

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ERKEK FARELERİN REPRODÜKTİF SİSTEMİ
ÜZERİNE BUTYLCYCLOHEXYL PHTHALATE
(BCP)'İN TOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Elif Emine DUYAR

Tez Danışmanı : Doç. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.01.00

Sunuş Tarihi : 06.01.2011

Bornova-İZMİR

2011

Elif Emine DUYAR tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Erkek farelerin reproduktif sistemi üzerine Butylcyclohexyl Phthalate (BCP)’in, toksikolojik etkilerinin belirlenmesi*” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 06.01.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri :

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Raportör Üye : Doç. Dr. Hüseyin AKTUĞ

Üye : Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR

ÖZET**ERKEK FARELERİN REPRODÜKTİF SİSTEMİ ÜZERİNE
BUTYLCYCLOHEXYL PHTHALATE (BCP)'İN TOKSİKOLOJİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

DUYAR, Emine Elif

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Ocak 2011, 48 sayfa

Fitalatlar çok yaygın olarak kullanılan plastikleştiricilerin büyük bir sınıfını oluşturmaktadır. Birçok fitalat sınıfının erkeklerde gelişimin eşeyssel farklılaşma periyodunda androjen üretimini baskılayarak fetal endokrin toksisitesi ve postnatal reproduktif malformasyonlar oluşturduğu bilinmektedir. Fitalatlar, östrojenik özelliklere sahip birçok kimyasal sınıftan yalnızca biridir. Bu çalışmada ise, daha önce hiçbir toksikolojik verisi ortaya konmamış bir fitalat olan butil sikloheksil fitalatın (BCP) erkek reproduktif sistemi üzerindeki toksik etkileri ortaya konmuştur.

BCP' nin farklı konsantrasyonları (100 mg/ kg, 200 mg/ kg and 400 mg/ kg) ve kontrol grubu (0.1 ml % 0.9 serum fizyolojik/fare), oral olarak 28 gün boyunca erkek farelere uygulanmıştır. Çalışmamız sonunda, testis ve cauda epididimis örnekleri alınmıştır. BCP' nin farklı dozları uygulanan farelerin final total vücut ağırlıkları, kontrole oranla ve başlangıç ağırlıklarına oranla herhangi değişiklik göstermemiştir. Yine tüm uygulama gruplarında bulunan fareler, testis ve cauda epididimis ağırlıkları bakımından ve rölatif organ ağırlığı bakımından kontrole göre ve kendi aralarında herhangi bir önemli farklılık göstermemiştir. Testislerde yapılan histopatolojik incelemelerde, BCP, tubuli seminiferi contorti' lerde doz artışına bağlı olarak şekil bozukluğu, intersitisyumda ödem, defektif tubul ve spermatojenik hücre serilerinde dejenerasyona sebep olmuştur. Ayrıca, cauda epididimide doz artışına bağlı olarak sperm sayısında ve canlılığında azalma kaydedilmiştir. Bununla birlikte BCP testislerde lipid peroksidasyonuna sebep olmamaktadır. Sonuç olarak Butil sikloheksil fitalatın erkek reproduktif sistem üzerinde toksik etkilere sebep olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Butil sikloheksil fitalat, erkek fare, testis, sperm morfolojisi

ABSTRACT**DETERMINATION OF TOXIC EFFECT OF BUTYLCYCLOHEXYL
PHTHALATE (BCP) ON MALE REPRODUCTIVE SYSTEM**

DUYAR, Emine Elif

MSc in Biology Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

January 2011, 48 pages

Phthalates constitute a large class of plasticizer compounds that are widely used for many consumer product applications. More members of the phthalate class of compounds are known to induce male fetal endocrine toxicity and postnatal reproductive malformations by disrupting androgen production during the sexual differentiation period of development. Phthalates are just one of the many classes of chemicals that have been implicated as having estrogenic properties. In this project, the determination of toxic effects on male reproductive system of Buthyl cyclohexil phthalates (BCP) which has not been studied previously were aimed.

Three different concentrations of the BCP (100 mg/ kg, 200 mg/ kg and 400 mg/ kg) and a control group (0.1 ml % 0.9 saline per mouse) were designed for the experiment. The BCP was orally applied for 28 day. At the end of experiment, testes and cauda epididymis samples were taken from mice. Body weights of animals were showed no significant differences between treatment groups and control. There were no significant differences in the relative weights of testes and cauda epididymis in any of the experiment groups. In histological examinations, BCP caused a dose-dependent increase on histopathological changes in testes of mice such as degenerations in tubuli seminifer contorties, edema in some area of intersitium, defective tubule and degenerations in spermatogenetic cell lines. Also, in cauda epididymides as increasing doses there are significant decreases in sperm count and motility. But, BCP caused no lipit peroxidation on testes.

We can conclude that, Buthyl cyclohexil phthalates has toxic effects on male reproductive system.

Keywords: Butyl cyclohexyl phthalate, mal emice, testes, sperm morphology

TEŞEKKÜR

“Erkek farelerin reproduktif sistemi üzerine Butil sikloheksil fitalat’ın, toksikolojik etkilerinin belirlenmesi” konulu tez çalışmasının seçiminde, yürütülmesinde, sonuçlandırılmasında ve sonuçlarının değerlendirilmesinde maddi , manevi destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. Nefise Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU’na,

Yapılan analizlerde her türlü yardımı yapan, zaman harcayan, emek veren, tecrübesini paylaşan hocalarım Doç. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU’na ve Doç. Dr. Hüseyin Aktuğ’a

Tez çalışması boyunca bana verdiği manevi destek, göstermiş olduğu sabır ve anlayıştan dolayı değerli arkadaşım Çinel KÖKSAL’a

Sevgili aileme manevi hiçbir yardımı esirgmeden yanımda oldukları için tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACTvii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
1.2. Plastik Nedir	2
1.2. Tarihçe	2
1.3. Plastik Çeşitleri	3
1.3.1. Polietilen	3
1.3.2. Polivinil Klorür ve Vinil Kopolimerleri	4
1.3.3. Politetrafloroetilen	5
1.3.4. Polistiren	5
1.3.5. Polipropilen	5
1.3.6. Polietilen Tereftalat	6
1.3.7. Termoplastik Poliamid	7
1.3.8. Poli (amid – imid)	7

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
1.3.9. Poliüretan	7
1.3.10. Stiren Akrilonitril	7
1.3.11. Akrilonitril bütadien stiren	8
1.3.12. Naylon	8
1.3.13. Nitril Reçine	8
1.4. Plastikleştiriciler	9
1.5. Fitalatlar	10
1.5.1. Fitalatların Kullanım Alanları	10
1.5.2. Fitalatların İnsan ve Çevre Sağlığına Etkileri	12
2. MATERYAL VE METHOD	13
2.1. Materyal	13
2.1.1. Deney Hayvanları	13
2.1.2. Butil siklohekzil fitalat	15
2.2. Metot	16
2.2.1. Butil siklohekzil fitalat'ın saflığının test edilmesi	16
2.2.2. Akut Toksikite Testi	18
2.2.3. Subakut Toksikite Testi	18

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.3.1. Sperm Sayımı	19
2.2.3.2. Histopatolojik Yöntem	20
2.2.4. İstatiksel Değerlendirme	21
3. SONUÇLAR.....	22
3.1. Butil sikloheksil fitalat'ın saflığının test edilmesi.....	22
3.1.1. Akut Toksikite Testi Sonucu.....	23
3.1.2. Subakut Toksikite Testi Sonuçları	24
3.1.2.1. Total vücut ve organ ağırlıkları ile ilgili bulgular	24
4. TARTIŞMA.....	28
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Fitalatların genel kimyasal yapısı.....	10
2.1. Çalışmada kullanılan Bulb-c albino deney faresi.....	13
2.2. Deney hayvanlarının tutulduğu kafesler.....	14
2.3. BCP'nin genel kimyasal yapısı	15
2.4. Doz gruplarına göre ayrılmış deney hayvanları ve kafes sistemi.....	19
3.1. Çözgen olarak asetonun kullanıldığı BCP'nin kromotogramı	23
3.2. Kontrol grubunun sperm morfolojisi.....	27
3.3. 100 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi.....	27
3.4. 200 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi.....	27
3.5. 400 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi.....	27
3.6. Kontrol grubuna ait fare testis kesiti	29
3.7. 100 mg/kg BCP uygulanan grupta	30
3.8. 200 mg/kg BCP uygulanan grupta	31
3.9. 400 mg/kg BCP uygulanan grupta	32
3.10. Testiste farklı doz uygulamalarında MDA miktarının hesaplanması.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan fitatlar	11
2.1 GC-FID cihazının özellikleri	17
2.4 GC-MS cihazının özellikleri	33
3.1 Uygulama sonrası ölüm oranı	24
3.2 Probit analizi sonucu BCP'nin LD ₅₀ değeri.....	24
3.3 Çalışma sonunda deney gruplarına göre farelerin dağılımı	25
3.4 Erkek farelerin total vücut ağırlığı ortalamaları ve standart sapmaları.....	26
3.5 Erkek farelerin testis, cauda epididimis ve rölatif organ ağırlıkları ortalamaları (g) ve standart sapmaları.....	25
3.6 Sperm Morfolojik Anomalileri	28

1. GİRİŞ

Petrolden elde edilen ve dünyada büyük çevre kirliliğine sebep olan plastik malzemelerin kullanımı gün geçtikçe artış göstermiş, 1980 yılından itibaren toplam 61 milyon ton üretimden, 1990'larda % 130 artışla 140 milyon tona ulaşmıştır (Plastik ürünleri sanayi özel ihtisas komisyon raporu, 2001). Bilindiği gibi plastik malzemenin büyük çoğunluğu kullanıldıktan sonra fonksiyonunu kaybetmekte ve plastik atık olarak atılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan plastik ambalaj malzemesinin doğa koşullarında uzun yıllar parçalanmaması ve bozulmadan kalması bu kirliliğin her geçen gün artmasına bunun neticesinde insan sağlığının olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır. Plastik malzemelerin atık olarak zararlı olmalarının yanı sıra üretimleri de insan sağlığını tehdit etmektedir. Özellikle işlenmeleri sırasında plastik polimerlerini yumuşatmak ve onlara direnç kazandırmak için eklenen plastikleştiriciler buna en iyi örnektir. Günümüzde oldukça geniş kullanım alanı olan plastikleştiricilerden biri de fitalatlardır.

Sert plastik olan polivinilkloriti (PVC) esnek plastiğe çevirmede çok geniş kullanım alanı olan fitalatlar zehirli kimyasal maddelerdir. Ayrıca kanserojen etkileri de bilinmektedir. Son verilere göre fitalatlar, tarımsal adjuvanlardan kişisel bakım ürünlerine kadar çok geniş alanlarda kullanılmaktadır. Bununla birlikte tıbbi cihazlar, deterjanlar ve oyuncaklarda diğer kullanım alanlarıdır.

Fitalatlar, çevreye kolayca yayılırlar. Bunun sebebi fitalat ve plastik karışımı maddeler arasında kovalent bağ bulunmamasıdır. Çevrede biyodegradasyon, fitodegradasyon ve anaerobik degradasyona maruz bırakılırlar. Bu nedenle doğada kalıcı değildirler.

Birçok fitalat günümüze kadar çalışılmış olup toksik etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Benson, 2009). Bu projenin amacı, daha önce hiçbir toksikolojik verisi ortaya konmamış bir fitalat olan Butil siklohekzil fitalat (BCP)' in erkek farelerin reproduktif sistemi üzerindeki subakut etkilerinin belirlenmesidir.

1.1. Plastik Nedir?

Plastik, karbonun, hidrojen, oksijen, azot ve diğerk organik ya da inorganik elementler ile oluşturduğu monomer denilen, basit yapıdaki molekülü gruplardaki bağın koparılarak, polimer adı verilen uzun ve zincirli bir yapıya dönüştürülmesi ile elde edilen malzemelere verilen isimdir. Yapısal bakımdan yumuşak veya sağlam olabilirler. Sıcak suda eriyen olduğu gibi alevde dayanıklı olanları bulunmaktadır. Yapımında hammadde olarak etilen, propilen, benzen ve butilen gazları kullanılmaktadır ve hiçbirisi yün ve ipek gibi doğada bulunmaz.

Binlerce plastik türü olmakla birlikte bunları sıcakta sertleşen ve sıcakta kalıplanan plastikler olmak üzere iki ana grupta toplamak mümkündür. Sıcakta kalıplanan plastikler erirler ve istenilen şekle girerler. Her defasında soğurken sertleşirler. Sıcakta sertleşen plastik ısıtıldıktan ve tekrar şekil verildikten sonra tekrar ısıtılınca şekil değıştirmezler (Damberg et al., 2009).

1.2. Plastiğın Tarihçesi

Plastikli sanayinin nitroselüloz'un ticari üretimi ile 1868 yılında başladığı kabul edilmektedir. Nitro selülozu takiben, tarihi süreçte ikinci sentetik plastik olan fenol-formaldehit esaslı polimerler geliştirilmiştir. Bunların üretimleri ise bu tarihten yaklaşık 40 yıl sonra gerçekleştirilmiştir. Bu ve bunları izleyen diğerk plastik malzemelerin temel yapı taşları ve hammaddeleri olan polimerler, 19. asrın ikinci yarısındaki bazı çalışmalar sonunda ortaya çıkmıştır.

Çok eski tarihlerde kullanılan polimerik malzemelerin başında selüloz, nişasta, doğal kauçuk gibi polimerler gelmektedir. Doğal polimerler, işlenme zorluğu ve bazı fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklerinin yetersizliğinden dolayı yerlerini yarı sentetik ve daha sonra sentetik polimerlere bırakmışlardır. İlk polimer malzemesi 1868'de S. Hyatt tarafından keşfedilen selüloittir. Yarı sentetik bir polimer olan selüloid; selüloz nitrat, kâfur ve alkol kullanılarak elde edilmiştir. Ancak modern plastik endüstrisi, L. Baekeland tarafından bakalitın sanayi çapında üretilmesiyle 1989'da başlamıştır. Fenol formaldehit reçinesi olan bakalit, telefon ahizeleri gibi plastik ürünlerin yapımında kullanılmıştır. H. Staudinger yaptığı büyük çapta incelemelerin sonucu olarak, plastiklerin zincir şeklinde makro moleküllerden oluştuğunu ve bu moleküllerin birbiriyle kovalent bağlanan küçük ünitelerden meydana geldiğini göstermiştir. Bu süreci takiben polimer sanayi hızla gelişmiş ve 1927'de selüloz asetat ve polivinil klorür,

1928'de polimetilmetakrilat 1929'da üre-formaldehit reçineleri elde edilmiştir. Bunları daha sonra 1932'de polietilen, 1934'de naylon, poliakrilonitril, stiren-akrilonitril ve polivinil asetat, 1937'de poliüretan, 1939'da teflon ticareti adıyla tanınan poli(tetrafloroetilen), 1941'de polietilentereftalat ve orlon ticari adıyla tanınan poliakrilonitril fiber takip etmiştir (Brock et al., 2006).

Plastiklerin gelişiminde önemli bir aşama, bu malzemelerin cam, grafit ve karbon elyafları ile karıştırılarak kuvvetlendirilmiş plastiklerin elde edilmesidir. Bu malzemelerin mekanik özellikleri, metallerin seviyesine ulaşmakta ve birçok uygulama alanında plastikler metallere rakip olmaktadır.

1.3. Plastik Çeşitleri

İlk elde edilen saf plastikler, doğal plastikler olup bitkilerdeki selülozdan yararlanılarak yapılmış genellikle fotoğraf ve sinema filmi gibi maddelerin yapımında kullanılmışlardır. Fakat kolaylıkla tutuşabildiğinden yerini selüloz asetat ve etil selüloz gibi selüloz plastiklerine bırakmışlardır (Cooper, 2006).

XV. yüzyılın başlarında yapay plastikler yapılmıştır. Bu plastikler laboratuarda tamamen kimyasal maddelerden elde edilmişlerdir. Günümüzde bir çok alanda kullanılan bir çok yapay plastik bulunmaktadır.

1.3.1. Polietilen

Bütün hammaddelerin en kullanışlısı etilen gazıdır. Polietilen, plastiklerinin en fazla tanınanı ve kimyasal olarak en basitidir. Çok çeşitli ürünlerde kullanılan bir termoplastik olan polietilen esnek ve yalıtkan bir yapıya sahip olmasına karşın; ısı, ışık ve oksijene karşı dayanıklı değildir. İsmi monomer haldeki etilenden almaktadır. Plastik endüstrisinde genelde ismi kısaca PE olarak kullanılmaktadır (Kahovec et al., 2002).

Polietilenin kullanım alanları oldukça geniştir. Hafif kovalar ve taslar, ayrıca deterjan şişeleri bu maddeden yapılmaktadır. Sağlam olup, asit, baz ve çözücülere karşı dayanıklıdır. Dielektrik özellikleri üstündür ve kolay işlenebilirler. Ayrıca otomotiv ve boru imalatında da kullanılırlar. Bunların dışında; çöp torbaları, zirai amaçlı ağır hizmet torbaları imalinde, inşaatçılıkta ve genel olarak ambalajlamada kullanılırlar. Ev eşyaları yapımında ve rotasyon kalıplamakta çok iyi; alışveriş torbası, seralık film, oyuncak imali şişirerek

kalıplama ve köpük uygulamalarında orta derecede sonuç vermekte olup, büzgü torba uygulamalarında kullanılmaktadırlar.

Polietilen temel polimer olarak kullanılabilirdiği gibi, alaşım maddesi ve darbe dayanımını artırıcı olarak da kullanılabilir (levha, tel, kablo, kumaş kaplama, hortum, bidon, oyuncaklar, çamaşır suyu, deterjan, şampuan, motor yağı şişeleri vb.) (Chen and Run Chu, 2000).

1.3.2. Polivinil Klorür ve Vinil Kopolimerleri

Vinil polimerlerine her ne kadar polivinil klorür (PVC) hâkimse de, aslında monomeri vinil klorür, vinil asetat ve vinilden klorüre dayalı reçine ailesidir. Bunlara ilave olarak bu türler ayrıca PVC kopolimerlerini, klorlandırılmış PVC, polivinil alkol, polivinil butiral ve poliviniliden, florürleri de içermektedir. Kimyasal olarak inert olup, suya, asitlere, alkalilere oksitlenmeye ve dış etkenlere karşı dayanıklıdır. Yumuşaktan serte değişen, mat ve şeffaf olarak bütün renkleri mevcuttur (Kim et al., 1999).

Kimya endüstrisinde en değerli ürünlerden biri olan PVC'nin dünyada % 50'sinden fazlası yapı sektöründe kullanılmaktadır. PVC geleneksel yapı malzemeleri olan ahşap, beton ve kilin birçok alanda yerini almıştır. Esnek ve ucuz olması nedeniyle diğer kullanım alanları arasında, kapı ve pencere profilleri, vinil cephe kaplaması, boru ve tesisat malzemeleri , elektrik kabloları, döşeme, hobi malzemeleri sayılabilir. Yaygın olarak su dağıtımı ve zirai sulamada basınçlı sert borular imalinde kullanılır. Kanalizasyon, elektrik kanalı ve telefon kanalları olarak ise basınçsız PVC boruları kullanılmaktadır. Klorlu PVC evlerde sıcak su sistemlerinde, ayrıca binalardaki pencere çevresi, oluklar, bina içi süslemeleri, yer karoları ve döşemesinde kullanılır. Ayrıca tel, kablo ve buzdolabı contaları, mutfak eşyaları, taban paspasları, araba kabloları, arabanın iç ve dış aksesuarları, gıda maddeleri ayakkabı ve dış giyim, plak, spor eşyaları ve oyuncak yapımında kullanılır.

Son 50 yıldır sağlık sektöründe de kullanıma girmiştir. Parenteral kullanılan sıvıların, kan ve kan ürünlerinin torbalarında ve transfüzyon setlerinde, kateter ve drenlerde, stoma ürünlerinde ve daha birçok yerde PVC'ye rastlanmaktadır. Bunlardan ayrı olarak yapışkan, boya, kumaş ve kâğıt konularında polivinil asetat (PVAc) latex veya emülsiyon olarak kullanılmaktadır. Polivinil butiral, lamine

edilmiş emniyetli cam yapımında yapışkan olarak, Formal polivinil ise ısıya dayanıklı tel izolasyonunda kullanılır (Xu et al., 2004).

1.3.3. Politetrafloroetilen

Teflon, florlanmış etilen polimeri olan bir politetrafloroetilendir. 1938'de Du Pont firmasından Roy J. Plunkett tarafından bulunmuş ve 1946'da ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Flor atomlarıyla doymuş uzun ve düz bir karbon zincirinden meydana gelmiş moleküler yapı, atomlar arasındaki kuvvetli bağlar sebebiyle oldukça inert özelliklere sahiptir. Isıya, kimyevî maddelere, neme, elektrik atlamasına (dielektrik) ve sürtünmeye dayanıklı olan teflon hiçbir maddeye yapışmaz, sürtünme katsayısı bütün katı cisimlerinkinden küçüktür. Teflon 260 °C üzerindeki sıcaklıklarda bozulmaya başlar; 350°C civarında tamamen yapısı bozulur (Hyungmin et al., 2010).

1.3.4. Polistiren

Monomer haldeki stirenden polimerizasyon ile üretilen bir polimerdir. Petrolden elde edilir. Plastik endüstrisinde daha çok PS kısaltması ile kullanılır. Oda sıcaklığında, polistiren katı halde bir termoplastiktir, fakat işlendikten sonra yüksek sıcaklıklarda eriyik hale getirilir. Daha sonra soğutularak tekrar katılaşması sağlanır. Oldukça yaygın olarak kullanılan bir plastik türüdür. Kolay işlenmesi ve uçuculuğu sayesinde kâğıt, tahta ve metallerin yerini almıştır. Et ve yumurta kutuları, polistiren levhadan ısıl şekillendirme ile elde edilir. Ayrıca şişe kapakları, pasta, çikolata ve şeker paketlerinde bunlarında dışında duş kapakları, aydınlatma panelleri, havalandırma üniteleri, buzdolabı ve dondurucu parçaları, radyo, TV, stereo kapakları imalinde de kullanılmaktadır. Diğer kullanım alanları ise ev aletleri, ayakkabı topukları, oyuncaklar, tıbbi cihazlar, cam kesitli kutular, taraklar, şişelerdir (Gowd et al., 2009).

1.3.5. Polipropilen

Kimyasal özellikleri polietilene benzer ancak yüksek sıcaklıklarda çeşitli kimyasal maddelerden etkilenmemesi kullanım alanlarının genişlemesine yol açmıştır. Diğer plastiklere göre daha hafif olmaları ve yumuşama noktasının yüksek oluşu gibi özellikleri bulunmaktadır

Otomotiv sanayinde kullanılan parçalardan, tekstil, ilaç kutuları ve yiyecek paketlemesine kadar çok geniş kullanım alanı olan termoplastik bir polimerdir. Monomer propilenin polimer hale getirilmesi ile elde edilen polipropilen kimyasal solventlere karşı aşırı derecede dirençlidir. Berrak ve yumuşak filmler gömlek ve çorap gibi ürünlerin, berrak ve daha sert filmler ise yemek ve sigara ambalajında kullanılmaktadır. Müzik plağı ambalajında da polipropilen kullanılır. Ayrıca elyaf türü ile örme ve dokuma sanayinde, halılarda ve döşemecilikte bunlardan başka sterilize edilebilen sağlık malzemesi, deterjan kutularının kapakları, margarin kapları, sentetik elyaf, boru, profil, ince levha, şişe, balık ağı, halat, çuval, çeşitli ev ve mutfak eşyası ve benzeri ürünlerin yapımında da kullanılmaktadır. Hafif ve dayanıklı olması ve geri dönüştürülebilir özelliklerinden dolayı, araba aküsü kutularında, konteyner kapaklarında, şişe etiketlerinde, otomotiv sanayinde de kullanılmaktadır. Granül haline getirilerek geri dönüştürülmüş polipropilenden sentetik halı tabanı çeşitli plastik oyuncaklar ve kırtasiye malzemeleri üretilmektedir (Horrocks, 2003).

1.3.6. Polietilen Tereftalat

Polimerlerin bir kategorisi veya daha özel olarak ana bağları içinde ester fonksiyonel grupları içeren polimerleridir. Polyesterler doğada bulunmasına karşın, genel olarak tüm polietilen tereftalat ve polikarbonat içeren sentetik polyesterlere ait geniş bir aileyi belirtir. Doğal polyesterler 1830'lu yıllardan beri bilinmektedir. Polyester kelimesinin yaygın kullanımı polyester liften gelen kumaşı belirtir. Polyester giysiler, doğal liflerle karşılaştırıldığında, daha az doğal hissedilir. Polyester lifler sıklıkla pamuk lifleri ile beraber, daha iyi özelliklere sahip giysiler üretmekte kullanılır. ABD'de en hızla gelişen plastik olan Polietilen tereftalat, polyester ailesine ait termoplastik bir malzemedir. İlk sentetik polyester, su geçirmezlik özelliği elde etmek için I. Dünya Savaşı'nda kullanılmıştır. Polietilen tereftalat (PET), termoplastikler arasında kristal yapıda zayıf asitlere, bazlara ve çoğu çözücülere karşı dayanımı olduğu kadar, sağlamlık, sertlik, parlaklık ve yüksek darbe dayanımı gibi özellikleriyle de üstündür. PET'in gaz geçirgenliği diğer plastiklerin çoğundan daha düşüktür. Tipik PET reçinesi 250-260 °C arasında erir. PET reçine normal olarak kristal yapılu pelletler şeklinde üretilmektedir. 150-175 °C sıcaklığa kadar dayanıklı olduğundan elyaf ve meşrubat şişesi yapımında kullanılır. PET başlıca; uyku yatağı, yastık, kışlık giyecek (yeşil lifler sadece koyu renkli giysilerde kullanıldığından yeşil şişeler ayrı toplanır.) Üretiminde kullanılan polyester elyaflarına dönüştürülmek üzere geri kazanır. PET ayrıca halı elyaflarında, şekil vermiş ürünlerde, yiyecek ve

yiyecek dışı kaplarda ve otomotiv endüstrisinde kullanılır. Hafif ve dayanıklı olması nedeniyle kullanım alanı giderek genişlemektedir. PET atıklar sentetik elyaf ve dolgu malzemesi olarak değerlendirilebilirler (Muthuvijayan and Gu, 2009).

1.3.7. Termoplastik Poliamid

Termoplastik poliamidler, sıkıştırılarak kalıplama, dökme film, eriyik elyaf bükme teknikleri ile işlenir. Nükleer uygulamalarda valf yatağı yapımında da kullanılır. Lamine edilmiş ve doldurulmuş parçalar jet motorlarında, sıcak makinaya yakın elektrik ve mekanik parçaların imalinde kullanılırlar (Bersee et al., 2006).

1.3.8. Poli (amid – imid)

Poli (amid-imid) yüksek güç ve darbe dayanımıyla tanımlanabilen kalıplanabilir, yüksek performanslı bir termoplastiktir. Peptid bağları tarafından bağlanmış monomerler içeren bir polimerdir. Doğal olarak (proteinler, yün, ipek) da oluşabilirler, suni olarak (naylon, keklar, sodyum (poli)aspertat da yapılabilirler. Radyasyona ve kimyasallara dayanımı iyidir. Hidrolik, işletme ve dokuma teçizatı, pompalar, valf ve tribünler gibi endüstriyel uygulamalarda, jet motor parçaları gibi ulaştırma uygulamalarında kullanılırlar (More and Pasale, 2010).

1.3.9. Poliüretan

Esnek ve esnemeyen köpükler ve yüksek performanslı yapıştırıcılar, sentetik fiberler, contalar, prezervatifler, halıların alt kısmı ve sert plastik yapımında kullanılırlar. Esnek poliüretan köpükler, poliüretan süngerler olarak da bilinirler ve yataklarda, mobilyalarda konfor malzemesi olarak vazgeçilmezdirler. Esnemeyen köpükler ise daha çok ısı ve ses izolasyonunda kullanılırlar (Zia and Bhatti, 2007).

1.3.10. Stiren Akrilonitril

Sitiren akrilonitril reçineleri, yüksek performanslı stiren ailesinin üyesidir. Bunlar poliskrenin parlaklık ve berraklığına sahip olup aynı zamanda kimyasallara karşı dirençlidirler, ısıyla genleşirler ve sertleşirler. Bu reçinelerin

yüksek gerilme ve bükülebilirlik güçleri vardır. Düğmeler, buzdolabı et ve sebze kutuları, karıştırıcı kapları; otomotivde, elektronikte, pil kapları, metre mercekle; tıpta şırınga, kan aspiratörleri ve suni böbrek aygıtları; kozmetik kapları, şişeler ve kavanozlar; inşaatta, su filtre kabı; daktilo anahtarı ve kalem üstleridir (Dessouki and Nizem El-Din, 2001).

1.3.11. Akrilonitril bütadien stiren

ABS reçineleri, akrilonitril, bütadien ve stirenden yapılan kopolimerlerdir. Akrilonitril, kimyasal olarak sağlamlık; stiren, kolay işlenebilirlik, sertlik ve parlaklık sağlar. Bütadien ise soğuk hava şartlarında ve oda sıcaklığında darbe dayanımı ve dayanıklılık sağlayıcı olarak rol oynar. ABS'nin birçok türleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında kaplama az parlak veya mat levhalar; yüksek sıcaklık ve alevlenmeye karşı dayanıklı, alaşımlama, yapısal köpük ve şeffaf uygulamalara imkân veren ve bu özellikleri sağlayan reçineler yer almaktadır. Dünyadaki en büyük ABS hammadde üreticisi Tayvan'dadır (Cole and Collins, 2008).

1.3.12. Naylon

Naylon, termoplastik poliamid reçine ailesini temsil eder. Bütün naylonlar cam elyafı, cam tanesi ve mineral parçalar ile güçlendirilebilirler. Uygulamada naylon kullanımı, sağlamlık, sertlik, kimyasal maddelere dayanım ve elektriği izole eden özellikleri nedeniyle yaygındır. Naylon bileşenlerinin kullanıldığı en geniş Pazar otomotiv sektörüdür. Desteksiz boru takımı, tel izolasyonu ve iç döşeme uygulamalarıdır. Spor malzemesi, özel fırçalar (diş, saç), fermuar ve fırça sapları da naylon tüketim yerleridir (Webb et al., 2003).

1.3.13. Nitril Reçine

Ana monomeri akrilonitril olan polimerler nitril reçineler diye isimlendirilir. Bu reçineler yapı özellikleri nedeniyle düşük gaz geçirgenliğine sahip olup, kimyasallara karşı dirençleri oldukça iyidir. Reçineler, kauçukla karıştırıldığında oldukça yüksek gerilme özelliğine sahip olup ısı ile şekillendirilebilirler. Nitril reçinelerin en önemli kullanım yerleri, yiyecek ve benzeri maddelerin ambalajlama işlemleridir. Nitriller, meşrubatlar dahil olmak üzere yiyecek ve aynı zamanda yiyecek dışı maddeler ambalajında kullanılmaktadır (Gryshchuk and Jost, 2002).

1.4. Plastikleştiriciler

Günümüzde yaygın olarak kullanılan plastiklerin bir bölümünün camsı geçiş sıcaklığı (T_g), oda sıcaklığının üzerindedir. Bu sıcaklık polimerler için ayırt edici bir özellik olduğundan her polimerin farklı bir T_g değeri vardır. Camsı geçiş sıcaklığının altında polimerler camsı ve kırılkan, bu sıcaklığın üzerinde ise genellikle kauçuğumsu davranış gösterirler ve çarpma dirençleri yüksektir. Selülozikler, viniller, akrilikler gibi polimerlerin camsı geçiş sıcaklıklarını düşürmek için başka bir ifadeyle bu polimerleri yumuşatmak için plastikleştiriciler kullanılır. Buna tipik örnek PVC'dir. PVC'nin camsı geçiş sıcaklığı 80 °C'dir. Bu değer uygun miktarda plastikleştirici ilavesiyle 0 °C ye kadar düşürülebilirler

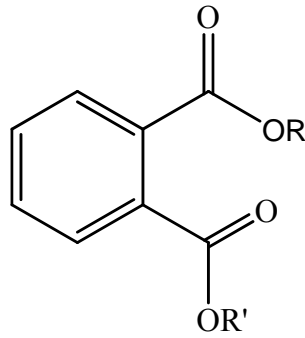
Plastikleştiricilerin polimer ile uyuşabilmesi uygulamada dikkat edilmesi gereken en önemli özelliktir. Ayrıca, iyi bir plastikleştiricinin, toksik ve yanıcı olmaması, etkisini uzun süre devam ettirmesi ve tatsız olması beklenir.

Plastikleştiriciler, yüksek kaynama noktasına sahip organik sıvılar veya düşük erime noktası gösteren katılar olup iç plastikleştiriciler ve dış plastikleştiriciler olmak üzere başlıca iki grup altında toplanmaktadırlar (Mustafizur and Christopher, 2006).

İç plastikleştiriciler, polimerlerin sentezi sırasında kullanılırlar. Esas polimerik yapıyı oluşturan monomere, komonomer olarak bağlanır ve polimer zinciri üzerinde yer alırlar. Dış plastikleştiriciler ise daha yaygın olarak kullanılan türdür. Bunlar polimerin işlenmesi sırasında yapıya ilave edilirler. Çok basit bir ifadeyle polimerik yapıda seyreltici rolü oynarlar. Polimer zincirler arasına girerek, ikincil kuvvetlerin etkisini azaltır, böylece yapıyı yumuşatırlar. Plastiklerin esnekliklerini arttırmak amacıyla eklenen fitalatlar, dış plastikleştiricilere örnektir.

1.5. Fitalatlar

Fitalatlar, ya da fitalat esterler, fitalik asit esterleridir ve genellikle esnekliklerini artırmak için organik kimyasallardan üretilip plastıklere eklenirler. Sert plastik olan polivinilkloriti esnek plastiğe çevirmede kullanılırlar. Plastiklere eklendiklerinde uzun polivinil moleküllerin birbirleri üzerinde kaymasına izin verirler. Suda çözünürlükleri düşük, yağda çözünürlükleri yüksek ve uçuculukları düşüktür (Babu and Wu, 2010). Fitalatların genel kimyasal yapısı şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Fitalatların genel kimyasal yapısı

1.5.1. Fitalatların Kullanım Alanları

Fitalatların kullanım alanları oldukça geniştir. Son verilere göre süt ürünlerinde, emülsifiye ajanlarda, tutkallarda, seyrelticilerde, farmasötik ilaçların iç kaplamalarında, besin maddelerinin viskozitesini ayarlayan maddelerde ve jelleştirici ajanlarda kullanılırlar. Bununla birlikte yapı malzemelerinde, sürfanktanlarda, vakslarda, boya, mürekkep ve kil hamurlarında, kaplamalarda, farmasötiklerde, yiyecek ve tekstil ürünlerinde bulunmaktadır. Ayrıca sıklıkla kullanıldıkları diğer alanlarda, plastik balık yemleri, kalafat içeriği ve boya maddeleridir. Ayrıca çeşitli ev gereçlerinde, vinil içerikli kaplamalarla çini, fayans, kiremit gibi döşemelerde, ambalaj kâğıtlarında ve temizlik malzemelerinde kullanılırlar. Bunun yanı sıra modern elektronik cihazlar ve kateter gibi bazı tıbbi gereçlerde de bulunabilen zehirli kimyasal maddelerdir (Erna et al., 1996).

Yaygın olarak kullanılan fitalatların başında di-2-etil hekzil fitalat (DEHP), diisodecil fitalat (DIDP) ve diisononil fitalat (DINP) gelir. Özellikle DEHP, PVC üretiminde kolay elde edilebilirliği ve ucuz olması nedeniyle en fazla kullanılan

fitalat türüdür (Vo et al, 2009). Çizelge 1.1’de dünya genelinde yaygın olarak kullanılan fitalat listesi verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan fitalatlar

Fitalat	Akronim	Kimyasal Yapı	CAS No.
Dimethyl phthalate	DMP	$C_6H_4(COOCH_3)_2$	131-11-3
Diethyl phthalate	DEP	$C_6H_4(COOC_2H_5)_2$	84-66-2
Diallyl phthalate	DAP	$C_6H_4(COOCH_2CH=CH_2)_2$	131-17-9
Di-n-propyl phthalate	DPP	$C_6H_4[COO(CH_2)_2CH_3]_2$	131-16-8
Di-n-butyl phthalate	DBP	$C_6H_4[COO(CH_2)_3CH_3]_2$	84-74-2
Diisobutyl phthalate	DIBP	$C_6H_4[COOCH_2CH(CH_3)_2]_2$	84-69-5
Butyl cyclohexyl phthalate	BCP	$CH_3(CH_2)_3OOC C_6H_4COOC_6H_{11}$	84-64-0
Di-n-pentyl phthalate	DNPP	$C_6H_4[COO(CH_2)_4CH_3]_2$	131-18-0
Dicyclohexyl phthalate	DCP	$C_6H_4[COOC_6H_{11}]_2$	84-61-7
Butyl benzyl phthalate	BBP	$CH_3(CH_2)_3OOC C_6H_4COOCH_2C_6H_5$	85-68-7
Di-n-hexyl phthalate	DNHP	$C_6H_4[COO(CH_2)_5CH_3]_2$	84-75-3
Diisohexyl phthalate	DIHxP	$C_6H_4[COO(CH_2)_3CH(CH_3)_2]_2$	146-50-9
Diisohexyl phthalate	DIHpP	$C_6H_4[COO(CH_2)_4CH(CH_3)_2]_2$	41451-28-9
Butyldecyl phthalate	BDP	$CH_3(CH_2)_3OOC C_6H_4COO(CH_2)_9CH_3$	89-19-0
Di(2-ethylhexyl) phthalate	DEHP, DOP	$C_6H_4[COOCH_2CH(C_2H_5)(CH_2)_3CH_3]_2$	117-81-7
Di(n-octyl) phthalate	DNOP	$C_6H_4[COO(CH_2)_7CH_3]_2$	117-84-0
Diisooctyl phthalate	DIOP	$C_6H_4[COO(CH_2)_5CH(CH_3)_2]_2$	27554-26-3
n-Octyl n-decyl phthalate	ODP	$CH_3(CH_2)_7OOC C_6H_4COO(CH_2)_9CH_3$	119-07-3
Diisononyl phthalate	DINP	$C_6H_4[COO(CH_2)_6CH(CH_3)_2]_2$	28553-12-0
Diisodecyl phthalate	DIDP	$C_6H_4[COO(CH_2)_7CH(CH_3)_2]_2$	26761-40-0
Diundecyl phthalate	DUP	$C_6H_4[COO(CH_2)_{10}CH_3]_2$	3648-20-2
Diisoundecyl phthalate	DIUP	$C_6H_4[COO(CH_2)_8CH(CH_3)_2]_2$	85507-79-5
Ditridecyl phthalate	DTDP	$C_6H_4[COO(CH_2)_{12}CH_3]_2$	119-06-2
Diisotridecyl phthalate	DIUP	$C_6H_4[COO(CH_2)_{10}CH(CH_3)_2]_2$	68515-47-9

1.5.2. Fitalatların İnsan ve Çevre Sağlığına Etkileri

Fitalatlar ve plastik karışımı maddeler arasında kovalent bağ bulunmamasından dolayı çevreye kolayca yayılırlar. Ayrıca doğada kalıcı değildirler; biyodegradasyon, fitodegradasyon ve anaerobik degradasyona maruz bırakılırlar. Açık havada kentlerde ve kenar mahallelerde kırsal bölgelere oranla daha yüksek konsantrasyonda bulunurlar (Pereira and Mapuskar, 2008).

Araştırmalar, bu kimyasalın kullanıldığı her türlü maddenin sağlık için risk oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Özellikle çocuklar tarafından ağza alınan ve fitalat içeren eden bazı Uzak Doğu kaynaklı oyuncakların ithalatı Avrupa Parlamentosu tarafından yasaklanmıştır. Bunlar ağızdan emildikleri zaman östrojenik etki yapıp çocuğun gelişimine zararlı olabilmektedirler. Çocuklarda kanser ve astıma yakalanma riskini artırdığı ayrıca böbrek, karaciğere de zararlı olduğunu bilinmektedir (Kovacic and Jacintho, 2001).

Dışarıdan alınan bu kimyasal madde insandaki hormon sentezi ve salınımını da bozarak etki gösterebilmektedir. Örneğin bazıları tiroid fonksiyon bozukluğuna sebep olabildikleri gibi östrojen seviyesinde de dengesizliğe neden olabilirler.

Ayrıca ağız, cilt ve havadan solunum yoluyla alınabilen fitalatlar özellikle genç kadınların idrarında fazla miktarda olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Bunun nedeni de kozmetikler olarak açıklanmaktadır. Araştırmalar, hamilelik döneminde fitalat maddesine çok fazla maruz kalan annelerin erkek çocuklarında cinsiyet kayması olabildiğini ortaya çıkarmıştır (National Toxicology Program, NTP, 1998). Hamilelikte amnion sıvısına karışıp, fetüsü etkileme riski de mevcut olan bu kimyasal, testis gelişim bozukluklarına neden olmaktadır. Ayrıca kanserojen etkileri de bilinmektedir (Kovacic and Osuana, 2000; Kovacic et al., 2009).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma, Ege Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' nun onayı (23.11.2009 tarih ve 2009 - 165 no'lu onay) ile gerçekleştirilmiştir.

Toksisite çalışmalarında, İzmir Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü' nden temin edilen, seksüel olgunluğa erişmiş 8-10 haftalık, ağırlıkları 15-25 g arasında değişen erkek ($n=45$) ve dişi ($n=25$) Bulb-c albino deney fareleri kullanılmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan Bulb-c albino deney faresi

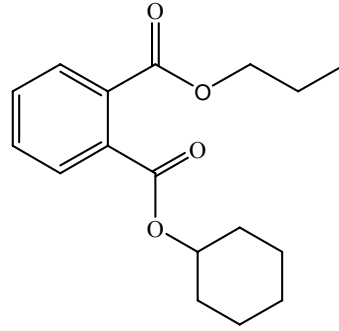
Hayvanlar çalışmaya başlamadan 15 gün önce deney ortamına alınarak deneye hazırlanmıştır. Fareler kontrol ve deney grupları için tesadüfi olarak seçilmiş ve 5' erli gruplar şeklinde kafeslere yerleştirilmiştir. Çalışma süresince hayvanlar, kenarları sert plastik ve üstünde çelik ızgara bulunan, deney grubuna göre işaretlenmiş kafeslerde (425 x 266 x 185 mm – taban alanı: 800 cm²) tutulmuştur (Şekil 2.2). Laboratuvar sıcaklığı 21 ± 1 °C ve nem % 45-75 olarak düzenlenmiştir. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyodu uygulanmıştır. Deney hayvanlarının beslenmeleri için yeteri kadar standart laboratuvar yemi (pellet) ve su kullanılmıştır. Yem ve su günlük olarak değiştirilmiştir.



Şekil 2.2. Deney hayvanlarının tutulduğu kafesler

2.1.2. Butil Siklohekzil Fitalat (BCP)

Çalışmada, Chemical Service Inc. (660 Tawer Lane PO Box 599 Pa 19381West Chester, USA) şirketinden ticari olarak elde edilen elde edilen Butil Siklohekzil Fitalat (CAS No: 84-64-0) kullanılmıştır. Şekil 2.3'te BCP' nin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.3. BCP'nin genel kimyasal yapısı

Fiziko-kimyasal özellikleri

Molekül ağırlığı	: 304,380760 [g/mol]
Molekül formülü	: CH ₃ (CH ₂) ₃ OOCC ₆ H ₄ COOC ₆ H ₁₁
Yoğunluğu	: 1,076 g/cm ⁻³
Bulunduğu fazı ve renk	: Sıvı - Renksiz
Erime noktası	: Bilinmiyor
Kaynama noktası	: 374 °C
Suda çözünürlüğü	: Oldukça az

Kullanım Alanları

Kullanım alanları arasında yapışkanlar, tarımsal adjuvanlar, yapı malzemeleri, tıbbi cihazlar, deterjanlar ve sürfanktanlarla, oyuncaklar yer almaktadır. Bunların haricinde yağlayıcı kayganlaştırıcı maddelerde, PVC'nin yumuşatılmasında ve gıda maddeleriyle temas halinde olan streç film gibi plastik malzemelerde bulunurlar. Ayrıca sıklıkla kullanıldıkları diğer alanlar da, plastik balık yemleri ve boya maddeleri, elektronik cihazlar ve çeşitli ev gereçleridir (örneğin, banyo perdesi, vinil içerikli kaplamalarla çini, fayans, kiremit gibi döşemelerde, ambalaj kâğıtlarında ve temizlik malzemelerinde). Parfüm, rimel,

nemlendirici krem, oje, sıvı sabun ve saç spreyi gibi kişisel bakım ürünlerinde de yer alırlar.

Butil sikloheksil fitalatın memeli toksisitesi, ekolojik tehlikesi veya kansere yol açıp açmadığı konusunda herhangi bir bilgi kaynağı bulunmamaktadır (Material safety and data sheet, 2009).

2.2. Metot

2.2.1. Butil Sikloheksil Fitalat'ın Saflığının Test Edilmesi

Toksisite denemelerine geçilmeden önce, ticari olarak elde edilen Butil sikloheksil fitalat'ın saf olup olmadığının kontrolü için GC-FID kullanılmıştır. Çalışma maddemiz olan Butil sikloheksil fitalat'ın daha önceden hiçbir toksisite verisi bulunmadığı için ortaya konacak her toksisite verisinin doğruluğunda maddenin saflığı önem taşımaktadır.

Gaz kromatografisi, fiziksel ve kimyasal özelliklerdeki farklılardan yararlanarak bir karışımı oluşturan bileşiklerin birbirinden ayrılmasıdır. Bu, yüzeyi geniş, katı bir destek (yatak) üzerinde hareketsiz duran bir faz ile bu faz üzerinde hareket faz arasında, ayrılması istenen bileşiklerin göç etme hızlarının farklı olmasından yararlanılarak yapılır. Ayrılması istenen karışım, destek katısı ve üzerindeki sabit fazla doldurulmuş bir kolondan (cam veya metal) geçirilerek ayırma gerçekleştirilir. Ayrılan bileşenler kolonun diğer ucunda farklı zamanlarda çıkar ve uygun bir detektörle tespit edilip miktarıyla orantılı kaydedilir. Ayrılmanın gerçekleştiği kolondan çıkan akışkanın toplamına efluenti, bunun hareketli faza ait kısmına eluent ve ayrılmış bileşene ait kısmına eluat denir. (Beyer, 1999).

Gaz kromatografisinde, kolon, yüksek sıcaklıkta tutularak ayrılacak maddeler gaz haline geçirildiğinden, kaynama noktası 500 °C ye kadar olan bileşikler ayrılabilir. Çünkü bugün için ancak bu sıcaklığa kadar dayanabilecek durucu fazlar geliştirilebilmiştir. Bu nedenledir ki, gaz kromatografisiyle molekül ağırlığı yaklaşık 500'e kadar olan maddeler ayrılabilir.

Çalışmamızda bu yöntemden faydalanarak ticari olarak elde edilen Butil sikloheksil fitalatın saflık derecesi tespit edilmiştir. Bu amaçla 0,15 ml örnek, 1,5 ml aseton içerisinde çözüldükten sonra alev iyonlaştırma dedektörü bulunan gaz

kromatografisi (GC-FID) cihazına 1 µl hacimde enjekte edilmiştir. Çizelge 2.1’de cihazın çalışma şartları verilmiştir.

Çizelge 2.1. GC- FID cihazının özellikleri

Cihaz	Thermo GC Ultra
Kolon	HP-5
Boy	30 m
ID	0,25 µm
Başlangıç Basıncı	0,5 psi
Dolgu Maddesi Kalınlığı	0,320 nm
Taşıyıcı Gaz	N ₂
Başlangıç Akış Hızı	0,7 ml/dak
Seyreltme Oranı	1:100
Dedektör	FID
Dedektör Sıcaklığı	200 °C
Enjeksiyon Hacmi	0,1 µl
Enjeksiyon Sıcaklığı	200 °C
Başlangıç Sıcaklığı	40 °C
Başlangıç Bekleme Süresi	5,00 dak
Isıtma Hızı	10.00 °C/dak
Final Sıcaklığı	280 °C
Final Bekleme Süresi	5,00 dak

2.2.2. Akut Toksikite Testi

Akut Toksikite belirlenmesinde klasik LD₅₀ testi kullanılmıştır (OECD guideline 401). Bir maddenin toksik özelliğinin belirlenmesinde LD₅₀ tayini yoluyla akut toksisitenin ölçülmesi ilk basamağı oluşturmaktadır (Environmental Protection Agency, 1988). Klasik LD₅₀ testi, test hayvanlarının % 50' sini öldürecek madde dozunun belirlenmesinde kullanılan testtir. (Food and Drug Administration, 1988).

Hesaplanan konsantrasyonda (1000, 2000 ve 5000 mg/kg) hazırlanan BCP farelere oral yolla verilmiştir. Denemede 4 doz grubu (her bir grupta 10 fare; 5 erkek ve 5 dişi) ve bir kontrol grubu kullanılmıştır. İlk 48 saat boyunca mortalite izlenmiş ve çalışmada grup başına gözlenen ölüm sayısı kaydedilmiştir. Deneme sonunda elde edilen veriler SPSS 10.0 analiz programı kullanılarak probit analizine tabi tutulmuş ve LD₅₀ değeri hesaplanmıştır.

2.2.3. Subakut Toksikite Testi

Subakut toksisite denemesinde deneysel dizayn olarak OECD Guideline 408' kullanılmıştır. Çalışmada 6-8 haftalık (15-25 g ağırlığında) erkek (n= 20) albino fareler (*Mus musculus*) kullanılmıştır. Deneme grupları 3 doz grubu (her bir grupta 5 erkek fare) ve bir kontrol grubundan (n=5) oluşmuştur. Konsantrasyonlar hesaplanırken akut toksisite testi sonucunda hesaplanan LD₅₀' nin yaklaşık 1/20' si, 1/10' u ve 1/5' i alınmıştır.

Uygulamadan 15 gün önce laboratuvara getirilen hayvanların ortama alışmaları sağlanmış, sağlık taramaları gerçekleştirilmiştir. Ortalama ağırlıkları birbirlerine yakın, her kafeste 5'er fare olacak şekilde düzenlenmiştir (Şekil 2.4). Hesaplanan konsantrasyonlarda hazırlanan BCP, 28 gün boyunca her gün aynı saatte farelere oral olarak uygulanmıştır. Kontrol gruba ise, 28 gün boyunca serum fizyolojik oral uygulaması yapılmıştır (0,1 ml serum fizyolojik/ fare). Hayvanlara standart laboratuvar pellet yemi ile birlikte yeteri kadar su verilmiştir.

BCP uygulaması yapılırken (haftalık olarak) ve uygulama tamamlandıktan sonra fareler tartılmıştır. Uygulama tamamlandıktan sonra ketamin + xylazin ile (0,10 mg/kg Ketalar® + 0,02 mg/kg Rompun®, i.p.) anestezi altında yaklaşık her fareden 0,7- 1,0 ml kan alınmıştır. Kan alınımı sonrasında farelerin her iki cauda epididimisi çıkartılarak tartılmış ve sperm sayımı için kullanılmıştır (Oishi, 2002;

Yang et al., 2005). Ayrıca farelerin testisleri çıkarılmış ve %4 paraformaldehit içerisinde tespit edilerek histolojik inceleme için preparatlar hazırlanmıştır.

2.2.3.1. Sperm Sayımı

Erkek fareler anestezi altında disekte edilerek cauda epididimis ve vasa deferens çıkarılmıştır. Dokular temiz bir bezin üstüne konularak watchmakers forceps yardımıyla mümkün olduğu kadar yağ dokusu ve damarlardan temizlenmiştir. Cauda epididimis'in yüzeyi 0,5 ml'lik bir insülin iğnesiyle kesilmiş ve sperm eldesi için doku dikkatlice palpe edilmiştir. Cımbız vaz deferens boyunca sürülüp geçirilerek sperm dışarı çıkarılmış ve lama yayılarak boyamaya yapılmıştır.

Diff Quick Boyama: Lamlar, 5 dakika %70'lik Alkol, 5 dakika Eozin Boyama Solüsyonu ve 5 dakika Hematoksilen Boyama Solüsyonundan geçirilmiş, 10x100 lük büyütme altında İmmersion yağı kullanılarak fotoğraflanmıştır.



Şekil 2.4. Doz gruplarına göre ayrılmış deney hayvanları ve kafes sistemi

2.2.3.2. Histopatolojik Yöntem

Boyama Öncesi İşlemler:

1. Alınan örnekler % 4'lük Paraformaldehit içerisinde 1 gece bekletilmiştir. Daha sonra aşağıdaki uygulamalar sırasıyla gerçekleştirilmiştir.

Akarsuda 1 gece bekletme

%80'lik Alkolde 2 saat bekletme

% 95'lik Alkolde 2 saat bekletme

% 95'lik Alkolde 4 saat bekletme

% 95'lik Alkol çözeltisinde 1 gece bekletme

% 100'lük Alkol içerisinde 2 saat bekletme

%100'lük Alkol içerisinde 2 saat bekletme

%100'lük Alkol içerisinde 2 saat bekletme

Alkolden çıkartılan örnekler havada kurutmaya bırakılmıştır.

2. Kuruyan örnekler, şeffaflaşana kadar 30 dk'lık 3 defa Xylol'den geçirilmiştir.

Parafine koyulan örnekler, 58 C°'lik etüvde 1 gece bekletilmiştir.

Parafin yenilenmiş ve 2 saat beklenmiştir.

Tekrar parafin yenilenmiş ve 2 saat beklenmiştir.

Son işlem olarak örnekler parafine gömülmüştür.

3. Buzdolabında donmaya bırakılan örnekler kesim için çıkarılmış ve aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

Bloklar traşlanmıştır (trimleme).

Bloklar sırasıyla mikrotoma yerleştirilmiştir.

Kesit alındıktan sonra lamlara alınan örnekler havada kurutulmuştur.

Boyama öncesi 58 C°'lik etüvde 1.5 saat tutulmuştur.

Hemotoksilen – Eozin Boyama:

Etüvden çıkarılan örnekler Xylol içerisine konmuştur.

58 C°'lik etüvde 20 dakika beklenmiştir.

Xylol'den çıkarılıp havada kurutulmaya bırakılmıştır.

% 100'lük Alkol içerisinde 2 dakika

% 100'lük Alkol içerisinde 2 dakika

% 95'lik Alkol içerisinde 2 dakika

%80'lik Alkol içerisinde 2 dakika

Distile suda 5 dakika

Hemotoksilen boyasında 2.5 dakika

Akar sudan geçirme 5 dakika

Asit Alkol içerisinde pembe renk oluşana kadar bekletilmiştir.

Akar sudan geçirilmiştir.
 Amonyaklı suda mor renk olana kadar bekletilmiştir.
 Akar sudan geçirilmiştir.
 Distile suda 5 dakika bekletilmiştir.
 Kurutmaya bırakılmıştır.
 Eozin boyasında 2.5– 3 dakika bekletilmiştir.
 % 95’lik Alkol içerisinde 2 dakika bekletilmiştir.
 % 100’lük Alkol içerisinde 2 dakika bekletilmiştir.
 % 100’lük Alkol içerisinde 2 dakika bekletilmiştir.
 Kurutmaya bırakılmıştır.
 Xylol içerisinde 3 kez 10’ar dakika bekletilmiştir.
 Havada kurutmaya bırakılmıştır.
 Entellan ile lamel kapatılıp 10 gün beklenmiştir.

2.2.3.3. Testiste Lipit Peroksidasyonu Belirlenmesi

Lipit peroksidasyonu membran fosfolipidlerinin, spontan olarak veya oksidan metabolitlerine maruziyet sonucu oksitlenmesi ve peroksit türevlerine dönüşmesidir. Serbest radikallere bağlı gelişen hasarın tespitinde önemli bir göstergedir. Lipit peroksidasyonu; membran akışkanlığında azalma, fonksiyonlarında bozulma, membran reseptörlerinin ve enzimlerinin inaktivasyonu, membran permeabilitesinin artışı ve özellikle hücre içinde kalsiyum iyon seviyelerinde artışa neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini bozar. Lipit peroksidasyonunun şiddeti peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehitin (MDA) miktarının saptanması ile tayin edilmektedir (Ji et al., 2010).

Çalışma materyalimiz olan Butil sikloheksil fitalatın reproduktif sistem organlarından testiste membran lipitlerindeki etkisini belirlemek amacıyla lipit peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyinin tespiti için tiyobarbiturik asit metodu kullanılmıştır (Janero, 1990).

Bu amaçla % 1’lik TCA (Trikloroasetik asit) homojenizasyon tamponu ile içinde % 20’lik TCA ve % 5’lik TBA’ nın (2-Thiobarbütrik asit) yer aldığı reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Disseksiyon sonrası elde edilen testisler gruplarına göre ayrılmış ve tartılmışlardır. 0,5 gr. testis örneği 2,5 ml homojenizasyon tamponu ile karıştırılmış ve 1000 rpm’de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonrasında 250 µl süpernatant alınmış, 1 ml reaksiyon

karışımı eklenmiştir. 95°C’de sıcak su banyosunda 30 dk beklemenin ardından, örnekler soğutulmuş 1000 rpm’de 15 dk santrifüj gerçekleştirilmiştir. MDA konsantrasyonu 532 nm ve 600 nm’de ölçülen absorban değerlerine göre hesaplanmıştır. 600 nm’de ölçülen spesifik olmayan turbiditedir ve 532 nm’de ölçülen absorbanstan çıkartılarak gerçek MDA miktarı belirlenmiştir. MDA miktarı hesaplanırken ekstinksiyon katsayısı $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılmıştır.

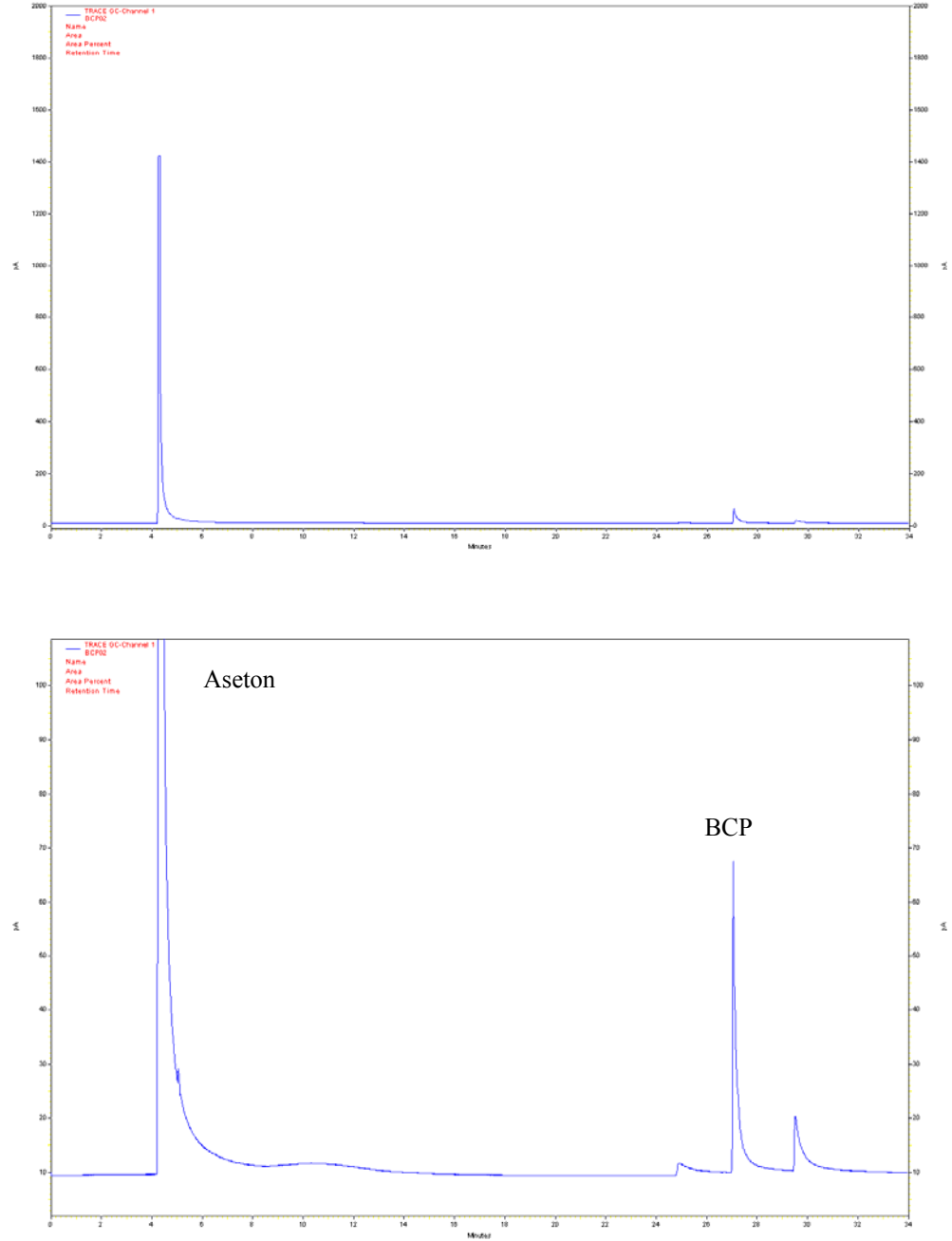
2.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadaki istatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows 10.0 istatistiksel analiz programı kullanılarak yapılmıştır. Deney sonunda bütün gruplardaki farelere ait total ağırlık, organ ağırlıklarının ortalamaları ve organ ağırlığı/total vücut ağırlığı oranları hesaplanarak, sonuçlar varyans analizi (One-Way ANOVA) ile kontrole göre karşılaştırılmıştır. MDA içeriğinin değerlendirilmesinde de, farklı konsantrasyon grupları kontrol grubu ile karşılaştırılmak üzere yapılan varyans analizi ile gruplar arasında farklılık olup olmadığı saptanmıştır. İstatistiksel açıdan önem kontrolü $p < 0.05$ seviyelerinde, kontrol grubu ile uygulama grupları arasında yapılmıştır.

3. SONUÇLAR

3.1. Butil Siklohekzil Fitalat'ın Saflık Kontrolü

GC-FID ile Butil Siklohekzil Fitalatın saflığı %100 oranında doğrulanmış, elde edilen kromotogramlar şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çözgen olarak asetonun kullanıldığı BCP'nin kromotogramı

3.2. *In vivo* Toksikite Denemeleri Sonuçları

3.2.1. Akut Toksikite Testi Sonucu

Butil sikloheksil fitalatın dişi ve erkek deney fareleri üzerinde yapılan oral akut toksisite testi sonucunda oral LD₅₀ değeri belirlenmiştir. Kontrol gruba serum fizyolojik olmak üzere 1000, 2000 ve 5000 mg/kg dozlarda hazırlanan BCP fareler oral olarak uygulanmış, 24 ve 48 saat sora hayvanlarda ölüm oranları kaydedilmiştir (Çizelge 3.1). Deneme sonunda 24 ve 48 saatteki ölüm oranında bir değişme olmamıştır. Yapılan probit analiz sonucunda Butil sikloheksil fitalatın oral LD₅ değeri 1931 mg/kg olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.1. Uygulama sonrası ölüm oranı

Uygulanan Doz	Total Fare Sayısı	Ölen Fare Sayısı	Kalan Fare Sayısı
Kontrol	10	0	10
1000 mg/kg	10	0	10
2000 mg/kg	10	6	4
5000 mg/kg	10	10	0

Çizelge 3.2. Probit analizi sonucu BCP'nin LD₅₀ değeri

Saat	Letal Doz (mg/kg)		
	LD ₁₀	LD ₅₀	LD ₉₀
24	1583	1931	2279

Butil sikloheksil fitalatın Dünya Sağlık Örgütü (WHO: World Health Organisation) ve Çevre Koruma Ajansı (EPA: Environmental Protection Agency) tarafından akut toksisite dikkate alınarak yapılan toksisite sınıflandırmasına göre; toksisite sınıfı WHO II ve EPA III dür. Bu değerler Butil sikloheksil fitalatın oral olarak alındığında orta derece zehirli olduğunu göstermektedir.

3.2.2. Subakut Toksikite Testi Sonuçları

Çalışmaya 20 fare ile başlanmış (15 fare deneme grubu ve 5 fare kontrol grubunda), çalışma sırasında 1 fare ölmüş ve çalışma 19 fare ile tamamlanmıştır. Deney gruplarına göre farelerin dağılımı ve ölüm %' si Çizelge 3.3' de görülmektedir.

Butil sikloheksil fitalatın uygulamasını takiben özellikle yüksek dozlar (200 ve 400 mg/kg doz gruplarında) uygulanan farelerde genellikle tüylerin dökülmesi şeklinde tüy problemi yaşanmaya başlamıştır.

Çizelge 3.3. Çalışma sonunda deney gruplarına göre farelerin dağılımı

Uygulama Grupları	Başlangıç Fare Sayısı	Bitiş Fare Sayısı	Ölüm %' si
Kontrol	5	5	0
100 mg/kg BCP	5	5	0
200 mg/kg BCP	5	5	0
400 mg/kg BCP	5	4	20
TOPLAM	20	19	5

3.2.2.1. Total Vücut ve Organ Ağırlıkları ile İlgili Bulgular

Çalışma sonunda fareler tartılmış, anestezi altına alınmış ve disekte edilen farelerden çıkarılan testis ve cauda epididimisler yıkanmış ve tartılmıştır. Farelerin total ağırlıkları Çizelge 3.4 ve organların ortalama ağırlıkları, rölatif organ ağırlıkları ve standart hataları Çizelge 3.5' de görülmektedir.

Deneme sonunda, BCP' nin farklı dozları uygulanan erkek farelerin final total vücut ağırlıkları, kontrole oranla ve başlangıç ağırlıklarına oranla herhangi değişiklik göstermemiştir. Yine kontrol ile karşılaştırıldığında fare testis ağırlıklarında ve rölatif testis ağırlıklarında önemli bir değişme bulunmamıştır (Çizelge 3.5). Aynı şekilde kontrol ile karşılaştırıldığında cauda epididimis ağırlıklarında ve rölatif cauda epididimis ağırlıklarında da önemli bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 3.4. Erkek farelerin total vücut ağırlığı ortalamaları ve standart sapmaları

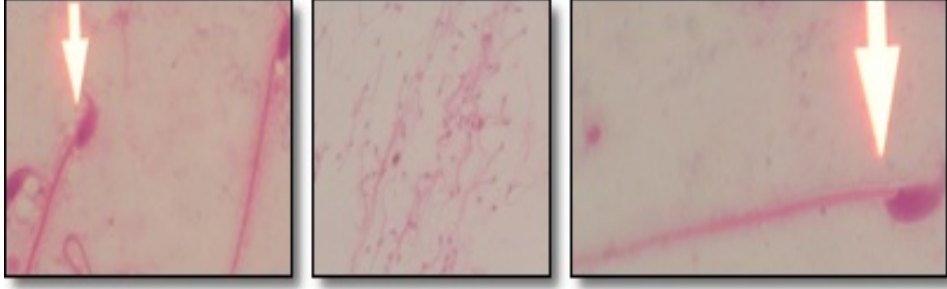
Uygulama Grupları	Total vücut ağırlığı (g) (ort ± SS)				
	0.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün
Kontrol	19,4 ± 4,56	21,6 ± 4,39	23,2 ± 3,03	25,8 ± 2,28	29,2 ± 2,58
100 mg/kg	21,8 ± 4,14	23,8 ± 4,91	25,2 ± 3,42	27,2 ± 1,92	27,4 ± 2,19
200 mg/kg	22,6 ± 2,96	23,0 ± 4,69	25,6 ± 5,36	27,0 ± 5,19	26,8 ± 4,54
400 mg/kg	22,4 ± 4,27	25,0 ± 2,64	26,0 ± 4,69	28,4 ± 4,03	27,6 ± 3,28

Çizelge 3.5. Erkek farelerin testis, cauda epididimis ve rölatif organ ağırlıkları ortalamaları (g) ve standart sapmaları

Grup	Testis ağırlığı (ort ± SS)	Rölatif Testis ağırlığı (ort ± SS)	Cauda Epididimis ağırlığı (ort ± SS)	Rölatif Cauda epididimis ağırlığı (ort ± SS)
Kontrol	0,176 ± 0,035	0,0060 ± 0,0011	0,072 ± 0,017	0,0025 ± 0,0008
100 mg/kg	0,172 ± 0,033	0,0063 ± 0,0012	0,076 ± 0,016	0,0028 ± 0,0007
200 mg/kg	0,168 ± 0,030	0,0062 ± 0,0008	0,108 ± 0,038	0,0041 ± 0,0016
400 mg/kg	0,160 ± 0,031	0,0058 ± 0,0009	0,104 ± 0,032	0,0038 ± 0,0015

3.2.2.2. Sperm Sayımı ile İlgili Bulgular

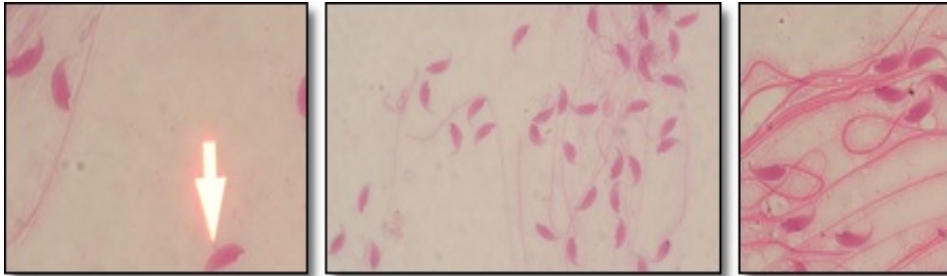
BCP' nin sperm sayısı ve morfolojisinde olumsuzluklar oluşturduğu belirlenmiştir. Her deneme grubundan hazırlanan preparatlarda 100'er sperm hücresi sayılarak Kruger Morfoloji Kriterlerine göre elde edilen veriler Şekil 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5' de ve Çizelge 3.6' da görülmektedir. Uygulanan doza bağlı olarak sperm morfolojisinde ortaya çıkan anomalilerin sayısı da artış göstermiştir. Bununla birlikte kontrol grubunda 17 sperm hücresi fertilité yeteneğine sahip normal morfolojide iken, 100 mg/kg uygulama grubunda 3 sperm hücresi, 200 mg/kg uygulama grubunda 3 sperm hücresi ve 400 mg/kg uygulama grubunda ise yalnızca 2 sperm hücresi fertilité yeteneğine sahip normal morfolojide saptanmıştır. Diğer gruplardan farklı olarak 400 mg/kg uygulanan grupta yoğun agglütinasyon bulguları saptanmıştır.



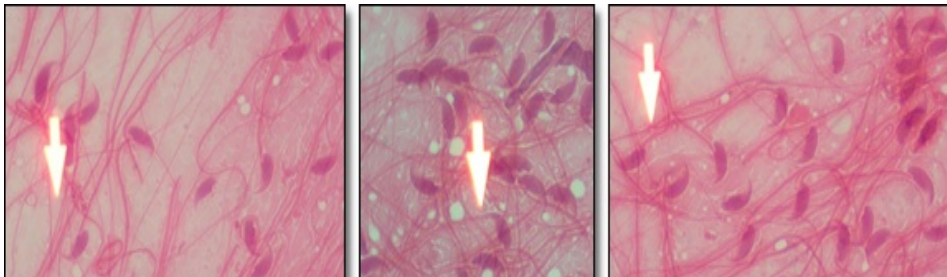
Şekil 3.2. Kontrol grubunun sperm morfolojisi



Şekil 3.3. 100 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi



Şekil 3.4. 200 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi



Şekil 3.5. 400 mg/kg doz uygulanan grubun sperm morfolojisi

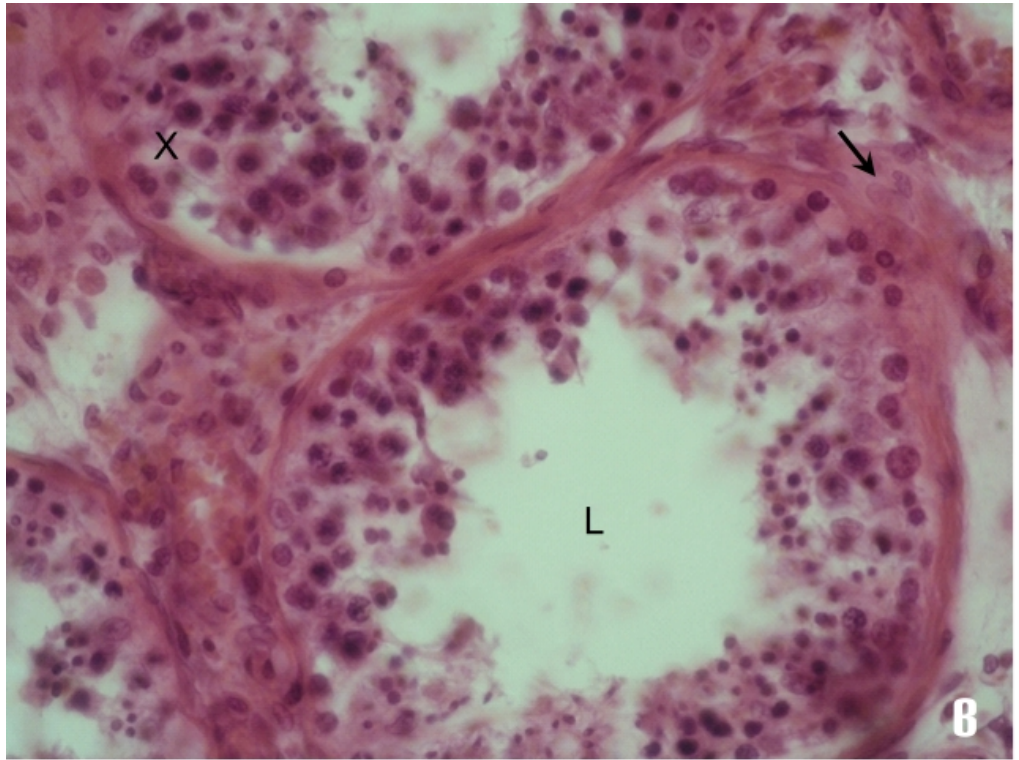
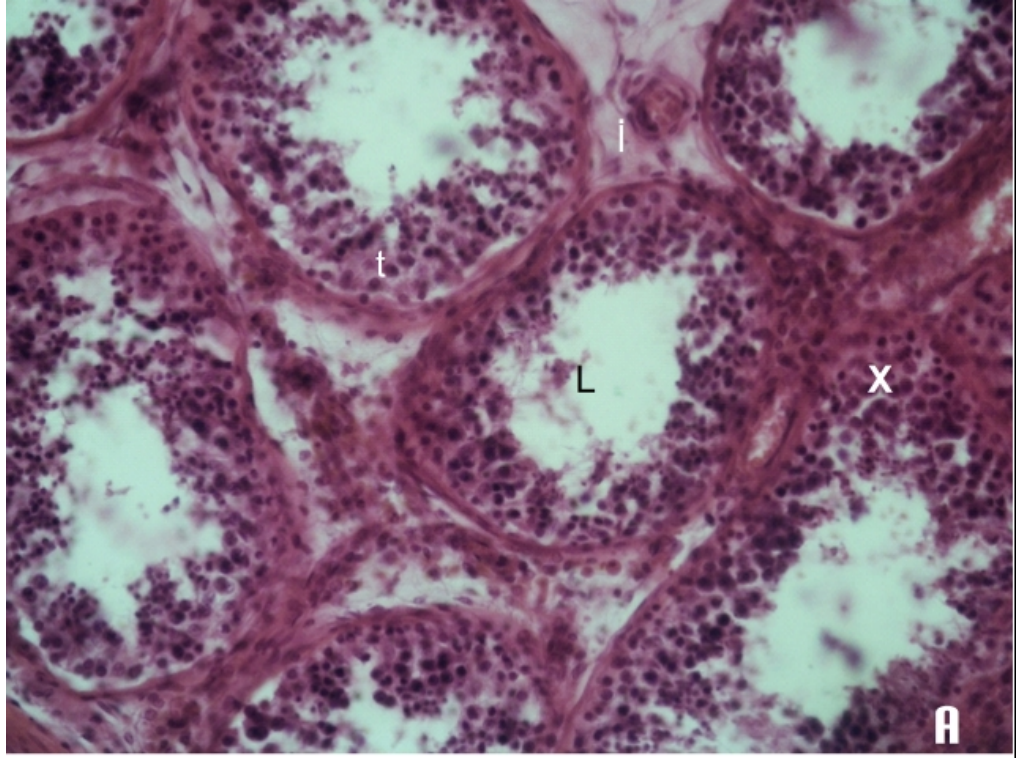
Çizelge 3.6. Sperm Morfolojik Anomalileri

Grup	Sperm Anomalileri								Toplam Anomali Sayısı
	Baş Anomalileri			Diğer Anomaliler					
	Büyük	Küçük	İki kafa	Kuyruk	Boyun	Droplet	Serbest	Baş	
Kontrol	12	2	4	0	46	6	2	6	78
100mg/kg	27	4	4	0	61	7	4	13	120
200mg/kg	23	4	5	0	55	7	12	32	138
400mg/kg	22	4	4	0	66	11	32	29	168

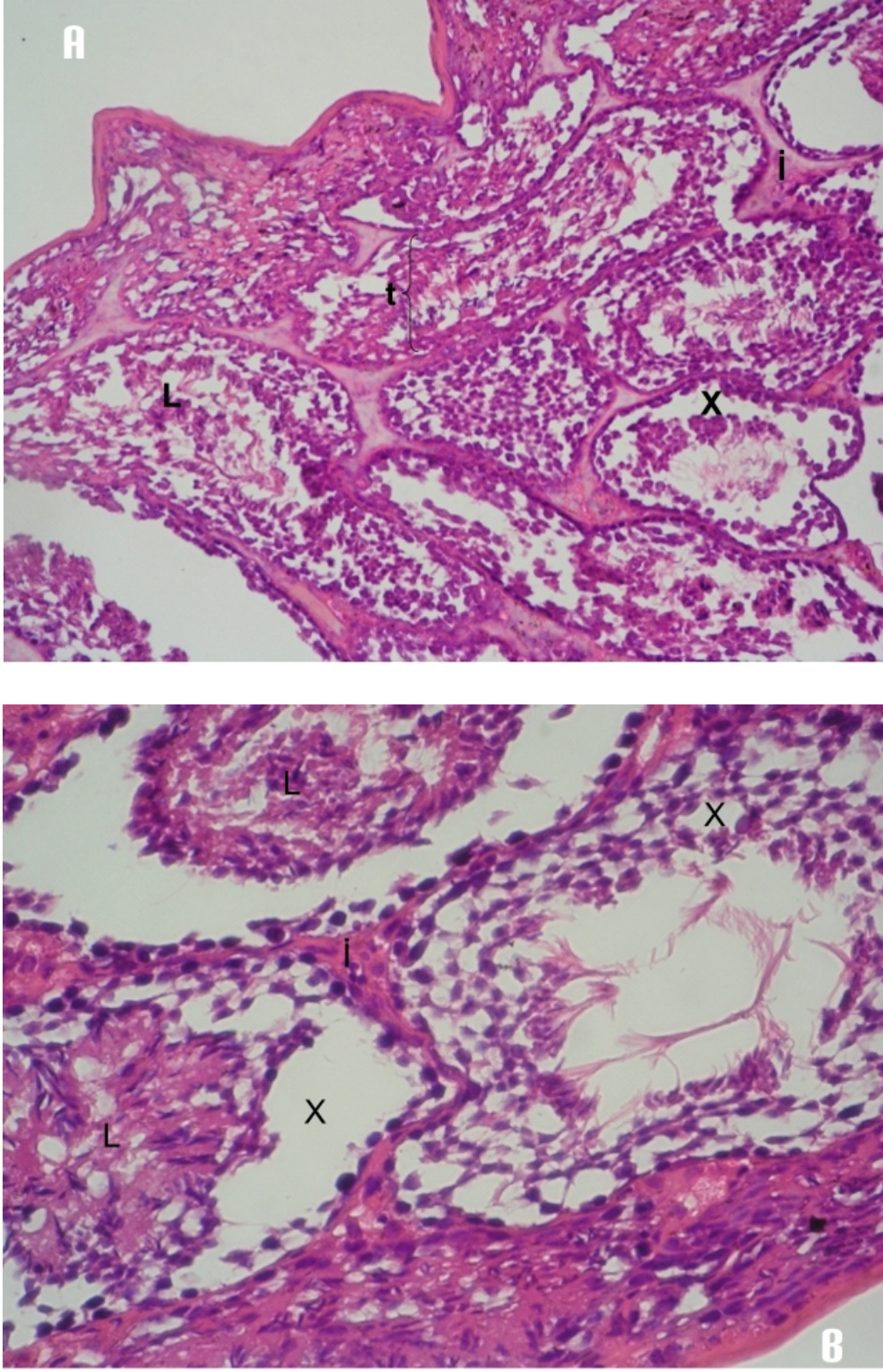
3.2.2.3. Testis Histopatolojik Bulguları

Kontrol grubundan elde edilen testis dokusu ışık mikroskopik görüntüleri Şekil 3.6' da görülmektedir. Kontrol grubu farelerdeki tubuli seminiferi contorti ve spermatojenik hücre serileri normal histolojik görünümündedir. 100 mg/kg BCP uygulanan gruptan elde edilen testis dokusu ışık mikroskopik görüntüleri Şekil 3.7' de görülmektedir. Bu grupta intersitisyum normal görülürken, seminifer tubuller içerisinde bulunan spermatojenik seri hücreleri arasında ödem ve hücrel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Ayrıca, seminifer tübül lumeni içinde spermiler dışında spermatojenik seri hücre döküntülerine rastlanmaktadır.

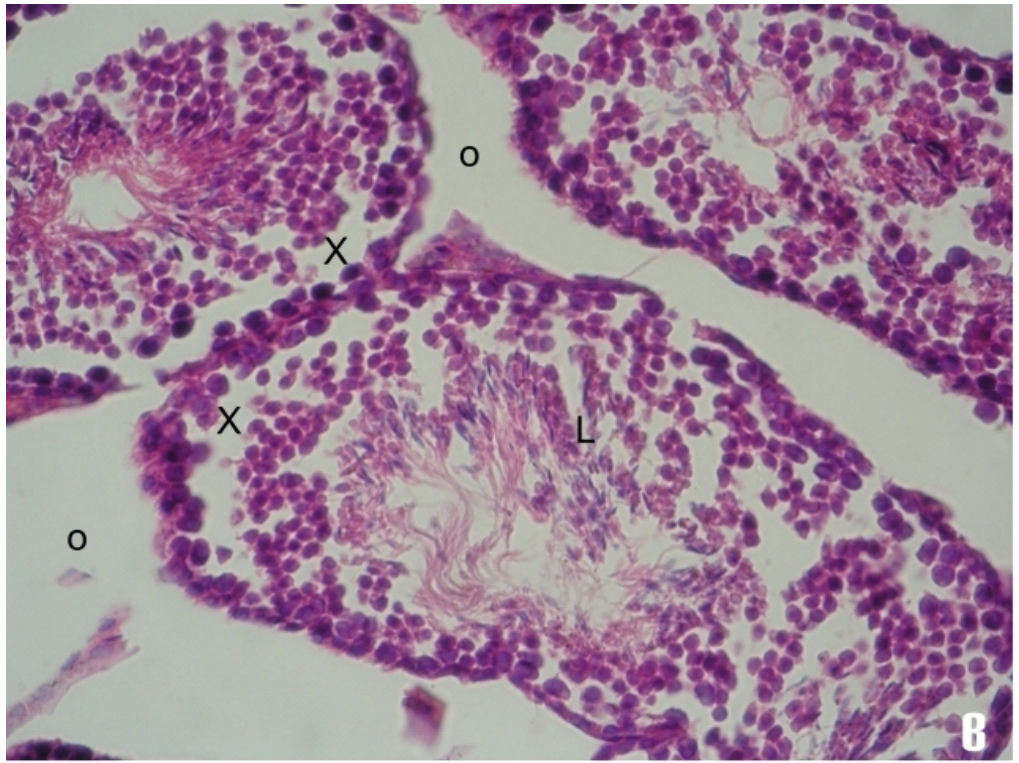
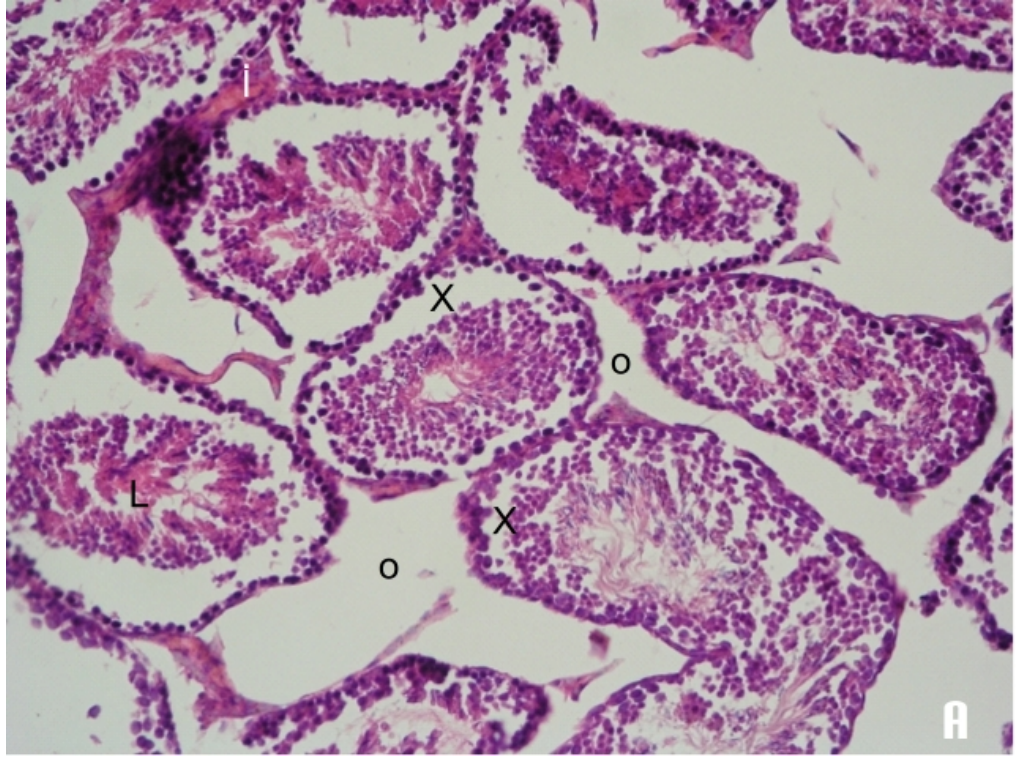
200 mg/kg BCP uygulanan gruptan elde edilen testis dokusu ışık mikroskopik görüntüleri Şekil 3.8' de görülmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bu grupta intersitisyal ve intratübüler ödem görülürken, spermatojenik seri hücreleri arasında hücrel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminifer tübül lumeni içinde rastlanmaktadır. 400 mg/kg BCP uygulanan gruptan elde edilen testis dokusu ışık mikroskopik görüntüleri Şekil 3.9' da görülmektedir. 400 mg/kg BCP uygulanan grupta yaygın intersitisyal ve intratübüler ödem ve spermatojenik seri hücreleri arasında hücrel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Seminifer tübüllerde deformasyonlar ve buna bağlı olarak dejenerasyonlar izlenmektedir. İntersitisyel bağ dokusunda kapillar damarlarda dolgunluk görülmektedir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminifer tübül lumeni içinde rastlanmaktadır. Bazı tübüller tamamen boşalmış durumda gözlenmektedir.



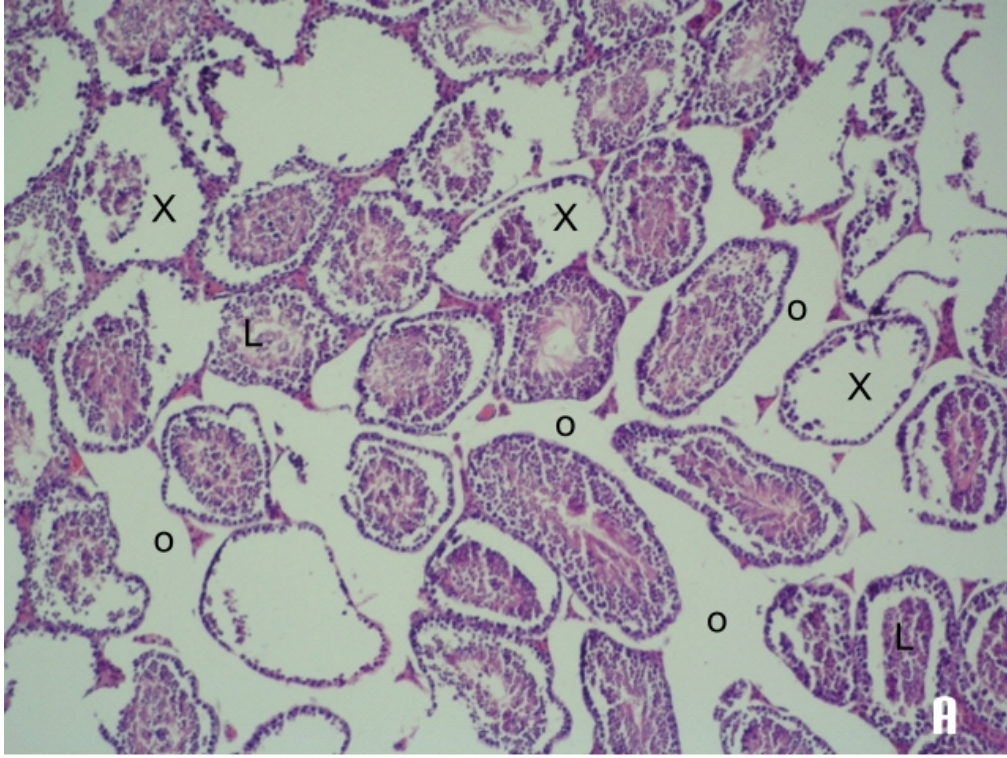
Şekil 3.6. Kontrol grubuna ait fare testis kesiti. Seminifer tübüllerdeki (t) spermatojenik seri hücreleri (X) normal görünümündedir. Seminifer tübül lumeni (L) açık ve interstisyum (İ) ve Leydig hücreleri (ok) normal histolojik yapıdadır. (A: 20x, B: 40x, H&E).



Şekil 3.7. 100 mg/kg BCP uygulanan grupta; intersitsiyum (İ) normal görülürken, seminifer tubuller (t) içerisinde bulunan spermatojenik seri hücreleri (X) arasında ödem ve hüresel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Ayrıca, seminifer tübül lumeni (L) içinde spermler dışında spermatojenik seri hücre döküntülerine rastlanmaktadır (A: 20x, B: 40x, H&E).



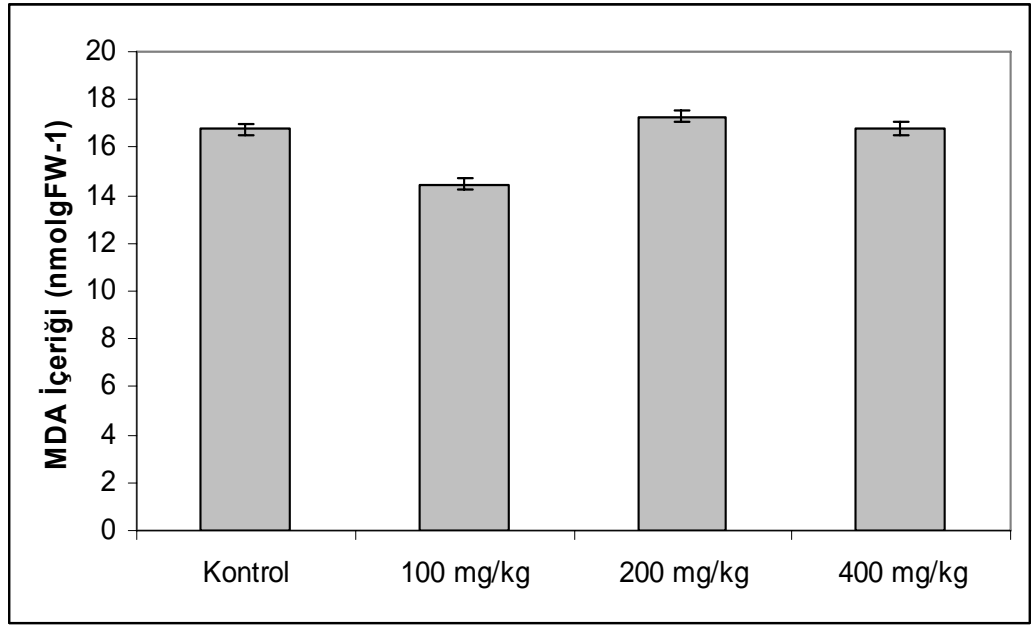
Şekil 3.8. 200 mg/kg BCP uygulanan grupta; interstisyel (İ) ve intratübüler ödem (o) görülürken, spermatojenik seri hücreleri (X) arasında hüresel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminfer tübül lumeni (L) içinde rastlanmaktadır (A: 20x, B: 40x, H&E).



Şekil 3.9. 400 mg/kg BCP uygulanan grupta; yaygın interstisyel ve intratübüler ödem (o) ve spermatojenik seri hücreleri (X) arasında hüresel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Seminifer tübüllerde deformasyonlar ve buna bağlı olarak dejenerasyonlar izlenmektedir. İnterstitiyel bağ dokusunda kapillar damarlarda (ok) dolgunluk görülmektedir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminifer tübül lumeni (L) içinde rastlanmaktadır. Bazı tübüller tamamen boşalmış durumda gözlenmektedir (X) (A: 20x, B: 40x, H&E).

3.2.2.4. Testiste Lipit Peroksidasyonu Bulguları

Testiste yapılan MDA tayini sonuçları Şekil 3.10'da görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonucunda farklı dozlarda BCP uygulanan farelerin testislerinde hesaplanan MDA miktarında kontrole göre herhangi bir farklılık belirlenmemiştir ($p>0.05$). Bu da BCP' nin testiste lipit peroksidasyonuna sebep olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.10. Testiste farklı doz uygulamalarında MDA miktarının hesaplanması

4. TARTIŞMA

Çevremizde biyolojik etkileri henüz tamamen bilinmeyen birçok sentetik madde bulunmaktadır. Bu maddeler gerek yaban hayatı ve gerekse insanlar üzerinde reproduksiyon ve diğer endokrin düzenleyici fonksiyonları bakımından dikkat çekmektedir. Bunlardan biri olan fitalatlar, genellikle plastiklere eklenerek sert plastik olan polivinilkloriti (PVC) esnek plastiğe çevirmede kullanılırlar. Farmasötik ilaçların iç kaplamalarında, besin maddelerinin viskozitesini ayarlayan maddelerde, jelleştirici ajanlarda, stabilizatörlerde, seyrelticilerde, yağlayıcı-kayganlaştırıcı maddelerde, tutkallarda, emülsifiye ajanlarda, süspansiyon halinde tutacak maddelerde, gıda maddeleriyle temas halinde olan streç film gibi plastik malzemelerde, oyuncaklarda ve süt ürünlerinde bulunabilen, çok geniş kullanım alanı olan zehirli kimyasal maddelerdir. Bu nedenle insanlar fitalatlara oral, dermal ve inhalasyon yolları ile maruz kalmaktadırlar (Koch et al., 2006; Wormuth et al., 2006). Fitalatlar vücutta özellikle bağırsaklarda ve birçok dokuda hızla esterazlar tarafından hidrolize edilerek daha aktif bir molekül olan monoestere dönüşürler (Latini, 2005). Yapılan çalışmalarda monoester formun diester formdan daha toksik olduğu ortaya konmuştur. Birçok endokrin bozucu bileşik çevrede kalıcı olup yağda birikme eğilimi gösterirken fitalatların yarı ömürleri vücutta 36 saatten daha fazla değildir. Bu nedenle fitalatlar çevrede yaygın olarak bulunan ve insanların çok fazla etkilendiği kimyasallardır.

Yaşamımızı kolaylaştırmak için üretilen ancak biyolojik etkileri henüz bilinmeyen birçok sentetik maddeden biri olan fitalatlarla gerekli deneylerin yapılması insan sağlığı ve çevreye olan etkileri bakımından önem taşımaktadır. Birçok fitalat günümüze kadar çalışılmış olup reproduktif sistem özellikle de testis ve adrenal bez üzerine toksik etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Harris et al., 1997; Ferrara et al., 2006; Park and Choi, 2007; Adamsson et al., 2009; Habert et al., 2009; Kwack et al., 2009; Lambrot et al., 2009; Bonde, 2010; Erkekoglu et al., 2010; Hannas et al., 2010; Webstera et al., 2010). Bu çalışmada ise, daha önce hiçbir toksikolojik verisi ortaya konmamış bir fitalat olan butil sikloheksil fitalatın (BCP) erkek reproduktif sistemi üzerindeki toksik etkileri ortaya konmuştur.

Test materyalinin saflığı çalışmamızda önemli olduğundan toksisite denemelerine geçilmeden önce GC-FID cihazı ile madde analiz edilmiş ve çalışmada kullanılan Butil sikloheksil fitalatın % 100 oranında saf olduğu tespit edilmiştir.

In vivo toksisite denemelerinin başında LD₅₀ değerini ve subakut toksisite için doz aralıklarını belirlemek amacıyla akut toksisite testi gerçekleştirilmiştir. Bilindiği gibi birçok kimyasal madde uygun yol ve uygun dozda canlı organizmaya verildiğinde zararlı etki meydana getirme kapasitesine sahiptir. Kimyasal maddenin bir etki meydana getirebilmesi için öncelikle vücuda alınması, absorbe olması ve belirli bir zaman diliminin geçmesi gerekmektedir. Çevre Koruma Ajansı (EPA: Environmental Protection Agency)' na göre bir maddenin toksik özelliğinin belirlenmesinde deney hayvanlarının % 50'sini öldüren dozun bulunması yoluyla akut toksisitesinin ölçülmesi ilk basamağı oluşturmaktadır. Bu amaçla 48 saat sonunda ölen fare sayısına göre BCP' nin oral LD₅₀ değeri 1931 mg/kg olarak belirlenmiştir. Butil sikloheksil fitalatın Dünya Sağlık Örgütü (WHO: World Health Organisation) ve Çevre Koruma Ajansı tarafından akut toksisite dikkate alınarak yapılan toksisite sınıflandırmasına göre; toksisite sınıfı WHO II ve EPA III dür. Bu değerler Butil sikloheksil fitalatın oral olarak alındığında orta derece zehirli olduğunu göstermektedir. BCP' ın kullanım alanlarına benzer olarak birçok kozmetik ve kişisel bakım ürününün içerisinde yer alan DEP (diethyl fitalat) ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise farelerde oral LD₅₀ değerinin 1-31 g/kg şeklinde olduğu hesaplanmıştır (Api, 2001). Bu da genel olarak fitalatların oral olarak alındığında çok zehirli olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda, reproduktif sistem üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla BCP' nin daha uzun süreli uygulanmasını kapsayan subakut toksisite denemesi gerçekleştirilmiştir. Bunun için BCP' nin akut toksisite testinden elde ettiğimiz LD₅₀ değerinin yaklaşık 1/5, 1/10 ve 1/20 oranları OECD Guideline 408'e göre toplam 20 erkek fareye 28 gün boyunca oral yoldan verilmiştir. Süre sonunda hayvanlar BCP' nin reproduktif sisteme olası toksik etkileri bakımından değerlendirilmiştir.

Toksisite denemelerinde; organ ağırlıkları ve rölatif organ ağırlıkları (organ ağırlığı/total vücut ağırlığı), organ toksisitesini değerlendirmede kullanılan önemli kriterlerdendir (Timbrell, 2000; Crissman et al., 2004). Çeşitli araştırmacılar tarafından ksenobiyotiklerin testis üzerindeki etkilerini saptamada; organ ağırlığı ve histopatolojik inceleme metotlarının, serum hormon seviyeleri veya sperm inceleme metodlarından daha kolay ve daha etkili olduğu bildirilmiştir (Okazaki et al., 2001; Crissman et al., 2004). Çalışmamız sonunda, BCP' nin farklı dozları uygulanan farelerin final total vücut ağırlıkları, kontrole oranla ve başlangıç ağırlıklarına oranla herhangi değişiklik göstermemiştir. Yine tüm uygulama gruplarında bulunan fareler, testis ve cauda epididimis ağırlıkları bakımından ve

rölatif organ ağırlığı bakımından kontrole göre ve kendi aralarında herhangi bir önemli farklılık göstermemiştir. DEHP, DBP, BBP, DIDP, DINP ve MEHP gibi fitalatların uygulandığı hayvanlarla yapılan bir çalışmada; rölatif testis ağırlıklarının yalnızca DEHP, DBP ve MEHP uygulanmış hayvanlarda önemli derecede azaldığı, diğer fitalatların uygulandığı hayvanlarda herhangi bir değişime sebep olmadığı belirlenmiştir (Kwack et al., 2009). Anne karnında DINP (Diisononylphthalate) a maruz kalan farelerin testislerinde de küçülmeler ve atrofi bulguları kaydedilmiştir (Adamsson et.al, 2009). Bu sonuçlar farklı fitalatların organ ağırlıkları üzerinde farklı sonuçlar oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte bir çok fitalat türünün çeşitli organlara zarar verdiği çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Ravenzwaay et al., 2010).

Memelilerde sperm oluşumu spermatojenik hücre serilerinin faaliyetleri sonucu meydana gelmektedir. Kimyasallar nedeniyle bu hücre dizileri, kısmen veya tamamen dejenerasyona uğrayabilmektedir ve üreme sistemine etkili birçok kimyasal bilinmektedir. Sperm üretim süreci birçok basamakta gerçekleşmektedir ve bu süreçlere katılan hücre dizilerinden herhangi birisinde meydana gelecek bozulmalar tüm süreci etkileyebilmektedir. Sperm üretme kapasitesi seminifer tübüllerdeki Sertoli hücre sayısına bağlıdır (Orth et al., 1988) ve her bir sertoli hücresi sınırlı sayıda germ hücresini destekleyebilmektedir (Ruseel and Peterson, 1984). Bu hücrelerin dejenere olması sperm sayısına doğrudan etki etmektedir. Çalışmamızda BCP' nin sperm sayısı ve morfolojisinde olumsuzluklar oluşturduğu belirlenmiştir. Uygulanan doza bağlı olarak sperm morfolojisinde ortaya çıkan anomalilerin sayısı da artış göstermiştir (Kontrol' de 78, 100 mg/kg uygulanan grupta 120, 200 mg/kg uygulanan grupta 138, 400 mg/kg uygulanan grupta 168 anormal sperm). Bununla birlikte, kontrol grubunda 17 sperm hücresi fertilité yeteneğine sahip normal morfolojide iken, 100 mg/kg uygulama grubunda 3 sperm hücresi, 200 mg/kg uygulama grubunda 3 sperm hücresi ve 400 mg/kg uygulama grubunda ise yalnızca 2 sperm hücresi fertilité yeteneğine sahip normal morfolojide saptanmıştır. Bu sonuçlar BCP' nin sperm morfolojisinde anomalilere sebep olmasının yanında sperm fertiltesinde de azalmaya sebep olduğunu göstermektedir. Yine DEHP, DBP, BBP, DIDP, DINP ve MEHP gibi fitalatların 28 gün boyunca uygulandığı hayvanlarla yapılan bir çalışmada; sonuçlarımızı destekler şekilde sperm sayısında ve canlılığında kontrole oranla önemli bir azalmanın olduğu ortaya konmuştur (Kwack et al., 2009). Ayrıca butil benzil fitalat (BBP) in rat testis boyutu ve sperm üretimi üzerine advers etkileri Harris et al., (1997) tarafından da gösterilmiştir.

Çalışmamızda 100 mg/kg BCP uygulanan grupta intersitisyum normal görülürken, seminifer tübüller içerisinde bulunan spermatojenik seri hücreleri arasında ödem ve hücrel ayrışmalar dikkati çekmiştir. Ayrıca, seminifer tübül lümeni içinde spermeler dışında spermatojenik seri hücre döküntülerine rastlanmıştır. 200 mg/kg BCP uygulanan grupta intersitisyal ve intratübüler ödem görülürken, spermatojenik seri hücreleri arasında hücrel ayrışmalar dikkati çekmiştir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminifer tübül lümeni içinde rastlanmaktadır. 400 mg/kg BCP uygulanan grupta ise yaygın intersitisyal ve intratübüler ödem ve spermatojenik seri hücreleri arasında hücrel ayrışmalar dikkati çekmektedir. Seminifer tübüllerde deformasyonlar ve buna bağlı olarak dejenerasyonlar izlenmektedir. İntersitisyel bağ dokusunda kapıllar damarlarda dolgunluk görülmektedir. Spermatojenik seri hücre döküntülerine seminifer tübül lümeni içinde rastlanmaktadır. Bazı tübüller tamamen boşalmış durumda gözlenmektedir. Sonuçlarımızı destekler şekilde Hess ve Nakai (2000), Foley (2001) ve Creasy (2001) tarafından da toksik madde etkisiyle germ hücrelerinin tübüller lümenine döküldüğü bildirilmiştir. Bu dökülmenin, kimyasalın sertoli hücrelerinin mikrotübülleri veya intermediat filamentleri üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Hess and Nakai, 2000). Yine valide organ kültür sisteminde insan fetal testisinin gelişimi üzerine MEHP (mono-2-ethylhexyl phthalate)' in etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada MEHP' in insanlarda erkek fetal germ hücre hatlarının gelişimini bozduğu ortaya konmuştur (Lambrot et al., 2006, 2007).

Fitalatlar rodentlerde Sertoli hücre toksikantı olarak da bilinmektedir ve yapılan bazı çalışmalarda sertoli hücre sayısı ve proliferasyonunda azalmalar rapor edilmiştir (Hutchison et al. 2008; Li and Kim 2003; Li et al. 2000). MEHP sertoli hücrelerinde proliferasyonu ya da apoptozis oranını etkilememekle birlikte fetal leydig hücreleri üzerinde direk etkili bir fitalattır. Fitalatların asıl etkileri testosteron üretiminin baskılanması, anormal Leydig hücre agregasyonu ve intratubular Leydig hücrelerinin varlığı şeklindedir (Culty et al., 2008; Fisher et al., 2003; Parks et al., 2000). Çalışmamızda BCP' nin Leydig hücrelerinde herhangi bir histopatolojik anomaliye sebep olmadığı belirlenmekle birlikte testosteron üretimini baskılayıp baskılamayacağını belirlemek için ek analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Fitalatlar östrojenik özellikleri bilinen birçok kimyasal sınıftan yalnızca biridir. Bazı fitalatların östrojenik etkileri daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, yaşamın erken evrelerinde

maruz kalınan bazı fitalat türlerinin erkek üreme fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir (Ferrara et al., 2006; Latini et al., 2006). Ayrıca Kudüs'te yapılan bir çalışmada binalarda yapı malzemesi olarak kullanılan fitalatların hamile kadınların sağlığını olumsuz yönde etkilediğini, endokrin hormon fonksiyonlarını bozduğunu ve fetüse zarar verdiğini ortaya koymuştur (Berman et al., 2009). Fitalatlar çevreye geliş çapta yayılan ve endokrin bozucu olarak bilinen bir bileşik ailesidir. İnsanlarda erkek germ hücrelerinin gelişimini değiştirmektedir. Bu çalışma fetal testis gelişimi sırasında çevresel kirleticilere maruz kalan canlılarda fitalatların potansiyel etkilerini ortaya konması bakımından önemlidir.

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler yer almaktadır. Ayrıca sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler ile alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık yapıcı maddeler de serbest radikallerin oluşumunu tetiklemesi nedeniyle toksikolojik açıdan önemlidir (Seo et al., 2004). Klinik ve deneysel çalışmalar serbest radikallerin birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynadığını göstermektedir. Egzersiz, açlık, ağır metaller, soğuk ve hareketsizlik gibi birçok stres modelinin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve bu radikallerin de lipit peroksidasyonunu uyardığı bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu serbest radikallere bağlı gelişen hasarın tespitinde önemli bir göstergedir ve membran akışkanlığında azalma, fonksiyonlarında bozulma, membran reseptörlerinin ve enzimlerinin inaktivasyonu, membran permeabilitesinin artışı ve özellikle hücre içinde kalsiyum iyon seviyelerinde artışa neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasına sebep olmaktadır.

Lipit peroksidasyonu esas olarak birçok reaktif oksijen türlerinin (hidroksil radikal, hidrojen peroksit gibi) etkisiyle organizmada küçük miktarlarda doğal olarak oluşan bir işlemdir. Bu reaktif oksijen türleri membranın poli-doymamış yağ asitlerine saldırır ve bir dizi reaksiyonu başlatarak membran lipitlerinin tahribine neden olurlar. Lipit peroksidasyon reaksiyonlarının son ürünleri hücrelerin hatta dokuların canlılığı için tehlikelidir. Aynı zamanda bu ürünlerin tespiti serbest radikallere bağlı hasarın da önemli bir göstergesidir. Lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA); kalp, akciğer, böbrek, ince barsak ve mide gibi bir çok organda doku hasarının esas belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (Güneli E ve ark, 2003). Çalışma materyalimiz olan

Butil sikloheksil fitalatın testis membran lipidlerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan analiz sonucunda, farklı dozlarda BCP uygulanan farelerin testislerinde hesaplanan MDA miktarında kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmemiştir ($p>0.05$). Bu sonuçlar BCP' nin testislerde lipid peroksidasyonun indüklediğini göstermektedir.

Sonuç olarak BCP' nin 28 günlük uygulama sonucunda testislerde, sperm sayısı ve morfolojisinde toksik etkilere sebep olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adamsson, A., Salonena, V., Parankoc, J., and Topparia, J.,** 2009, Effects of maternal exposure to di-isononylphthalate (DINP) and 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene (p,p'-DDE) on steroidogenesis in the fetal rat testis and adrenal gland, *Reproductive Toxicology*, 28, 66–74 pp.
- Api, M.A.,** 2001, Toxicological profile of DEHP a vehicle for fragrance and cosmetic ingredients, *Food and Chemical Toxicology*, 39, 97-108 pp.
- Babu, B. and Wu, J.T.,** 2010, Production of phthalate esters by nuisance freshwater algae and cyanobacteria, *Science of The Total Environment*, 408, 69-497 pp.
- Benson, R.,** 2009, Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters, dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 53, 90–101 pp.
- Berman, T., Hochner-Celnikier, D., Calafat, A., Needham, L., Yona Amitai, Y., Wormser U. and Richter E.,** 2009, Phthalate exposure among pregnant women in Jerusalem, Israel: Results of a pilot study, *Environment International*, 35, 353–357 pp.
- Bersee, N.E.H., Beukers, A., Picken, J.S. and Geenen van A.A.,** 2006, Optimisation of anionic polyamide-6 for vacuum infusion of thermoplastic composites: Influence of polymerisation temperature on matrix properties, *Polymer Testing*, 25, 392–404 pp.
- Beyer, L.,** 1999, Pyrolysis-gas chromatography:mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography:flame ionization detection analysis of three Antarctic soils, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 50, 63–76 pp.
- Bonde, J.P.,** 2010, Male reproductive organs are at risk from environmental hazards, *Asian Journal of Andrology*, 12, 152-156 pp.
- Brock, W.J., Silva, J.M., Earl Gray, E.L., Reidy, A.J., Barr, B.D. and Needham, L.L.,** 2006, Urinary and amniotic fluid levels of phthalate monoesters in rats after the oral administration of di(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate, *Toxicology*, 217, 22–30 pp.
- Chemical Service Inc,** 2009, Material safety and data sheet.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen, S.K. and Run-Chu, L.**, 2000, Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films, *Journal of Controlled Release*, 68, 343–350 pp.
- Cole, P. and Collins, J.J.**, 2008, Acrylonitrile and cancer: A review of the epidemiology, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52, 342–351 pp.
- Cooper, P.A.**, 2006, Study of moisture absorption in natural fiber plastic composites, *Composites Science and Technology*, 66, 379–386 pp.
- Creasy, D.M.**, 2001, Pathogenesis of male reproductive toxicity, *Toxicol Pathol.*, 29, 64–76 pp.
- Crissman, J.W., Goodman, D.G., Hildebrandt, P.K., Maronpot, R.R., Prater, D.A., Riley, J.H., Seaman, W.J. and Thake, D.C.**, 2004, Best practice guideline: toxicologic histopathology, *Toxicologic Pathology*, 32, 126–131.
- Culty, M., Thuillier, R., Li, W., Wang, Y., Martinez-Arguelles, D.B., Benjamin, C.G.**, 2008, In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate exerts both short-term and long-lasting suppressive effects on testosterone production in the rat, *Biol Reprod* 78,1018–1028 pp.
- Damberg, J., Dave, G. and Larsson, A.**, 2009, Leachates from plastic consumer products – Screening for toxicity with *Daphnia magna*, *Chemospher*, 74, 1195–1200 pp.
- Dessouki, M.A. and Nizam El-Din, M.H.**, 2001, Direct pyrolysis mass spectrometry of acrylonitrile–cellulose graft copolymer prepared by radiation-induced graft polymerization in presence of styrene as homopolymer suppressor, *Radiation Physics and Chemistry*, 61, 143–148 pp.
- Environmental Protection Agency (EPA)**, 1988, Revised policy for acute toxicity testing, Office of pesticides and toxic substances.
- Erkekoglu, P., Rachidi, W., Gursoy, Yuzugullu, O., Giray, B., Favier, A, Ozturk, M. and Hincal, F.**, 2010, Evaluation of cytotoxicity and oxidative DNA damaging effects of di(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) and mono(2-ethylhexyl)-phthalate (MEHP) on MA-10 Leydig cells and protection by selenium, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 248, 52–62 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erna, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.,** 1996, Developmental toxicity of mono-*n*-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer *n*-butyl benzyl phthalate in rats, *Toxicology Letters*, 86, 19-25 pp.
- Eveillard, A., Lasserre, F., Tayrac, M., Polizzi, A., Claus, S., Canlet, C., Lakhal, L., Gotardi, G., Paris, A., Guillou, H., Martin, P. and Pineau T.,** 2009, Identification of potential mechanisms of toxicity after di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) adult exposure in the liver using a systems biology approach, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 236, 282-292 pp.
- Ferrara, D., Hallmark, N., Scott, H., Brown, R., McKinnell, C., Mahood, I.K and Sharpe, R.M.,** 2006, Acute and long-term effects of in utero exposure of rats to di(*n*-butyl) phthalate on testicular germ cell development and proliferation, *Endocrinology*, 147, 5352-5362 pp.
- Fisher JS, Macpherson S, Marchetti N, Sharpe RM.** 2003. Human ‘testicular dysgenesis syndrome’: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Hum Reprod* 18(7):1383–1394.
- Foley, G.L.,** 2001, Overview of male reproductive pathology, *Toxicologic Pathology*, 29, 49-63 pp.
- Gowd, B.E., Tashiro, K. and Ramesh, C.,** 2009, Structural phase transitions of syndiotactic polystyrene, *Progress in Polymer Science*, 34, 280–315 pp.
- Gryshchuk, O. and Jost, N.,** 2002, Toughening of vinyl ester–urethane hybrid resins by functional nitrile rubbers and hyperbranched polymers, *Polymer*, 43, 4763–4768 pp.
- Güneli, E., Çiçek, R., Canoruç, N. and Kelle, İ.,** 2003 İmmobilizasyon+Soğuk Stresine Maruz Kalan Sıçanlarda Karaciğer Lipit Peroksidasyonu Düzeyine Vitamin E, Selenyum ve Allopurinolün Etkileri, *T Klin Gastroenterohepatoloji*, 14, 167-172 pp.
- Habert, R., Muczynski, V., Lehraiki, A., Lambrot, R., Lécureuil, C., Levacher, C., Coffigny, H., Pairault, C., Moison., Frydman, R. and Rouiller-Fabre, V.,** 2009, Adverse effects of endocrine disruptors on the foetal testis development: focus on the phthalates, *Folia Histochemica Et Cytobiologica*. 47, 67-74 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hannas, B.R., Furr, J., Lambright, C.S., Wilson, V.S., Foster, P.M. and Gray, L.E.,** 2010, Di-pentyl phthalate dosing during sexual differentiation disrupts fetal testis function and postnatal development of the male Sprague Dawley rat with greater relative potency than other phthalates. *Toxicol Science*.
- Harris, C.A., Henttu, P., Parker, M.G., and Sumpter, J.P.,** 1997, The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environ. Health Perspect.* 105, 802–811 pp.
- Hess, R.A., and Nakai, M.,** 2000, Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl, *Histol Histopathol*, 15, 207-224 pp.
- Horrocks, R.A.,** 2003, A review of flame retardant polypropylene fibres, *Progress in Polymer Science*, 28, 1517–1538 pp.
- Hutchison, G.R., Scott, H.M., Walker, M., McKinnell, C., Ferrara, D., Mahood, I.K., et al.,** 2008. Sertoli cell development and function in an animal model of testicular dysgenesis syndrome, *Biol Reprod*, 78(2), 352–360 pp.
- Hyungmin, P., Thomas, P.R. and Soojin, P.,** 2010, Spatial control of dewetting: Highly ordered Teflon nanospheres, *Journal of Colloid and Interface Science*, 348, 416–423 pp.
- Janero, D.R.,** 1990, Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury, *Free Radic. Biol. Med.*, 9, 515-40 pp.
- Ji, K., Kho, L.Y., Park, Y. and Choi, K.,** 2010, Influence of a five day vegetarian diet on urinary levels of antibiotics and phthalate metabolites: A pilot study with “ Temple Stay” participants, *Environmental Research*, 110, 375–382 pp.
- Kahovec, J., Fox, R.B. and Hatada, K.,** 2002, Nomenclature of regular single-strand organic polymers (IUPAC Recommendations), *Pure and Applied Chemistry*, 24, 74-1921 pp.
- Kim, J.H., Payne, T., Miller, D.J. and Kobler, W.R.,** 1999, Purification of polyethylene terephthalate from polyvinyl chloride by froth flotation for the plastics (soft-drink bottle) recycling industry, *Separation and Purification Technology*, 15, 9-17 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Koch, H.M., Preuss, R., Angerer, J.** 2006, Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure—an update and latest results, *Int J Androl.*, 29, 155-165 pp.
- Kovacic, P, Sacman, A. and Wu-Weiss, M.N.**, 2009, Widespread role of oxidative stress and electron transfer, *Curr. Med. Chem.*, 9, 823–47 pp.
- Kovacic, P. and Jacintho, J.D.**, 2001, Reproductive toxins: Pervasive theme of oxidative stress and electron transfer, *Curr. Med. Chem.*, 8, 823–47 pp.
- Kovacic, P. and Osuana, J.A.**, 2000, Mechanisms of anti-cancer agents: Emphasis on oxidative stress and electron transfer, *Curr. Pharm. Des.*, 6, 277–309 pp.
- Kwack, S.J., Kim, K.B., Kim, H.S. and Lee, B.M.**, 2009, Comparative Toxicological Evaluation of Phthalate Diesters and Metabolites in Sprague-Dawley Male Rats for Risk Assessment, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72, 1446–1454 pp.
- Lambrot, R., Coffigny, H., Pairault, C., Frydman, R., Habert, R. and Rouiller-Fabre, V.**, High radiosensitivity of germ cells in human male fetus, *J Clin Endoc Metab.*, 92, 2632-2639 pp.
- Lambrot, R., Livera, G., Coffigny, H., Pairault, C., Frydman, R., Habert, R. and Rouiller-Fabre, V.**, 2006, A new method for toxicity assays on human and mouse fetal testis, *Biochimie.*, 88, 1831-1835 pp.
- Lambrot R., Muczynski, V., Lécureuil, C., Angenard, G., Coffigny, H., Pairault, C., Moison, D., Frydman, R., Habert, R. and Rouiller-Fabre, V.**, 2009, Phthalates impair germ cell development in the human fetal testis in vitro without change in testosterone production, *Environ Health Perspect.*, 117, 32-37 pp.
- Latini, G., Vecchio del A., Massaro M., Verrotti, A. and Felice, de C.**, 2006, Phthalate exposure and male infertility, *Toxicology*, 226, 90–98 pp.
- Lehraiki, A., Racine, C., Krust, A., Habert, R. and Levacher, C.**, 2009, Phthalates Impair Germ Cell Number in the Mouse Fetal Testis by an Androgen- and Estrogen-Independent Mechanism, *Toxicological Science*, 111, 372-382 pp.
- Li, H. and Kim, K.H.**, 2003, Effects of mono-(2-ethylhexyl) phthalate on fetal and neonatal rat testis organ cultures, *Biol Reprod.*, 69, 1964-1972 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Li, L.H., Jester, W.F., Laslett, A.L., and 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, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 166, 222–229 pp.
- Mapuskar, K. and Pereira, C.,** 2007, Chronic toxicity of diethyl phthalate—A three generation lactational and gestational exposure study on male Wistar rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23, 319–327 pp.
- More, S.A. and Pasale, K.S.,** 2010, Synthesis and characterization of polyamides containing pendant pentadecyl chains, *European Polymer Journal*, 46, 557–567 pp.
- Mustafizur, R. and Christopher, S.,** 2006, Ionic liquids: New generation stable plasticizers for poly(vinyl chloride), *Polymer Degradation and Stability*, 91, 3371-3382 pp.
- Muthuvijayan, V. and Gu, J.,** 2009, Analysis of functionalized polyethylene terephthalate with immobilized NTPDase and cysteine, *Acta Biomaterialia*, 5, 3382–3393 pp.
- National Toxicology Program,** 1998, Report on carcinogens, Department of health and human services, vol. 63, 5565-5567 pp.
- OECD Guidelines for Testing of Chemicals No : 408,** 1998, Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- OECD Guidelines for Testing of Chemicals No: 401,** 1987, Acute oral toxicity, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- Orth, J.M., Gunsalus, G.L., Lamperti, A.,** 1988, Evidence from sertoli cell depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of sertoli cells produced during perinatal development, *Endocrinology*, 122, 787-794 pp.
- Park, S.Y. and Choi, J.,** Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure, *Environ Int.*, 33(6),817-22 pp.
- Parks, L.G., Ostby, J.S., Lambright, C.R., Abbott, B.D., Klinefelter, G.R., Barlow, N.J., et al.,** 2000, The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat, *Toxicol Sci.*, 58(2), 339–349 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pereira, C. and Mapuskar, K.,** 2008, Effect of diethyl phthalate on rat testicular antioxidant system: A dose-dependent toxicity study, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 90, 52–57 pp.
- Plastik ürünleri özel ihtisas komisyonu raporu,** 2001, Sekizinci beş yıllık kalkınma planı, DTP 2547, ÖİK 563, Devlet Planlama Teşkilatı, Ankara, Türkiye.
- Ravenzwaay, B., Cunha, G., Strauss, V., Wiemer, J., Leibold, E., Kamp, H., Walk, T., Mellert, W., Looser, R., Prokoudine, A., Fabian, E., Krennrich, G. and Herold, M.,** 2010, The individual and combined metabolite profiles (metabolomics) of dibutylphthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate following a 28-day dietary exposure in rats, *Toxicology Letters*, 198, 159–170 pp.
- Russell, L.D. and Peterson, R.N.,** 1984, Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals, *J Reprod Fertil*, 70, 635-641 pp.
- Webster, T.M.U., Lewisa, C., Filbya, A.L., Paula, G.C. and Santos, E.M.,** 2010, Mechanisms of toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate on the reproductive health of male zebrafish, *Aquatic Toxicology*, 99 (3), 360-369 pp.
- Timbrell J.A.,** 2000, Biomarkers of organ toxicity, *Arch. Ind. Hyg. Toxicol.*, 33, 295-302 pp.
- Vo, T.B., Jung, T., Dang, E.M., Yoo, V.H., Choi, Y.M. and Yu, C.K.,** 2009, Di-(2 ethylhexyl) phthalate and flutamide alter gene expression in the testis of immature male rats, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7, 104 p.
- Webb, R.T., Reed, L.K., Hansen, F.J. and Kennedy, L.G.,** 2003, Four-week inhalation toxicity study in rats with nylon respirable fibers: rapid lung clearance, *Toxicology*, 192, 189–210 pp.
- Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M. and Hungerbühler, K.,** 2006, What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? *Risk Anal*, 26, 803-824 pp.
- Xu, H., Verbeken, E., Vanhooren, M.H. and Hoet, M.H.P.,** 2004, Pulmonary toxicity of polyvinyl chloride particles after a single intratracheal instillation in rats. Time course and comparison with silica, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 194, 111 –121 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zia, M.K. and Bhatti, A.I., 2007, Methods for polyurethane and polyurethane composites, recycling and recovery: *A review, Reactive & Functional Polymers*, 67, 675–692 pp.

ÖZGEÇMİŞ

27.11.1982 yılında İzmir’de doğan Elif Emine DUYAR, 2001 yılında Selma Yiğitalp Lisesinden mezun olmuştur. Celal Bayar Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümündeki eğitimi sırasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı staj eğitimini gerçekleştirmiş ve 2007 yılında üniversiteden mezun olmuştur. Elif Emine DUYAR 2006-2009 yılları arasında E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda çalışmıştır.