir. Buna dayanarak östrojenik aktiviteye sahip çevresel kimyasalların Sertoli hücre çoğalmasını etkilemesi beklenirken, antiandrojenik aktiviteye sahip olanların etkisiz olduğu belirtilmiştir (Sharpe, 2001). Mahood ve ark. (2005)'nın yaptıkları çalışmada fötal DBP uygulamasının hücre seçici etkisinin olduğu, Leydig hücreler etkilenirken Sertoli hücrelerinin etkilenmediği belirtilmiştir. Çünkü Mahood ve ark. (2005), Sertoli hücrelerinin MIS/AMH ifadesinde değişiklik gözlememiştir. Oysaki bu çalışmada fötal testis dokusunda MIS/AMH ifadesine bakıldığında uygulama gruplarında doza bağlı olarak azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan DHP ve DCHP fötal Leydig hücreleri üzerinde muhtemel anti-androjenik aktivite göstermesine rağmen Sertoli hücreleri üzerinde de olumsuz etki gösterdiği söylenebilir.

MIS/AMH, immunofloresan ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak fötal testislerde işaretlenmiştir. Buna göre yağ kontrol grubunda prenatal dönemdeki erkek sıçanların testis dokusunda MIS/AMH ifadesinin normal düzeyde olduğu gözlenirken uygulama gruplarında doza bağlı olarak MIS/AMH ifadesinde kontrole göre azalma görülmektedir. Fötal testis kesitleri üzerinde işaretlenerek gösterilen azalan MIS/AMH ifadesi, bu hormonun serumdaki seviyeleri ile paralellik göstermektedir. Ayrıca yağ kontrol ve uygulama grupları karşılaştırıldığında orta ve yüksek doz DHP ve yüksek doz DCHP uygulama gruplarında puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanların testislerinde MIS/AMH ifadesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna göre pubertal erkek sıçanlarda yağ kontrol gruplarındaki MIS/AMH işaretlemesi çok zayıf tespit edilmişken yüksek doz DHP ve DCHP uygulama gruplarında bu işaretlemenin fazla olduğu görülmüştür. Buna göre ergin erkek sıçanlarda yağ kontrol grubunda MIS/AMH ifadesi tespit edilmemişken uygulama gruplarında MIS/AMH ifadesinin olduğu görülmüştür.

Sertoli hücrelerinin, fitalat esterlerin hedef hücreleri oldukları bilinmektedir (Creasy ve ark., 1983; Gray ve Beamand, 1984; Li ve ark., 1998). Sertoli hücrelerinin fötal dönemde, Müller kanalının gerilemesini sağlamak için MIS/AMH salgılamak, testiküler tübüllerin morfogenezi ve gonositlerin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesi gibi önemli görevleri bulunmaktadır. Aynı zamanda Sertoli hücreleri, germ hücrelerinin mayoza ve oojenik yola girmesini engelleyen henüz tanımlanmamış bir madde salgılamaktadır (Fisher, 2004). DBP ve DEHP gibi fitalat esterlerinin Sertoli hücreleri ve germ hücreleri arasındaki etkileşimlerini bozduğu gösterilmiştir (Gray ve Beamand, 1984; Li ve ark., 1998; Fisher ve ark., 2003). DEHP'in neonatal sıçanlarda giant (çok çekirdekli) hücrelerinin oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir (Li ve ark., 2000). Ayrıca DBP geç fötal dönem boyunca uygulandığında gonositlerin aşırı çoğaldığı ve giant hücre oluşumuna neden olduğu Mylchreest ve ark. (2002) tarafından gösterilmiştir. Bunun yanında, Scott ve ark. (2007)'nın yaptıkları çalışmada da fötal DBP uygulamasının giant hücre oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir. Giant oluşumuna neden olan anormal hücre bölünmesinin, germ hücrelerini oluşturacak olan öncül hücrelerin dejenerasyonu sonucu oluştuğu düşünülebilir.

Bu çalışmada 3β-HSD testis dokusunda immünohistokimyasal olarak işaretlenmiştir. Puberte öncesi dönemdeki erkek sıçanlarda 3β-HSD sentezinde ve

bunu sentezleyen Leydig hücrelerinin sayısında uygulama grupları yağ kontrollerle karşılaştırıldığında fark gözlenmezken pubertal dönemde Leydig hücrelerinde hafif derecede kontrollerle karşılaştırıldığında artış görülmektedir. Ergin döneme bakıldığında yüksek doz DHP, düşük ve orta doz DCHP uygulama gruplarında 3β-HSD sentezleyen Leydig hücrelerinin sayısında kontrollerle karşılaştırıldığında artış görülmektedir. Doğumdan 2 hafta sonra fötal Leydig hücreleri, yerini ergin Leydig hücrelerine bırakır. Bu geçiş döneminde Leydig hücrelerini etkileyen herhangi bir etki bu hücrelerin çoğalmasını da etkileyecektir. Eğer T bu dönemde düşük ise Leydig hücreleri buna bağlı olarak artacaktır (Parks ve ark., 2000). Pubertal dönemdeki bu uygulama gruplarında T seviyesinin düşük olması ile Leydig hücrelerinde artışın gerçekleştiği söylenebilir. Aynı şekilde bu dönemde artmış olan Leydig hücre sayısı ergin dönemdeki immünohistokimyasal boyamalarda da görülmektedir. Fitalat uygulaması sonunda Leydig hücrelerinde görülen bu çoğalma birçok çalışma ile de gösterilmiştir (Akingbemi ve ark., 2001; Akingbemi ve ark., 2004; Jarfelt ve ark., 2005; Andrade ve ark., 2006b). Andrade ve ark. (2006b), yaptıkları çalışmada Leydig hücrelerinde görülen çoğalmanın bu hücrelerin maturasyonundaki gecikme ve T seviyesindeki düşüş olduğunu ileri sürmektedirler.

Testis, östrojenlerin doğrudan etki gösterdiği hedef organdır. Ayrıca genel olarak östrojenlerin Leydig hücre fonksiyonu üzerinde genellikle inhibitor olmak üzere, dramatik bir etkisi olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, 5 günlük sıçanlara tek doz östradiyol uygulamasıyla 60 günlük sıçanların testislerinde olgunlaşmış Leydig hücrelerinin oluşmadığı gösterilmiştir (Dhar ve Setty, 1976). Leydig hücre gelişiminin olgunlaşmamış sıçanlarda östradiyol tarafından inhibe edildiğini göstermektedir.

Etan dimetil sülfonat (EDS) Leydig hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip bir alkilleyici ajandır (Kerr ve ark., 1985; Rommerts ve ark. 1985; Morris ve ark., 1986). Spesifik etkisi tam olarak bilinmemesine rağmen, EDS'nin tek bir intraperitonal enjeksiyonu ile 24 saat içinde Leydig hücre ölümü gerçekleşmektedir. Uygulamadan sonra 2-3 gün içinde tüm Leydig hücreleri makrofajlar tarafından fagositik aktivite ile yok edilir (Dhar ve Setty, 1976; Molenaar ve ark., 1985; Kerr ve ark., 1988). EDS uygulamasından sonra 3. ve 7. haftalar boyunca Leydig hücrelerindeki yenilenme gerçekleşmektedir. Mezenşimal

kök hücrelerden köken alan küçük Leydig hücrelerinin, 21. günde ortaya çıktığı belirtilmekte (Edwards ve ark., 1987; Kerr ve ark., 1987; Teerds ve ark., 1988) ve 40. günle 49. gün arasında Leydig hücre yenilenmesi tamamlanmaktadır (Morris ve ark., 1986; Jackson ve ark. 1986a; Jackson ve ark., 1986b). Öncül hücre farklılaşmasındaki son aşamanın hızlı olduğuna inanılmaktadır çünkü 21 ve 28. günler arasında Leydig hücre sayısı belirgin bir şekilde artmaktadır (Edwards ve ark., 1987).

Son kanıtlar EDS uygulanan sıçanlarda Leydig hücre yenilenmesinin en az iki dalgadan oluşan çoğalma süreci ile gerçekleştiğini göstermektedir. İlk dalga öncül hücre (mezenşimal) bölünmesi ile karakterize iken ikinci dalga yeni oluşmuş Leydig hücrelerinin bölünmesini içermektedir (Teerds ve ark., 1990; Myers ve Abney, 1991). Bu sonuçlar, normal Leydig hücre gelişimi boyunca pubertal sıçanlarda yapılan gözlemlerle benzerlik göstermektedir (Hardy ve ark., 1989). EDS uygulanan sıçanlarda bu dönem boyunca meydana gelen hücresel olayların ve steroidojenik kapasitelerin, prepubertal ve pubertal sıçanlarda normal Leydig hücre ontogenisindekilere benzer olduğu görülmüştür (Myers ve Abney, 1990).

Leydig hücre rejenerasyonu üzerindeki östrojen etkisini incelemeye yönelik yapılan çalışmalarda, EDS uygulamasından sonra hayvanlara ilk 5 gün boyunca östradiyol uygulamasının, 30. günde Leydig hücrelerinde rejenerasyon üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Benzer şekilde, EDS uygulamasından sonra östradiyol 16 ve 30. günler hayvanlara verildiğinde Leydig hücre yenilenmesinde anlamlı bir azalma gözlenmemiştir. Bunun aksine, EDS uygulamasından sonra östradiyol 5-30. günler arasında hayvanlara verildiğinde Leydig hücre yenilenmesinin engellendiği gözlenmiştir (Abney ve Myers, 1991). Bu veriler, Leydig hücre yenilenmesi için gerekli ve östradiyolün inihibitör etkisine duyarlı önemli gelişim süreçlerinin, EDS uygulamasından sonraki ikinci hafta sırasında meydana geldiğini ileri sürmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, ilk kez günlük östradiyol verilmesinin EDS uygulanmış sıçanlarda Leydig hücrelerinin yeniden ortaya çıkmasını engellediğini ve dolayısıyla Leydig öncülü hücrelerin östrojenin hedef hücresi olduğunu göstermiştir.

Yapılan bir başka çalışmada pubertal dönemde sıçanlara 10, 100 ve 200 mg/kg/gün DEHP 28 gün süreyle ağızdan verildiğinde serum LH ve T seviyelerinde artışın olduğu, uygulama süresi uzadığında LH ve T'deki azalmanın

arttığı tespit edilmiştir. T üretiminde ise artış saptamışlardır, bu artışı artan östrojen etkisiyle indüklenen DEHP bağımlı Leydig hücre hiperplazisi olabileceği şeklinde açıklamışlardır. Çalışmanın sonucunda fitalatların etkisinin çift yönlü olduğu, fötal ve ergin dönemde farklılıklar gösterdiği sonucuna varmışlardır (Shan ve ark., 2007). Fitalatlar fötal Leydig hücrelerinde toplanmaya, düşük dozda testiküler T üretiminde artışa neden olmaktadır. Düşük dozda fitalatlar Leydig hücrelerinde artışa, bununla bağlantılı olarak T üretiminde artışa neden olmaktadır. Böylece ergin Leydig hücrelerinde T sentezi azalmakta ve gecikmiş puberteye neden olmaktadır (Shan ve ark., 2007). Yapılan bu çalışmada fötal dönemde uygulanan DHP ve DCHP'nin Leydig hücrelerinin ergin dönemde gelişimine fazla etkisi olmadığı söylenebilir. Buna karşılık pubertal ve ergin dönemde görülen Leydig hücre çoğalması, uygulanan bu maddelerin etkilerinin ergin dönemde de görüldüğünü göstermektedir. Her iki maddenin de antiandrojenik özellikleri yanında zayıf östrojenik özellik göstermiş olması da muhtemeldir.

Genç sıçanlar fitalatlarla uyarılan testiküler toksisiteye erginlerden daha duyarlıdır. 4 haftalık sıçanlara 2,8 g/kg DEHP 10 gün boyunca uygulandığında testis ağırlığında düşüş ve seminifer tübüllerde atrofi görülürken 10 haftalık sıçanlarda normal testis ağırlığının olduğu ve %5-50 oranında seminifer tübüllerde etkilenmenin olduğu belirtilmektedir (Gray ve Butterworth, 1980). 15 haftalık sıçanlar ise bu uygulama sonrasında olumsuz etkilenmemişlerdir. DEHP uygulanan neonatal sıçanlarda ise uygulamadan 4 hafta sonra geçici olarak Sertoli hücre çoğalmasında ve spermatid olgunlaşmasında azalma görülmüştür, fakat fertilite ve diğer üreme parametrelerinde kalıcı bir etki gözlenmemiştir (Dostal ve ark., 1988; Li ve ark., 2000). 2.2 g/kg di-n-pentil fitalat (DPeP) ve MEHP gavaj yolu ile genç sıçanlara uygulandığında saatler içinde Sertoli hücrelerinde histopatolojik ve fonksiyonel değişiklikler gözlenmiştir (Creasy ve ark., 1983; Creasy ve ark., 1988; Gray, 1986; Richburg ve Boekelheide, 1996).

Fötal periyotta DHP ve DCHP uygulaması sonucunda ergin dönemde sperm sayısı ve kalitesini gözlemek amacı ile kontrol ve uygulama gruplarındaki spermler sayılmış ve anormal/normal sperm oranları tespit edilmiştir. Buna göre sperm sayısında kontrol ve uygulama grupları arasında fark gözlenmezken, normal sperm yüzdesinin uygulama yapılan gruplarda önemli derecede düştüğü ve anormal sperm yüzdelerinin arttığı tespit edilmiştir. Anormal spermler belirlenirken

baş, boyun ve kuyruk bölgesinde anormal yapıdaki spermler sınıflandırılmıştır. Boyun defektine sahip sperm yüzdesinde 20 ve 100 mg/kg/gün DHP uygulama gruplarında kontrole göre artış tespit edilirken, baş defektli sperm yüzdesinde tüm uygulama gruplarında kontrole göre artış görülmüştür. Kuyruk defektli sperm yüzdesine bakıldığında DHP uygulama gruplarında hem kontroller hem de DCHP uygulama gruplarına göre arttığı saptanmıştır.

Sperm sayısında uygulama grupları arasında farklılık gözlenmemesine karşılık anormal sperm yüzdesinin fazla olması sperm kalitesindeki düşüşe işaret etmektedir. DHP uygulama gruplarında özellikle kuyruk anomalisinin artmış olması DHP'ın özellikle spermin bu bölgesinde önemli hasara yol açtığı sonucuna varılabilir. Kuyruktaki bu hasar infertilite ile pozitif korelasyon gösterecektir. Bir diğer anomali olan baş anomalisi tüm uygulama gruplarında görülmüştür. Bu anomalinin muhtemel etkisi spermin olası bir fertilizasyon sırasında oosite bağlanmasını engelleyecek akrozom bozuklukları sonucunda infertilizasyon olacaktır. Ayrıca boyun bölgesinde oluşan hasar sperm membran yapısının da DHP ve DCHP uygulaması sonucunda etkilendiğini göstermektedir.Sonuç olarak, DHP ve DCHP'nin sperm yapımında ve olgunlaşmasında olumsuz etkilere neden olduğu ve bu etkilerin doza bağlı olarak arttığı söylenebilir.

Sperm morfolojisi, toksik olayların belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir (Working, 1988). Andrade ve ark. (2006b)'nın yaptıkları çalışmada DEHP'in sadece düşük dozlarda (0,045 ve 0,135 mg/kg/gün) anormal sperm yüzdesinin artmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise tüm uygulama gruplarında anormal sperm yüzdesinin arttığı gözlenmiştir.

Prenatal dönemde DHP ve DCHP uygulamasının testis seminifer tübüllerinin morfolojisi üzerindeki etkisini görmek amacı ile seminifer tübüller ölçülmüştür. Buna göre testiste seminifer tübül çapı ve lümen çapı 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda kontroller ve uygulama grupları ile karşılaştırıldığında önemli derecede artmış olduğu görülmüştür. Bunun nedeni T seviyesinin bu gruptaki ergin erkek sıçanlarda artmış olmasından kaynaklanabilir. Diğer uygulama gruplarında seminifer tübül çapları kontrollere göre azalmıştır. Ayrıca, bu tübüller histopatolojik olarak incelendiğinde atrofik tübüllere rastlanması, DHP ve DCHP'ın konjenital olarak bu tübülleri olumsuz olarak etkilediğini söyleyebiliiz (Foley, 2001). Seminifer tübüllerdeki germinal epitel yüksekliğine bakıldığında,

yine 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubundaki epitel yüksekliği kontrole göre artarken 20 mg/kg/gün DCHP uygulama grubundaki epitel yüksekliği yağ kontrole göre azalmıştır. Aynı doz seviyesinde iki maddenin farklı etki göstermesi, her iki molekülün etkilerinin bu dozda farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bunun sebebi yine T miktarından kaynaklanmaktadır. Epididimiste bulunan yuvarlak tübüllerin çaplarına bakıldığında, epididimal tübül çapının 20 mg/kg/gün DHP uygulama grubunda yağ kontrole göre artarken 500 mg/kg/gün DHP, 20 ve 100 mg/kg/gün DCHP uygulama gruplarında kontrollere göre azalmıştır. Fötal gelişim döneminde yetersiz T seviyesi seminifer ve epididimal tübüllerin büyüklüğünde atrofiye neden olmaktadır. Epididimal tübül lümen çapı ise tübül çapına bağlı olarak azalma göstermiştir. Buna göre, DHP uygulama gruplarındaki epididimal tübül çapı ve lümen çapı doza bağlı olarak azalmıştır. Epididimiste bulunan yuvarlak tübülleri döşeyen epitel yüksekliğinde, gruplar arasında fark gözlenmemiştir. Andrade ve ark. (2006b), sıçanlara 15 mg/kg/gün DEHP'i *in utero* ve laktasyonel dönemde uyguladıklarında ortalama seminifer tübül çapının azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise sadece *in utero* uygulama olmasına karşılık yüksek doz DHP ve tüm DCHP uygulama gruplarında seminifer tübül çapının azalmış olduğu görülmüştür.

Yapılan in vitro, uterotrofik ve vajinal kornifikasyon çalışmalarında, DHP'nin yüksek konsantrasyonlarda östrojenik etkisinin düşük ya da hiç olmadığı gösterilmiştir (Harris ve ark., 1997; Zacharewski ve ark., 1998; Okubo ve ark., 2003). Ayrıca Hersberger analizinde ise aktif olmadığı tespit edilmiştir (Yamasaki ve ark., 2004). DCHP, uterotrofik ve Hersberger analizlerinde ne östrojenik ne de androjenik özellik göstermemiştir (Yamasaki ve ark., 2002). DCHP'ın AR üzerindeki antagonistik aktivitesinin %20 göreli etkin konsantrasyonunun $3,8x10^{-6}$ M, DHP'ın ise $3,5x10^{-6}$ M olduğu tespit edilmiştir. DCHP'ın östrojenik aktivitesinin DHP'nin aktivitesinden daha yüksek olduğu, AR antagonistik aktivitesinde ise DCHP'ın aktivitesinin DHP'den daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Takeuchi ve ark., 2005). Yapılan bu çalışmada her iki madde de erkek üreme sisteminin gelişiminde hem antiandrojenik hem de östrojenik etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Leydig hücreleri üzerinde steroidojenik enzim inhibitörü olarak antiandrojenik etki gösterirken fötal dönemde sadece ERβ içeren Sertoli hücreleri üzerinde östrojenik etki göstermiş olabilirler.

Fitalatların toksisitesinde alkil zincir uzunluğu önemli bir faktördür. DEHP, DBP ve BBP gibi geçişken fitalatlar, alkil kısımlarındaki zincirlerinde linear yapıda 4-6 karbon atomu içermektedirler. Diğer fitalatlarla karşılaştırıldığında, teratojenik, gelişimsel ve üreme toksikantı olarak en yüksek potansiyele sahiptirler. Kısa metil ve etil fitalatlar ve daha uzun zincir içeren fitalatlar (DOP, DINP,DiDP gibi), kemirgenlerde düşük veya hiç gelişimsel toksisiteye neden olmamaktadır. DIBP, düz zincir C3 karbon iskelete sahiptir. Saillenfait ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmada DIBP'ın toksisite profilini, DMP ve DEP gibi düşük moleküler ağırlıklı fitalatlarla karşılaştırdıklarında yüksek bulmuşlardır. Gelişimsel toksisite genellikle geçişken fitalatlarla ilişkilendirilse de DIBP'nin de erkek üreme sistemini hedef aldığı belirtilmiştir (NTP, 1989; Hellwig ve ark., 1997; Ema ve ark., 1994; Ema ve Miyawaki, 2002). C4-C6 karbon iskeleti içeren fitalatların benzer gelişimsel toksik etkilere sahip olması beklenmektedir (American Chemistry Council, 2006; Fabjan ve ark., 2006; McKee ve ark., 2006). Linear 6 karbon atomu içeren DHP için elde edilen veriler de bu varsayıma uymaktadır. Bu nedenle DHP aynı doz seviyelerinde benzer embriyonik ve teratojenik etki göstermiştir (Saillenfait ve ark., 2009a). Ayrıca aynı çalışmada halkasal karbon yapısına sahip olan DCHP'ın daha az gelişimsel etki gösterdiği belirtilmiştir. Buna karşılık BBP'ın metaboliti olan MBP'ın sıçanlarda prenatal dönemde geçişken fitalatların oluşturduğu etkilerle karşılaştırılabilecek gelişimsel toksik etkiler oluşturduğu ileri sürülmektedir (Ema ve ark., 1996; Ema ve ark., 2003). Bu nedenle zincir yapısının fitalik esterlerin toksik etkilerinde anahtar yapı olmadığı söylenebilir.

Rezorbsiyonlu döl sayısı ve rezorbsiyon yüzdesine bakıldığında DCHP'nin emriyotoksik etkisinin DHP'den daha güçlü olduğu söylenebilir. Ayrıca anogenital aralık verilerine bakıldığında halkasal yapıda R grubu içeren DCHP'nin antiandrojenik etkisinin, linear yapıda R grubu içeren DHP'den daha güçlü olduğu sonucuna varılabilir.

Endokrin bozucuların doz-cevap eğrisi her zaman doğrusal değildir (Yeşilkaya, 2008). Andrade ve ark. (2006b)'nın doz-cevap ilişkisini ortaya koymak için yaptıkları çalışmaya bakıldığında *in utero* ve laktasyonel dönemde DEHP düşük doz (0,015, 0,045, 0,135, 0,405 ve 1,215 mg/kg/gün) ve yüksek dozda (5, 15, 45, 135 ve 405 mg/kg/gün) sıçanlara uygulandığında ergin dönemde T miktarının 0,045, 0,405 ve 405 mg/kg/gün DEHP uygulanan grupta artış olduğu

tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada T seviyesinin ve elde edilen diğer verilerin doza bağlı olarak artmadığı görülmüştür. Aynı şekilde Hoshino ve ark. (2005)'de yaptıkları çalışmada 0, 240, 1200 ve 6000 ppm DCHP uygulanan sıçanlarda T, FSH ve LH seviyelerine bakıldığında doza bağlı bir değişiklik görülmemiştir. Yapılan bu çalışmada dozlar arasında görülen farklılıklar, değişikliklerin doza bağlı olarak artmaması veya azalmaması bu maddelerin düşük ve yüksek dozlarda gösterdikleri etkilerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Endokrin bozucuların oluşturacağı olumsuz etkide maruz kalınan doz ve etkilenme süresi de ortaya çıkacak etki için önemli faktörlerdendir. Etkilenme süresi uzadıkça veya doz arttıkça oluşabilecek olumsuz etki daha da şiddetli olabilmektedir. Endokrin bozucular, her zaman aynı etkiye neden olmamaktadır. Örneğin düşük dozda östrojen reseptörlerine bağlanarak etki gösteren bir bozucu, yüksek dozda ise androjen reseptörlerine bağlanarak antiandrojenik etki gösterebilir.

Endokrin bozucu kimyasallar, hedef dokuların gelişimini değiştirerek, indirekt veya direkt olarak memeli gelişimini de etkileyebilirler. Çevrede bulunan birçok kimyasal, farklı mekanizmalar yoluyla memelilerde üreme ve gelişimin endokrin kontrolü ile etkileşime girme potansiyeline sahiptir. Özellikle, hedef dokuların gelişimi ve farklılaşması gibi hassas evrelerde, hormonlar önemli düzenleyici roller oynamaktadırlar (örneğin, gonadal farklılaşmada steroidler gibi) (Mantovani, 2002). İnsan ve yabani yaşamın, sentetik yolla ve çevrede yıkım sonucu oluşan bu kimyasallara maruziyeti, erkek üreme sisteminin embriyonik gelişimini ve yaşamın ileri dönemlerindeki fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Peterson ve ark., 1997).

Bu çalışmada endokrin bozucu bir bileşik olan DHP ve DCHP'nin, fötal dönemde ve yaşamın ileri dönemlerinde erkek üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu görülmüştür. İncelenen erkek üreme sistemi dokularından testis, epididimis ve prostat üzerindeki histopatolojik etkileri ile anormal sperm yüzdesi üzerindeki etkileri, erkek üreme sağlığı açısından oldukça önemlidir. Erkek üreme sisteminin olumsuz yönde etkilenmesi, üremeyi ve dolayısıyla populasyonu önemli derecede etkileyebilir. Sonuç olarak, fötal dönemde uygulanan DHP ve DCHP'nin, erkek sıçanların ergin dönemlerinde üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği görülmektedir.

Üreme sisteminin gelişimi üzerinde fitalatarla indüklenen etkilerin mekanizmasında önemli olan olay, fötal testiküler T üretimindeki önemli düşüştür. Ayrıca steroidogenezde rol alan önemli enzimlerin, sıçanlarda ve insanlarda benzer olması önemlidir ve tüm memelilerin androjen bağımlı olayların paralel aktivasyon mekanizmalarına sahip olduklarına inanılmaktadır. Bu nedenle, insan fötusunda spesifik fitalat esterler tarafından hayvanlarda gözlenen zararlı antiandrojenik etkilerin oluşması muhtemeldir (Foster, 2006). DHP ve DCHP, erkek üreme sisteminin kritik fötal süreçte T miktarının düşmesine neden olarak sistemin farklılaşmasını bloke etmesine ve dişileşmesine yol açmaktadır.

Östrojeni taklit edebilen doğal ya da çevredeki endokrin bozucu kimyasalların listesi çok uzundur ve sürekli artmaktadır. Östrojeni üreme dokularında taklit etme becerisi endokrin sistemin bozulmasına neden olduğu için bu kimyasallar endokrin bozucu kimyasallar olarak sınıflandırılır. Hormon gibi etki yapan endokrin maddelerin en korkulan etkisi insan, bitki, hayvan gibi canlılarda kalıtsal bazı değişikliklere, bozulmalara sebep olmasıdır. Endokrin maddelerin etkileri konusundaki bilgi açığını tamamen kapatabilmek için kapsamlı, hassas analizlerin ve çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada fötal dönemde uygulanmış olan DHP ve DCHP'nin ne kadarının plasentadan geçip yavruyu etkilediği bilinmemektedir. Fakat elde edilen sonuçlar ile, yavrunun etkilenebileceği derecede bu kimyasalların plasental bariyerden geçtiği söylenebilir. Çevrede yaygın olarak bulunan, endokrin sistemi bozucu bu maddelerin insan fötusunu etkilemesi de muhtemeldir. Geçen yüzyıla göre endokrin bozucu bu maddelerin kullanımının artmasına paralel olarak dünyada insan sperm sayısının % 50 oranında azalması ve üreme problemlerinin artması (Carlsen, 1992), insan türünün de bu maddelerden olumsuz olarak etkilendiğini göstermektedir.

Çok sayıda kimyasal madde günlük yaşamımızda kullanılmakla birlikte bunların insan üreme sağlığına olan etkileri konusunda çok az bilgiye sahibiyiz. Sahip olduğumuz bilgi sınırlı sayıdaki epidemiyolojik ve deneysel çalışmalara dayanmaktadır. Çevremizdeki kimyasalların zararlı etkilerinden korunabilmek için konuyla ilgili deneysel çalışmalara ağırlık verilmeli ve elde edilen bulgular epidemiyolojik araştırmalarda ayrıntılı olarak incelenmelidir (Tekbaş, 2006)

Bu çalışma, son zamanlarda bilim dünyasının dikkatini büyük ölçüde çekmiş olan endokrin bozucu kimyasalların etkileri araştırılmıştır. Plastiklerde kullanılan DHP ve DCHP ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda DHP ve DCHP'nin embriyonal gelişimde maruziyet sonucu doğum öncesi antiandrojenik ve östrojenik özellik göstererek erkek üreme sisteminin gelişiminde doğum sonrası ve ergin dönemde de gözlenebilen olumsuz etkilere neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile ülkemizde ve dünya genelinde yaygın olarak kullanılan plastiklerde kullanılan bu plastifiyanların kullanımına ilişkin bazı sınırlayıcı önlemlerin alınması için yol gösterici olacağına inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

Abney, T.O., Myers, R.B., 1991, 17β-estradiol inhibition of Leydig cell regeneration in the ethane dimethylsulfonate-treated mature rat, J. Androl, 12, 295–304.

Akingbemi, B.T., Ge, R., Klinefelter, G.R., Zirkin, B.R., Hardy, M.P., 2004, Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances, Proc. Natl. Acad. Sci., 101, 775-780.

Akingbemi, B.T., Youker, R.T., Sottas, C.M., Ge, R., Katz, E., G.R., K., Zirkin, B.R., Hardy, M.P., 2001, Modulation of rat Leydig cell steroidogenic function by di(2-ethylhexyl)phthalate, Biol. Reprod. 65, 1252-1259.

Albro, P.W., Chae, K., Philpot, R., Corbett, J.T., Schroeder, J., and Jordan, S., 1984, In vitro metabolism of mono-2-ethylhexyl phthalate by microsomal enzymes. Similarity to omega- and (omega-1) oxidation of fatty acids, Drug Metab. Dispos., 12, 742-748.

Albro, P.W., Tondeur, I., Marbury, D., Jordan, S., Schroeder, J., and Corbett, J.T., 1983, Polar metabolites of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the rat, Biochim. Biophys. Acta., 760, 283-292.

American Chemical Council., 2006, High production volume (HPV) chemical challenge program. Test plan for the phthalate esters category.Prepared by ExxonMobil Biomedical Sciences Inc. for the Phthalate Esters Panel, HPV Testing group of the American Chemistry Council. http://www.epa.gov.

Andersson, A.-M., Toppari, J., Haavisto, A.-M., Petersen, J.H., Simell, T., Simell, O., Skakkebak, N.E., 1998, Longitudinal Reproductive Hormone Profiles in Infants: Peak of Inhibin B Levels in Infant Boys Exceeds Levels in Adult Men, J. Clin. Endocrinol. Metab., 83, 675-681.

Andrade, A.J., Grande, S.W., Talsness, C.E., Grote, K., Golombiewski, A., Sterner-Kock, A., Chahoud, I., 2006a, A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): effects on androgenic status, developmental landmarks and testicular histology in male offspring rats, Toxicology, 225, 64-74.

Andrade, A.J.M., Grande, S.W., Talsness, C.E., Gericke, C., Grote, K., Golombiewski, A., Sterner-Kock, A., Chahoud, I., 2006b, A dose response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): Reproductive effects on adult male offspring rats, Toxicology, 228, 85-97.

Atanassova, N., McKinnell, C., Walker, M., Turner, J., Fisher, J.S., Morley, M., Millar, M.R., Groome, N.P., Sharpe, R.M., 1999, Permanent effects of neonatal estrogen exposure in rats on reproductive hormone levels, sertoli cell number, and the efficiency of spermatogenesis in adulthood, Endocrinology, 14, 5364-5373.

Bhattacharya, N., Dufour, J.M., Vo, M. N., Okita, J and Okita, R., 2005, Differential Effects of Phthalates on the Testis and the liver. Biology of Reproduction, 72, 745-754.

Billig, H., Furuta, I., Rivier, C., Tapanainen, J., Parvinen, M., Hsueh, A.J.W., 1995, Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotropin

dependence and localization to selective tubule stages, Endocrinology 136, 5-12.

Borch, J., Dalgaard, M., Ladefoged, O., 2005, Early testicular effects in rats perinatally exposed to DEHP in combination with DEHA--apoptosis assessment and immunohistochemical studies, Reproductive Toxicology, 19, 517-525.

Borch, J., Ladefoged, O., Hass, U., Vinggaard, A.M., 2004, Steroidogenesis in fetal male rats is reduced by DEHP and DINP, but endocrine effects of DEHP are not modulated by DEHA in fetal, prepubertal and adult male rats, Reproductive Toxicology, 18, 53-61.

Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., Skakkebæk, N.E., 1992, Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years, Br. Med. Journ., 305, 609-613.

Carruthers, C.M., Foster, P.M.D., 2005, Critical window of male reproductive tract development in rats following gestational exposure to di-n-butyl phthalate, Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology 74, 277-285.

Castle, L, Mayo A, Gilbert J., 1989, Migration of plasticizers from printing inks into foods, Food Addit. Contam., 6, 437–443.

Chahoud, I., Ligensa, A., Dietzel, L., Faqi, A.S., 1999, Correlation between maternal toxicity and embryo/fetal effects, Reproductive Toxicology, 13, 375-381.

Chang, B. V., Yang, C. M., Cheng, C. H., Yuan, S. Y., 2004, Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains, Chemosphere, 55, 533-538.

Colborn, T., Vom Saal, F.S., Soto, A.M., 1993, Developmental Effects of Endocrine Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans, Environmental Health Perspectives, 101, 378-84.

Cortes, D., Thorup, J., Visfeldt, J., 2003, Multinucleated spermatogonia in cryptorchid boys: a possible association with an increased risk of testicular malignancy later in life?, Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica, 111, 25-30.

Creasy, D.M. and Foster, P.M.D., 2002, Male Reproductive System. Handbook of Toxicologic Pathology. Haschek, W. M. and Rousseaux, C.G. (eds.). Elsevier, Amsterdam, Volume 2, pp. 785-846.

Creasy, D.M., 2001, Pathogenesis of Male Reproductive Toxicity, Toxicologic Pathology, 29(1), 64-76.

Creasy, D.M., Beech L.M., Gray T.J.B., Butler W.H., 1987, The ultrastructural effects of di-n-pentyl phthalate on the testes of the mature rat, Exp. Mol. Pathol., 46, 357—371.

Creasy, D.M., Foster, J.R., Foster, P.M.D., 1983, The morphological development of di-n-pentyl phthalate induced testicular atrophy in the rat, The Journal of Pathology, 139, 309-321.

Creasy, D.M., Beech, L.M., and Gray, T.J.B., 1988, Effects of mono-(2-ethylhexyl) phthalate and mono-n-pentyl phthalate on the ultrastructurel morphology

of rat Sertoli cells in Sertoli/germ cell co-cultures: correlation with the in vivo effects of di-n-pentyl phthalate, Toxic. in Vitro, 2, 83-95.

Creasy, D.M., Foster, J.R., Foster, P.M.D., 1983, The morphological development of di-n-pentyl phthalate induced testicular atrophy in the rat, The Journal of Pathology, 139, 309-321.

Çok, İ., Öztok, U., 2003, Çevremizdeki Kimyasalların Üreme Sistemi Üzerine Etkileri, Sağlık ve Toplum, 13(3), 9.

Daston, P.D., Gooch, J.W., Breslin, W.J., Shuey, D.L., Nikiforov, A.I., Fico, T.A., Gorsuch, J.W., 1997, Environmental estrogens and reproductive health: A discussion of the human and environmental data, Reproductive toxicology, 11(4), 465-481.

Davies, M.J., Norman, R.J., 2002, Programming and reproductive functioning. Trends Endocrinol Metab, 13, 386–392.

Dhar, J.D., Setty B.S.,1976, Epididymal response to exogenous testosterone in rats sterilized neonatally by estrogen, Endokrinolgie, 68, 14–21.

Dohler, K. D., Wuttke W., 1975, Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonodal steroids in prepubertal male and female rats, Endocrine, 5-28.

Donjacour, A. A., Cunha G. R., 1995, Assesment of prostatic protein secretion in tissue recombinants made of urogenital sinus mesenchyme and urothelium from normal or androgen-insensitive mice, Endocrinology, 136(3), 1303-14.

Dostal, L.A., Chapin, R.E., Stefanski, S.A., Harris, M.W., and Schwetz, B.A., 1988, Testicular toxicity and reduced Sertoli cell numbers in neonatal rats by di(2-ethylhexyl)phthalate and the recovery of fertility as adults, Toxicol. Appl. Pharmacol., 95, 104-121.

Doull, J, Cattley R, Elcombe C, Lake B, Swenberg J, Wilkinson C, Williams G., 1998, Expert panel report on DEHP: U.S. Environmental Protection Agency.

Edwards, G., Robertson, W.R., Morris, I.D., 1987, Characterization of the regenerated Leydig cell population of the rat after destruction by ethylene-1,2-dimethansulphonate, J. Endocrinol., 117, 11–18.

El-Gehani, F., Zhang, F.P., Pakarinen, P., Rannikko, A., Huhtaniemi, I., 1998, Gonadotropin-independent regulation of steroidogenesis in the fetal rat testis, Biology of Reproduction, 58, 116-123.

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E., Ogawa, Y., 1996, Characterization of developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate in rats, Reproductive Toxicology, 10, 365-372.

Ema, M., Miyawaki, E., Hirose, A., Kamata, E., 2003, Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate, Reproductive Toxicology, 17, 407-412.

Ema, M., Miyawaki, E., 2002, Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy, Reproductive Toxicology, 16, 71-76.

Ema, M., Amano, H., Ogawa, Y., 1994, Characterization of the development toxicity of di-n-butyl phthalate in rats, Toxicology, 86, 163-174.

Erdin, E., Hegemann, W., Emiralioğlu, A., Alten, A., 2004, Endokrin Maddeler ve Çevresel Etkileri, I. Ulusal Çevre Kongresi, Sivas.

Fabjan E, Hulzebos E, Mennes W, Piersma AH., 2006, A category approach for reproductive eff ects of phthalates, Crit. Rev. Toxicol., 36, 695–726.

Ferguson, S.A., Scallet, A.C., Flynn, K.M., Meredith, J.M., Schwetz, B.A., 2000, Developmental neurotoxicity of endocrine disrupters: focus on estrogens, Neurotoxicology, 21, 947–956.

Fiorini, C., Tilloy-Ellul, A., Chevalier, S., Charuel, C., Pointis, G., 2004, Sertoli cell junctional as early targets for different classes of reproductive toxicants, Reproductive Toxicology ,18, 413-421.

Fisher, J.S., 2004, Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome, Reproduction, 127, 305-315.

Fisher, J.S., Macpherson, S., Marchetti, N., Sharpe, R.M., 2003, Human 'testicular dysgenesis syndrome': a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate, Hum. Reprod., 18, 1383-1394.

Foley, G.L., 2001, Overview of male reproductive Pathology, Toxicologic Pathology, 29(1), 49-63.

Foster, P.M.D., Mylchreest, E., Gaido, K.W., Sar, M., 2001, Effects of phthalate esters on the developing reproductive tract of male rats, Hum Reprod Update, 7, 231-235.

Foster, P.M., Thomas, L.V., Cook, M.W., and Gangolli, S.D., 1980, Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some n-alkyl phthalates in the rat, Toxicol. Appl. Pharmacol., 54, 392-398.

Foster, P.M.D., 2006, Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters, International Journal of Andrology, 29, 140-147.

Ganong, W.F., 1996, Tıbbi Fizyoloji (çev: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği), Barış Kitabevi / Appleton & Lange, İstanbul, 1055s.

Ge, R.-S., Chen, G.-R., Tanrikut, C., Hardy, M.P., 2007, Phthalate ester toxicity in Leydig cells: Developmental timing and dosage considerations, Reproductive Toxicology, 23, 366-373.

George, F.W., Wilson, J., 1994. Sex determination and differentiation. In Physiology of Reproduction, Knobil, N., Neill, J.D., eds. (London & New York, Raven Press), pp. 1-28.

Gray, L.E., Jr., Ostby, J., Furr, J., Price, M., Veeramachaneni, D.N.R., Parks, L., 2000, Perinatal Exposure to the Phthalates DEHP, BBP, and DINP, but Not DEP, DMP, or DOTP, Alters Sexual Differentiation of the Male Rat, Toxicol. Sci., 58, 350-365.

Gray, T.J., 1986, Testicular toxicity in vitro: Sertoli-germ cell co-cultures as a model system, Food Chem. Toxicol., 24, 601-605.

Gray, T.J., and Gangolli, S.D., 1986, Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters, Environ. Health Perspect., 65, 229-235.

Gray, T.J., Beamand, J.A., 1984, Effect of some phthalate esters and other testicular toxins on primary cultures of testicular cells, Food Chem. Toxicol., 22, 123-131.

Gray, T.J., Butterworth, K.R., 1980, Testicular atrophy produced by phthalate esters, Arch. Toxicol. Suppl, 4, 452-455.

Haavisto, T.E., Adamsson, N.A., Myllymäki, S.A., Toppari, J., Paranko, J., 2003, Effects of 4-tert-octylphenol, 4-tert-butylphenol, and dietylstilbestrol on prenatal testosterone surge in the rat, Reproductive Toxicology,17, 593-605.

Hardy, M.P., Zirkin, B.R., Ewing, L.L., 1989, Kinetic studies on the development of the adult population of Leydig cells in the testes of the pubertal rat, Endocrinology, 124, 762–770

Harris, C.A., Henttu, P., Parker, M.G., Sumpter, J.P., 1997, The estrogenic activity of phthalate esters in vitro, Environ. Health Perspect., 105(8), 802-811.

Hellwig, J., Freudenberger, H., Jackh, R., 1997, Differential Prenatal Toxicity of Branched Phthalate Esters in Rats, Food and Chemical Toxicology, 35, 501-512.

Hess, R.A., 1990, Quantitative and qualitative characteristics of the stages and transitions in the cycle of rat seminiferous epithelium: light microscopic observations of perfusion-fixed and plastic-embedded testes, Biology of Reproduction, 43, 525-542.

Hoei-Hansen, C.E., Holm, M., Meyts, E.R.-D., Skakkebaek, N.E., 2003, Histological evidence of testicular dysgenesis in contralateral biopsies from 218 patients with testicular germ cell cancer, The Journal of Pathology, 200, 370-374.

Hong, E.J., Choi, K.C., Jeung, E.B., 2003, Maternal-fetal transfer of endocrine distruptors in the induction of Calbindin-D9k mRNA and protein during pregnancy in rat model, Molecular and Cellular Endocrinology, 212, 63-72.

Hoshino, N., Iwai, M., Okazaki, Y., 2005, A two-generation reproductive toxicity study of Dicyclohexyl phthalate in rats, The Journal of Toxicological Sciences, 30, S79-96.

Houtsmuller, E.J., Brand, T., de Jonge, F.H., Joosten, R.N., Van de Poll, N.E., Slob, A.K., 1994, SDN-POA volume, sexual behavior, and partner preference of male rats affected by perinatal treatment with ATD, Physiol Behav, 56, 535–541.

Hu, G.-X., Lian, Q.-Q., Ge, R.-S., Hardy, D.O., Li, X.-K., 2009, Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: Leydig cell influence, Trends in Endocrinology & Metabolism, 20, 139-145.

Huhtaniemi, I., Pelliniemi, L.J., 1992, Fetal Leydig cells: cellular origin, morphology, life span, and special functional features, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 201(2), 125-140.

Imperato-McGinley, J., Sanchez, R.S., Spencer, J.R., Yee, B., Vaughan, E.D., 1992, Comparison of the effects of the 5α-reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differantiation: doseresponse studies, Endocrinology, 131, 1149-1156.

Jackson, A.E., O'Leary, P.C., Ayers, M.M., de Kretser, D.M., 1986a, The effects of ethylene dimethane sulphonate (EDS) on rat Leydig cells: Evidence to support a connective tissue origin of Leydig cells, Biol. Reprod., 35, 425–437.

Jackson, N.C., Jackson, H., Shanks, J.H., Dixon, J.S., R.G. Lendon, 1986b, Study using in vivo binding of ^{125}I-labelled hCG, light and electron microscopy of the repopulation of rat Leydig cells after destruction due to administration of ethylene-1,2-dimethane sulphonate, J. Reprod. Fertil., 76, 1–10.

Junqueira, L.C., Carniero, J., Kelley, R.O., 1992, Basic Histology, Appleton & Lange Press, Norwalk, pp. 407-422.

Jarfelt, K., Dalgaard, M., Hass, U., Borch, J., Jacobsen, H., Ladefoged, O., 2005, Antiandrogenic effects in male rats perinatally exposed to a mixture of di(2-ethylhexyl) phthalate and di(2-ethylhexyl) adipate, Reproductive Toxicology, 19, 505-515.

Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., Thun, M.J., 2006, Cancer Statistics, C.A. Cancer J. Clin., 56, 106-130.

Jost, A., Vigier, B., Prepin, J., Perchellet , J.P., 1973, Studies on sex differentiation in mammals, Recent Prog. Horm. Res., 29, 1-41.

Kavlock, R; Boekelheide, K; Chapin, R; Cunningham, M; Faustman, E; Foster, P, et al., 2002, NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-isononyl phthalate, Reprod. Toxicol., 16, 679–708.

Kerr, J.B., Bartlett, J.M.S., Donachie, K., Sharpe, R.M., 1987, Origin of regenerating Leydig cells in the testis of the adult rat: And ultrastructural, morphometric and hormonal assay study, Cell Tissue Res., 249, 367–377.

Kerr, J.B., Donachie K., Rommerts, F.F.G., 1985, Selective destruction and regeneration of rat Leydig cells in vivo, Cell Tissue Res., 242,145–156.

Kerr, J.B., Knell, C.M., 1988, The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal rat testis, Development, 103, 535–544.

Kerr, J.B., Risbridger, G.P., Kneel, C.M., 1988, Stimulation of interstitial cell growth after selective destruction of foetal Leydig cells in the testis of postnatal rats, Cell Tissue Res., 252, 89–98.

Kitis, M., Yiğit, N.Ö., Civelekoğlu, G., Kaplan, Ş.Ş., 2004, Doğal sularda ve içme suyu kaynaklarında canlılarda endokrin-üreme sistemini bozabilecek kimyasallar, (sözlü sunum, tam metin bildiri), I. Ulusal Çevre Kongresi (ÇEVRE2004), Cumhuriyet Üniv., Müh. Fakültesi, Çevre Müh., Ekim 13-15, Sivas.

Knobil, N., Neill, J.D., 1988, Physiology of Reproduction, London & New York, Raven Press.

Kretser, D.M., de Kerr, J.B., 1988, The Cytology of the Testes. The Physiology of Reproduction. Knobil, E. and Neill, J.D. (eds.). Raven Press, New York., Volume 1, pp 837-932.

Lake, B.G., Foster, J.R., Collins, M.A., Stubberfield, C.R., Gangolli, S.D., and Srivastava, S.P., 1982, Studies on the effects of orally administered dicyclohexyl phthalate in the rat, Acta. Pharmacol. Toxicol., 51, 217 – 226.

Lake, B.G., Phillips, J.C., Linnell, J.C., and Gangolli, S.D., 1977, The in vitro hydrolysis of some phthalate diesters by hepatic and intestinal preparations from various species, Toxicol. Appl. Pharmacol., 39, 239-248.

Lamb, J.C. 4th, Chapin, R.E., Teague, J., Lawton, A.D. and Reel, J.R., 1987, Reproductive effects of four phthalic acid esters in the Mouse, Toxicol. Appl. Pharmacol., 88, 255–269.

Latini, G., Felice, De C., Verrotti, A., 2004, Plasticizers, infant nutrition and reproductive health, Reproductive Toxicology, 19, 27-33.

Latini, G., 2000, The Potential Hazards of Exposure to Di-(2-Ethylhexyl)-Phthalate in Babies: A Review, Biol. Neonate, 78, 269–276.

Lejeune, H., Habert, R., Saez, J., 1998, Origin, proliferation and differentiation of Leydig cells, J. Mol. Endocrinol., 20, 1-25.

Li, L.-H., Jester, W.F., Laslett, A.L., Orth, J.M., 2000, A Single Dose of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate in Neonatal Rats Alters Gonocytes, Reduces Sertoli Cell Proliferation, and Decreases Cyclin D2 Expression, Toxicology and Applied Pharmacology, 166, 222-229.

Li, L.-H., Jester, W.F., Orth, J.M., 1998, Effects of Relatively Low Levels of Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate on Cocultured Sertoli Cells and Gonocytes from Neonatal Rats, Toxicology and Applied Pharmacology, 153, 258-265.

Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., Wenzel, A., 2003, Endocrine disruptors in the environment, IUPAC technical report, Pure Appl. Chem., 75, 631–681.

Lording, D.W., De Kretser, D.M., 1972, Comparative ultrastructural and histological studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development, J. Reprod. Fertil., 29, 261–269.

Mahood, I.K., Hallmark, N., McKinnell, C., Walker, M., Fisher, J.S., Sharpe, R.M., 2005, Abnormal Leydig Cell Aggregation in the Fetal Testis of Rats Exposed to Di (n-Butyl) Phthalate and Its Possible Role in Testicular Dysgenesis, Endocrinology, 146, 613-623.

Majdic, G., McNeilly, A.S., Sharpe, R.M., Evans, L.R., Groome, N.P., Saunders, P.T.K., 1997, Testicular Expression of Inhibin and Activin Subunits and Follistatin in the Rat and Human Fetus and Neonate and During Postnatal Development in the Rat, Endocrinology, 138, 2136-2147.

Mann, A.H, Price S.C, Mitchell F.E, 1985, Comparison of the short-term effects of di(2-ethylhexyl) phthalate, di(n-hexyl) phthalate, and di(n-octyl) phthalate in rats, Toxicol. Appl. Pharmacol., 77, 116-132.

Mantovani, A., 2002, Hazard identification and risk assessment of endocrine disrupting chemicals with regard to developmental effects, Toxicology, 181-182, 367-370.

Mastroianni L, Coutifaris C. 1990, Manual of Human Reproduction, Vol I: Reproductive Physiology. International Federation of Gynecology and Obstetrics. London: Butler & Tanner Ltd., 54-68.

McGinn, A.P., 2000, Phasing out persistent organic pollutants. In Worldwatch Institute State of the World (2000), Pp:79–100.

McKee, R.H., Pavkov, K.L., Trimmer, G.W., Keller, L.H., Stump, D.G., 2006, An assessment of the potential developmental and reproductive toxicity of di-isoheptyl phthalate in rodents, Reproductive Toxicology, 21, 241-252.

Meachem, S., Nieschlag, E., Simoni, M., 2001, Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance, Eur. J. Endocrinol., 145, 561-571.

Meredith, J.M., Bennett, C., Scallet, A.C., 2001, A practical three dimensional reconstruction method to measure the volume of the sexually-dimorphic central nucleus of the medial preoptic area (MPOC) of the rat hypothalamus, J. Neurosci., Methods., 104, 113–121.

Molenaar, R., de Rooij, O.J., Rommerts, F.F.G., Reuvers, P.J., van der Molen, J.H., 1985, Specific destruction of Leydig cells in mature rats after in vivo administration of ethane dimethyl sulfonate, Biol. Reprod., 33,1213–1222.

Moore, N., 2000, The oestrogenic potential of the phthalate esters, Reproductive Toxicology, 14, 183-192.

Morris, I.D., Phillips, D.M., Bardin, C.W., 1986, Ethylene dimethane sulfonate destroys Leydig cells in the rat testis, Endocrinology, 118, 709–719.

Myers, R.B., Abney, T.O., 1990, Testosterone and androstanediol production by regenerating Leydig cells in the ethylene dimethane sulphonate-treated mature rat, Int. J. Androl., 13, 4–16.

Myers, R.B., Abney, T.O., 1991, Interstitial cell proliferation in the testis of the ethylene dimethane sulfonate-treated rat, Steroids, 56, 91–96.

Mylchreest, E., Cattley, R.C., Foster, P.M.D., 1998, Male Reproductive Tract Malformations in Rats Following Gestational and Lactational Exposure to Di(n-butyl) Phthalate: An Antiandrogenic Mechanism?, Toxicological Sciences, 43, 47-60.

Mylchreest, E., Sar, M., Wallace, D.G., Foster, P.M.D., 2002, Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl) phthalate, Reproductive Toxicology, 16, 19-28.

Mylchreest, E., Wallace, D.G., Cattley, R.C., Foster, P.M.D., 2000, Dose-Dependent Alterations in Androgen-Regulated Male Reproductive Development in Rats Exposed to Di(n-butyl) Phthalate during Late Gestation, Toxicol. Sci., 55, 143-151.

National Toxicology Program, 1989, Developmental toxicity evaluation of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) administered in feed to CD rats on gestational days 6 to 15, Final report, PB90-115346.

Nagao, T., Saito, Y., Usumi, K., Kuwagata, M., Imai, K., 1999, Reproductive function in rats exposed neonatally to bisphenol A and estradiol benzoate, Reproductive Toxicology,13, 303-311.

Needham, L.L., Patterson, D.G., Barr, D.B., Grainger, J., Calafat, A.M., 2005. Uses of speciation techniques in biomonitoring for assessing human exposure to organic environmental chemicals. Analytical and Bioanalytical Chemistry 381, 397-404.

Neubert, D., 1997, Vulnerability of the endocrine system to xenobiotic influence, Regul. Toxicol. Pharmacol., 26, 9-29.

Newbold, R.R., 1999, Hormonal mechanisms in female reproductive tract toxicity. In: Harvey PW, Rush KC and Cockburn A (eds) Endocrine and hormonal toxicology, John Wiley, Chichester, Pp: 406–417.

Oishi, S., and Hiraga, K., 1982, Distribution and elimination of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP) after a single oral administration of DEHP in rats, Arch. Toxicol., 51, 149-155.

Okubo, T., Suzuki, T., Yokoyama, Y., Kano, K., Kano, I., 2003, Estimation of estrogenic and Anti-estrogenic Activites of Some Phthalate Diesters and Monoesters by MCF-7 Cell Proliferation Assay in Vitro, Biol. Pharm. Bull., 26, 1219-1224.

Oyuncak ve Çocuk Bakım Eşyalarındaki Phthalatlar Hakkında Tebliğ, 2005, Resmi Gazete, 20.10.2005 tarih ve 25972 sayı.

Park, J.D., Habeebu, S.S.M., Klaassen, C.D., 2002, Testicular toxicity of di-(2-ethylhexyl)phthalate in young Sprague-Dawley rats, Toxicology, 171, 105-115.

Parks, L.G., Ostby, J.S., Lambright, C.R., Abbott, B.D., Klinefelter, G.R., Barlow, N.J., Gray, L.E., Jr., 2000, The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat, Toxicol. Sci., 58, 339-349.

Peterson, R.E., Cooke P.S., Kelce W.R., Gray Jr. E., 1997, Environmental endocrine disruptors, Sipes I.G., McQueen C.A., Gandolfi A.J. (eds), Comprehensive Toxicology, Volume 10. Elsevier, Cambridge, Pp:181-192.

Pierik, F., Burdorf, A., de Jong, F., Weber, R., 2003, Inhibin B: a novel marker of spermatogenesis, Annals of Medicine, 35, 12-20.

Pfordt, J., Bruns-Welle, E., 1999, Die phthalsaureester als eine gruppe von umweltchemikalien mit endokrienem potential: Niedersachsisches Ministerium fur Ernahrung, Landwirtschaft und Forsten.

Price, M. S., Pound C. R., 1963, Comparative aspects of development and structure in the prostate. Biology of the prostate and related tissues. Washington , DC: National Cancer Institute, Pp:1-27.

Prins, G.S., Birch L., 1995, The developmental pattern of androgen receptor expression in rat prostate lobes is altered after neonatal exposure to estrogen, Endocrinology, 136,1303–1314.

Prins, P., S., 1997, Developmental estrogenized of the prostate gland, Prostate: Basic and clinical aspects, 247-65.

Prins, S. G., Birch L., Tang, W. Y., Ho, S. M., 2007, Developmental estrogen exposures predispose to prostate carcinogenesis with aging, Reproductive Toxicology, 23, 374-382.

Pryor, J.L., Hughes, C., Foster, W., Hales, B.F., Robaire, B., 2000, Critical windows of exposure for children's health: the reproductive system in animals and humans, Environ. Health Perspect., 108, 491-503.

Rhees, R.W., Kirk, B.A., Sephton, S., Lephart, E.D., 1997a, Effects of prenatal Testosterone on Sexual Behavior, Reproductive Morphology and LH Secretion in the Female Rat, Developmental Neuroscience, 19, 430-437.

Rhees, R.W., Kirk, B.A., Sephton, S., Lephart, E.D., 1997b, Effects of prenatal testosterone on sexual behavior, reproductive morphology in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate, Reprod. Toxicol., 17, 407–412.

Rhees, R.W., Shryne, J.E., Gorski, R.A., 1990, Termination of the hormone-sensitive period for differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats, Brain Res. Dev. Brain Res., 52:17–23.

Richburg, J.H., Boekelheide, K., 1996, Mono-(2-ethylhexyl) phthalate rapidly alters both Sertoli cell vimentin filaments and germ cell apoptosis in young rat testes Toxicol. Appl. Pharmacol., 137, 42-50.

Richburg, J.H., Nanez, A., Gao, H., 1999, Participation of the Fas-signaling system in the initiation of germ cell apoptosis in young rat testes after exposure to mono-(2-ethylhexyl) phthalate, Toxicol. Appl. Pharmacol., 160, 271-278.

Richburg, J.H., Nanez, A., Williams, L.R., Embree, M.E., Boekelheide, K., 2000, Sensitivity of testicular germ cells to toxicant-induced apoptosis in gld mice that express a nonfunctional form of Fas ligand, Endocrinology, 141, 787-793.

Rommerts, F.F.G., Grooteinhuis, A.J., Hoogerbrugge, J.W., van der Molen, H.J., 1985, Ethane dimethane sulfonate (EDS) specifically inhibits LH stimulated steroidogenesis in Leydig cells isolated from mature rats but not in cells from immature rats, Mol. Cell Endocrinol., 42, 105–111.

Rowland, I.R., Cottrell, R.C., and Phillips, J.C., 1977, Hydrolysis of phthalate esters by the gastro-intestinal contents of the rat, Food Cosmet. Toxicol., 15, 17-21.

Rudel, R.A., Brody J.G., Spengler J.D., Vallarino J., Geno P.W., Sun G., et al., 2001, Identification of selected hormonally active agents and animal mammary carcinogens in commercial and residential air and dust samples, J. Air Waste Manag.Asso., 51, 499-513.

Sadler, T.W., 2000, Langman's Medical Embryology, 9th ed. Philadelphia: Lippin-cott-Williams & Wilkins.

Saillenfait, A.-M., Gallissot, F., Sabaté, J.-P., 2009a, Differential developmental toxicities of di-n-hexyl phthalate and dicyclohexyl phthalate administered orally to rats, Journal of Applied Toxicology, 29, 510-521.

Saillenfait, A.-M., Sabaté, J.-P., Gallissot, F., 2009b, Effects of in utero exposure to di-n-hexyl phthalate on the reproductive development of the male rat, Reproductive Toxicology, 28, 468-476.

Saillenfait, A.M., Sabaté, J.P., Gallissot, F., 2006, Developmental toxic effects of diisobutyl phthalate, the methyl-branched analogue of di-n-butyl phthalate, administered by gavage to rats, Toxicology Letters, 165, 39-46.

Saito, I., Onuki, A., Seto, H., 2001, Determination of organic phosphate triesters in indoor and outdoor air, J. Aerosol Research, 16, 209–216.

Scott, H.M., Hutchison, G.R., Mahood, I.K., Hallmark, N., Welsh, M., De Gendt, K., Verhoeven, G., O'Shaughnessy, P., Sharpe, R.M., 2007, Role of Androgens in Fetal Testis Development and Dysgenesis, Endocrinology, 148, 2027-2036.

Shan, G., Hen, G.R., Tanrikut, Ç., Matthew, H., 2007, Phthalate ester toxicity in Leydig cells: developmental timing and dosage considerations, Reproductive Toxicology, 23, 366-373.

Sharpe, R. M., 2001, Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemicals, Toxicology Letters, 120, 221-232.

Sharpe, R. M., McKinnell, C., Kivlin, C. and Fisher, J. S., 2003, Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their revelance to disorders of testis function in adulthood, Reproduction, 125, 769-784.

Sharpe, R.M. and Skakkebaek, N.E., 1993, Are Estrogens Involved in Falling Sperm Counts and Disorders of the Male Reproductive Tract?, Lancet, 341,1392-5.

Sharpe, R.M., 1998, Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment; Environmental oestrogens and male infertility, Pure and Appl. Chem., 70(9), 1685-1701.

Shen, H., 2005, Simultaneous screening and determination eight phthalates in plastic products for food use by sonication-assisted extraction/GC-MS methods, Talanta, 66(3),734-739.

Skakkebæk, N.E., Rajpert-De Meyts, E., Main, K.M., 2001, Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects: Opinion, Hum. Reprod., 16, 972-978.

Sobarzo, C.M., Lustig, L., Ponzio, R., Denduchis, B., 2006, Effect of di-(2-ethylhexyl) phthalate on N-cadherin and catenin protein expression in rat testis, Reproductive Toxicology, 22, 77-86.

Swan, S.H., Main, K.M., Liu, F., Stewart, S.L., Kruse, R.L., Calafat, A.M., Mao, C.S., Redmon, J.B., Ternand, C.L., Sullivan, S., Teague, J.L., 2005, Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure, Environ. Health Perspect., 113, 1056–1061.

Swan, S.H., 2006, Prenatal phthalate exposure and anogenital distance in male infants, Environ. Health Perspect., 114, A88–A89.

Sweeney, T., 2002, Is exposure to endocrine distrupting compounds during fetal/postnatal development affecting the reproductive potential of farm animals?, Domestic Animal Endocrinology, 23, 203-209.

Takeuchi, S., Iida, M., Kobayashi, S., Jin, K., Matsuda, T., Kojima, H., 2005, Differential effects of phthalate esters on transcriptional activities via human estrogen receptors alfa and beta, and androjen receptor, Toxicology, 210, 223-233.

Tanagho. E.A., McAnnich, J.W., 1992, Smith.s General Urology. Lange, Prentice Hall International Inc., 1-16, 669-675.

Tapanainen, J., Kuopio, T., Pelliniemi, L.J., Huhtaniemi, I., 1984, Rat testicular endogenous steroids and number of Leydig cells between the fetal period and sexual maturity, Biology of Reproduction, 31, 1027-1035.

Teerds, K.J., de Rooij, D.G., Rommerts, F.F.G., Wensing, C.J.G., 1988, The regulation of the proliferation and differentiation of rat Leydig cell percursor cells after EDS administration or daily hCG treatment, J. Androl., 9, 43–351.

Teerds, K.J., de Rooij, D.G., Rommerts, F.F.G., Wensing, C.J.G., 1990, Development of a new Leydig cell population after the destruction of existing Leydig cells by ethane dimethane sulphonate in rats: And autoradiographic study, J. Endocrinol., 126, 229–236.

Tekbaş, Ö.F., 2006, Kimyasallar Ve Üreme Sağlığı, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 5(1).

Toppari, J., Larsen, J.C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette Jr., L.J., Jégou, B., Jensen, T.K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J.A., Meyer, O., Müller, J., Meyts, E.R., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J., Skakkebæk, N.E., 1996, Male reproductive health and environmental xenoestrogens, Environ. Health Perspect., 104(Suppl 4), 741-803.

Weber, R.F.A.A., Pierik, F.H., Dohle, G.R., Burdorf, A., 2002, Environmental influences on male reproduction, BJU International, 89, 143-148.

White, R.D., Carter, D.E., Earnest, D., Mueller, J., 1980, Absorption and metabolism of three phthalate diesters by the rat small intestine, Food Chem. Toxicol., 18, 383-386.

Working, P.K., 1988, Male reproductive toxicology: comparison of the human to animal models, Environ. Health Perspect., 77, 37-44.

Wyllie, A.H., 1980, Cell death: the significance of apoptosis, Int. Rev. Cytol., 68 251-306.

Yamasaki, K., Okuda, H., Takeuchi, T., Minobe, Y., 2009, Effects of in utero through lactational exposure to dicyclohexyl phthalate and p,p'-DDE in Sprague-Dawley rats, Toxicology Letters, 189, 14-20.

Yamasaki, K., Sawaki, M., Noda, S., Muroi, T., Takakura, S., Mitoma, H., Sakamoto, S., Nakai, M., Yakabe, Y., 2004, Comparison of the Hershberger assay and androgen receptor binding assay of twelve chemicals, Toxicology, 195, 177-186.

Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Yakabe, Y., Sawaki, M., Imatanaka, N., Takatsuki, M., 2002, Comparison of reporter gene assay and immature rat uterotrophic assay of twenty-three chemicals, Toxicology, 170, 21-30.

Yeşilkaya, E., 2008, Endokrin bozucular. Güncel Pediatri, 6, 76-82.

Zacharewski, T.R., Meek M.D., Clemons J.H., Wu Z.F., Fielden M.R., Matthews J.B., 1998, Examination of the in vitro and in vivo oestrogenic activities of eight commercial phthalate esters, Toxicol. Sci., 46, 282-293.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Müfide (AYDOĞAN) AHBAB

Doğum Yeri : ADANA

Doğum Yılı : 1980

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1993 – 1996 Adana Kız Lisesi

Lisans : 1996 – 2001 Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: 2001-2004 Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi: Ocak, 2003 tarihinden bu yana Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.