



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**POLİKLORLU BİFENİLLER VE VİTAMİN E’NİN TM3
LEYDİĞ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Yasemin TUNALI AYUN

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

Danışman

Prof.Dr. Melike ERKAN

Şubat, 2012

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**POLİKLORLU BİFENİLLER VE VİTAMİN E’NİN TM3
LEYDİĞ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Yasemin TUNALI AYUN

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

Danışman

Prof.Dr. Melike ERKAN

Şubat, 2012

İSTANBUL

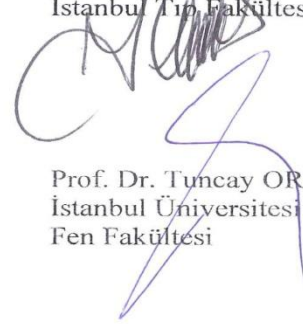
2602060044 Öğrenci numaralı Yasemin TUNALI AYUN tarafından hazırlanan bu çalışma 09/02/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



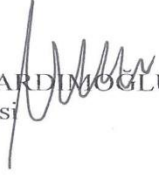
Prof. Dr. Melike ERKAN (Damışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Ayhan BİLİR
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Tuncay ORTA
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Melda YARDIMCI YILMAZ
Kocaeli Üniversitesi
Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN
Marmara Üniversitesi
Fen Fakültesi



Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin T-2857 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, endüstriyel amaçla kullanılan iki poliklorlu bifenil karışımı olan Aroklor 1242 ile Aroklor 1260'ın ve vitamin E'nin TM3 Leydig hücreleri üzerine yapmış olduğu etkilerin açığa çıkarılması amacıyla yapılmıştır.

Lisans ve Lisanüstü öğrenimim sırasında yetişmemde emeği geçen, engin bilgi ve tecrübeleriyle tez çalışmam boyunca yol göstericim ve sonsuz manevi desteği ve anlayışıyla her zaman yanımda olan çok sevdiğim değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Melike ERKAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında destekleriyle yanımda olan sevgili çalışma arkadaşlarım Biyolog Banu ORTA, Biyolog Emine ŞEN, Biyolog Batuhan COŞKUN, Biyolog Ezgi HAMZAOĞLU'na ve Araş. Gör. Uzm. Biyolog Vahap ELDEM'e teşekkür ederim. Yine tez çalışmalarım boyunca yardımda bulunan sevgili öğrencilerimiz Tunahan TAŞÇI, Gülnaz YILDIRIM, Mine CELEP ve Ümit UZUN'a ve manevi destekleriyle yanımda olan arkadaşlarım Uzm. Biyolog Simge KARA ve Uzm. Biyolog Serap EKİNCİ'ye çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Şükrü ARAS'a, Lütenizan hormonun teminini sağlayan Serano ilaç firmasından Ediz OZAN Bey'e teşekkürü bir borç bilirim.

Öğrenim hayatım boyunca ve tezim sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen, beni yetiştirip bugünlere gelmemi sağlayan çok değerli annem ve babam Memduha ve Yusuf TUNALI'ya, tezim sırasında her zaman yardıma koşan ve manevi desteğiyle yanımda olan sevgili kardeşim Hasan TUNALI'ya çok teşekkür ederim. Doktora tezim boyunca her türlü sorunun üstesinden gelmem için bana güç veren ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan biricik eşim Mehmet Resul AYUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Şubat, 2012

Yasemin TUNALI AYUN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
TABLO LİSTESİ	VIII
SEMBOL LİSTESİ.....	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. TESTİSİN GENEL YAPISI.....	3
2.2. LEYDİĞ HÜCRESİ	4
2.3. POLİKLORLU BİFENİLLER (PCB)	6
2.3.1. Genel Özellikleri	7
2.3.2. PCB'lerin Etkileri	9
2.4. OKSİDATİF HASAR.....	12
2. 5. VİTAMİN E	14
3. MALZEME VE YÖNTEM	16
3. 1.KULLANILAN HÜCRE SOYU VE HÜCRE KÜLTÜRÜ	16
3. 2. HÜCRELERİN PASAJ İŞLEMİ.....	16
3.3. POLİKLORLU BİFENİLLER (A1242 VE A1260) VE VİTAMİN E KONSANTRASYONLARININ HAZIRLANMASI.....	17
3.4. HÜCRE ÇOĞALMA HIZI.....	19
3.4.1. MTT Hücre Canlılık Testi.....	19
3.5. BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER.....	19

3.5.1. Membran Lipit Peroksidasyonun Tayini.....	20
3.5.2. Hidroksil Radikalinin Tayini	21
3.5.3. Total Protein Tayini	22
3.5.4. Süperoksit dismutaz (SOD) Tayini	23
3.5.5. Katalaz Tayini	24
3.5.6. Glutasyon peroksidaz (GPx) Tayini	25
3.5.7. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Tayini	27
3.5.8. 3 β -Hidroksi Steroid Dehidrogenaz (3 β -HSD) Tayini	28
3.5.9. 17 β -Hidroksi Steroid Dehidrogenaz (17 β -HSD) Tayini	29
3. 6. İSTATİSTİK ANALİZ.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. HÜCRE ÇOĞALMA HIZI BULGULARI.....	31
4.1.1. MTT Bulguları	31
4.2. OKSİDATİF HASAR BULGULARI.....	36
4.2.1. Lipit Peroksidasyonu.....	36
4.2.2. Total Protein Miktarı.....	40
4.2.3. Hidroksil Radikali	44
4.2.4. SOD Enzimi Aktivitesi	49
4.2.5. Katalaz Enzimi Aktivitesi	53
4.2.6. GPx Enzimi Aktivitesi	57
4.2.7. GST Enzimi Aktivitesi.....	61
4.3. STEROİDOGENİK ENZİM BULGULARI	65
4.3.1. 3 β -HSD Enzimi Aktivitesi	65
4.3.2. 17 β -HSD Enzimi Aktivitesi	70
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	75
6. KAYNAKLAR	90
7. EKLER.....	107
ÖZGEÇMİŞ.....	113

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.2.1. Leydig hücrelerinde steroidogenez.....	5
Şekil 2.3.1.1: Poliklorlu bifenillerin genel yapısı ve klor bağlanma pozisyonları.	8
Şekil 2.4.1. Serbest radikallerin oluşum mekanizması	12
Şekil 2.5.1. Vitamin E'nin moleküler yapısı.....	14
Şekil 4.1.1.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri	33
Şekil 4.1.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranı (doz ve zamana bağlı) etkileri.....	33
Şekil 4.1.1.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı .. koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı)... etkileri	35
Şekil 4.1.1.4: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri.....	35
Şekil 4.2.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri	37
Şekil 4.2.1.4: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri	39
Şekil 4.2.2.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri	41
Şekil 4.2.2.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri.....	41

Şekil 4.2.2.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri	43
Şekil 4.2.2.4.: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri.	43
Şekil 4.2.3.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali (doz ve zamana bağlı) etkileri.....	46
Şekil 4.2.3.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri.....	46
Şekil 4.2.3.3: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri	48
Şekil 4.2.3.4: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri.	48
Şekil 4.2.4.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri	50
Şekil 4.2.4.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri	50
Şekil 4.2.4.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri	52
Şekil 4.2.4.4: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri	52
Şekil 4.2.5.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri	54

Şekil 4.2.5.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri	54
Şekil 4.2.5.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri	56
Şekil 4.2.5.4: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri.	56
Şekil 4.2.6.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon peroksidaz aktiviteleri	58
Şekil 4.2.6.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon peroksidaz aktiviteleri	58
Şekil 4.2.6.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon peroksidaz aktiviteleri	60
Şekil 4.2.6.4: Poliklorlu bifenil (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon peroksidaz aktiviteleri	60
Şekil 4.2.7.1: : Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon S-transferaz aktiviteleri	62
Şekil 4.2.7.2: : Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon S-transferaz aktiviteleri	62
Şekil 4.2.7.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon S-transferaz aktiviteleri	64
Şekil 4.2.7.4: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutasyon S-transferaz aktiviteleri	64

Şekil 4.3.1.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri	67
Şekil 4.3.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri	67
Şekil 4.3.1.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri	69
Şekil 4.3.1.4: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri	69
Şekil 4.3.2.1: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17β-HSD aktiviteleri	72
Şekil 4.3.2.2: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17β-HSD aktiviteleri	72
Şekil 4.3.2.3: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17β-HSD aktiviteleri	74
Şekil 4.3.2.4: Poliklorlu bifenilin (Aroclor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17β-HSD aktiviteleri	74

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.3.1: Bazı ticari PCB karışımlarının özellikleri.....	7
Tablo 2.3.1.1: Poliklorlu bifenil homolog gruplarının özellikleri.....	8
Tablo 2.3.1.2: Bazı Aroklor karışımlarının fiziksel özellikleri	9
Tablo 3.3.1. Kontrol, A1242, A1260 ve Vitamin E uygulanan deney grupları.	18
Tablo 7.1. Çeşitli ticari PCB karışımlarındaki PCB'lerin bulunma oranları.....	107

SEMBOL LİSTESİ

3β-HSD	: 3 β -hidroksisteroiddehidrogenaz
17β-HSD	: 17 β -hidroksisteroiddehidrogenaz
5α-DHT	: 5 α -dihidrotestosteron
A1242	: Aroklor 1242
A1260	: Aroklor 1260
AH	: Aril hidrokarbon
ATP	: Adenozin trifosfat
BSA	: Sığır serum albumini
CDNB	: 1,4-dikloronitrobenzen
DER	: Düz yüzlü endoplazmik retikulum
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-transferaz
LH	: Lüteinizan hormon
MDA	: Malondealdehit
MTT	: 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromit
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
P450arom	: P450 aromataz
P450scc	: P450 yan zincir kıran enzim
PBR	: Periferel benzodiazepine reseptör
PCB	: Poliklorlu bifenil
PKA	: Protein kinaz A
PSA	: Penisilin-streptomisin-amfoterin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
StAR	: Steroidogenik akut düzenleyici protein
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif türleri
TCA	: Trikloro asetik asit
TCDD	: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin

ÖZET

POLİKLORLU BİFENİLLER VE VİTAMİN E'NİN TM3 LEYDİĞ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu çalışmada poliklorlu bifenillerin TM3 Leydig hücreleri üzerindeki sitotoksitesinin ve bir antioksidan olan Vitamin E'nin bu hasardan hücreyi koruyucu etkisinin hücre canlılığı, lipid peroksidasyonu, hidroksil radikali, antioksidan enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz) ve steroidogenik enzimlerdeki (3 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz ve 17 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz) oksidatif hasar belirlenerek araştırılması amaçlanmıştır.

Poliklorlu bifeniller 1930'lu yıllarda endüstriyel kullanım amacıyla üretilmeye başlanan, bir fenil molekülüne değişik sayıdaki (1 ile 10 arasında) klor iyonlarının farklı konfigürasyonlarda (orto, meta, para) bağlanmasıyla meydana gelen aromatik klorlu bileşiklerdir. Lipofilik özellikleri ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle besin zincirinde birikerek çevresel kontaminasyona neden oldukları ve insan sağlığını tehdit etmeye başladıkları anlaşıldıktan sonra üretimleri dünyanın birçok ülkesinde yasaklanmış, bazılarında da kullanımı sınırlandırılmıştır. Ancak, birçok ülkede poliklorlu bifenil içeren endüstriyel teçhizat ve sanayi ürünleri hala kullanılmaktadır.

Poliklorlu bifenillerin sebep olduğu serbest radikallerin canlıya verdiği her türlü zararda esas olduğu tespit edilmiştir. Bu zarardan korunabilmesi için yeterli miktarda antioksidan bu maddelere maruz kalan canlılar tarafından tüketildiğinde zararın aza indirilmesi sağlanabilmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının oluşmasını önleyen bir zincir kıran antioksidan olan Vitamin E hücreyi oksidatif hasardan korumaktadır.

Leydig hücreleri 6, 12 ve 24 saat süreyle bazal ve LH uyarımlı koşullarda farklı dozlarda (10^{-16} M'dan 10^{-6} M'a) PCB'ye (Aroclor 1242 ve Aroclor 1260) ve bu dozlara ilave olarak antioksidan olarak vitamin E (50μ M)'ye maruz bırakılmıştır. Uygulamalar sonunda Leydig hücrelerinde steroidogenic enzimler (3 β -HSD ve 17 β -HSD), lipid peroksidasyonu, hidroksil radikali ve enzimatik antioksidanlar (SOD, CAT, GPx ve GST) ölçülmüştür. Sonuçlar steroidogenic enzimler ve enzimatik antioksidanların doz ve zamana bağlı olarak azaldığını, lipid peroksidasyonu ve hidroksil radicalinin ise doz ve zamana bağlı olarak arttığını göstermiştir. Bu bulgular PCB'lerin Leydig hücrelerinde testosteron biyosentezini steroidogenik enzimleri ve antioksidan enzimleri inhibe ederek doğrudan etkilediğini ve hücrede hidroksil radikali ve lipid peroksidasyon miktarını arttırarak oksidatif hasarı teşvik ettiğini göstermektedir. Ayrıca vitamin E'nin Aroclor 1242 (A1242) ve Aroclor 1260 (A1260)'la oluşturulan toksisiteye karşı iyileştirici etkisi olduğu ortaya konulmuştur.

SUMMARY

EFFECTS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND VITAMINE E IN TM3 LEYDIG CELLS

In this study, polychlorinated biphenyls-induced cytotoxicity and the protective effect of Vitamine E which is an antioxidant supplementation from this damage on TM3 Leydig cells were purposed to research by determination of cell viability, lipid peroxidation, hydroxyl radical, oxidatif damage of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase) and steroidogenic enzymes (3β -hydroxysteroid dehydrogenase and 17β -hydroxysteroid dehydrogenase).

Polychlorinated biphenyls are aromatic chlorinated compounds, which were begun to be manufactured in 1930s for industrial purposes, are formed as a result of chlorine ions in different numbers (ranging between 1 and 10) attached to a phenyl molecule at different configurations (ortho-, meta, para). Their production have been prohibited completely in many countries and also, its use has been restricted in some countries across the world after it was found that they cause environmental contamination when they are deposited in food chain due to their lipophilic features and chemical stability and they began to threaten human health. However, industrial equipment and industrial products containing polychlorinated biphenyl are still in the use in many countries.

It was determined that free radicals caused by polychlorinated biphenyls are essential in every type of damage in an organism. Such damage in an organism, which has been made expose to these matters, may be minimized if the organism eats an antioxidant matter in sufficient amount to protect itself against this damage. Therefore, Vitamin E, which is a chain breaking antioxidant to prevent radical reactions from occurring, protects the cell against oxidative damages.

Leydig cells were made expose to PCB (Aroclor 1242 and Aroclor 1260) for 6, 12 and 24 hours under basal and LH-stimulated conditions at different doses (ranging between 10^{-16} M and 10^{-6} M) and, in addition to these doses, to vitamin E ($50\mu\text{M}$) as antioxidant. After these applications, steroidogenic enzymes (3β -HSD and 17β -HSD), lipid peroxidation, hydroxyl radical and enzymatic antioxidants (SOD, CAT, GPx and GST) in Leydig cells were measured. The results indicated that steroidogenic enzymes and enzymatic antioxidants decreased depending on dose and time while lipid peroxidation and hydroxyl radical increased depending on dose and time. These findings indicate that PCBs directly affect testosterone biosynthesis in Leydig cells by inhibiting steroidogenic enzymes and antioxidant enzymes and encourage oxidative damage by increasing hydroxyl radical and lipid peroxidation amount. Furthermore, it was evidenced that vitamin E has a healing effect on toxicity caused by Aroclor 1242 (A1242) and Aroclor 1260 (A1260).

1. GİRİŞ

Poliklorlu bifeniller (PCB) sentetik klorlu organik bileşikler sınıfına aittirler. Bu bileşikler devamlı çevresel kirletici ve potansiyel olarak üremeye alakalı toksik maddedir (Lloyd ve diğ., 1976). İlk defa 1881 yılında sentezlenen poliklorlu bifeniller 1930'lu yıllarda endüstriyel amaçlı üretilmeye başlanmıştır (Hutzinger ve diğ., 1974; De Voogt ve Brinkman, 1989; Jones ve diğ. 1992; ATSDR, 1997; Hansen, 1999). Aroklor 1242 ve Aroklor 1260 endüstriyel amaçla üretilen ticari PCB karışımlarıdır (Quensen III ve diğ., 1990; Hansen, 1999). Aroklor 1242 % 42 oranında klor içerirken, Aroklor 1260 % 60 oranında klor içerir (Quensen III ve diğ., 1990; Hansen, 1999; ATSDR, 2000). Bu yağda çözünebilen bileşikler kimyasal ve fiziksel yapı bakımından oldukça stabildirler ve besin zincirinde birikebilirler (Kimbrough, 1995).

PCB'lerin immün sistemi baskılayıcı, endokrin bozucu (Apostoli ve diğ., 2003), nörotoksik (Rogan ve Gladen, 1992), kanserojenik (Oakley ve diğ., 1996), teratojenik etkilerinin (Ahlborg ve diğ., 1994) olduğu ve davranış bozukluğuna sebep olduğu (Shain ve diğ., 1986) saptanmıştır. PCB'lerin endokrin bozucu etkileri ise erkek üreme sistemini etkileyerek üreme kapasitesinin düşmesine, testikular spermatozoa konsantrasyonunun azalmasına, testisin ve yardımcı üreme organlarının ağırlığının azalmasına, Leydig hücrelerinde testosteron sentezinin ve steroidogenik enzimlerin aktivitelerinin azalmasına neden olmaktadır (Sridhar ve diğ., 2004; Murugesan ve diğ., 2005a, b; Murugesan ve diğ., 2007a; Murugesan ve diğ., 2008). PCB, testiste spermin oluşturulması ve üremenin başarısıyla direkt ilişkisi olan ve testosteron üretiminden sorumlu Leydig hücresi üzerine etkileri ile ilgili bugüne kadar yapılmış *in vitro* çalışmalar çok azdır (Johansson, 1989; Kovacevic ve diğ., 1995; Andric ve diğ., 2000a, b; Murugesan ve diğ., 2007b; Murugesan ve diğ., 2008). Aroklor adı altında piyasaya sunulan poliklorlu bifenillerden içerdiği klor oranı bakımından farklı biyolojik aktiviteye sahip olduğu düşünülen Aroklor 1242 ile testiste yapılmış *in vivo* birkaç çalışma bulunmasına rağmen (Kim ve diğ., 2001; Ahmad ve diğ., 2003), Aroklor 1260 ile testiste yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Aroklor 1242 ve Aroklor 1260 ile testis

Leydig hücreleri üzerine yapılmış tek tek veya karşılaştırmalı *in vitro* çalışma bulunmamaktadır ve bu çalışma ile Leydig hücrelerindeki etkileri *in vitro* olarak ilk defa araştırılmıştır.

Serbest radikallerin yarattığı oksidatif stresin önlenmesi ve etkisinin en aza indirilmesi için yeterli miktarda antioksidan tüketilmelidir (Coşkun, 2005). Vitamin E insan ve hayvanların çoğalması için gerekli bir diyet faktörü ve tüm memeliler için bir antioksidandır (Murugesan ve diğ.,2007b). *İn vivo* ve *in vitro* çalışmalar göstermiştir ki serbest radikal reaksiyonlarının oluşmasını önleyen bir zincir kıran antioksidan olan Vitamin E Leydig hücrelerinde oksidant indükleyen lipid peroksidasyonunu önleyerek hücreyi oksidatif hasardan korumaktadır ve hücrelerin testosteron üretme yeteneği üzerine anlamlı koruyucu etkisi vardır (Senthil kumar ve diğ., 2004; Murugesan ve diğ., 2007b, Murugesan ve diğ., 2008).

Bu çalışmada, poliklorlu bifeniller ve vitamin E'nin TM3 Leydig hücreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Tezin "Genel Kısımlar" bölümünde Leydig hücreleri, poliklorlu bifeniller, oksidatif hasar ve vitamin E ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

Tezin "Malzeme ve Yöntem" bölümünde laboratuvarında uygulanan işlemler ayrıntılı şekilde anlatılmıştır. Yapılan bu işlemler sonucunda elde edilen veriler tezin "Bulgular" bölümünde belirtilmiştir.

Tezin "Tartışma ve Sonuç" bölümünde ise, elde edilen veriler değerlendirilmiş ve bu veriler mevcut literatür bilgisi ile yorumlanarak sonuca varılmıştır.

Bu çalışma, iki poliklorlu bifenil olan Aroklor 1242 ve Aroklor 1260'ın tek başlarına ve vitamin E ile birlikte testis TM3 Leydig hücreleri üzerine etkileri hücre canlılığının, lipid peroksidasyonunun, reaktif oksijen türü olarak hidroksil radikalinin, enzimatik antioksidanların ve steroidogenik enzimlerin saptanarak oksidatif hasarın ve bu oluşan hasara karşı vitamin E'nin koruyucu rolünün ortaya çıkarılması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. TESTİSİN GENEL YAPISI

Memelilerde eşey organları olan testisler, seminifer tübüller ve interstisiyal alandan meydana gelmektedir. Seminifer tübüllerde çeşitli evrelerdeki germ hücreleri ve Sertoli hücreleri bulunurken, interstisiyal alanda Leydig hücreleri, kan damarları ve lenfatik damarlar bulunmaktadır. Seminifer tübüller, sperm üretimi ve spermlerin boşaltıcı kanallara taşınmasından sorumluyken, interstisiyal alanda bulunan Leydig hücreleri üreme hormonlarının üretiminden sorumludur (Abrahamsohn ve diğ., 2003; Kierszenbaum, 2006).

Seminifer tübüller, başlıca Sertoli hücreleri ve onların arasında bulunan spermatogenik siklusun farklı evrelerindeki farklılaşmış germ hücrelerinden meydana gelmektedir. Sertoli hücreleri birbirleriyle ve peritubuler miyoid hücrelerle, sıkı bağlantılar sayesinde kan-testis bariyerini oluştururlar (Denef, 1998; Jegou, 1992). Primer spermatositler, spermatogenez sırasında kan-testis bariyerini aşarak seminifer tübül lümenine doğru ilerlerler (Limoges, 1998).

İnterstisiyal alan seminifer tübüller arasında kalan boşluklardır. Bu alanda Leydig hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, miyoid hücreler, lenfositler, plazma hücreleri, testiküler parankima sinirleri, kan ve lenf damarları bulunur. Leydig hücreleri, testiküler androjenlerin özellikle testosteronun üretimi ve salınımından sorumludur. Bu hormonların salınması, ergin erkeklerde sperm üretimi (spermatogenez) ve ikincil eşey karakterinin sürdürülmesi için önemlidir (Limoges, 1998).

Testiste hücrelerarası iletişim, komşu hücrelerin ya ekstraselüler alana saldıkları parakrin faktörlerle ya da hücrelerarası bağlantılar yoluyla olduğu bilinmektedir (Perez Armendariz ve diğ., 1994; Saez, 1994; Varanda ve De Carvalho, 1994; Peluso ve diğ.,

1996). Hücrelerarası iletişim; steriodogenez, spermatogenez ve sperm maturasyonu için önemli bir ön koşuldur (Miller ve diğ., 1983; Saez, 1994).

2.2. LEYDİĞ HÜCRESİ

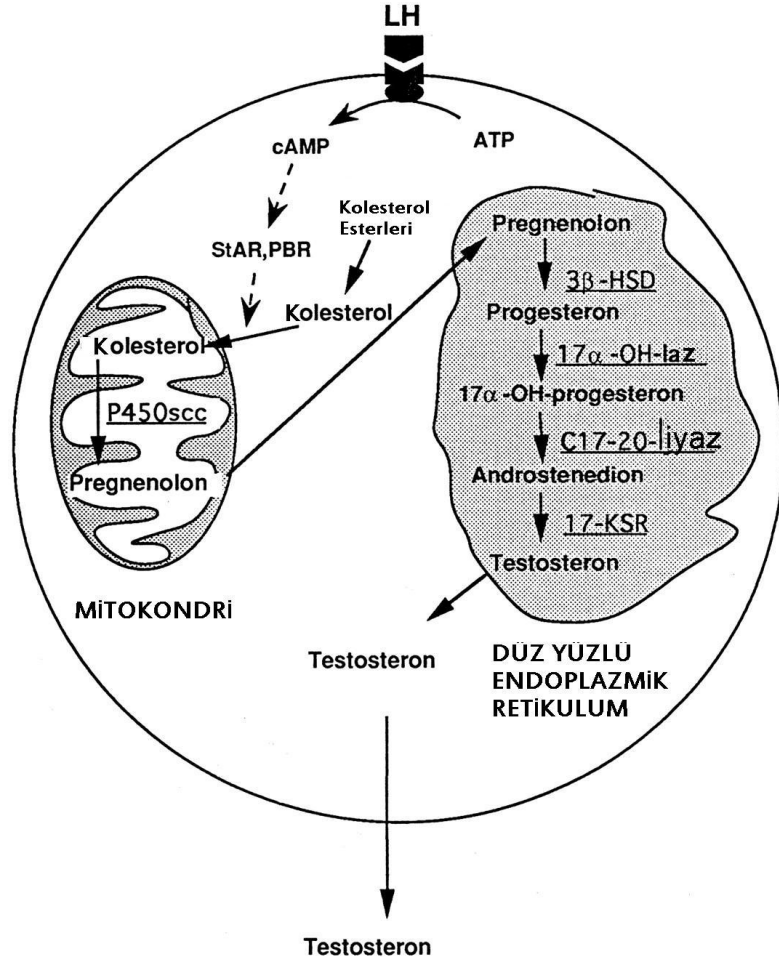
Leydig hücresi diğeri bir adıyla interstisiyal hücre ilk defa Franz Leydig tarafından 1850 yılında tanımlanmıştır. Keşfedildikten yaklaşık 50 yıl sonrasına kadar fonksiyonu bilinmemesine rağmen, Bouin ve Ancel tarafından 1903 yılında erkeğe özgü özellikleri veren faktörlerin Leydig hücresinden kökenlendiği, ayrıca sperm üretimi ve sekonder eşey karakterlerinin oluşumunu teşvik ettiği ortaya konulmuştur (Bremner 1981; Christensen, 2007).

Leydig hücresinin bir hormonu olan testosteron 1935 yılında izole edilmiştir. 1960'ların sonu ve 1970'lerin başında, hipotalamus-hipofiz-testis eksenindeki başlıca hormonal etkileşimler ve Leydig hücrelerinde steroidlerin temel biyosentez ve metabolik yolları açığa çıkarılmıştır (Saez, 1994).

Testiste androjen üretiminin büyük kısmı Leydig hücrelerinde yapılmaktadır. Testiste en çok salınan androjen testosterondur (Hall, 1994). Testosteron, Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında bulunan lipit damlacıklarındaki kolesterolden sentezlenir ve bu olaya steroidogenez denir. Leydig hücrelerinde steroidogenez; Luteinizan hormonun (LH) reseptörüne bağlanarak, adenosin trifosfat (ATP)'tan cAMP sentezini uyarması ile başlar. Kolesterolün, sitoplazmadan mitokondriye taşınmasında gerekli olan Protein Kinaz A (PKA)'yı cAMP aktifleştirir (Haider, 2004). Kolesterolün mitokondirinin dış zarından iç zarında, P450_{scc} enzim sisteminin bulunduğu yere taşınmasında iki taşıyıcı protein vardır: 1- Steroidogenik Akut Düzenleyici Protein (StAR), 2- Periferel-Tip Benzodiazepine Reseptör (PBR) (Stocco ve Clark, 1996). P450_{scc} kolesterolü pregnenolona çevirir ve pregnenolon hemen testosteronun sentezinin meydana geleceği düz yüzlü endoplazmik retikulumu (DER) taşınır. DER pregnenolonun testosterona çevrilmesinde gerekli olan birçok hidroksteroid dehidrogenaz (HSD) enzimlerini içerir (Haider, 2004). HSD, Leydig hücrelerinde steroidogenez için gerekli olan enzimlerdendir (Habert ve diğ., 2001) ve özellikle 3β-hidroksteroid dehidrogenaz ve

17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz testosteron üretiminde gerekli olan anahtar enzimdir (Haider ve diğ., 1986) (Şekil 2.2.1).

Testisten salınan diğer iki androjen; androstenedion ve dihidroepiandrosteron olup bu iki hormon testosteron ile karşılaştırıldığında daha az derecede androjeniteye sahiptir (Hall, 1994). Androjenlerin üretiminin dışında Leydig hücreleri testosteronu, 5 α -dihidrotestosterona (5 α -DHT) ve dişi eşey hormonu olan östradiole çevirebilir (Hall, 1994).



Şekil 2.2.1. Leydig hücrelerinde steroidogenez. LH, Luteinizan Hormon; P450scc, P450 yan zincir kıran enzim sistemi; StAR, Steroidogenik Akut Düzenleyici Protein; PBR, Periferal-Tip Benzodiazepine Reseptör; 3 β -HSD, 3 β -hidroksisteroid dehidrogenaz; 17 β -HSD, 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz (Rommerts, 2004).

2.3. POLİKLORLU BİFENİLLER (PCB)

Poliklorlu bifeniller (PCB) 1930'lu yıllardan 1970'li yılların ortalarına kadar yaygın olarak kullanılan endüstriyel bileşiklerdir (ATSDR, 1997; De Voogt ve Brinkman, 1989; Hutzinger ve diğ., 1974; Hansen, 1999). Kimyasal ve fiziksel olarak stabil olmaları, yanıcılıklarının ve elektrik iletkenliklerinin düşük olması istenen özellikleridir (WHO, 1993; Hansen, 1999). Bu özellikleri nedeniyle en çok kapalı sistem olarak tasarlanmış kapasitörlerde ve trafolarında, akışkan olarak hidrolik pompa ve vakum pompalarında, mobilyalar, iç dekorasyon ve bina inşaatlarında, plastikleştirici olarak boyalar ve matbaa mürekkebinde, pestisit katkısı, yapıştırıcılar, astarlar, kesme yağlar, hidrolik yağlar, immersiyeon yağları, karbonsuz kopya kağıdı ve elektrik izolasyon sıvılarının yapımında yanmayı ve enerji kaybını önlemek amacıyla kullanılır (WHO, 1993; Safe, 1994; Eisler ve Belisle, 1996; De Vos ve diğ., 2003; Seyran ve Erişir, 2008).

Poliklorlu bifeniller, bilinen tüm kimyasal maddeler arasında doğada en kalıcı olanlarıdır. Lipofilik özellikleri ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle besin zincirinde birikerek çevresel kontaminasyona neden oldukları ve insan sağlığını tehdit ettikleri anlaşılmıştır (Lilienthal ve diğ., 2000). 1960'lı yılların sonunda poliklorlu bifenillerin yaygın olarak çevresel kontaminasyona sebep oldukları bulunmasına rağmen, Amerika, Japonya ve Batı Avrupa'da 1970'li yılların sonlarına kadar ve diğer bazı ülkelerde ise 1990 yılına kadar üretilmeye devam edilmiştir (Hansen, 1999). Poliklorlu bifenil içeren endüstriyel teçhizat ve sanayi ürünleri hala kullanılmaktadır (Carpenter, 1998; Hansen, 1999; Sandal ve diğ., 2008). Birçok ülke poliklorlu bifenil karışımları üretmesine rağmen, en çok bilinenleri Aroclor (Amerika), Kanechlor (Japonya) ve Clophen (Almanya) dir (Hansen, 1999). Bu ürünlerden bazıları tablo 2.3.1 de listelenmiştir.

Genellikle poliklorlu bifeniller klorlanma yüzdelerine göre piyasaya sürülmektedir. Bu maddelerde poliklorlu bifenil bileşikleri belli oranda bir karışım halinde bulunmaktadır. Bu karışımlardan bilinenlerden biri Monsanto şirketinin ürettiği Aroklor serileridir. Bu serilerde dört rakamlı bir kod kullanılmaktadır. Bu kodlarda baştaki iki rakam karbon atom sayısını, son iki rakam ise karışımdaki klorlanma yüzdesini ifade eder. Aroklor 1242 ve Aroklor 1260'taki baştaki 12 rakamı karışımın 12 karbonlu bifenil halkasından

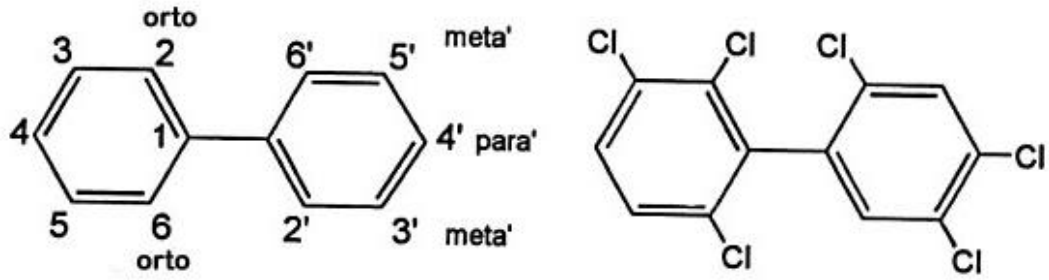
oluşturduğunu göstermektedir ve sondaki 42 ve 60 karışımlarda %42 ve %60 oranında klor bulunduğunu göstermektedir (Carpenter, 1998). Daha sonra, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry veya IUPAC) tarafından non-orto, mono-orto ve di-orto yapılarına göre bir numaralandırma sistemi geliştirilmiştir (Skerfving ve diğ., 1994). Aroklor serilerinde hangi PCB'nin ne oranda bulunduğu tezin ekler bölümünde tablo 7.1'de listelenmiştir.

Tablo 2.3.1: Bazı ticari PCB karışımlarının özellikleri (Hansen, 1999).

Aroclor	Clophen	Kanechlor	Klor (%)	Klor (Avg. no)	Moleküler Ağırlığı
1221			21	1.15	194
1232		200	32	2	223
1016			40	3	257
1242	A30	300	42	3	257.5
1248	A40	400	48	4	292
1254	A50	500	54	5	326
1260	A60	600	60	6.3	366
1262			62	6.8	388
1268			68	8.7	453.5

2.3.1. Genel Özellikleri

Poliklorlu bifeniller, bir fenil molekülüne değişik sayıdaki (1 ile 10 arasında) klor iyonlarının farklı konfigürasyonlarda (orto, meta ve para) bağlanmasıyla meydana gelen aromatik bileşiklerdir (Şekil 2.3.1.1) (Carpenter, 1998; Hansen, 1999; Apostoli ve diğ., 2003). Klor iyonlarının bağlanma yeri ve sayıları nedeniyle, teorik olarak 209 farklı poliklorlu bifenil bileşeni üretilebilir (Safe, 1994; Hansen, 1999). Poliklorlu bifenillerin kimyasal formülü $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ olarak yazılabilir. Poliklorlu bifenillerin bu farklı oluşturulan bileşiklerine konjener denir ve yapılarındaki klor atomu sayısına göre homolog adı verilerek gruplandırılır. Tablo 2.3.1.1 de poliklorlu bifenil homolog grupları ve onların karakteristik özellikleri verilmektedir (Ballschmiter ve diğ., 1992; Hansen, 1999).



Şekil 2.3.1.1: Poliklorlu bifenillerin genel yapısı ve klor bağlanma pozisyonları (Hansen, 1999).

Tablo 2.3.1.1: Poliklorlu bifenil homolog gruplarının özellikleri (Ballschmiter ve diğ., 1992).

Klor Sayısı	Ortalama Moleküler Ağırlığı	% Klorlanma	İzomer sayısı
0	154.2	0	1
1	188.7	10	3
2	223.1	32	12
3	257.6	41	24
4	292.0	49	42
5	326.4	54	46
6	360.9	59	42
7	395.3	63	24
8	429.8	66	12
9	464.2	69	3
10	498.7	71	1

Poliklorlu bifenillerin sudaki çözünürlükleri azdır, yağ ve organik çözücülerde çözünürler, ısıya son derece dayanıklıdır ve buhar basınçları düşüktür (Sawyer ve diğ., 1994; Hansen, 1999; Gouin ve diğ., 2002; Yeo ve diğ., 2004). Oksidasyon, asit, baz ve diğer kimyasal bileşiklere dayanıklı bileşiklerdir (WHO, 1993). Elektriği çok iyi yalıtırlar ve kimyasal olarak son derece inerttirler (WHO, 1993; Hansen, 1999). Çeşitli Aroklor karışımlarının bazı fiziksel özellikleri tablo 2.3.1.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.3.1.2: Bazı Aroklor karışımlarının fiziksel özellikleri (Hutzinger ve diğ., 1974)

Aroklor	Hal	Yoğunluk (20°C)	Akışkanlık (99°C)	Buharlaşıma (6 saat 100°C)	Suda çözünürlüğü (µg/L 25°C)
1221	Yağ	1.18	30-31	% 1-1.5	
1232	Yağ	1.27	31-32	% 1-1.5	
1016	Yağ	1.37			420
1242	Yağ	1.38	34-35	% 0-0.4	240
1248	Yağ	1.44	36-37	% 0-0.3	52
1254	Viskoz	1.54	44-48	% 0-0.2	12
1260	Reçine	1.62	72-78	% 0-0.1	3

2.3.2. PCB'lerin Etkileri

Poliklorlu bifeniller besin zincirine girerek, insanlar da dahil olmak üzere yeryüzündeki her canlıya taşınabilmektedir (Carpenter ve diğ., 1998). 1968 yılında Japonya'da ve 1978 yılında Tayland'da meydana gelen zehirlenme vakalarından sonra poliklorlu bifenillerin çevrede ve insandaki dağılımı, birikimi ve toksik etkileri araştırılmaya başlanmıştır (Carpenter, 1998; Hsu ve diğ., 1985). Canlılar PCB'lere solunum yoluyla, kontamine olmuş sular ve besinlerin vücuda alınmasıyla, mesleki olarak ve uzun süre kontamine olmuş suda yüzülmesiyle maruz kalırlar (Carpenter, 1998; Seyran ve Erişir, 2008).

Çevrede çok kalıcı olan PCB'ler yüksek toksisiteye sahiptirler. Düşük yoğunluklarda bile hayvanlarda endokrin bozucu özellik gösterebilmektedirler (Apostoli ve diğ., 2003). Ayrıca, immün sistemi baskılayıcı, nörotoksik (Rogan ve Gladen, 1992), kanserojenik (Oakley ve diğ., 1996), teratojenik etkilerinin (Ahlborg ve diğ., 1994) olduğu ve davranış bozukluğuna sebep olduğu (Shain ve diğ., 1986) saptanmıştır. Bu maddelerin endokrin bozucu olması, erkek üreme sistemini etkileyerek üreme kapasitesinin düşmesi, testikular spermatozoa konsantrasyonunun azalması, testisin ve yardımcı üreme organlarının ağırlığının azalmasına, Leydig hücrelerinde testosteron

sentezinin ve steroidogenik enzimlerin aktivitelerinin azalmasına neden olmaktadır (Sridhar ve diğ., 2004; Murugesan ve diğ., 2005a; Murugesan ve diğ., 2005b; Murugesan ve diğ., 2008).

Poliklorlu bifenillerde, bifenil halkası üzerinde bulunan klor iyonu sayısı bu maddelerin biyolojik etki derecelerini belirler. Bu nedenle, farklı Aroklor karışımları birbirinden farklı biyolojik aktivite gösterebilmektedir (Carpenter, 1998; Seyran ve Erişir, 2008). Düşük sayıda klor atomu bulunduran poliklorlu bifeniller östrojenik aktivite gösterirken (Arcaro ve Gierthy, 2001), yüksek sayıda klor atomu bulunduranlar anti-östrojenik aktivite gösterir (Safe, 2002). Östrojenik ve antiöstrojenik PCB konjenerleri ve/ya da konjenerlerin metabolitleri östrojen reseptörüne (Connor ve diğ., 1997; Machala ve diğ., 2004; Pillon ve diğ., 2005; Yoon ve diğ., 2001, Petit ve diğ., 1997; Layton ve diğ., 2002) ve steroid bağlayıcı globuline (Kato ve diğ., 1982) doğrudan bağlanabilir. PCB'lerdeki bifenil halkasının ikinci ve altınca pozisyonlarına klor atomlarının bağlanmasıyla uzaysal konfigürasyon değişmekte ve bileşiğin aldığı şekil non-planar (düzeysel olmayan) olarak adlandırılmaktadır (Carpenter, 1998). Bu non-planar yapıdaki bileşenlerin 17 β östrodiol benzediği ve bu nedenle östrojenik aktivite gösterdikleri ileri sürülmüştür (Fischer ve diğ., 1998). PCB'ler östrojenik etkileriyle meme kanseri hücre soyunda genin promotör bölgesine östrojen reseptörünün bağlanmasını ve gen anlatımını teşvik eder, aynı zamanda hücre büyümesini düzenler (Nesaretnam ve diğ., 1996). PCB'ler aynı zamanda dişi gonatta östrodiolün salınımının artırılmasında rol alabilir (Ptak ve diğ., 2005).

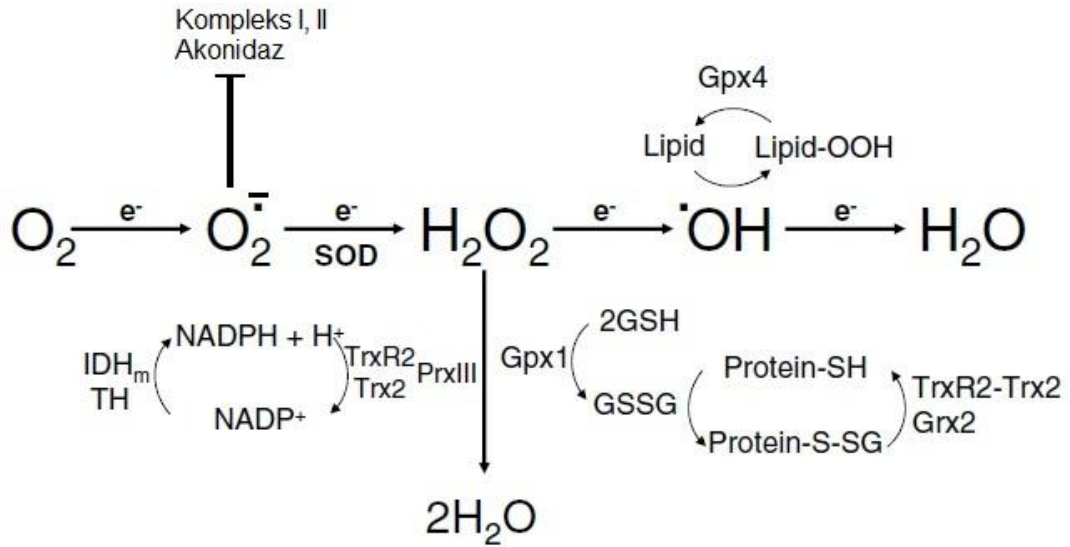
Yapısal olarak dioksine (TCDD) benzeyen PCB'ler planar (düzeysel) bir yapıya sahiptirler ve etkilerini sitoplazmik Aril Hidrokarbon (AH) reseptörüne bağlanarak gösterirler (Safe ve Wormke, 2003; Machala ve diğ., 2004; Hirabayashi ve Inoue, 2009). AH reseptörü agonisti bileşiklerin meme kanseri hücrelerinde sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) ve 1B1 (CYP1B1)'i teşvik ettikleri ve bu yolla östrojen yıkımını arttırarak hücre içi hormon seviyesini azaltarak anti-östrojenik etkiye yol açtıkları gösterilmiştir (Spink ve diğ., 1990).

Özellikle son 50 yılda erkek üreme sisteminin başlıca sorunu olan sperm sayısının giderek azalması ve bunun da kaynağının çevresel olabileceği fikri öne sürülmektedir

(Sharpe ve Shakkebaek, 1993). Gelişme dönemindeki erkeklerde PCB'ye maruz bırakılması kriptorşizm, testis kanseri ve kısırlık gibi patolojik durumlara neden olmaktadır (Schrader ve Cooke, 2003). PCB konjenerlerine doğum sonrasında maruz bırakılan sıçanlarda düşük çiftleşme sıklığı, farelerde azalmış testis spermatozoa konsantrasyonu gibi durumlar bulunmuştur. PCB'ler gonadal steroidogenezi (Grabic ve diğ., 2006; Gregoraszcuk ve diğ., 2005; Mlynarczuk ve Kotwica, 2005), adrenal steroidogenezi (Li ve diğ., 2004), gonadotropin düzeylerini (Desaulniers ve diğ., 1999; Lorenzen ve diğ., 1999) ve gonadal hormonları (Johansson, 1989) değiştirebilir.

2.4. OKSİDATİF HASAR

Dış yörüngesinde en az bir çiftlenmemiş elektron içeren, nötr veya iyonize tüm atom yada moleküllere “serbest radikal” denir. Çok reaktif olan bu radikaller, organizmada karşılaşabilecekleri; lipit, nükleik asit ve aminoasitlerle etkileşirler ve hücrede hasara neden olurlar. Yüksek karbonlu yağ asitleri, radikal reaksiyonlara en fazla girenlerdir (Dökmeci, 2000). Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlerse, hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) ‘oksidatif stres’ denir. Zararlı maddeler olan toksinler, vücuda genellikle solunan hava, tüketilen besinler ve su yoluyla alınır. Ayrıca vücuttaki bazı normal metabolik süreçlerin yan ürünü olarak da toksinler oluşabilir (Russell ve diğ., 2006) (Şekil 2.4.1).



Şekil 2.4.1. Serbest radikallerin oluşum mekanizması

Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve membranda bulunan yüksek karbonlu doymamış yağ asitlerinin oluşturduğu fosfolipitlerin, serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oksitlenip, peroksit türevlerine dönüşmesini içeren ve lipitler üzerinde etkilerinin en iyi tanımlandığı kimyasal bir olaydır (Kayaalp, 1998).

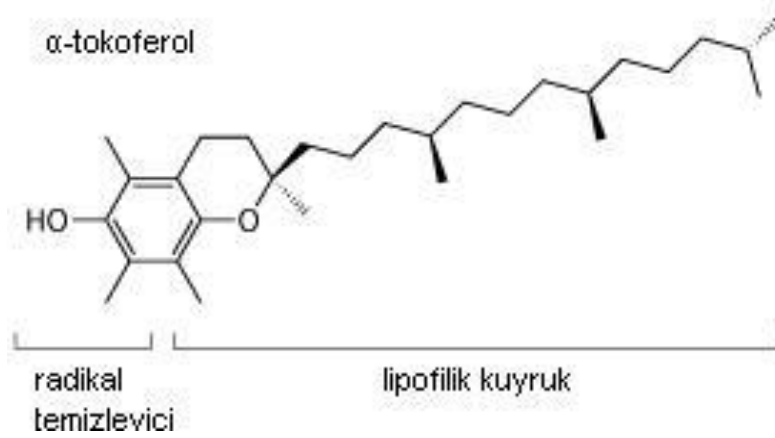
Superoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerdir. Lipit peroksidasyon reaksiyonları genel olarak iki çeşittir. Non-enzimatik lipit peroksidasyonu, herhangi bir radikalın polianstüre yağ asidindeki metilen karbonundan hidrojen atomunun uzaklaştırılması reaksiyonlarını kapsar. Enzimatik lipit peroksidasyonu ise, siklooksijenaz ve lipooksijenaz reaksiyonları sonucunda oluşan hidroperoksit ve endoperoksitler, enzimatik reaksiyon ürünleridir. Membranın lipit/protein oranı, fosfolipit miktarı, yağ asitlerinin bileşimi, yağ asitlerinin doymamışlık derecesi ve membranın akışkanlığı membrandaki lipit peroksidasyonunu etkileyen faktörlerdendir ve bunun sonucunda, membran transport sistemleri bozulur, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulur, hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur, hücre içi organellerde oluşan lipit peroksidasyonu litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hasarlar gelişir (İnan ve Gül, 2002).

Serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri önlemek için hücre içinde çeşitli antioksidan enzimler ve enzimatik olmayan antioksidan maddeler üretilir. Bu sisteme antioksidan savunma sistemi denir. Antioksidan savunma sistemine ait süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ilk kez 1968 yılında Fridrovich ve Mccord tarafından tanımlanmıştır. SOD enzimi süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler ve böylece lipit peroksidasyonunu inhibe eder (Murugesan ve diğ., 2008). Diğer bir antioksidan enzim olan katalaz enzimi dört adet hem grubu içeren bir hemoproteindir ve peroksizomlarda bulunur. Katalaz enzimi hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya parçalar (Murugesan ve diğ., 2008). Başka bir antioksidan olan glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi aktif bölgesinde dört selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Redükte glutatyon (GSH) varlığında hidrojen peroksit ve lipit peroksitlerin indirgenmesinde rol oynar (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Şimşek, 1999). Bir diğer enzim olan glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluşturur. Glutatyonda sisteine ait -SH gruplarına bağlanarak yabancı maddelerin elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve suda çözünmesini sağlarlar (Şimşek, 1999).

2. 5. VİTAMİN E

Vitaminler, vücutta metabolik olayların normal bir şekilde işlemesi ve sağlıklı durumun sürdürülmesi için gerekli olan organik maddelerdir (İnan ve Gül, 2002). İnsanlar dahil bütün hayvanlar için temel bir madde olarak kabul edilen, bitkisel kaynaklı E vitamini, tokoferoller ve tokotrienoller (tokoller) olarak bilinen, yağda eriyen bileşiğin genel adıdır (McDowell, 1989; Nevberne ve Corner, 1989; Rice ve Kendy, 1988). E vitamini doğal antioksidan ve kısırılığı önleyici rolü nedeniyle beslenmede önemli bir role sahiptir (Kessopoulou ve diğ., 1995; Chow, 2001). E vitamini ile ilgili alışmalar 1920'li yıllarda başlamıştır. İlk olarak Evans ve Bishop tarafından 1922 yılında keşfedilmiştir. Aktif tokoferolün izolasyonu, karakterizasyonu ve sentezi 1938 yılında Karrel ve diğ. tarafından gerçekleştirilmiştir.

Günümüzde, doğada vitamin E'nin sekiz formu bulunmaktadır. Bunların dördü tokoferol (α , β , γ , δ) diğ. dördü ise tokotrienol (α , β , γ , δ) olarak iki gruba ayrılır (McDowell, 1989; Nevberne ve Corner, 1989; Putnam ve Comben, 1987; Levin ve Clouatre, 2009). En aktif antioksidant etki gösterenler tokoferoller sırası ile α , β , γ , δ tokoferollerdir (Kosowski ve Clouatre, 2009; Simone ve Palozza, 2009). Kroman (2 metil-6 kroman) türevleri olan tokoferoller benzen ile pıran halkasından oluşmuştur (Aras ve diğ., 1976). 6-kromanol halkası ve buna bağlı üçü asimetric, 16 karbonlu bir isoprenoid yan zincirden oluşur (Dökmeçi, 2000). α tokoferolün moleküler yapısı Şekil 2.5.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.5.1. Vitamin E'nin moleküler yapısı.

Tokoferoller, bitkisel ve hayvansal besinlerde oldukça fazla bulunurlar. Bunlar arasında yeşil yapraklı sebzeler, yağlı tohumlar ve bunların yağları, tahıllar, kuru baklagiller, et, yumurta ve balık sayılabilir (Zielinski, 2009; Harinantenaina, 2009).

Tokoferollerin, biyolojik sistemlerde potansiyel bir antioksidan olarak rol oynadığı bilinir. Tokoferoller bu etkilerini, hücrelerdeki doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonunu önleyerek ve membranın bütünlüğünü sağlayarak gerçekleştirirler (Siddons ve Mills,1981; Ulrey, 1981; Putnam ve Comben, 1987; Rice ve Kendy, 1988; McDowell, 1989; Nevberne ve Corner, 1989; Simone ve Palozza, 2009). Oksidasyon sırasında oluşan serbest radikaller daha sonra peroksidasyon ile mitokondriyal, mikrozomal ve hücre membranındaki fosfolipitlerden olan doymamış yağ asitlerini okside eder (Nevberne ve Corner, 1989). Sonuçta bu membranların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hiperoksitler oluşur. Tokoferollerin fenol halkası üzerindeki hidroksil grubu, bir proton vermek suretiyle peroksit ve hiperoksik radikallerini doyurur ve böylece peroksit radikallerinin aktivitelerini azaltır (Rice ve Kendy, 1988; Nevberne ve Corner, 1989;).

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Poliklorlu bifeniller (Aroklor 1242 ve Aroklor 1260) ve Vitamin E farklı sürelerde ve dozlarda TM3 Leydig hücre soyuna uygulanmıştır. Aroklor 1242 (A1242) ve Aroklor 1260 (A1260)'ın belirlenen beş farklı dozu tek başına ve Vitamin E ile birlikte bazal ve LH uyarımlı koşullarda uygulanarak hücre canlılığı, steroidogenik enzimler, enzimatik antioksidanlar, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türleri spektrofotometrik olarak gösterilmesiyle araştırılmıştır.

3. 1.KULLANILAN HÜCRE SOYU VE HÜCRE KÜLTÜRÜ

Deneylelerimizde kullanılan TM3 hücre soyu 11-13 günlük farelerin Leydig hücrelerinden elde edilmiş tümörük olmayan bir hücre soyudur. Laboratuvarımıza ATCC (American Type Culture Collection): The Global Bioresource Center'dan getirilmiş olup *in vitro* koşullarda haftada iki-üç kez düzenli pasajları yapılarak yetiştirilmektedir. Hücreler % 5 Horse Serum, % 2,5 Fetal Bovine Serum, 2.5 mM L-Glutamine, 0.5 mM Sodium Pyruvate, 1.2 g/L Sodium Bicarbonate, 15 mM HEPES ve PSA (Penisilin-Streptomisin-Amfoterin) ilave edilmiş 50:50 DMEM/F12 kültür medyumunda, % 5 CO₂ ve % 95 hava içeren nemli ortamda, 37°C'de inkübe edilerek yetiştirilmektedir.

3. 2. HÜCRELERİN PASAJ İŞLEMİ

Deneylelerimizde kullanılan hücreler, yetiştirildikleri kültür kapları içinde yeterli yoğunluğa eriştiklerinde haftada iki-üç defa düzenli pasajları yapılmaktadır. Bu amaçla, hücreler tripsinle 37°C'de 5 dakika muamele edildikten sonra pipetaj yapılarak toplanır ve santrifüj tüpüne aktarılır. 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra, süpernatant atılır. Dipte bulunan hücre çökeltisi üzerine uygun kültür medyumunu ilave edilerek, her deney için gerekli sayıda hücre kültür kaplarına ekilir.

3.3. POLİKLORLU BİFENİLLER (A1242 VE A1260) VE VİTAMİN E KONSANTRASYONLARININ HAZIRLANMASI

Poliklorlu bifenillerin TM3 Leydig hücre soyu üzerine uygulanan dozları, canlıların poliklorlu bifenillere maruz kaldıkları dozları ele alınarak saptanmıştır. Aroklor1242 (A1242) ve Aroklor 1260 (A1260) % 0,08 DMSO içeren medyum içerisinde uygun dozlarda hazırlanmıştır. A1242 ve A1260'ın belirlenen beş farklı dozu 6M (10^{-6} M A1242 ve A1260), 8M (10^{-8} M A1242 ve A1260), 10M (10^{-10} M A1242 ve A1260), 12M (10^{-12} M A1242 ve A1260), 16M (10^{-16} M A1242 ve A1260) oluşturulmuş ve kontrol gruplarına % 0,08 DMSO içeren medyum verildi (Tablo 3.3.1).

Deneylede Vitamin E'nin en aktif ve en fazla bulunan formu olan α -tocopherol kullanılmıştır (Kosowski ve Clouatre, 2009; Simone ve Palozza, 2009). Uygulanacak doz seviyesi *in vitro* ortamdaki antioksidan doz olan 50 μ M olarak belirlenmiştir (Takacs ve diğ., 2001). Hazırlanan stok solüsyonlar +4°C'de saklanmıştır. (Tablo 3.3.1).

Hazırlanan A1242, A1260, A1242 + Vitamin E ve A1260 + Vitamin E solüsyonları 0.2 μ m milipor filtre ile steril edilerek, hem bazal ve hem de Lüteinizan Hormon (LH) uyarımı yapıldığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerine 6, 12 ve 24 saat uygulanmıştır. LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşulları sağlayabilmek için hücreler deney sırasında serum free medyumla inkübe edildi.

Tablo 3.3.1. Kontrol, A1242, A1260 ve Vitamin E uygulanan deney grupları.

Aroklor (1242 ve 1260)			Aroklor (1242 ve 1260)+Vitamin E		
Kontrol Grubu I (KI)	% 0,08 DMSO içeren medyum	% 0,08 DMSO içeren medyum	Kontrol Grubu II (KII)	50µM Vitamin E + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + % 0,08 DMSO içeren medyum
16M	10 ⁻¹⁶ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10 ⁻¹⁶ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum	16M+VE	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹⁶ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹⁶ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum
12M	10 ⁻¹² M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10 ⁻¹² M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum	12M+VE	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹² M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹² M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum
10M	10 ⁻¹⁰ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10 ⁻¹⁰ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10M+VE	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹⁰ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + 10 ⁻¹⁰ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum
8M	10 ⁻⁸ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10 ⁻⁸ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum	8M+VE	50µM Vitamin E + 10 ⁻⁸ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + 10 ⁻⁸ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum
6M	10 ⁻⁶ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	10 ⁻⁶ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum	6M+VE	50µM Vitamin E + 10 ⁻⁶ M A1242 + % 0,08 DMSO içeren medyum	50µM Vitamin E + 10 ⁻⁶ M A1260 + % 0,08 DMSO içeren medyum

3.4. HÜCRE ÇOĞALMA HIZI

3.4.1. MTT Hücre Canlılık Testi

Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan hücreler flask yüzeyini %70 oranında kapladıkları zaman Tripsin-EDTA ile muamele edilerek flask tabanından kaldırılmıştır. Trypan blue boyası ile boyanan hücreler, Thoma lamı yardımıyla 3 kez sayılarak MTT hücre canlılık testi için 96 kuyulu kültür kaplarına kuyu başına 5000 hücre olacak şekilde serum içermeyen medyumda hazırlanmış A1242, A1260, A1242+Vitamin E ve A1260+Vitamin E'nin hazırlanmış beş farklı dozu bazal ve LH uyarımı yapıldığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat 37°C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir. Deney sürelerinin tamamlanmasıyla, her bir kuyucuğa 10 µl MTT I solüsyonu eklenmiştir ve kültür kapları MTT boyasının suda çözünmeyen formazan kristalleri haline dönüştürülebilmesi için 4 saat 37°C'de CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir. Canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan kristallerinin çözülmesi için her bir kuyucuğa 100 µl MTT II solüsyonu (SDS) eklenmiş ve bir gece boyunca CO₂ inkübatöründe bırakılmıştır. Bu süre sonunda hücrelerin optik yoğunlukları ELISA cihazında 540 nm dalga boyunda okutulmuştur. Test maddesi ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı % 100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları yüzde olarak ifade edilmiştir. Bu test 3 kez tekrar edilmiştir (Mossman, 1983).

3.5. BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER

Deneyisel uygulamalar sonunda 6 kuyulu kültür kaplarına ekilen hücreler (1×10^6) kaldırılarak, Tris-HCl tamponuna (pH:7,2) alındı. Daha sonra ultrasonikatör ile sonike edilerek hücrelerin membranlarının parçalanması sağlanmış ve elde edilen hücre süspansiyonu 14000 g'de Nüve marka soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant alındı. Alınan süpernatantlar, lipid peroksidasyonunun, total protein miktarının, hidroksil radikalının, antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST) ve steroidogenezde görevli olan 3β-hidroksisteroid dehidrogenaz (3β-HSD) ve 17β- hidroksisteroid dehidrogenaz (17β-HSD) enzimlerinin ölçülmesi için kullanıldı.

3.5.1. Membran Lipit Peroksidasyonun Tayini

Lipid peroksidasyonunun miktarı Devasagayam ve Tarachand (1987)'in yönteminde olduğu gibi örnekteki malondialdehit içeriğine göre ölçülmüştür. Deneyin prensibi poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu ile oluşan son ürünlerden biri olan malondealdehit (MDA)'in sıcak ortamda Tiyobarbütirik asit (TBA) ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

3.5.1.1. Kullanılan Çözeltiler

-% 10 Triklorasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

-% 0.375 Tiyobarbütirik asit (TBA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

-0.25 N Hidroklorik asit

Deney Karışımı:

1 ml 0,15 M Tris-HCl tamponu (pH 7,4)

0,3 ml 10 mM KH₂PO₄

3.5.1.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,2 ml	—
Tris Tamponu	—	0,2 ml
Deney karışımı	1,3 ml	1,3 ml
TCA	1 ml	1 ml
TBA	1,5 ml	1,5 ml

Örnek ve kör tüplerine deney karışımı konup 37°C çalkalayıcı su banyosunda 20 dk inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon TCA eklenerek durduruldu. Tüpler iyice çalkalanarak TBA eklendi ve 20 dk kaynar su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra soğutulan tüpler 10 dakika 2000 g'de santrifüj edilip, süpernatantın absorbansı 532 nm'de köre karşı okundu.

3.5.1.3. Hesaplama

$$\text{TBARS (nmol/ml)} = \frac{V_{\text{toplam}} \times A_{\text{örnek}} \times 10^6}{V_{\text{örnek}} \times \epsilon}$$

TBARS için molar ekstinksiyon katsayısı: $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

V_{toplam} (Toplam hacim): 4 ml

$V_{\text{örnek}}$ (Kullanılan örnek hacmi): 0.2 ml

$A_{\text{örnek}}$: Örnek absorbansı

3.5.2. Hidroksil Radikalinin Tayini

Hidroksil radikali üretimi Puntarulo ve Cederbaum (1988)'un yöntemine göre yapıldı. Bu yöntem demir komplekslerinin varlığında üretilen hidroksil radikalının NADPH ve DMSO varlığında formaldehit oluşturulması ve oluşan formaldehitin TCA ile reaksiyona girerek 570 nm dalga boyunda absorbans vermesi esasına dayanır.

3.5.5.1. Kullanılan Çözeltiler

1 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 7)

0,1 M MgCl_2

10 mM Sodyum azid

4 mM DMSO

4 mM NADPH

% 10 Triklorasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

3.5.5.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	1 ml	—
Tris Tamponu	—	1 ml
Sodyum Fosfat Tamponu	0,2 ml	0,2 ml
MgCl_2	0,1 ml	0,1 ml
Sodyum azid	0,1 ml	0,1 ml
DMSO	0,1 ml	0,1 ml
NADPH	0,1 ml	0,1 ml
TCA	0,3 ml	0,3 ml

Örnek ve kör tüplerine sodyum fosfat tamponu, MgCl₃, sodyum azid, DMSO ve NADPH ve hücre süspansiyonu konduktan sonra tüpler hafifçe çalkalandı ve 10 dk 37°C’de inkübe edildi. Daha sonra sonra reaksiyon TCA eklenerek durduruldu ve tüpler 30 dk kaynayan su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler soğutularak 570 nm dalga boyunda köre karşı okunur.

3.5.5.3. Hesaplama

$$\frac{\text{Dakikada oluşan Hidroksil radikali}}{\mu\text{mol}} = \frac{A_{\text{örnek}} \times \text{df}}{\epsilon_{\text{mM}}}$$

$$\epsilon_{\text{mM}} = 6,22 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$A_{\text{örnek}}$: Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı

3.5.3. Total Protein Tayini

Total protein tayini Lowry ve diğ., 1953 yöntemine göre yapıldı. Deneyin prensibi fosfomolibdotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteau belirteci) tirozin bakiyeleri ile reaksiyona girerek mavi bir renk oluşturma esasına dayanır. Bu mavi renk 660 nm dalga boyunda absorbans verir.

3.5.3.1. Kullanılan Çözeltiler

A Reaktifi: 0,1 N NaOH içinde % 2 (w/v) Na₂CO₃

B Reaktifi: % 1 (w/v) Na-K Tartarat içinde % 5 (w/v) CuSO₄.5H₂O

C Reaktifi: 50 ml A reaktifine 1 ml B reaktifi eklenerek C belirteci hazırlanır. Bu bileşik taze hazırlanır.

D Reaktifi: Folin belirteci 1:2 oranında sulandırılarak hazırlanır. Bu belirteç taze olarak hazırlanır ve ışıktan korunur.

3.5.3.2.Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,1 ml	—
Tris Tamponu	—	0,1 ml
C Reaktifi	1 ml	1 ml
D Reaktifi	0,1 ml	0,1 ml

Örnek ve kör tüplerine C Reaktifi konup 10 dk oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra karanlıkta karışımın homojen olarak karışması sağlanarak D reaktifi eklendi. Tüpler oda ısısı ve karanlıkta 30 dk inkübe edildi. Bu süre sonunda absorbanlar 660 nm’de spektrofotometrede köre karşı okundu.

3.5.3.3.Hesaplama

Total protein miktarını belirlemek için Sığır Serum Albümini (BSA) Standart grafik kullanılarak okunan absorbaslara denk düşen protein miktarı hesaplanmıştır.

3.5.4. Süperoksit dismutaz (SOD) Tayini

Superoksit dismutaz enzimi gösterilmesi için Marklund ve Marklund (1974)’un yöntemi kullanıldı. Deneyin prensibi pyrogallolün otooksidasyonunun SOD enzimi tarafından inhibe edilmesi esasına dayanır.

3.5.4.1. Kullanılan Çözeltiler

0,05 M Tris Tamponu (pH 8,5)

20 mM Pyrogallol

3.5.4.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,05 ml	—
Tris Tamponu	1,4 ml	1,45 ml
Pyrogallol	0,05 ml	0,05 ml

Örnek ve kör tüplerindeki absorbans değişimi çözeltiler konduktan sonra 3 dakika boyunca 30 saniye aralıklarla 420 nm’de spektrofotometrede okunur.

3.5.4.3. Hesaplama

Körün absorbans değişimi: ΔA

Örneğin absorbans değişimi: ΔB

$$\Delta A = \frac{A_{\text{son}} - A_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}}$$

$$\Delta B = \frac{B_{\text{son}} - B_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}}$$

$$\text{SOD'un \%50 inhibisyon miktarı} = \frac{(\Delta A - \Delta B) \times 100}{\Delta A \times 50}$$

3.5.5. Katalaz Tayini

Katalaz gösterilmesi için Sinha (1972)’nin yöntemi kullanıldı. Katalaz enzimi hücre için çok zararlı olan hidrojen peroksidi (H_2O_2) su ve moleküler oksijene dönüştürür. Deney prensibi H_2O_2 ’nin dikromat/asetik asit belirteci ile oluşturduğu koyu mavi-mor çökeltinin kaynatılarak açık yeşil renge dönüştürülmesi esasına dayanır. Bu açık yeşil renk 570 nm dalga boyunda absorbans verir.

3.5.5.1. Kullanılan Çözeltiler

0,01 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 7)

2 M H_2O_2

Dikromat/asetik asit belirteci: 5 gr potasyum dikromat 100 ml ultrasaf suda çözülür. Bu karışıma yavaşça 300 ml glasiyal asetik asit eklenir.

3.5.5.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,1 ml	—
Tris Tamponu	—	0,1 ml
Sodyum Fosfat Tamponu	0,5 ml	0,5 ml
H₂O₂	0,4 ml	0,4 ml
Dikromat/Asetik asit Belirteci	0,2 ml	0,2 ml

Örnek ve kör tüplerine sodyum fosfat tamponu, H₂O₂ ve hücre süspansiyonu konduktan sonra tüpler hafifçe çalkalandı. Daha sonra dikromat/asetik asit belirteci eklenir ve tüpler 10 dk kaynayan su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler soğutularak 570 nm dalga boyunda köre karşı okunur.

3.5.5.3. Hesaplama

$$\text{Tüketilen H}_2\text{O}_2 = \frac{A_{\text{örnek}} \times df}{\epsilon_{\text{mM}}}$$

H₂O₂ için molar ekstinksiyon katsayısı: $\epsilon_{\text{mM}} = 1.88 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$

$A_{\text{örnek}}$: Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı

3.5.6. Glutasyon peroksidaz (GPx) Tayini

Glutasyon peroksidaz gösterilmesi için Hafeman ve diğerlerinin (1974) yöntemi kullanıldı. Bu deney prensibi GPx enzimi tarafından tüketilen glutasyonun 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) belirteci ile 412 nm dalga boyunda ölçülebilir bir bileşik oluşturma esasına dayanır.

3.5.6.1. Kullanılan Çözeltiler

0,4 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 7) (0,4 mM EDTA içerir)

2 mM Redükte glutasyon

10 mM Sodyum azid

1,25 mM H₂O₂

DTNB belirteci: 40 mg DTNB 100 ml %1 sodyum sitrat içinde çözülür. Bu belirtec ışıktan korunur.

% 10 Triklorasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

0,4 M Sodyum fosfat solüsyonu (Na_2HPO_4)

3.5.6.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

Deney Karışımı	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,15 ml	—
Tris Tamponu	—	0,15 ml
Sodyum Fosfat Tamponu	0,5 ml	0,5 ml
Redükte glutatyon	0,5 ml	0,5 ml
Sodyum azid	0,25 ml	0,25 ml
Ultrasaf su	0,6 ml	0,6 ml

Örnek ve kör tüplerine deney karışımı konduktan sonra tüpler 5 dakika 37°C 'de inkübe edilir. Daha sonra 0,5 ml H_2O_2 eklenir ve 3 dk 37°C 'de inkübe edilir. Bunun ardından 1 ml TCA eklenerek 1500 g'de 5 dk santrifüj edilir. Süpernatanttan 0,2 ml alınır ve buna 0,2 ml Sodyum fosfat solüsyonu ve 0,1 ml DTNB eklenerek 412 nm dalga boyunda köre karşı okunur.

3.5.6.3. Hesaplama

$$\text{Tüketilen glutatyon} = \frac{A_{\text{örnek}} \times df}{\epsilon_{\text{mM}}}$$

DTNB için molar ekstinksiyon katsayısı: $\epsilon_{\text{mM}} = 13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

$A_{\text{örnek}}$: Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı

3.5.7. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Tayini

Glutasyon-S-transferaz (GST) gösterilmesi için Habig ve diğerlerinin (1974) yöntemi kullanıldı. GST enzimi glutasyon ve 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) varlığında Glutasyon-DNB konjugatı oluşturur. Deney prensibi oluşan bu Glutasyon-DNB konjugatının 340 nm dalga boyunda absorbands vermesi esasına dayanır. Artan absorbsiyon oranı GST enzimi aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir.

3.5.7.1. Kullanılan Çözeltiler

0,1 M Potasyum Fosfat Tamponu (pH 6,5)

0,1 M CDNB

0,2 M Redükte Glutasyon

Deney Karışımı: 9,8 ml Potasyum Fosfat Tamponu

0,1 ml Redükte Glutasyon

0,1 ml CDNB

Bu hazırlanan karışım 50 tüp içindir.

3.5.7.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,02 ml	—
Tris Tamponu	—	0,02 ml
Deney Karışımı	0,18 ml	0,18 ml

Örnek ve kör tüplerindeki absorbands değişimi çözeltiler konduktan sonra 5 dakika boyunca 60 saniye aralıklarla 340 nm'de spektrofotometrede okunur.

3.5.7.3. Hesaplama

Dakikadaki absorbands değişimi: ΔA

ϵ_{mM} : 5,3

V_{enzim} (ml): 0,02 ml

V (Toplam hacim): 0,2 ml

df: Sulandırma katsayısı

$$\Delta A = \frac{A_{\text{son}} - A_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}}$$

$$\text{GST spesifik aktivitesi} = \frac{(\Delta A_{\text{örnek}} - \Delta A_{\text{blank}}) \times V \text{ (ml)} \times df}{\epsilon_{\text{mM}} \times V_{\text{enzim}} \text{ (ml)}}$$

3.5.8. 3 β -Hidroksi Steroid Dehidrogenaz (3 β -HSD) Tayini

3 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz enzim aktivitesi Bergmeyer (1974)'in yöntemine göre yapıldı. Deney prensibi 3 β -HSD enziminin androsteron ve NAD⁺'ı 5 α -Androstone-3,17-dion ve NADH'ye dönüştürmesiyle, oluşan NADH'nin 340 nm dalga boyunda absorbanı verme esasına dayanır.

3.5.8.1. Kullanılan Çözeltiler

0,1 M Pirofosfat Tamponu (pH 8,5)

0,5 μ M NAD

0,1 μ M Dehidroisoandrosteron (DHAD)

3.5.8.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,2 ml	—
Tris Tamponu	—	0,2 ml
Pirofosfat Tamponu	0,6 ml	0,6 ml
NAD	0,2 ml	0,2 ml
DHAD	0,1 ml	0,1 ml

Örnek ve kör tüplerindeki absorbanı değişimi çözeltiler konduktan sonra 5 dakika boyunca 20 saniye aralıklarla 340 nm'de spektrofotometrede okunur.

3.5.8.3. Hesaplama

Dakikadaki absorbans değişimi: ΔA

ϵ_{mM} : 6,22

Venzim (ml): 0,2 ml

V (Toplam hacim): 1,1 ml

df: Sulandırma katsayısı

$$\Delta A = \frac{A_{\text{son}} - A_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}}$$

$$3\beta\text{-HSD aktivitesi} = \frac{(\Delta A_{\text{örnek}} - \Delta A_{\text{blank}}) \times V \text{ (ml)} \times \text{df}}{\epsilon_{mM} \times V_{\text{enzim}} \text{ (ml)}}$$

3.5.9. 17 β -Hidroksi Steroid Dehidrogenaz (17 β -HSD) Tayini

17 β - Hidroksisteroid dehidrogenaz enzim aktivitesi Bergmeyer (1974)'in yöntemine göre yapıldı. Deney prensibi 17 β -HSD enziminin 1,4-Androster-3,17-dion ve NADPH'yi testosteron ve NADP'ye dönüştürmesiyle, oluşan NADP'nin 340 nm dalga boyunda absorbans verme esasına dayanır.

3.5.9.1. Kullanılan Çözeltiler

0,1 M Pirofosfat Tamponu (pH 8,5)

0,5 μ M NADPH

0,8 μ M 1,4-androster-3,17-dione

3.5.9.2. Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	ÖRNEK(ml)	KÖR(ml)
Hücre Ekstresi	0,2 ml	—
Tris Tamponu	—	0,2 ml
Pirofosfat Tamponu	0,6 ml	0,6 ml
NADPH	0,2 ml	0,2 ml
1,4-androster-3,17-dione	0,1 ml	0,1 ml

Örnek ve kör tüplerindeki absorbans değişimi çözeltiler konduktan sonra 5 dakika boyunca 20 saniye aralıklarla 340 nm'de spektrofotometrede okunur.

3.5.9.3. Hesaplama

Dakikadaki absorbans değişimi: ΔA

ϵ_{mM} : 6,22

V_{enzim} (ml): 0,2 ml

V (Toplam hacim): 1,1 ml

df: Sulandırma katsayısı

$$\Delta A = \frac{A_{son} - A_{ilk}}{T_{son} - T_{ilk}}$$

$$17\beta\text{-HSD aktivitesi} = \frac{(\Delta A_{örnek} - \Delta A_{blank}) \times V \text{ (ml)} \times df}{\epsilon_{mM} \times V_{enzim} \text{ (ml)}}$$

3. 6. İSTATİSTİK ANALİZ

Deney gruplarında, uygulanan doz ve zamana bağlı olarak, hücre canlılık testi, TBARS miktarı, total protein miktarı, hidroksil radikali miktarı, SOD enzimi aktivitesi, katalaz enzimi aktivitesi, GPx enzimi aktivitesi, GST enzimi aktivitesi, 3β -HSD enzim aktivitesi ve 17β -HSD enzim aktivitesi saptandı. Daha sonra çoklu karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi uygulandı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U ve Wilcoxon testi uygulanarak istatistiksel analizler hesaplandı. Sonuçların değerlendirilmesinde $p < 0.01$ ve $p < 0.05$ anlamlılık seviyesi temel alındı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, östrojenik ve anti-östrojenik aktiviteleri olduğu düşünülen farklı klor içeriğine sahip iki farklı poliklorlu bifenil olan Aroklor 1242 ve Aroklor 1260'ın beş farklı dozu tek başlarına ve Vitamin E ile birlikte testis TM3 Leydig hücreleri üzerine etkileri LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6., 12. ve 24. Saatlerde hücre canlılığı, oksidatif hasarı ve steroidogenezi bakımından araştırıldı. Bu amaçla bu dozların tek başlarına ve vitamin E ile birlikteki dozlarının TM3 hücrelerinin çoğalmasına etkisi, MTT hücre canlılık testi ile spektrofotometrik olarak ortaya çıkarılmıştır. Yine aynı gruplarda lipid peroksidasyonunu gösteren TBARS reaktiflerinin ve hidroksil radikalının gösterilmesiyle de hücrelerdeki oksidatif hasar belirlenmiştir. Bu oksidatif hasara karşı hücre içi antioksidan sisteme ait enzimlerin değişimleri ve ayrıca testosteron sentezinde önemli roller alan iki enzim 3 β -HSD ve 17 β -HSD enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

4.1. HÜCRE ÇOĞALMA HIZI BULGULARI

4.1.1. MTT Bulguları

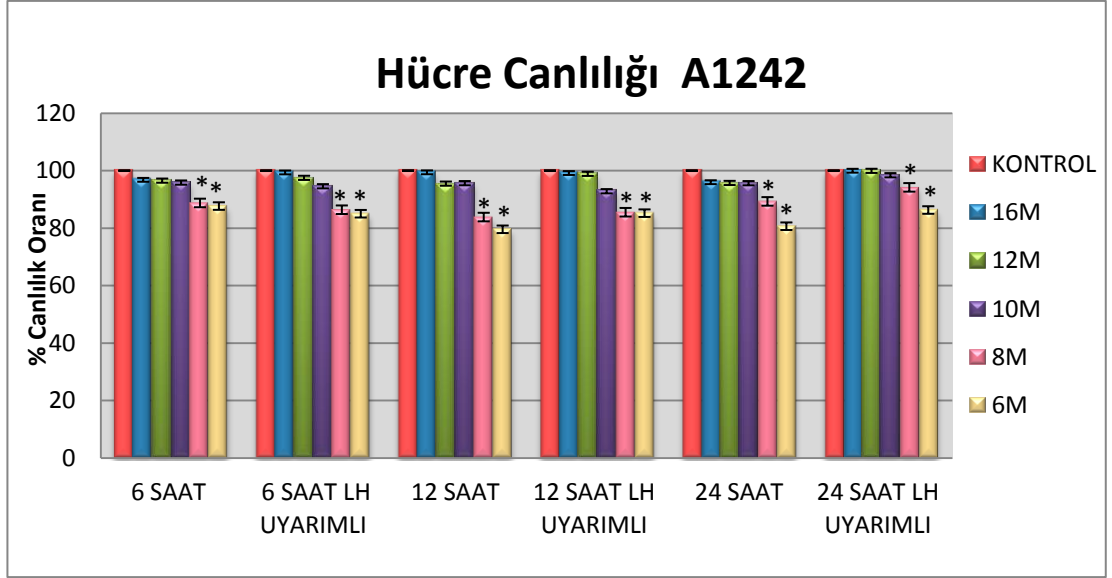
Kontrol ve deney gruplarında 6, 12 ve 24 saat sürenin sonunda TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hücre canlılığındaki değişim Multiskan Spektrum (Thermo) marka mikropılaka okuyucuda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Aroklor 1242 ve Aroklor 1260'ın beş farklı dozu tek başlarına ve Vitamin E ile birlikte testis TM3 Leydig hücreleri üzerine etkileri LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saatlerde hücre canlılığına nasıl bir etkisi olduğu MTT testi yapılarak spektrofotometrik olarak tespit edildi.

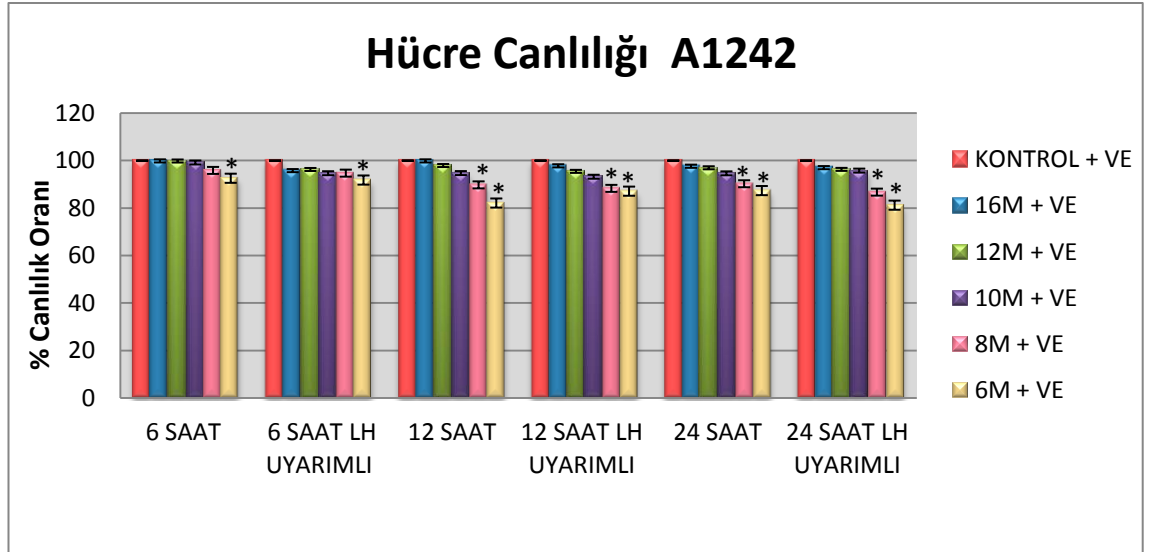
Aroklor 1242 ve Aroklor 1242 + Vitamin E uygulanan TM3 Leydig hücrelerinin 6, 12 ve 24 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol ve deney gruplarındaki % canlılık oranları şekil 4.1.1.1. ve şekil 4.1.1.2.'de verilmiştir.

6, 12 ve 24 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol grupları ve Aroklor 1242'nin beş farklı dozu % canlılık bakımından karşılaştırıldığında 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.1). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1242'nin beş farklı dozu % canlılık oranı karşılaştırıldığında, 16M+VE, 12M+VE, 10M+VE ve 8M+VE dozlarında anlamlı bir fark bulunmazken, 6M+VE uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.2). 12 ve 24 saat sonunda 16M+VE, 12M+VE, 10M+VE dozlarında anlamlı bir fark bulunmazken, 8M+VE ve 6M+VE uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.2).

Aroklor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1242 dozları % canlılık bakımından karşılaştırıldığında, 12 ve 24 saat sonunda vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,01$).



Şekil 4.1.1.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M, *:p<0,01)

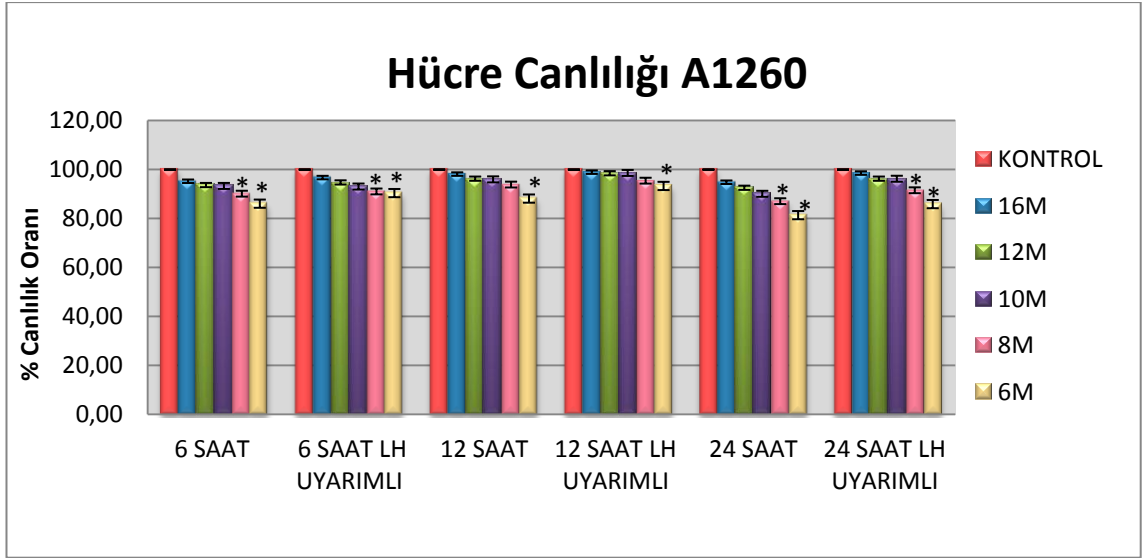


Şekil 4.1.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,01)

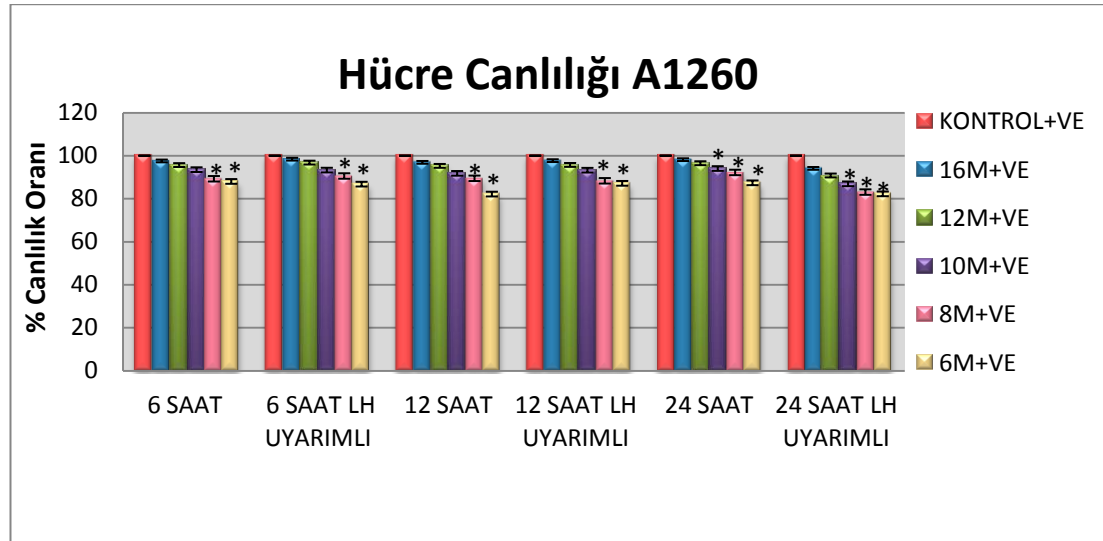
Aroklor 1260 ve Aroklor 1260 + Vitamin E uygulanan TM3 Leydig hücrelerinin 6, 12 ve 24 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol ve deney gruplarındaki % canlılık oranları şekil 4.1.1.3. ve şekil 4.1.1.4.'de verilmiştir.

6 ve 24 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol grupları ve Aroklor 1260'ın beş farklı dozu % canlılık bakımından karşılaştırıldığında 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gösterirken, 12 saat sonunda Aroklor 1260'ın beş farklı dozu kontrole göre karşılaştırıldığında sadece 6M uygulanan dozda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.3). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1242'nin beş farklı dozu % canlılık oranı karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda 8M+VE ve 6M+VE uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.4). 12 saat sonunda LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda 16M+VE, 12M+VE, 10M+VE dozlarında anlamlı bir fark bulunmazken, 8M+VE ve 6M+VE uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.4). 24 saat sonunda ise, LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda 10M+VE, 8M+VE ve 6M+VE uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,01$) (Şekil 4.1.1.4).

Aroklor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1242 dozları % canlılık bakımından karşılaştırıldığında, 6 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir fark gözlenmezken, 12 ve 24 saat sonunda vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,01$).



Şekil 4.1.1.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,01)



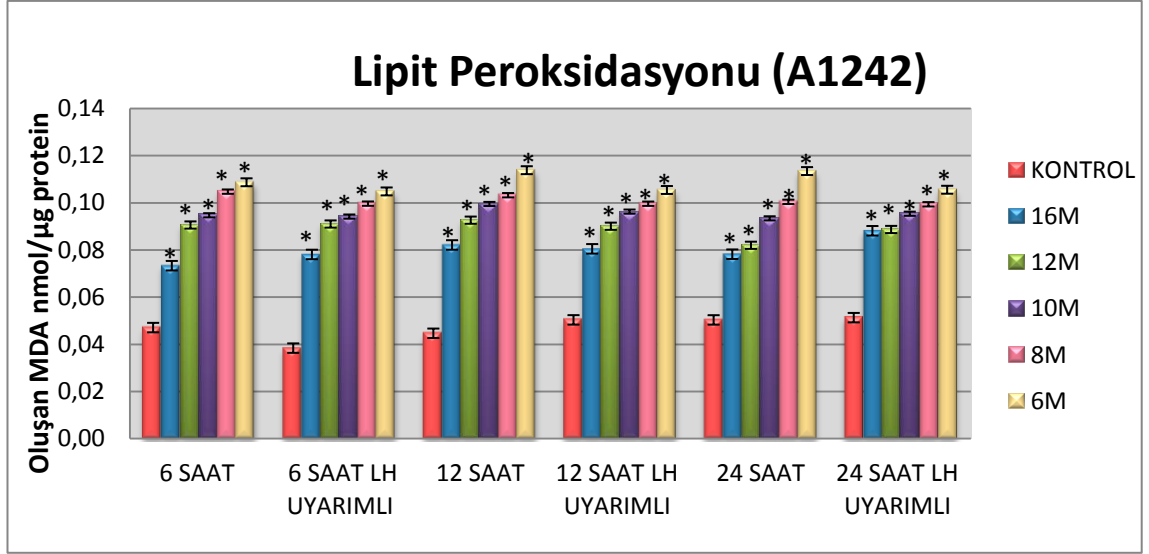
Şekil 4.1.1.4: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki % canlılık oranına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,01)

4.2. OKSİDATİF HASAR BULGULARI

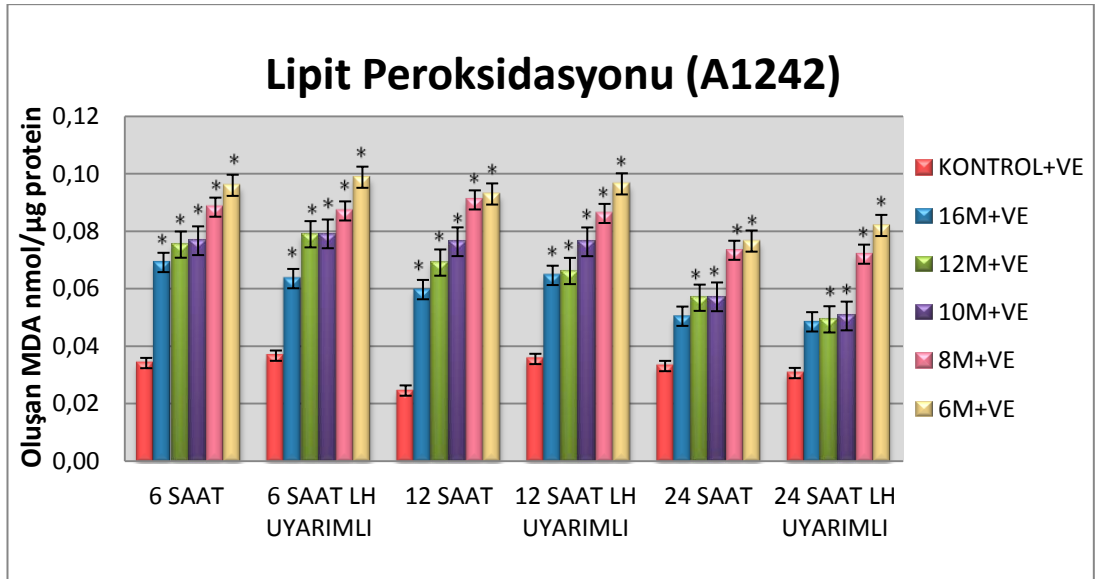
4.2.1. Lipit Peroksidasyonu

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan TBARS değerleri şekil 4.2.1.1’de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E’nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.1.2’de verilmiştir. 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, uygulanan tüm dozlarda kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grupları ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$). Aroclor 1242’nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Aroclor 1242’nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).



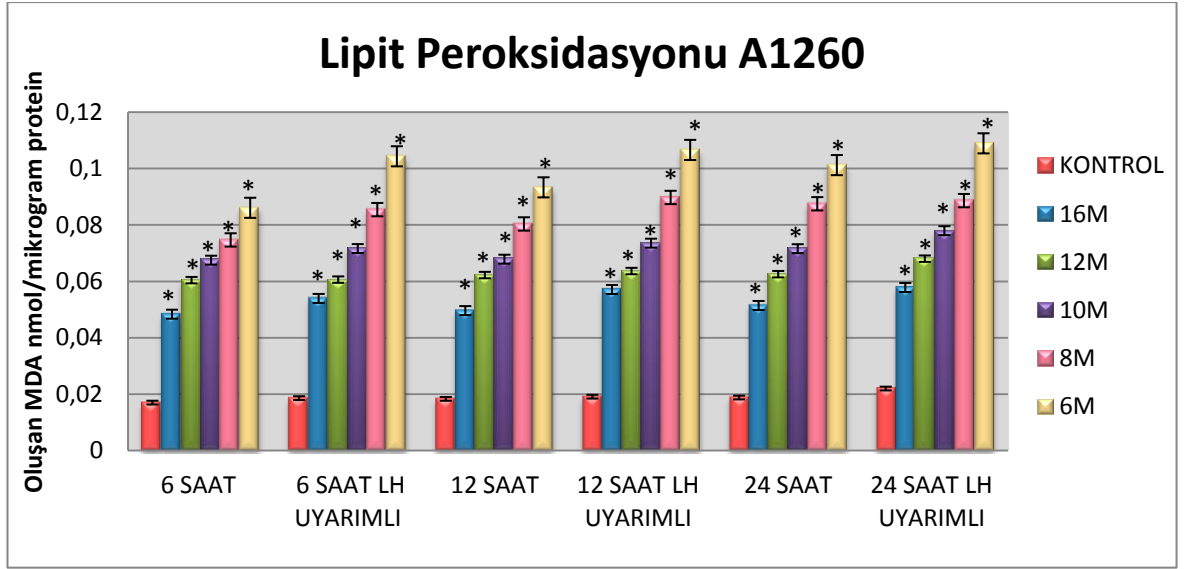
Şekil 4.2.1.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)



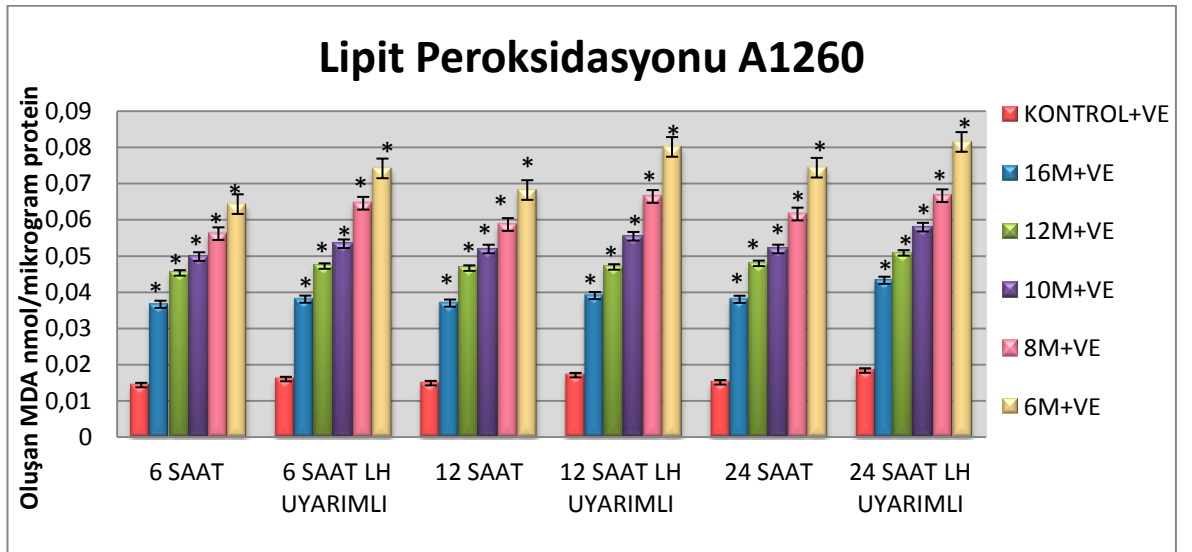
Şekil 4.2.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05)

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan TBARS değerleri şekil 4.2.1.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.1.4'de verilmiştir. 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre Aroclor 1260'ın uygulanan tüm dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir artış görülmektedir ($p<0,05$).

Aroclor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1260 dozları TBARS değerleri bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan 6 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken ($p<0.05$), 12 ve 24 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 4.2.1.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)

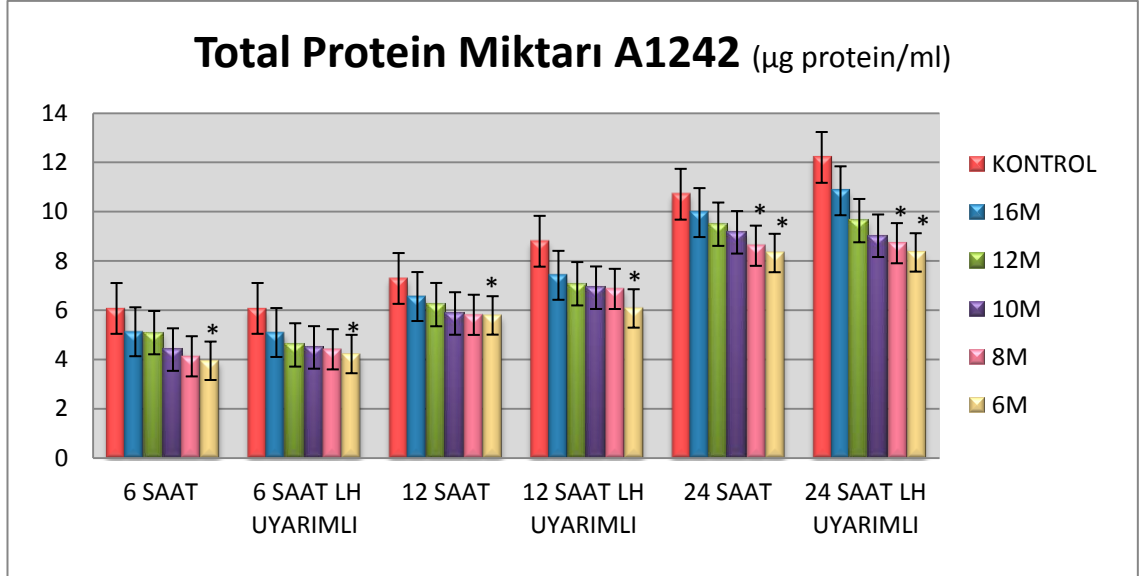


Şekil 4.2.1.4: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki lipit peroksidasyonuna (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05).

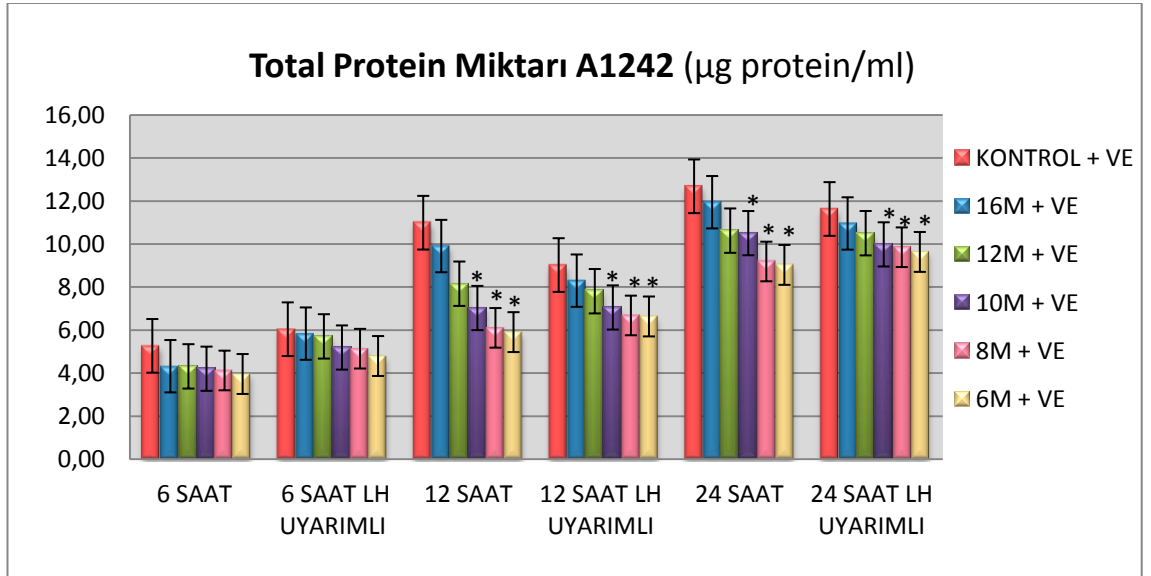
4.2.2. Total Protein Miktarı

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan total protein miktarı şekil 4.2.2.1'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplardaki total protein miktarı şekil 4.2.2.2'de verilmiştir. 6 ve 12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre deney gruplarında anlamlı bir fark görülmemiştir. 12 saat sonunda ise 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma meydana gelmiştir ($p<0.05$). 6 ve 12 saat sonunda Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$). Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.2.2.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16}M ; 12M: 10^{-12}M ; 10M: 10^{-10}M ; 8M: 10^{-8}M ; 6M: 10^{-6}M ; *:p<0,05)

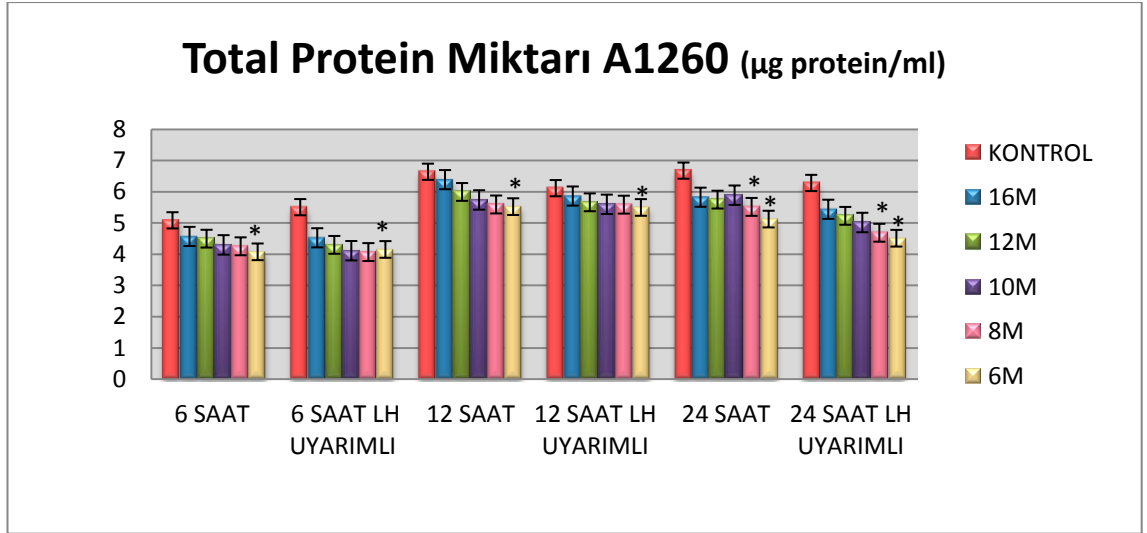


Şekil 4.2.2.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16}M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12}M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10}M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8}M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6}M + Vitamin E; *:p<0,05)

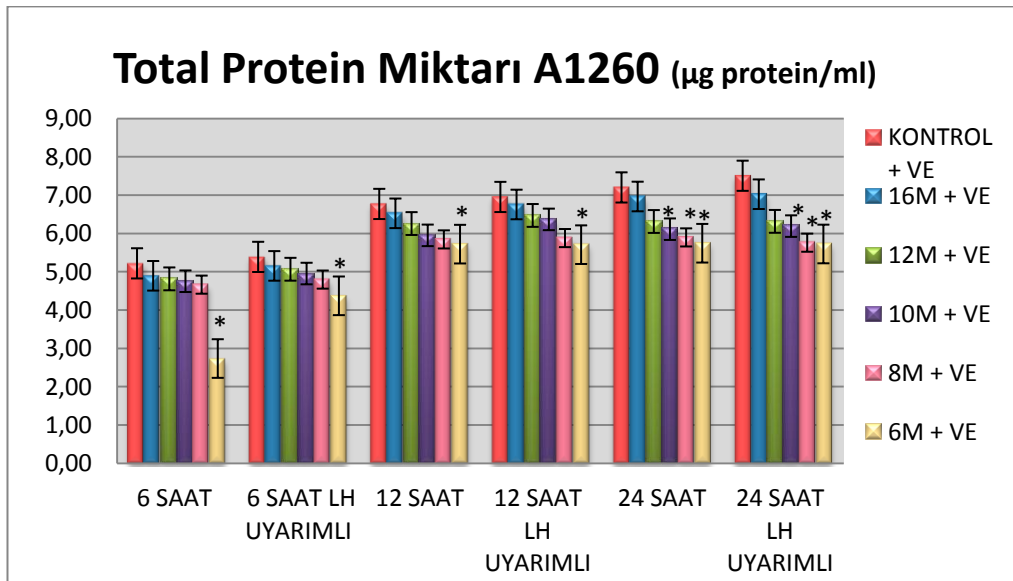
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan total protein miktarı şekil 4.2.2.3’de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E’nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.2.4’de verilmiştir. 6 ve 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260’ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda total protein miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 6M uygulanan dozda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir fark görülmemektedir.

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260’ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda total protein miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

Aroklor 1260’ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları total protein miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan 6 ve 12 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir fark gözlenmezken, 24 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.2.2.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16}M ; 12M: 10^{-12}M ; 10M: 10^{-10}M ; 8M: 10^{-8}M ; 6M: 10^{-6}M ; *:p<0,05)



Şekil 4.2.2.4.: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki total protein miktarına (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16}M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12}M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10}M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8}M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6}M + Vitamin E; *:p<0,05).

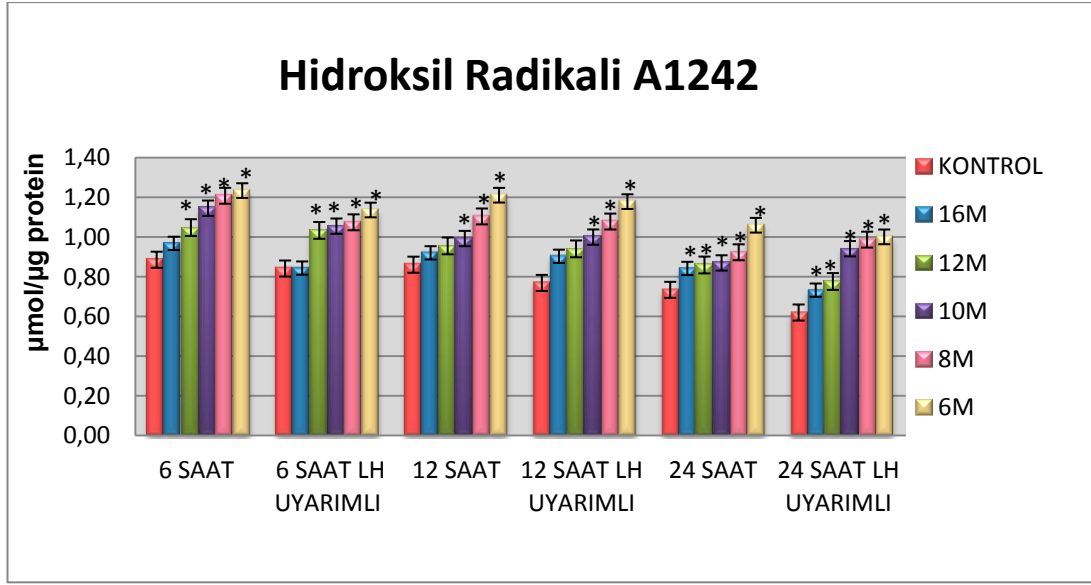
4.2.3. Hidroksil Radikali

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan hidroksil radikali değerleri şekil 4.2.3.1'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.3.2'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış gözlenirken, LH uyarımı yapılan dozlarda 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış görülürken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda uygulanan tüm Aroclor 1242 + vitamin E dozlarında kontrole göre anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$). Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

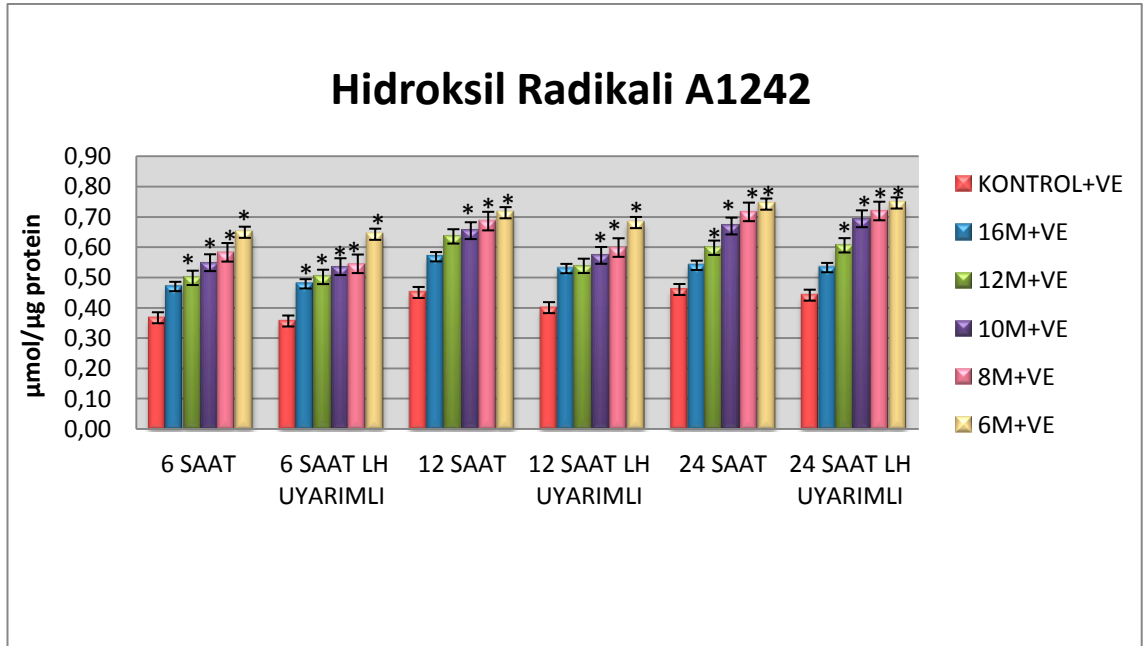
12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış görülmektedir ($p<0,05$). Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda kontrol

gruplarına göre 16M, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Aroklor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1242 dozları hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlarda anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.2.3.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)



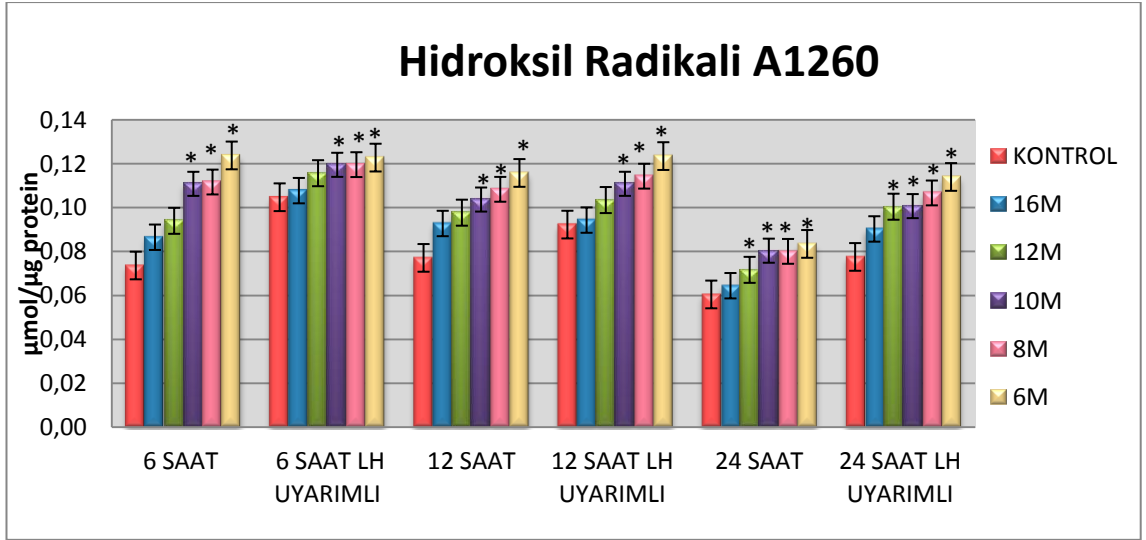
Şekil 4.2.3.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05)

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan radikali değerleri şekil 4.2.3.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.3.4'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre Aroclor 1260'ın 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış görülürken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0,05$).

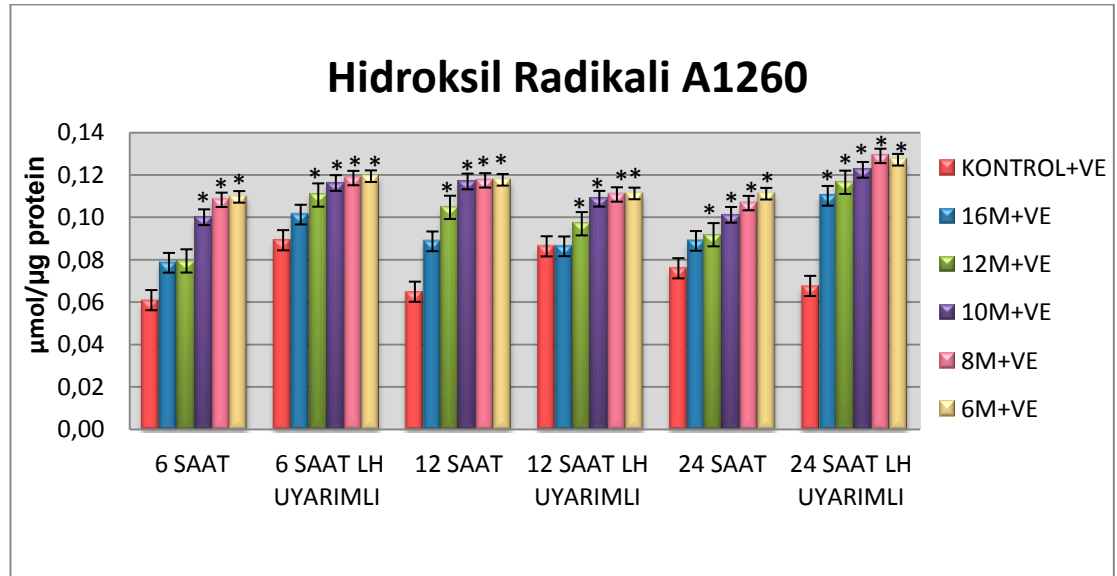
12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış görülmektedir ($p<0,05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 16M, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$).

Aroclor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1260 dozları 6, 12 ve 24 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda hidroksil radikali bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.2.3.3: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)



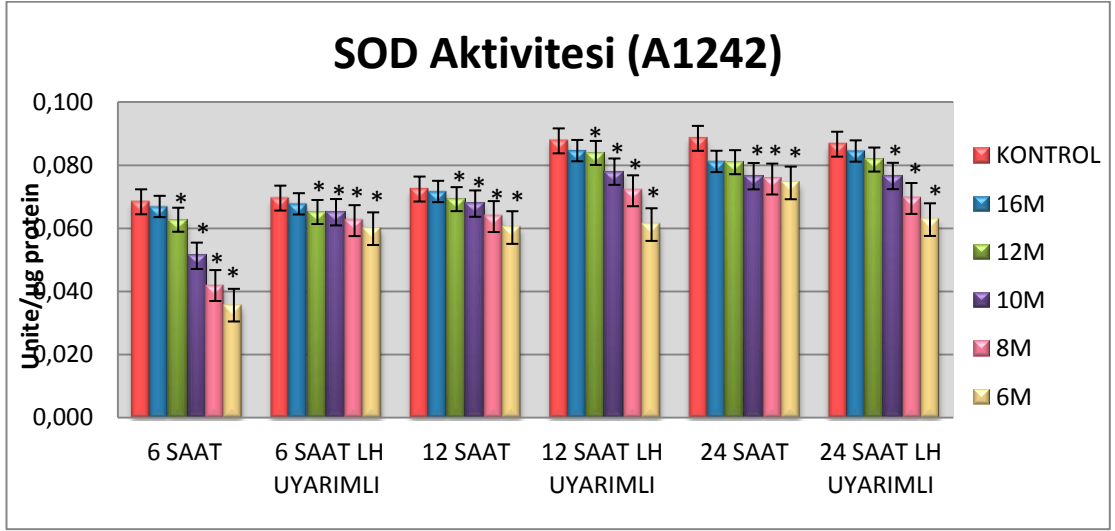
Şekil 4.2.3.4: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda oksidatif hasara bağlı olarak TM3 Leydig hücrelerinde oluşan hidroksil radikali miktarı (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05).

4.2.4. SOD Enzimi Aktivitesi

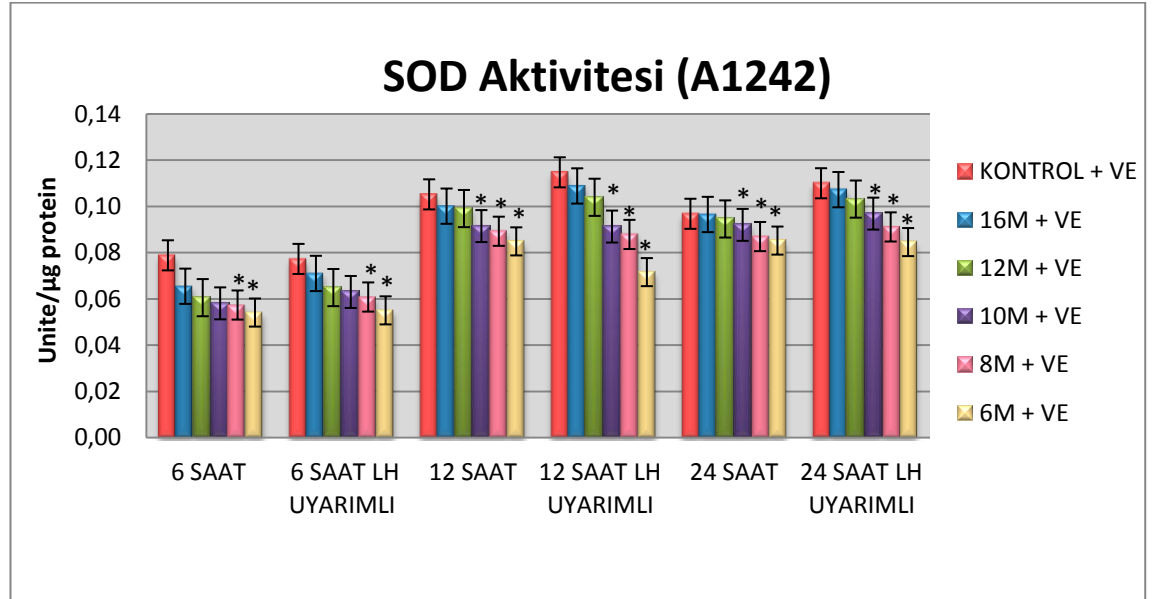
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan SOD enzimi miktarı şekil 4.2.4.1'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplardaki SOD enzimi miktarı şekil 4.2.4.2'de verilmiştir. 6 ve 12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 6 ve 12 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir artış gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 6, ve 24 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.2.4.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)

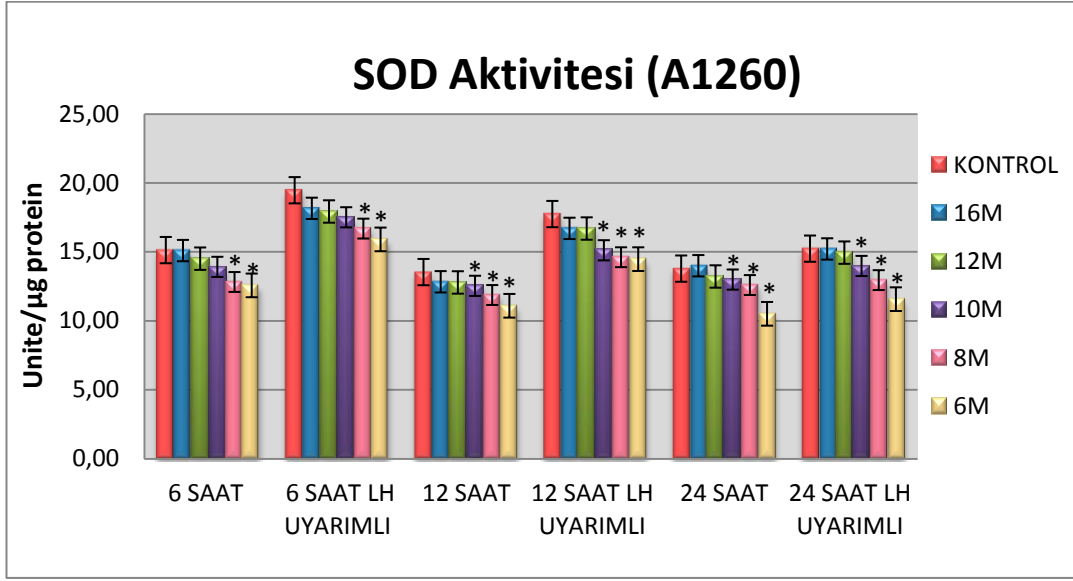


Şekil 4.2.4.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05)

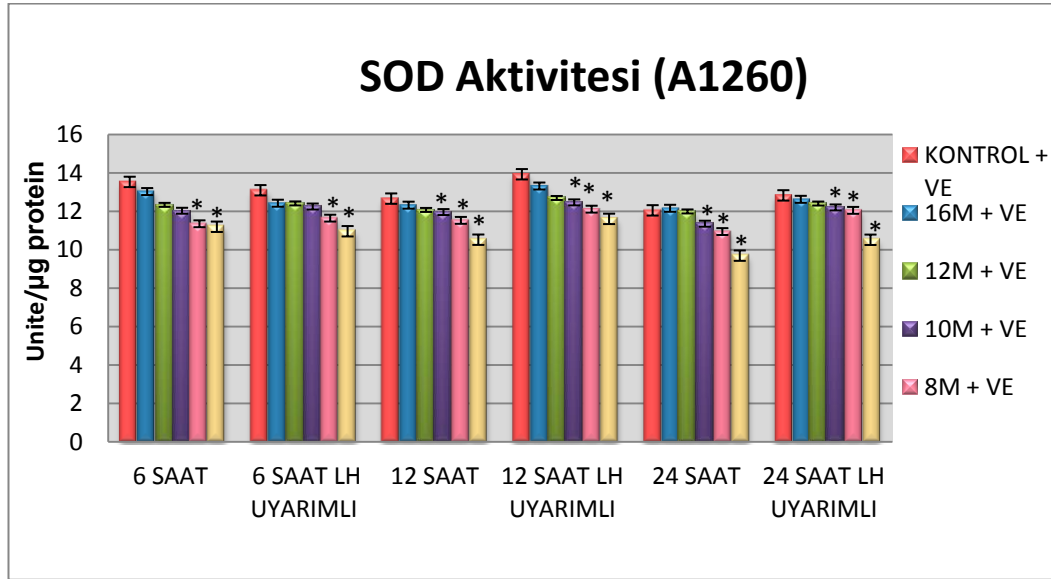
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanan SOD enzimi miktarı şekil 4.2.2.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.2.4'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,05$).

12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda SOD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,05$).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları SOD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat uygulanmış tüm dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.2.4.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)



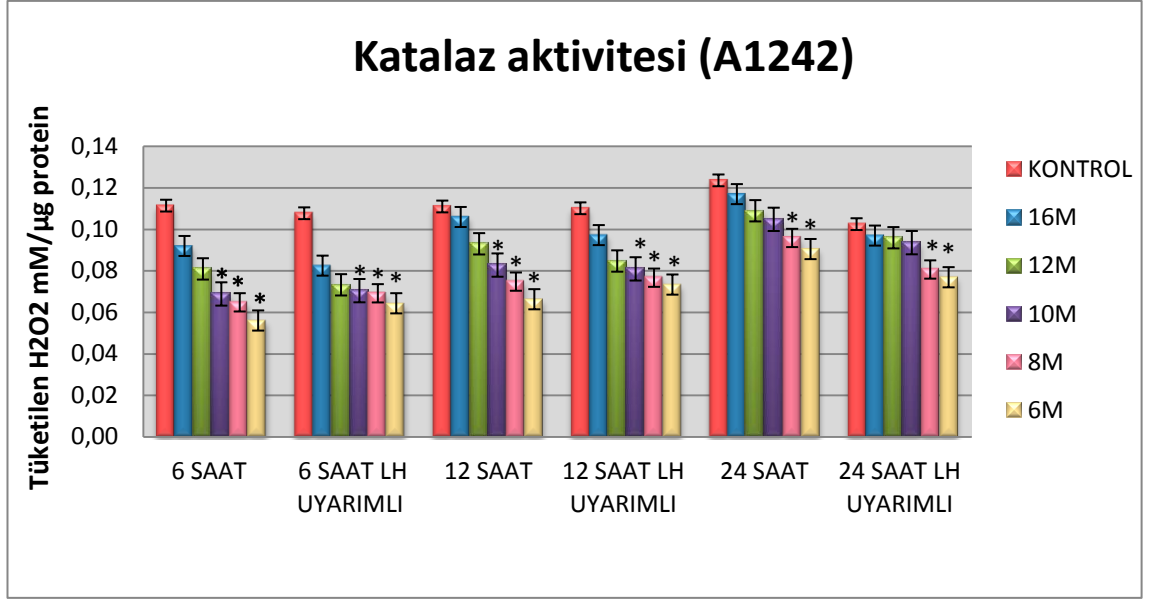
Şekil 4.2.4.4: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücreleri üzerindeki süperoksit dismutaz enziminin aktivitesine (doz ve zamana bağlı) etkileri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05)

4.2.5. Katalaz Enzimi Aktivitesi

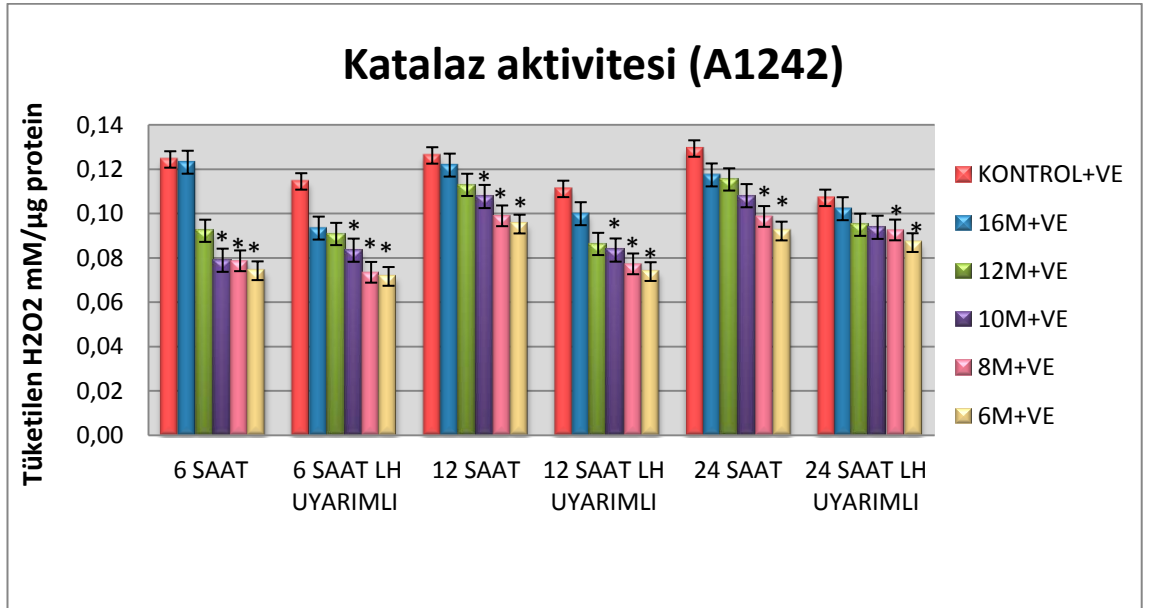
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak tüketilen H_2O_2 miktarına bağlı olarak hesaplanan katalaz enzimi miktarı şekil 4.2.5.1’de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E’nin birlikte uygulandığı gruplardaki katalaz enzimi miktarı şekil 4.2.5.2’de verilmiştir. 6 ve 12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda katalaz enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 ve 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda katalaz enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda katalaz enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroclor 1242’nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları katalaz enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 12 ve 24 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 24 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.2.5.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)

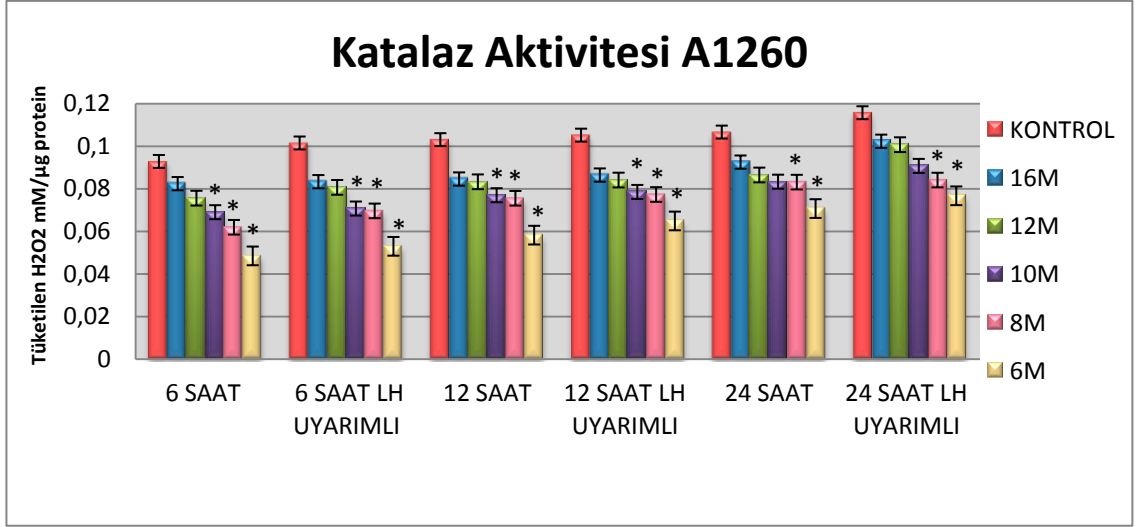


Şekil 4.2.5.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05)

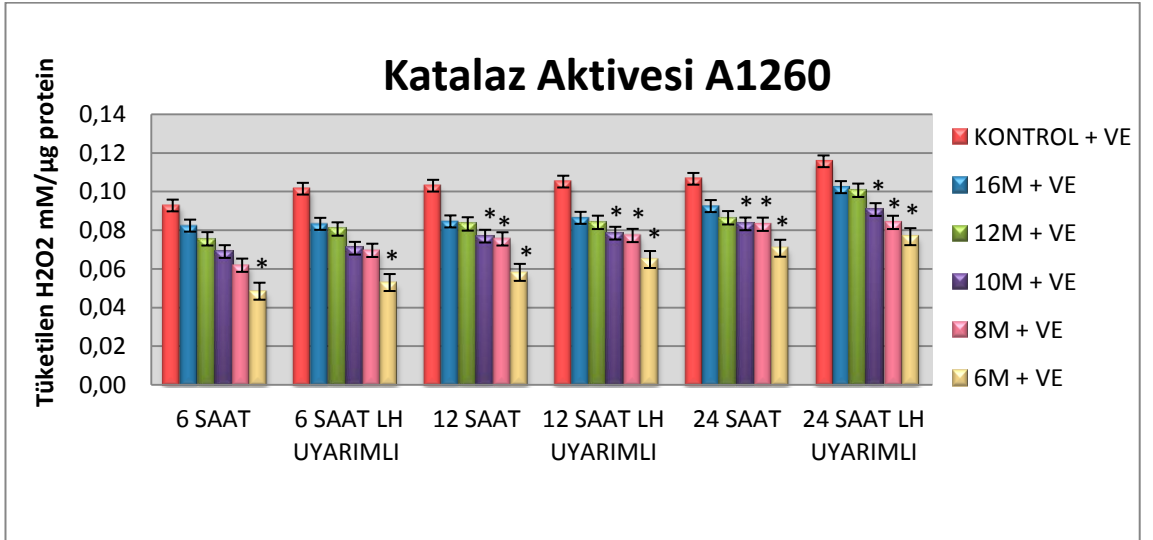
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak tüketilen H_2O_2 miktarına bağlı olarak hesaplanan katalaz enzimi miktarı şekil 4.2.5.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.5.4'de verilmiştir. 6 ve 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda katalaz enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 6M uygulanan dozda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise 1kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda katalaz enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları katalaz enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan 6, 12 ve 24 saat uygulanmış dozlarda anlamlı bir fark bulunmamıştır.



Şekil 4.2.5.3: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *:p<0,05)

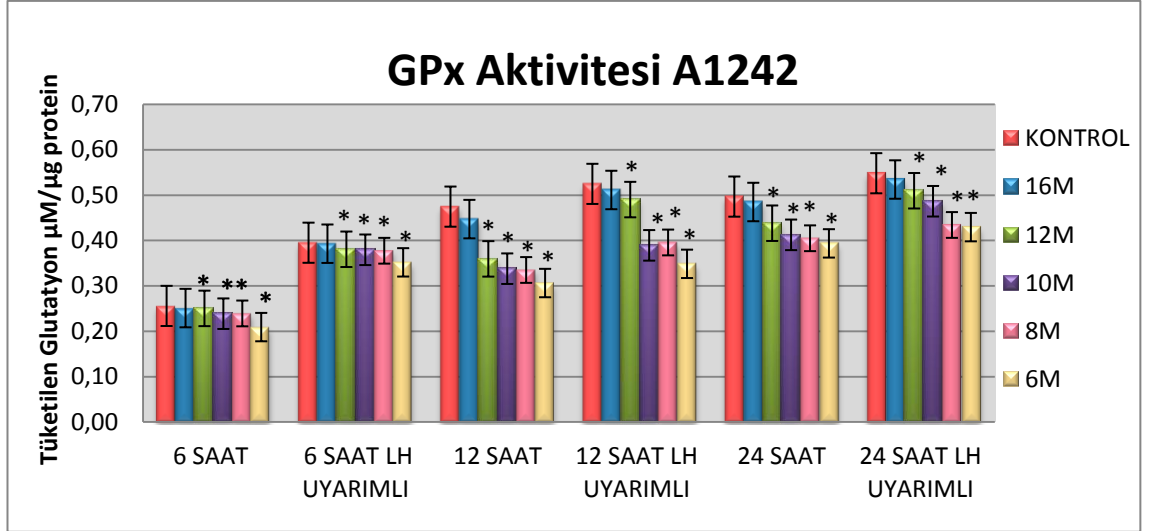


Şekil 4.2.5.4: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı katalaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *:p<0,05).

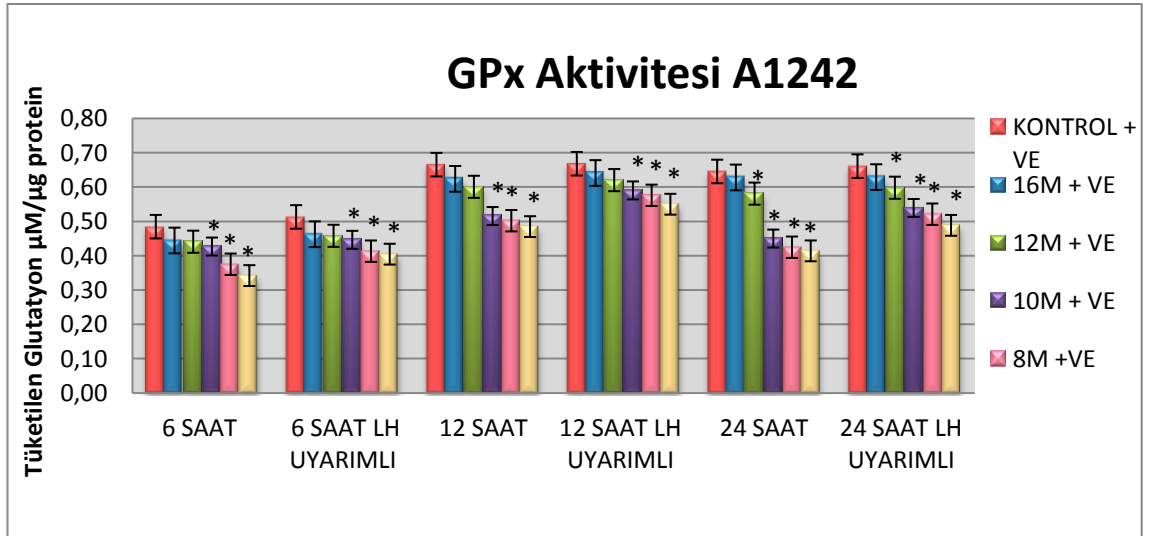
4.2.6. GPx Enzimi Aktivitesi

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak tüketilen glutatyon miktarına bağlı olarak hesaplanan glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi miktarı şekil 4.2.6.1'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplardaki GPx enzimi miktarı şekil 4.2.6.2'de verilmiştir. 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GPx enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GPx enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GPx enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 24 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroclor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları GPx enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



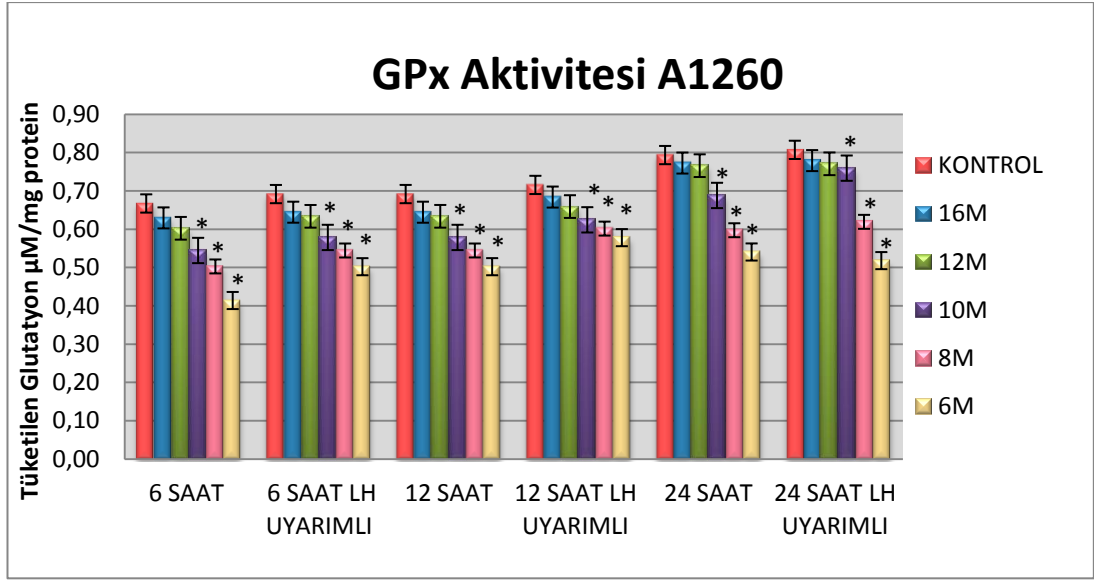
Şekil 4.2.6.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon peroksidaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p < 0.05$)



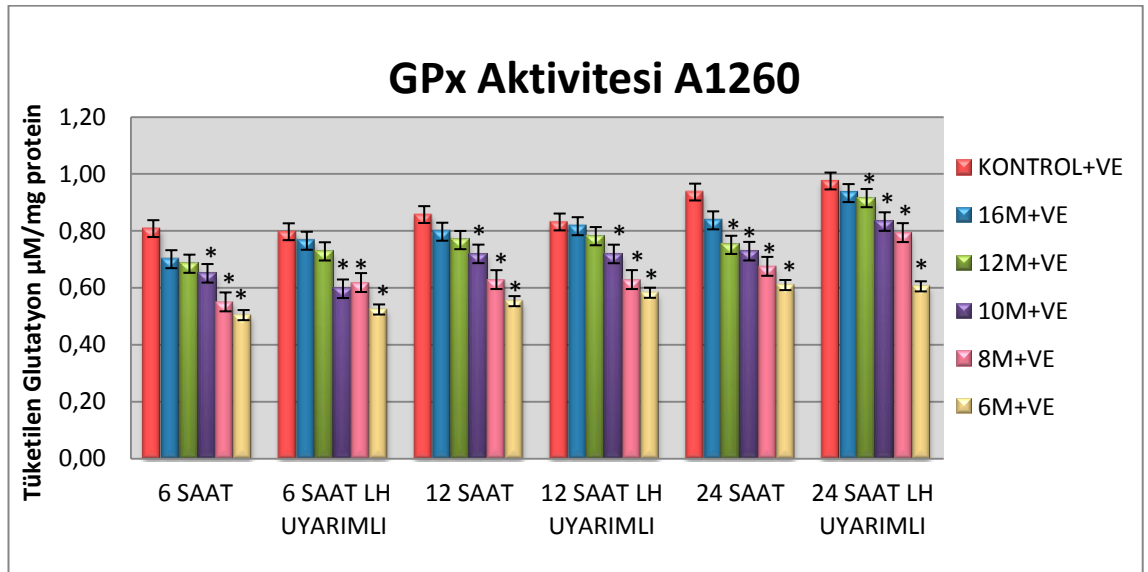
Şekil 4.2.6.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon peroksidaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p < 0.05$)

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak tüketilen glutatyon miktarına bağlı olarak hesaplanan GPx enzimi miktarı şekil 4.2.6.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.6.4'de verilmiştir. 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozunun tek başlarına kullanıldığı dozlar LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GPx enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise, LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 24 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise, LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları GPx enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, 6, 12 ve 24 saat sonunda vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.2.6.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon peroksidaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p<0,05$)



Şekil 4.2.6.4: Poliklorlu bifenil (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon peroksidaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p<0,05$).

4.2.7. GST Enzimi Aktivitesi

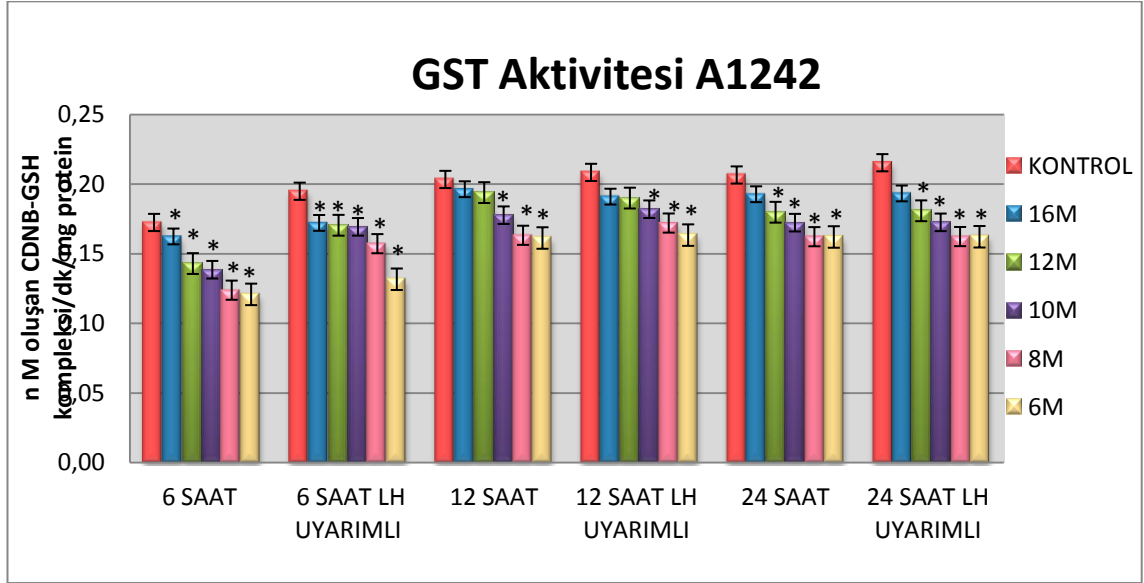
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroclor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada oluşan CDNB-GSH kompleksinin miktarına bağlı olarak hesaplanan glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi miktarı şekil 4.2.7.1’de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroclor 1242 ve vitamin E’nin birlikte uygulandığı gruplardaki GPx enzimi miktarı şekil 4.2.7.2’de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 16M, 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozları anlamlı olarak azalmaktadır ($p<0.05$).

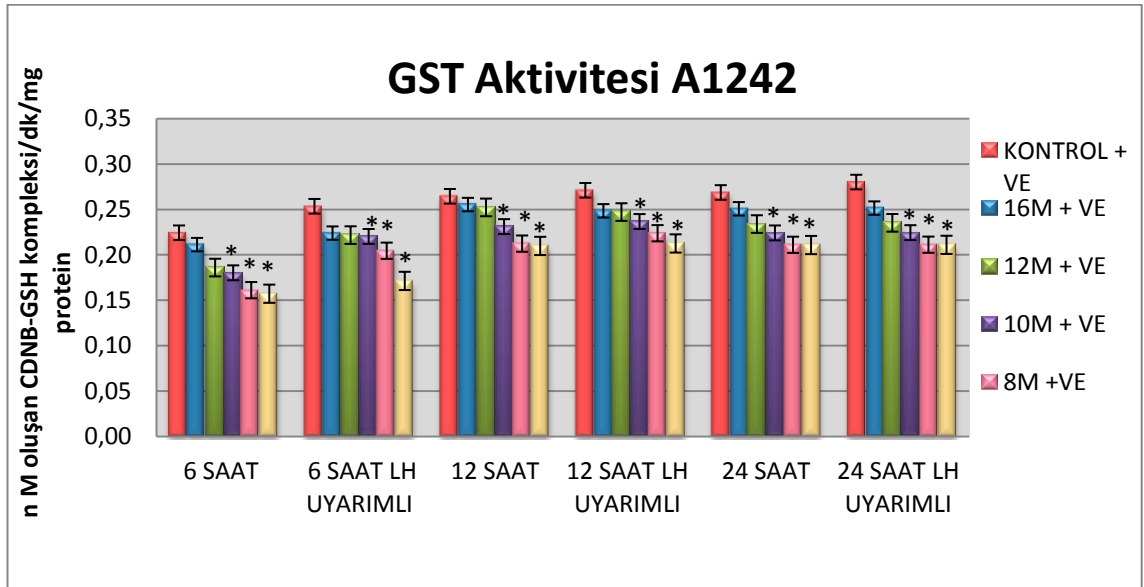
24 saat sonunda kontrol grubu ile Aroclor 1242’nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroclor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroclor 1242’nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroclor 1242 dozları GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E

ilave edilmiş dozlardan LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 6 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir artış meydana gelirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 6 ve 12 saat uygulanan dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



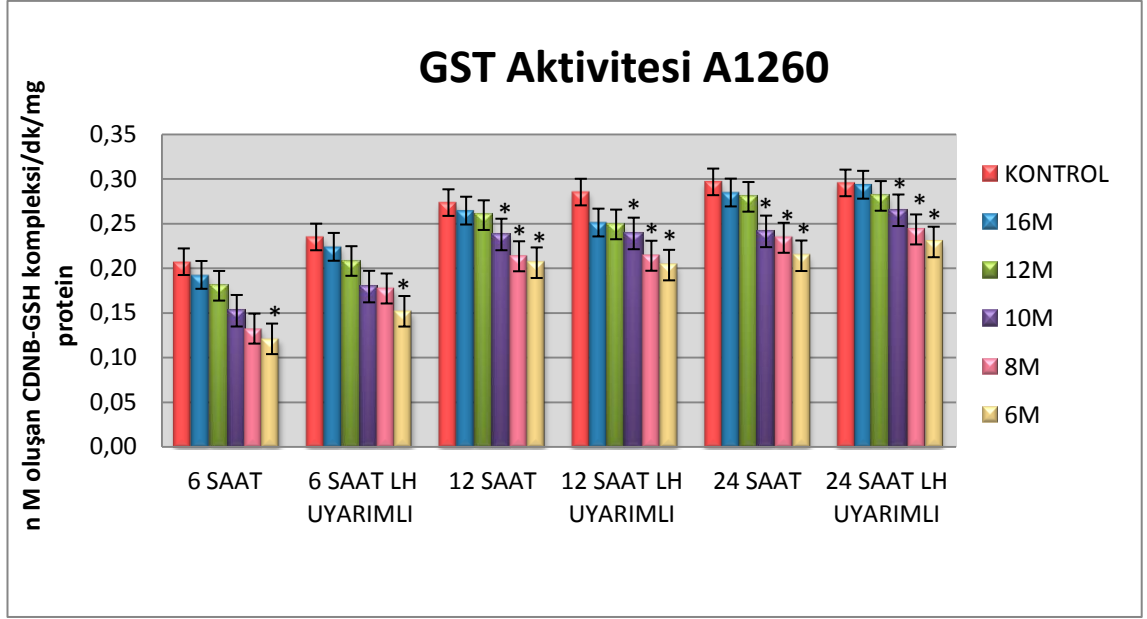
Şekil 4.2.7.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon S-transferaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p<0.05$)



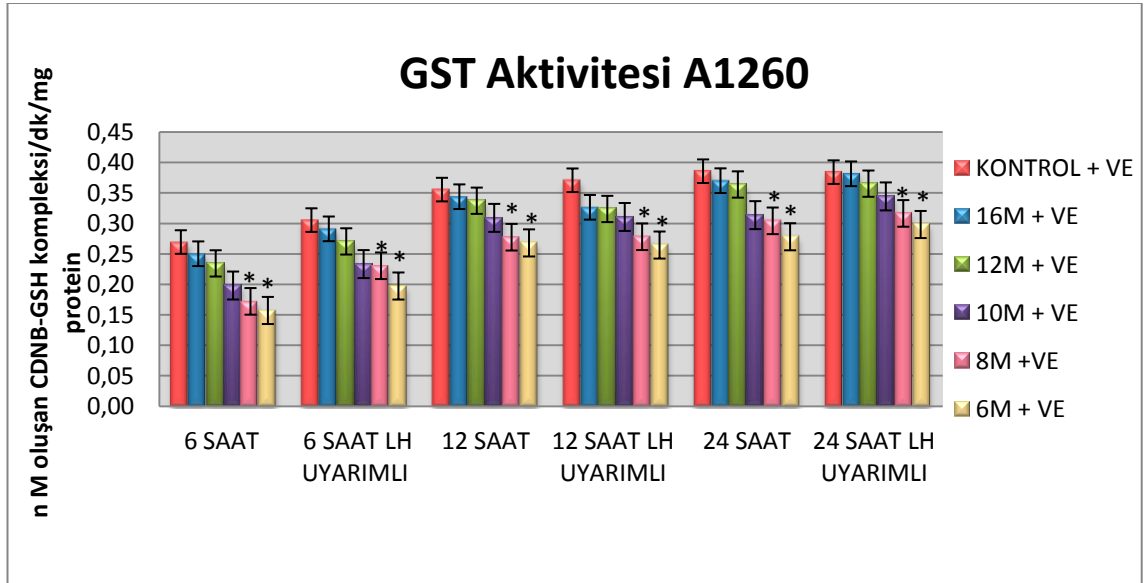
Şekil 4.2.7.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon S-transferaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p<0.05$)

TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada oluşan CDNB-GSH kompleksinin miktarına bağlı olarak hesaplanan glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi miktarı şekil 4.2.7.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.2.7.4'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda GST enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 6M uygulanan dozda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise, LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.05$).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları GST enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.2.7.3: Poliklorlu bifenilin (Arochlor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon S-transferaz aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p < 0.05$)



Şekil 4.2.7.4: Poliklorlu bifenilin (Arochlor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı glutatyon S-transferaz aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p < 0.05$)

4.3. STEROİDOGENİK ENZİM BULGULARI

4.3.1. 3 β -HSD Enzimi Aktivitesi

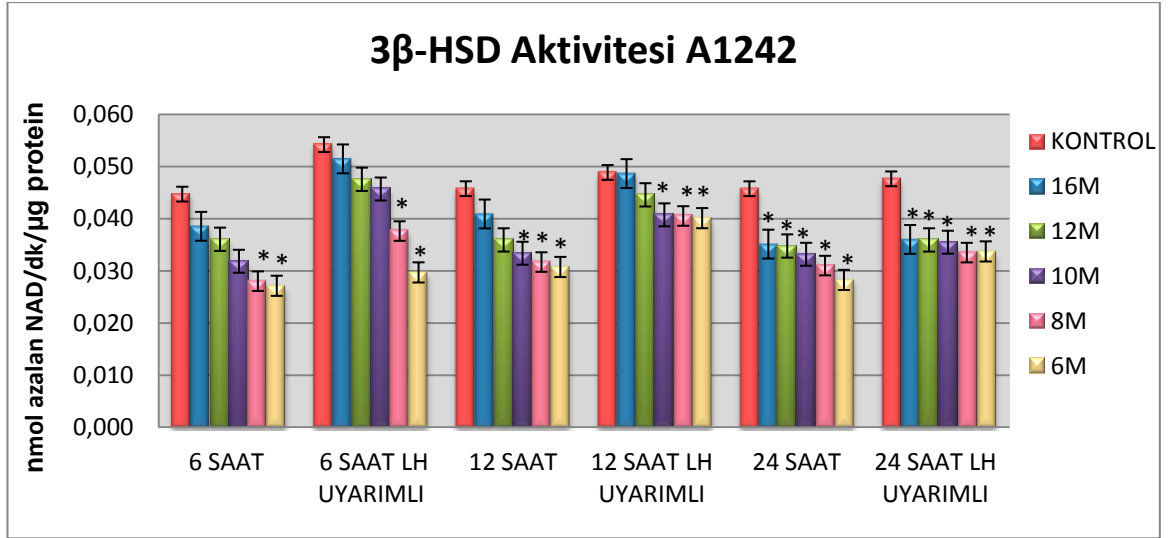
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada azalan NAD miktarına bağlı olarak hesaplanan 3 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (3 β -HSD) enzimi miktarı şekil 4.3.1.1.'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplardaki 3 β -HSD enzimi miktarı şekil 4.3.1.2.'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre tüm dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$).

12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozları anlamlı olarak azalmaktadır ($p < 0.05$).

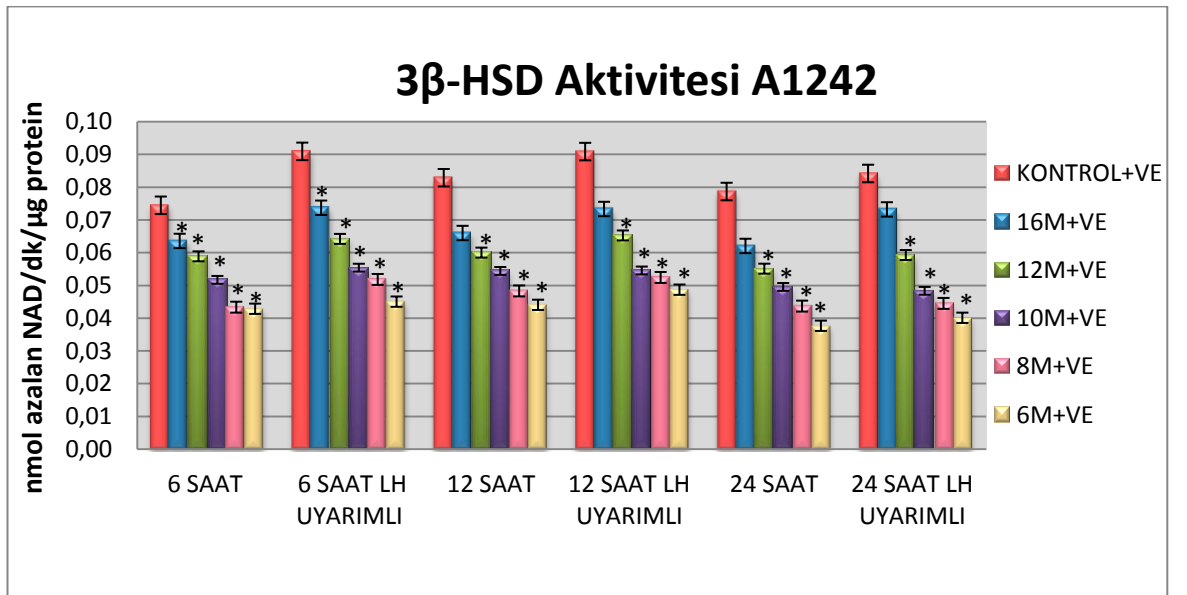
24 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 16M,

10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 24 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroklor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1242 dozları 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.3.1.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p<0.05$)

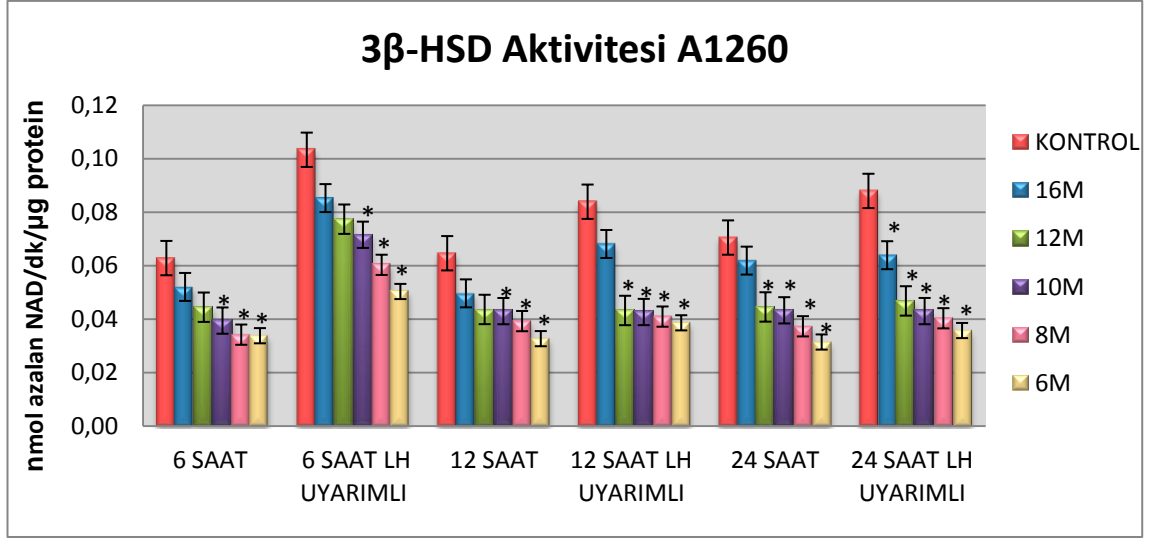


Şekil 4.3.1.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3β-HSD aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p<0.05$)

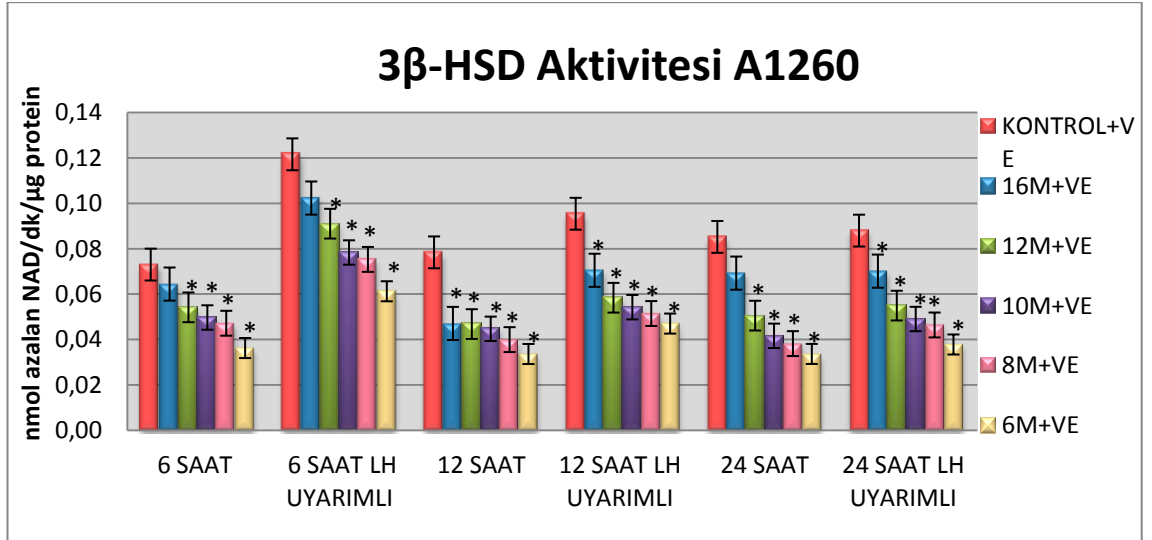
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada azalan NAD miktarına bağlı olarak hesaplanan 3 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (3 β -HSD) enzimi miktarı şekil 4.3.1.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.3.1.4'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 12M, 10M 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p<0,05). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p<0,05).

12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 3 β -HSD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre tüm dozlar anlamlı olarak azalmıştır (p<0.05). 12 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise ontrol gruplarına göre tüm dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür (p<0,05).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları 3 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan 6 ve 12 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir artış meydana gelirken, 24 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p<0.05).



Şekil 4.3.1.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3 β -HSD aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p < 0,05$)



Şekil 4.3.1.4: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 3 β -HSD aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p < 0,05$)

4.3.2. 17 β -HSD Enzimi Aktivitesi

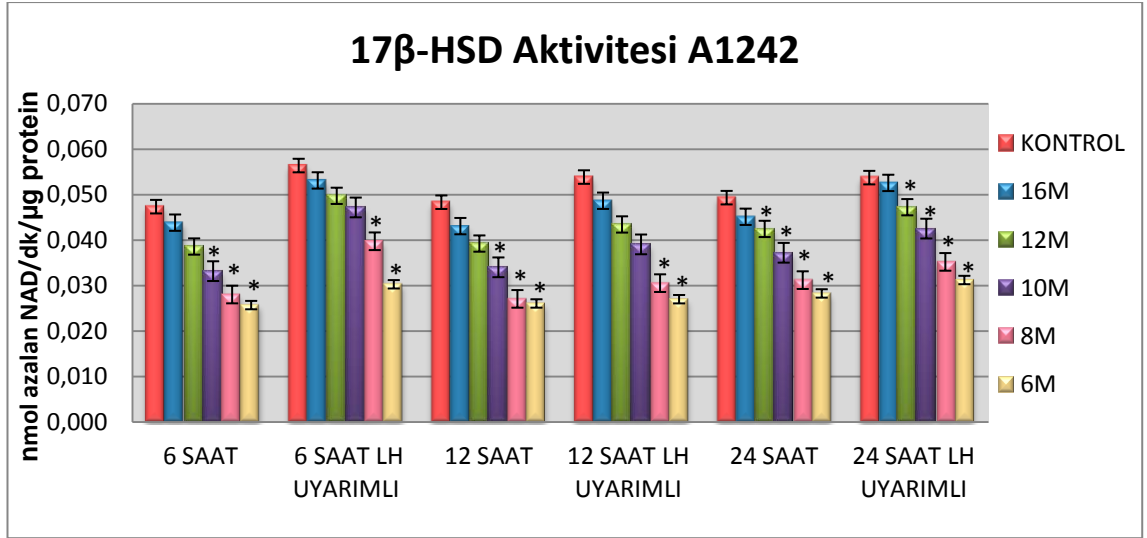
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1242 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada azalan NADPH miktarına bağlı olarak hesaplanan 17 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (17 β -HSD) enzimi miktarı şekil 4.3.2.1'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1242 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplardaki 17 β -HSD enzimi miktarı şekil 4.3.2.2'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre tüm dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$).

12 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozuna vitamin E ilave edilerek oluşturulan dozları LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M dozları anlamlı olarak azalmaktadır ($p<0.05$).

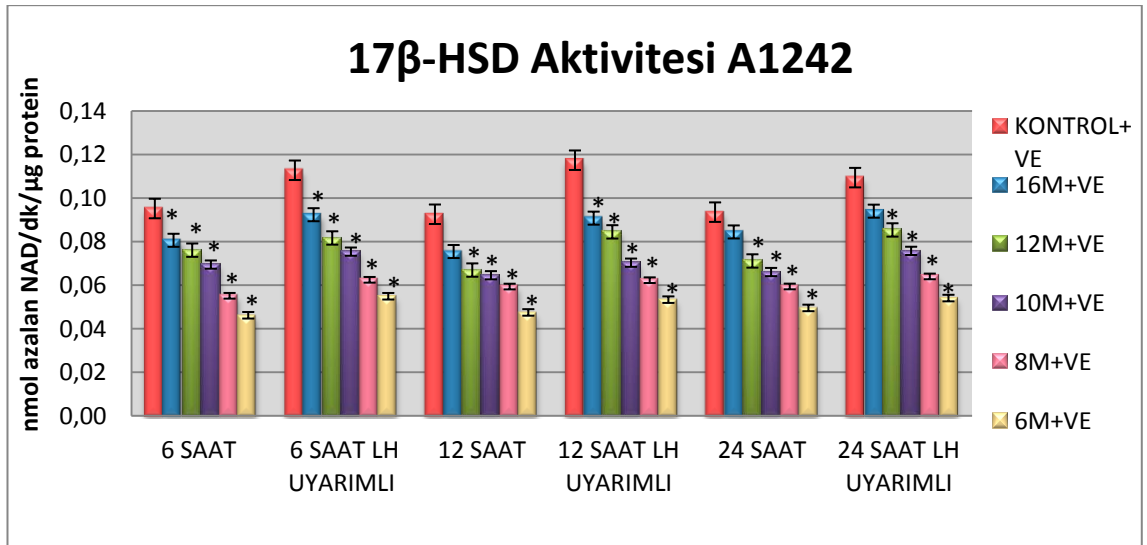
24 saat sonunda kontrol grubu ile Aroklor 1242'nin beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 16M, 10M, 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı

bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). 24 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1242 dozları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Aroklor 1242'nin beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1242 dozları 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.3.2.1: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17 β -HSD aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p < 0,05$)

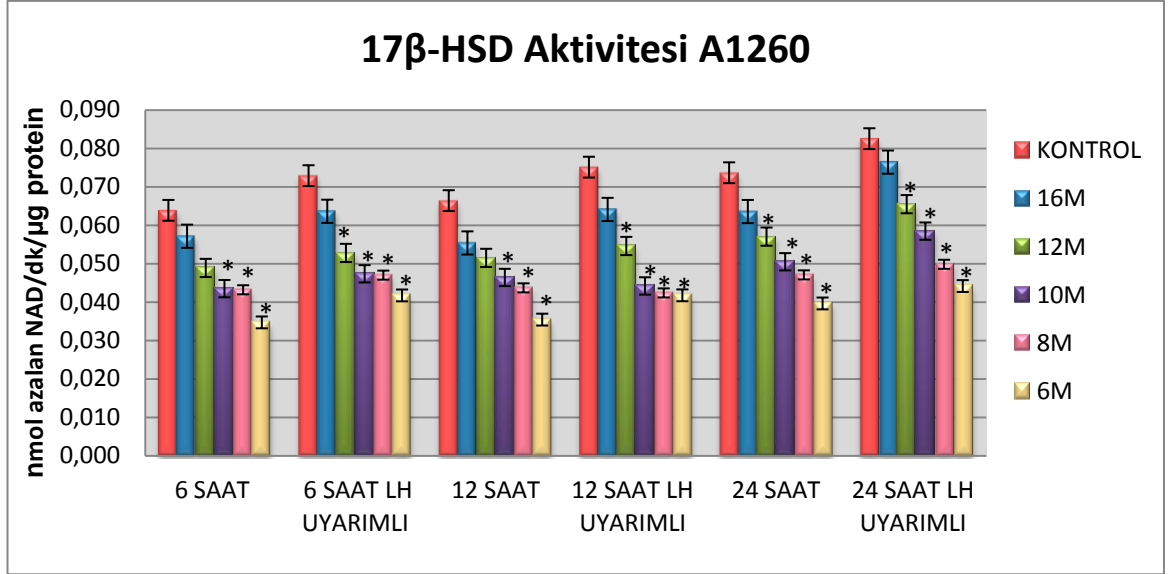


Şekil 4.3.2.2: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1242) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17 β -HSD aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p < 0,05$)

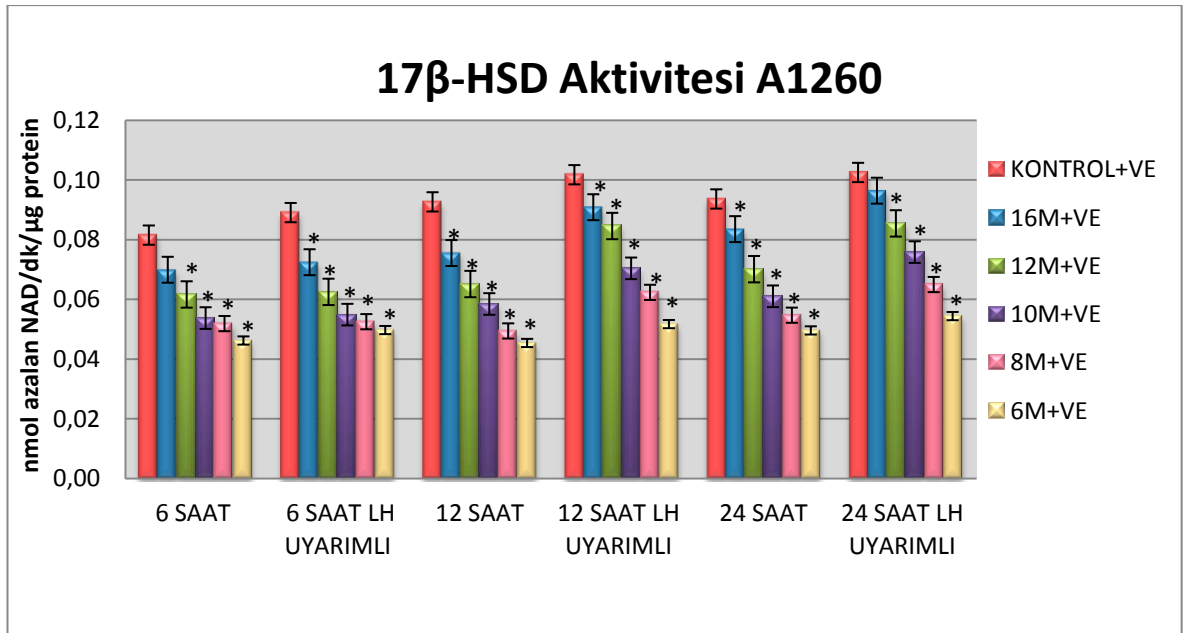
TM3 Leydig hücrelerinin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 6, 12 ve 24 saat sonunda kontrol ve Aroklor 1260 uygulanan gruplarda spektrofotometrik yöntem kullanılarak dakikada azalan NADPH miktarına bağlı olarak hesaplanan 17 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (17 β -HSD) enzimi miktarı şekil 4.3.2.3'de verilmiştir. Bunun yanı sıra Aroklor 1260 ve vitamin E'nin birlikte uygulandığı gruplar şekil 4.3.2.4'de verilmiştir. 6 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 12M, 10M 8M ve 6M dozlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 6 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise LH uyarımı yapılmadığı koşullarda kontrol gruplarına göre 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenirken, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 12M, 10M, 8M ve 6M uygulanan dozlarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

12 ve 24 saat sonunda kontrol grupları ile Aroklor 1260'ın beş farklı dozu LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 17 β -HSD enzimi miktarları bakımından karşılaştırıldığında, kontrol gruplarına göre tüm dozlar anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). 12 saat sonunda kontrol grupları ile vitamin E ilave edilmiş Aroklor 1260 dozları karşılaştırıldığında ise ontrol gruplarına göre tüm dozlarda anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$).

Aroklor 1260'ın beş farklı dozu ile bu dozlara vitamin E ilave edilerek oluşturulan Aroklor 1260 dozları 17 β -HSD enzimi miktarı bakımından karşılaştırıldığında, vitamin E ilave edilmiş dozlardan 6 ve 12 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir artış meydana gelirken, 24 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.3.2.3: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17 β -HSD aktiviteleri (16M: 10^{-16} M; 12M: 10^{-12} M; 10M: 10^{-10} M; 8M: 10^{-8} M; 6M: 10^{-6} M; *: $p<0.05$)



Şekil 4.3.2.4: Poliklorlu bifenilin (Aroklor 1260) ve Vitamin E'nin LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda TM3 Leydig hücrelerindeki doz ve zamana bağlı 17 β -HSD aktiviteleri (16M+VE: 10^{-16} M + Vitamin E; 12M+VE: 10^{-12} M + Vitamin E; 10M+VE: 10^{-10} M + Vitamin E; 8M+VE: 10^{-8} M + Vitamin E; 6M+VE: 10^{-6} M + Vitamin E; *: $p<0.05$)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Poliklorlu bifeniller (PCB), 1930'lu yıllarda endüstriyel kullanım amacıyla üretilmeye başlanan organik klorlu bileşiklerdir (Seyran ve Erişir, 2008). Poliklorlu bifeniller, bilinen tüm kimyasal maddeler arasında doğada en kalıcı olanlarıdır. Lipofilik özellikleri ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle besin zincirinde birikerek çevresel kontaminasyona neden oldukları ve insan sağlığını tehdit ettikleri anlaşıldıktan sonra PCB'ler ile yapılan çalışmalar artmıştır (Lione, 1988; Silberhorn ve diğ., 1990; Safe, 1994; Ganey ve diğ., 1993; Nishida ve diğ., 1997; Mayes ve diğ., 1998; Lilienthal ve diğ., 2000, Schilderman ve diğ., 2000; Bonfeld-Jorgensen ve diğ., 2001; Kakela ve diğ., 2001; Apostoli ve diğ., 2003; De Vos ve diğ., 2003; Pavuk ve diğ., 2004; Richardson ve Miller, 2004; Woodhouse ve Cooke, 2004; Hirako ve diğ., 2005; Pliskova ve diğ., 2005; Banudevi ve diğ., 2006; Buterin ve diğ., 2006; Ma ve Sassoon, 2006; Aydın ve diğ., 2007; Coburn ve diğ., 2007; Kreiling ve diğ., 2007; Kutlu ve diğ., 2007; Adebuseye ve diğ., 2008; Dziennis ve diğ., 2008; Sandal ve diğ., 2008; Sipka ve diğ., 2008; Venkataraman ve diğ., 2008). Özellikle erkek üreme sistemi üzerine etkileri yaygın olarak deney hayvanlarında çalışılmıştır (Platonow ve diğ., 1976; Johansson, 1987; Peltola ve diğ., 1994; Waalkens-Berendsen ve diğ., 1996; Cooke ve diğ., 1996; Huang ve diğ., 1998; Faqi ve diğ., 1998; Gray ve diğ., 1999; Andric ve diğ., 2000a, 2000b; Fielden ve diğ., 2001; Kim, 2001; Kim ve diğ., 2001; Ahmad ve diğ., 2003; Hsu ve diğ., 2003; Oskam ve diğ., 2004; Hauser ve diğ., 2005; Oskam ve diğ., 2005; Hsu ve diğ., 2007; Li, 2007; Murugesan 2007a; Wakui ve diğ., 2007; Aly ve diğ., 2009). Son yıllarda ise, bazı PCB karışımlarının erkek üreme sistemi üzerine etkileri testiküler hücrelerde *in vitro* olarak çalışılmıştır (Fukuzawa ve diğ., 2003; Senthil kumar ve diğ., 2004; Krishnamoorthy ve diğ., 2005; Murugesan ve diğ., 2005b; Pflieger-Bruss ve diğ., 2006; Murugesan ve diğ., 2007b; 2008).

PCB'lerin hücre canlılığına etkisiyle ilgili olarak birçok çalışma yapılmıştır. 1989 yılında Johansson'un kültüre edilmiş fare leydig hücreleriyle yaptığı çalışmaya göre üç saat süreyle ticari PCB karışımı olan Clophen A40 ve Clophen A50 karışımı 0.05, 0.5

ve 5 µg dozlarında uygulanması sonucunda doza bağlı olarak yüksek dozlarda hücre canlılığını düşürmektedir (Johansson, 1989). 1995 yılında yapılan bir çalışmada kültüre edilmiş yetişkin sıçan Leydig hücrelerine iki saat boyunca dört, beş, altı ve sekiz klor içeren PCB konjenerlerinin karışımı 5.2×10^6 M, 1.04×10^{-5} M, 1.56×10^{-5} M ve 2.08×10^{-5} M dozlarında uygulanması sonunda 1.04×10^{-5} M, 1.56×10^{-5} M ve 2.08×10^{-5} M dozlarının hücre canlılığının azalttığı belirtilmiştir (Kovacevic ve diğ., 1995). Murugesan ve diğerleri (2007b) yaptıkları bir çalışmada kültüre edilmiş yetişkin sıçan Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda bir PCB karışımı olan Aroklor 1254 uygulamışlar ve sadece 10^{-7} M dozunda hücre canlılığında anlamlı bir düşüş meydana geldiğini bulmuşlardır. 2008 yılında yapılan bir çalışmada ise yine kültüre edilmiş yetişkin sıçan Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6 ve 12 saat süreyle LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda Aroklor 1254 uygulanmış ve hücre canlılığı etkilemediği bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2008).

Kültüre edilmiş yetişkin sıçan Sertoli hücreleriyle yapılan bir çalışmada ise; LH uyarımı yapılmadan bazal durumda 24 saat süreyle 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında PCB-22 ve PCB-77 uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre de 24 saat yapılan uygulama sonunda 10^{-8} M ve 10^{-7} M uygulanan dozlarda PCB-22 ve PCB-77'nin hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur (Raychoudhury ve diğ., 2000). Yine kültüre edilmiş yetişkin sıçan Sertoli hücreleriyle yapılan bir çalışmada ise; LH uyarımı yapılmadan bazal durumda 6, 12 ve 24 saat boyunca 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında Aroklor 1254 uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre de 6 saat yapılan uygulama sonunda Aroklor 1254'ün hücre canlılığını etkilemediği bulunurken, 12 saat uygulama sonunda sadece 10^{-7} M uygulanan dozda hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı, 24 saat uygulama sonunda ise 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M uygulanan dozlarda hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığını belirtmişlerdir (Krishnamoorthy ve diğ., 2005). 2011 yılında Sertoli hücreleri ve gonosit hücre kültürü ile yapılmış bir çalışmada, 24 saat süreyle 1 µM, 10 µM, 50 µM ve 100 µM dozlarda PCB-153 uygulanması sonucunda 10 µM ve üzerindeki dozlarda hücre canlılığının azaldığı gösterilmiştir (Zhang ve diğ., 2011).

Kültüre edilmiş domuz ovaryum folikül hücreleri ile yapılan *in vitro* çalışma ile ise, PCB-153'ün hücre canlılığını etkilemediği gösterilmiştir (Gregoraszczyk ve Wójtowicz, 2002). Fare timosit hücreleri ile yapılan *in vitro* çalışmada PCB-52 ve PCB-77'nin yüksek dozlarda hücre canlılığını azalttığı bulunmuştur (Yılmaz ve diğ., 2006). Meme kanseri hücre soyu (MCF-7, ZR-75-1 and T47D), sinir hücreleri, lenfositler, insan PC-3 and 22Rv1 prostat hücre soyu, timositler, renal korteks proksimal tübular hücreleri, lökositler, incebağırsak epitel hücreleri (Caco-2), dopaminerjik sinir hücreleri (MN9D), insan monosit hücre soyu (U937), hipofiz hücre soyu (AtT20), domuz endotel hücreleri ile yapılan *in vitro* çalışmalarda artan PCB konsantrasyonun doza bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı gösterilmiştir (Yoo ve diğ., 1997; Omara ve diğ., 1998; Sanchez ve diğ., 2000; Shin ve diğ., 2000; Hwang ve diğ., 2001; Oomen ve diğ., 2001; Sanchez-Alonso ve diğ., 2003; Tan ve diğ., 2003; Lee ve Opanashuk, 2004; Oenga ve diğ., 2004; Johansson ve diğ., 2006; Santiago ve diğ., 2006; Yılmaz ve diğ., 2010). PCB'lerin hidroksillenmiş metabolitleriyle yapılan bir çalışmada ise, 13 tane hidroksillenmiş PCB metabolitinin meme kanseri hücre soyunda (MCF-7) düşük dozlarda hücre canlılığını etkilemedikleri, yüksek dozlarda hücre canlılığını, morfolojisini ve hücrelerin yüzeye tutunmalarını etkilediklerini belirtilmiştir (Kramer ve diğ., 1997).

Yapılan bu çalışmada, TM3 Leydig hücrelerinin canlılığı ile ilgili sonuçlar, hem tek başına Aroklor 1242 ve Aroklor 1260 verilen gruplarda hemde Aroklor 1242'ye ve Aroklor 1260'a ilave antioksidan olarak vitamin E verilen gruplarda 6., 12. ve 24. saatlerde uygulanan yüksek dozlarda (10^{-8} M ve 10^{-6} M) TM3 hücrelerinin canlılığını azaltması bu konuyla ilgili yukarıda bahsedilen çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Sonuç olarak hem A1242 hemde A1260 yüksek dozlarda hücre canlılığını azaltmaktadır.

Oksidatif hasarın; lipidler, proteinler ya da DNA gibi hücrelerdeki önemli moleküllere zarar verdikleri bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Dalle-Donne ve diğ., 2003). Bu hasar hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından meydana getirilmektedir (Cai ve diğ., 1997). ROS'lar tarafından membrandaki lipidlerin okside edilmesiyle lipid peroksidasyon ürünleri oluşarak membran bütünlüğü bozulur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). PCB'ler, özellikle yüksek klorlu PCB'ler, ROS'ların muhtemel bir kaynağı olarak sitokrom P450'leri teşvik ederler ve sonuçta oluşan

ROS'ların hücre membranı ile etkileşimiyle lipid peroksidasyonu meydana gelmiş olur (Parkinson ve diğ., 1983; Peltola ve diğ., 1994; Banudevi ve diğ., 2006; Venkataraman ve diğ., 2008). PCB'lere ilave olarak vitamin E'nin eş zamanlı uygulanması TBARS oluşumunun inhibe edilmesiyle lipid peroksidasyonunu baskılamaktadır (Oda ve diğ., 1987). PCB'lerin lipid peroksidasyonuna etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (Peltola ve diğ., 1994; Senthil kumar ve diğ., 2004; Krishnamoorthy ve diğ., 2005; Murugesan ve diğ., 2005a, 2005b; 2007; 2008; Banudevi ve diğ., 2006; Venkataraman ve diğ., 2008; Aly ve diğ., 2009). Peltola ve diğ., (1994) yaptıkları çalışmada sıçanlara 100 mg/kg PCB intraperitoneal (i.p.) olarak vermişlerdir. Bu çalışma sonucunda 1, 3, 7, 14 ve 90 gün sonunda testis dokusunda lipid peroksidasyonuna bakılmış ve anlamlı bir fark bulunmamıştır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda lipid peroksidasyonunun önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a). Murugesan ve diğerlerinin (2005b) yaptığı başka bir çalışmaya göre 30 gün süreyle 2 mg/kg Aroklor 1254 tek başına ve 2 mg/kg Aroklor 1254 (A1254)'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C ve 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulanmıştır. Uygulamalar sonunda izole edilmiş Leydig hücrelerinde lipid peroksidasyonunun A1254 uygulanan grupta anlamlı olarak arttığı belirtilirken, A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E ilave edilen gruplarda anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. Kültüre edilmiş yetişkin sıçan Leydig hücreleriyle yapılan bir çalışmada 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulamışlar ve hem bazal hem de LH uyarımı yapıldığı koşullarda uygulanan tüm dozlarda lipid peroksidasyonunda anlamlı bir artış meydana geldiği bulunmuştur (Murugesan ve diğ., 2007b). Murugesan ve diğerleri (2008) Leydig hücreleriyle yaptıkları bir çalışmada 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6 ve 12 saat süreyle LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanmış ve tüm dozlarda lipid peroksidasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise, 0.75 mg/kg, 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında A1254 20 gün süresince uygulanmış ve lipid peroksidasyonunun tüm dozlarda arttığı rapor edilmiştir (Aly ve diğ., 2009).

Senthil kumar ve diğerleri (2004) yaptıkları çalışma ile 30 gün süreyle 2 mg/kg Aroklor 1254 tek başına, 2 mg/kg Aroklor 1254 (A1254)'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda

vitamin C ve 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulanmışlardır. Uygulamalar sonunda izole edilmiş Sertoli hücrelerinde lipid peroksidasyonunun A1254 uygulanan grupta anlamlı olarak arttığı belirtilirken, A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E ilave edilen gruplarda anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. Yine Sertoli hücreleri ile yapılan başka bir çalışmada, 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat süreyle A1254 uygulanmış ve 6 saat uygulama sonunda 10^{-7} M dozunda lipid peroksidasyonu bakımından artış meydana geldiği bildirilirken, 12 ve 24 saat uygulama sonunda tüm dozlarda artış meydana geldiği bildirilmiştir (Krishnamoorthy ve diğ., 2005).

Banudevi ve diğerleri (2006) tarafından yapılan bir çalışmaya göre i.p. olarak 2 mg/kg dozunda A1254 tek başına ve bu doza ilave oral olarak 50 mg/kg vitamin E 30 gün süresince uygulanmıştır. Çalışma sonucunda karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları alınarak lipid peroksidasyonu bakımından incelendiğinde A1254'ün tek başına uygulandığı gruplarda anlamlı olarak arttığı bildirilmişken, vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş grupta lipid peroksidasyonu A1254'ün tek başına uygulandığı gruba göre anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmaya göre i.p. olarak 2 mg/kg dozunda A1254 tek başına ve bu doza ilave i.p. olarak 5 ve 10 mg/kg dozlarında melatonin 30 gün boyunca uygulanmış ve beyincik, serebral korteks ve hipokampus dokularında lipid peroksidasyonunun A1254 uygulanmış gruplarda arttığı rapor edilmiştir. 5 ve 10 mg/kg melatonin uygulanan gruplarda ise A1254 uygulanmış gruba göre anlamlı olarak bir azalma meydana geldiği ortaya konmuştur (Venkataraman ve diğ., 2008).

Bu çalışmada hem A1242 hem de A1260 tek başına uygulandığı gruplarda yukarıdaki çalışmalarda olduğu gibi tüm uygulanan dozlarda lipid peroksidasyonu anlamlı olarak artmıştır. A1242'ye vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarda 6 ve 12 saatlerde yine tüm gruplarda lipid peroksidasyonunda anlamlı olarak artış meydana gelmiştir. 24 saat sonunda ise 10^{-16} M uygulanan dozda lipid peroksidasyonunda anlamlı bir fark görülmezken, 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M uygulanan dozlarda anlamlı olarak artış olduğu görülmektedir. A1260'a vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarda 6, 12 ve 24 saatlerde uygulanan tüm dozlarda anlamlı olarak artış meydana gelmiştir. Vitamin E ilave edilen tüm gruplarda lipid peroksidasyonunda anlamlı bir azalış

meydana gelmesi bakımından, A1254 ile ayrı ayrı vitamin E, vitamin C ve melatonin ilave edilerek birlikte uygulanması ile yapılan çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006 ve Venkataraman ve diğ., 2008). Bu bilgiler ışığında A1242 ve A1260'ın uygulanan tüm dozlarında, oluşturduğu lipid peroksidasyonuna karşı vitamin E'nin koruyucu rolü olduğu görülmektedir.

Reaktif oksijen türleri (ROS) Leydig hücrelerinde steroidogenik yolda StAR proteinine ve sitokrom P450 enzimlerini içeren önemli unsurlara zarar verebilir (Georgiou ve diğ., 1987; Diemer ve diğ., 2003). ROS'lar aynı zamanda antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına, protein sentezinin inhibe olmasına, DNA hasarına ve sonunda hücre ölümüyle sonuçlanmasına neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). PCB'ler hidroksil radikali oluşturmak için hidrojen peroksit ile etkileşebilir (Kamohara ve diğ., 1984). Bu da PCB'lere maruz bırakılan sıçanlarda biyolojik sistemde ROS'ların en aktif formu olan hidroksil radikalının oluşumunun artmasıyla yansıtılır (Kamohara ve diğ., 1984; Twaroski ve diğ., 2001a). Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig ve Sertoli hücrelerinde, karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları ile beyincik, serebral korteks ve hipokampus dokularında hidroksil radikalının önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006; Venkataraman ve diğ., 2008). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E ile 5 ve 10 mg/kg melatonin uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C, vitamin E ve melatonin uygulanan gruplarda hidroksil radikali anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006; Venkataraman ve diğ., 2008). Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması sonucunda hidroksil radikali bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir artış meydana geldiği bulunmuştur (Murugesan ve diğ., 2007b; 2008).

Yapılan bu çalışmada ise, A1242'nin tek başına uygulandığı gruplarda 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M ve A1260'ın tek başına uygulandığı gruplarda 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M gibi yükselen doza ve zamana bağlı olarak oluşan hidroksil radikal miktarı anlamlı

olarak arttığı ortaya konulmaktadır. A1242 ve A1260'a ilave olarak vitamin E uygulanmış gruplarda kontrol gruplarına göre 6. ve 12. saatlerde 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında hidroksil radikali miktarı anlamlı olarak artarken, 24. saatte 10^{-16} M, 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı olarak artmıştır. A1242 ve A1260'a ilave olarak vitamin E uygulanmış gruplarda tek başlarına A1242 ve A1260 uygulanan gruplara göre oluşan hidroksil radikali miktarı anlamlı olarak azaldığı ve vitamin E'nin hidroksil radikale karşı koruyucu rolü olduğu yukarıdaki çalışmalar ile uygunluk göstermektedir.

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar birçok organda serbest radikal aracılı doku hasarına karşı doğal savunma sistemidir (Peltola ve diğ., 1994). Süperoksit dismutazda (SOD) bu savunma sisteminde yer alan ve süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve oksijene indirgeyen bir antioksidan enzimdir (Murugesan ve diğ., 2008). Peltola ve diğ., (1994) yaptıkları çalışma sonucunda 1 ve 90 gün uygulama sonunda SOD enzimi miktarında anlamlı bir azalma bildirilmiştir. Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig ve Sertoli hücrelerinde, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında SOD enzimi miktarının azaldığı rapor edilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E uygulanan gruplarda SOD enzimi miktarının anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). PCB'ler tarafından oluşturulan SOD aktivitesindeki bu düşüş vitamin E tarafından dengelenmektedir (Banudevi ve diğ., 2006). Bu koruyucu etki süperoksit radikalleriyle vitamin E'nin radikal temizleyici bölgesinin doğrudan reaksiyonu sonucu meydana geldiği bildirilmektedir (Scott, 1969). Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması sonucunda SOD enzimi miktarı bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği bulunmuştur (Krishnamoorthy ve diğ., 2005; Murugesan ve diğ., 2007b; 2008). 0.75 mg/kg, 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında A1254 20 gün süresince uygulanmış ve testis dokusunda SOD enzimi

miktarının tüm dozlarda yükselen doz miktarına paralel olarak düşüş gösterdiği belirtilmiştir (Aly ve diğ., 2009).

Bu çalışma ile A1242'nin tek başına uygulandığı gruplarda 6 ve 12 saatte 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında ve 24 saatte 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M SOD enzimi miktarında anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Bu sonuçlar A1254 ile yapılan çalışmalar ile uygunluk göstermektedir. A1242'ye vitamin E ilave edilerek oluşturulan gruplarda 6 saat sonunda 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir azalma olduğu görülürken, 12 ve 24 saat sonunda sadece 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir azalma görülmesi yüksek dozlarda SOD enzimi miktarını azalttığını göstermektedir. Bu sonuçlar bize, vitamin E'nin 6, 12 ve 24 saat yapılan uygulamalarda düşük dozlarda A1242'nin SOD enzimi miktarı bakımından oluşturduğu hasara karşı koruyucu rolü olduğunu göstermektedir. Ayrıca vitamin E uygulanmış grupların sadece A1242 uygulanmış gruplarla karşılaştırılması sonucunda SOD enzimi miktarında anlamlı bir artış meydana gelmesi de vitamin E'nin antioksidan rolünü ortaya koymaktadır.

A1260'ın tek başına ve vitamin E ile birlikte uygulandığı gruplarda 6 saat sonunda SOD enzimi miktarı bakımından 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir azalma görülürken, 12 ve 24 saat yapılan uygulamalar sonunda 10^{-10} M, 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir azalma görülmüştür. Bu bulgular yukarıdaki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Vitamin E uygulanmış gruplar ile sadece A1260 uygulanmış gruplar karşılaştırıldığında vitamin E uygulanan gruplarda tüm dozlarda SOD enzimi miktarı anlamlı olarak artması yine vitamin E'nin koruyucu rolünü ortaya koymaktadır.

Katalaz enzimi hücre içi antioksidan savunma sisteminde yer alan ve hücre içinde serbest radikallerin aktiviteleri sonucunda oluşan ve hücre için çok zehirli olan hidrojen peroksidi su ve oksijene çeviren bir enzimdir (Goldman ve Blobel, 1978; Murugesan ve diğ., 2008). Katalaz enzimi hücre içinde çoğunlukla peroksizomlarda bulunur (Goldman ve Blobel, 1978). Katalaz enzimi aktivitesi süperoksit radikali tarafından inhibe edilir (Kono ve Fridovich, 1982). Katalaz enzimi inaktif formundan düzenlenebilmesi için NADPH'ye ihtiyaç duyar (Kirkman ve Gaetani, 1984). Bu sebepten PCB uygulanmasıyla azalan NADPH miktarına bağlı olarak katalaz aktivitesinde düşüş meydana gelmektedir (Twaroski ve diğ., 2001a, b). Peltola ve diğ., (1994) yaptıkları

çalışma sonucunda 1, 3 ve 7 gün uygulama sonunda katalaz enzimi miktarında anlamlı bir azalma bildirmişlerdir. Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig ve Sertoli hücrelerinde, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında katalaz enzimi miktarının anlamlı olarak azaldığı rapor edilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E uygulanan gruplarda katalaz enzimi miktarının anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması sonucunda katalaz enzimi miktarı bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği bulunmuştur (Krishnamoorthy ve diğ., 2005; Murugesan ve diğ., 2007b; 2008). 0.75 mg/kg, 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında A1254 20 gün süresince uygulanmış ve testis dokusunda katalaz enzimi miktarının 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında azalma gösterdiği rapor edilmiştir (Aly ve diğ., 2009).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular ışığında A1242'nin tek başına uygulandığı dozlarda 6 ve 12 saat uygulama sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda, 24 saat uygulama sonunda 10^{-8} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelmesi A1242'nin A1254 gibi yüksek dozlarda toksik etkisi olduğunu göstermektedir. A1242 ile birlikte vitamin E uygulamaları sonucunda 6 ve 12 saat sonunda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşulda 10^{-10} M ve üzeri dozlarda katalaz enzimi miktarında anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. 24 saat yapılan uygulamalarda LH uyarımı yapıldığı ve yapılmadığı koşullarda 10^{-8} M ve üzeri dozlarda katalaz enzimi miktarı bakımından anlamlı bir azalma meydana gelmesi A1242'nin yüksek dozlarda katalaz enzimini etkilediğini göstermektedir. Bunun yanısıra, A1242 ve vitamin E uygulanmış grupların sadece A1242 uygulanmış gruplarla karşılaştırılması sonucunda katalaz enzimi miktarında 12 saat LH uyarımı yapılmadığı koşullarda ve 24 saat hem LH uyarımı yapıldığı ve hemde yapılmadığı koşullarda anlamlı bir artış meydana gelmesi de vitamin E'nin uzun süreli uygulamalarda A1242'nin oluşturduğu hasara karşı koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

A1260'ın tek başına uygulandığı dozlarda 6 ve 12 saat uygulama sonunda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelirken, 24 saat yapılan uygulamalarda 10^{-8} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelmektedir. A1260'ın bu dozlarına vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarında ise, 6 saat sonunda sadece 10^{-6} M dozunda, 12 ve 24 saat sonunda ise, 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu bulgular önceki yıllarda A1254 ile yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir. A1260'ın tek başına uygulandığı dozları vitamin E ile birlikte uygulandığı dozları ile karşılaştırıldığında ise katalaz enzimi miktarı bakımından sadece 6 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir artış meydana geldiği bulunmuştur. Bu da bize, A1260'ın oluşturduğu hasara karşı katalaz enzimi miktarı bakımından vitamin E'nin sadece kısa süreli uygulamalarda koruyucu olduğunu göstermektedir.

GPx enzimi hidrojen peroksit ya da lipid hidroperoksitin (LOOH) glutasyon tarafından indirgenmesini katalizleyen selenyum bağımlı bir enzimdir. GPx enzimi hidrojen peroksiti temizlerken, hidrojen donörü olarak glutasyonu kullanarak glutasyonun okside formu olan GSSG ve su oluşmasını sağlar (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Şimşek, 1999; Burçak ve Andican, 2004; Murugesan ve diğ., 2008). PCB uygulanmasıyla glutasyon düzeyindeki azalmanın ve peroksit düzeylerindeki artışın GPx enziminin aktivitesini düşürdüğü gözlenmiştir (Twaroski ve diğ., 2001b). Peltola ve diğ., (1994) tarafından yapılan bir çalışmaya göre 1, 3, 7, 14 ve 90 gün uygulama sonunda GPx enzimi miktarında anlamlı bir fark görülmediğini rapor etmişlerdir. Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig ve Sertoli hücrelerinde, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında GPx enzimi miktarının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E uygulanan gruplarda GPx enzimi miktarının anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması

sonucunda GPx enzimi miktarı bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği bulunmuştur (Krishnamoorthy ve diğ., 2005; Murugesan ve diğ., 2007b; 2008). Aly ve diğerlerinin (2009) yaptıkları bir çalışmaya göre 0.75 mg/kg, 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında A1254 20 gün süresince uygulanmış ve testis dokusunda GPx enzimi miktarının 1.5 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarında azalma gösterdiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular ışığında A1242'nin tek başına uygulandığı dozlarda 6, 12 ve 24 saat uygulamalarda 10^{-12} M ve daha yüksek dozlarda GPx enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur. A1242 ile birlikte vitamin E uygulamaları sonucunda 6 ve 12 saat uygulama sonunda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda ve 24 saat sonunda 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelmesi A1242'nin yüksek dozlarda GPx enzimini etkilediğini göstermektedir. Bunun yanısıra, A1242 ve vitamin E uygulanmış grupların sadece A1242 uygulanmış gruplarla karşılaştırılması sonucunda GPx enzimi miktarında 6, 12 ve 24 saat boyunca yapılan uygulamalarda tüm dozlarda anlamlı bir artış meydana gelmesi de GPx enzimi aktivitesi bakımından vitamin E'nin A1242'nin oluşturduğu hasara karşı koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

A1260'in tek başına uygulandığı dozlarda 6, 12 ve 24 saat uygulama sonunda 10^{-10} M ve daha yüksek dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği bulunmuştur. A1260'in bu dozlarına vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarında ise, 6 saat sonunda 10^{-10} M ve daha yüksek dozlarında, 12 ve 24 saat sonunda ise, 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu bulgular önceki yıllarda A1254 ile yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. A1260'in tek başına uygulandığı dozları vitamin E ile birlikte uygulandığı dozları ile karşılaştırıldığında ise GPx enzimi miktarı bakımından 6, 12 ve 24 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir artış meydana geldiği bulunmuştur. Bu da bize, A1260'in oluşturduğu hasara karşı GPx enzimi miktarı bakımından vitamin E'nin A1260 ile oluşmuş hasara karşı tüm dozlarda koruyucu rolü olduğunu göstermektedir.

Başka bir hücre içi antioksidan enzim olan GST enzimi, serbest radikallerin glutatyon ile konjugasyonunu katalizler (Banudevi ve diğ., 2006). Glutatyonun serbest radikallerle doğrudan etkileşime geçtiği ve onları bastırdığı bilinir (Chausseud, 1979). Peltola ve

diğerlerinin (1994) yaptıkları bir çalışmada 1, 3, 7, 14 ve 90 gün uygulama sonunda 90 gün sonunda GST miktarında bir azalma meydana geldiğini fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan in vivo çalışmalar ile, Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig ve Sertoli hücrelerinde, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında GST enzimi miktarının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C ve vitamin E uygulanan gruplarda GST enzimi miktarının anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; Senthil kumar ve diğ., 2004; Banudevi ve diğ., 2006). Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması sonucunda GST enzimi miktarı bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Murugesan ve diğ., 2007b; 2008).

Yapılan bu çalışma sonucunda A1242'nin tek başına uygulandığı dozlarda 6. saatte 10^{-16} M ve üzerindeki dozlarda, 12. saatte 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda, 24. saatte ise, 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda GST enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur. A1242 ile birlikte vitamin E uygulamaları sonucunda 6, 12 ve 24 saat uygulama sonunda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelmesi A1242'nin yüksek dozlarda GST enzimini etkilediğini göstermektedir. Bunun yanısıra, A1242 ve vitamin E uygulanmış grupların sadece A1242 uygulanmış gruplarla karşılaştırılması sonucunda GST enzimi miktarında 6 ve 12 saat yapılan uygulamalarda anlamlı bir artış meydana gelmesi de GST enzimi aktivitesi bakımından vitamin E'nin A1242'nin oluşturduğu hasara karşı kısa süreli uygulamalarda koruyucu rolü olduğunu düşündürmektedir.

A1260'in tek başına uygulandığı dozlarda 6 saat uygulama sonunda sadece 10^{-6} M dozunda anlamlı bir azalma meydana geldiği bulunmuştur. 12 ve 24 saat uygulamalar sonucunda ise, 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma bulunmuştur. Bu bulgu A1260'in doz ve zamana bağlı olarak GST enziminin aktivitesini düşürdüğünü işaret etmektedir. A1260'in kullanılan dozlarına vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarında ise, 6 ve 12 saat sonunda 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında, 24 saat sonunda ise,

10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu bulgular önceki yıllarda A1254 ile yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. A1260'ın tek başına uygulandığı dozları vitamin E ile birlikte uygulandığı dozları ile karşılaştırıldığında ise GST enzimi miktarı bakımından vitamin E ilave edilmiş tüm dozlarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar bize A1260 uygulanmış gruplarda GST enzimi aktivitesinin sadece yüksek uygulanan dozlarda etkilendiğini ve vitamin E'nin bu yüksek dozlarda koruyucu bir etkisi bulunmadığını göstermektedir.

3β -HSD ve 17β -HSD enzimleri testosteron sentez yolağında bulunan önemli enzimlerdir. 3β -HSD enzimi pregnenolonu progesterona, 17α hidroksipregnenolonu 17α progesterona, dehidroepiandrosteronu androstenodiona dönüştürmektedir. 17β -HSD enzimi ise androstenodionun testosterona dönüştürülmesinden sorumludur (Payne, 2007). Yapılan birçok çalışma ile bu iki enzimin aktivitesine bakılarak uygulanan PCB'lerin testosteron sentezini etkileyip etkilemedikleri hakkında bilgi sahibi olmaya çalışılmıştır (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; 2007b; 2008). Yapılan in vivo çalışmalar ile, Aroklor 1254 2 mg/kg dozunda i.p. olarak 30 gün boyunca uygulanması sonunda Leydig hücrelerinde 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi miktarının ve 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi mRNA anlatımının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005a; 2005b; 2007a). 30 gün süreyle 2 mg/kg A1254'e ilave olarak 100 mg/kg dozunda vitamin C, 50 mg/kg dozunda vitamin E ve 50mg/kg likopen uygulamaları sonucunda tek başına A1254 uygulanan gruplara göre A1254'e ilave olarak vitamin C, vitamin E uygulanan gruplarda 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi miktarının ve 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi mRNA anlatımının anlamlı olarak arttığı likopen uygulanan grupta ise, 3β -HSD enzimi miktarının arttığı belirtilmiştir (Murugesan ve diğ., 2005b; 2007a; Elumalai ve diğ., 2009). İçeriğinde A1260 bulunduran bir transformatör yağı olan Askarel 10 mg/kg dozunda i.p. olarak ve 25 μ g/testis dozunda intratestiküler (i.t.) olarak verilen çalışma sonucunda i.p. olarak verilen grupta 3β -HSD aktivitesinde bir fark gözlenmezken, i.t. olarak verilen grupta 3β -HSD aktivitesinde anlamlı olarak azalma meydana geldiği gözlenmiştir (Andric ve diğ., 2000a, b). Andric ve diğerlerinin (2006) yaptıkları bir çalışmada içeriği bakımından A1260'a benzeyen bir transformatör yağı olan Pyralene 10 ve 50 mg/kg dozlarında 4, 7, 14 ve 21 gün boyunca uygulanmıştır. Uygulamalar sonucunda testiste 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi ve bu enzimlerin mRNA transkriptlerinin düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmediği rapor

etmişlerdir. Leydig hücrelerine 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M dozlarında 6, 12 ve 24 saat boyunca LH uyarımı yapılmadığı ve yapıldığı koşullarda A1254 uygulanması sonucunda 3β -HSD ve 17β -HSD enzimleri miktarları bakımından uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Murugesan ve diğ., 2007b; 2008).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda A1242'nin tek başına uygulandığı dozlarda 6 saat yapılan uygulamalarda 10^{-8} M ve 10^{-6} M dozlarında, 12 saat yapılan uygulamalarda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda, 24 saat yapılan uygulamalarda ise, uygulanan tüm dozlarda 3β -HSD ve 17β -HSD enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur. A1242 ile birlikte vitamin E uygulamaları sonucunda 6 saat uygulama sonunda tüm dozlarda, 12 ve 24 saat uygulamalar sonunda ise 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda anlamlı bir azalma meydana gelmesi A1242'nin 3β -HSD ve 17β -HSD enzimlerini etkilediğini göstermektedir. Bunun yanısıra, A1242 ve vitamin E uygulanmış grupların sadece A1242 uygulanmış gruplarla karşılaştırılması sonucunda 3β -HSD ve 17β -HSD enzimleri miktarında 6, 12 ve 24 saat yapılan uygulamalarda tüm dozlarda anlamlı bir artış meydana gelmesi de 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi aktivitesi bakımından vitamin E'nin A1242'nin oluşturduğu hasara karşı koruyucu rolü olduğunu düşündürmektedir.

A1260'ın tek başına uygulandığı dozlarda 6 saat uygulama sonunda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda, 12 saat uygulama sonucunda LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 10^{-10} M ve üzerindeki dozlarda, LH uyarımı yapıldığı koşullarda 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda, 24 saat uygulama sonucunda ise, LH uyarımı yapılmadığı koşullarda 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda, LH uyarımı yapıldığı koşullarda ise tüm dozlarda anlamlı bir azalma bulunmuştur. Bu bulgu A1260'ın doz ve zamana bağlı olarak 3β -HSD ve 17β -HSD enziminin aktivitesini düşürdüğünü işaret etmektedir. Bu bulgular yukarıda bahsedilen çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. A1260'ın kullanılan dozlarına vitamin E ilave edilerek oluşturulmuş dozlarında ise, 6 saat sonunda 10^{-12} M ve üzerindeki dozlarda, 12 ve 24 saat sonunda ise, uygulanan tüm dozlarda anlamlı bir azalma görülmektedir. A1260'ın tek başına uygulandığı dozları vitamin E ile birlikte uygulandığı dozları ile karşılaştırıldığında ise 3β -HSD ve 17β -HSD enzimi miktarı bakımından vitamin E ilave edilmiş dozlarda 6 ve 12 saatlerde anlamlı olarak artma meydana gelirken, 24 saat sonunda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar A1260

uygulanmış gruplarda 3 β -HSD ve 17 β -HSD enzimi aktivitesine vitamin E'nin sadece kısa süreli uygulamalarda koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Vitamin E hücre membranında bulunan en aktif zincir kırıcı antioksidandır ve hücre membranının bütünlüğünün korunmasında büyük rol oynar. Vitamin E hücrelerde serbest radikallerin temizlenmesinde etkilidir (Scott, 1969; Hsu ve diğ., 1998), serbest radikallerin seviyelerini düşürür ve antioksidan sistemde görevli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları artırır (Banudevi ve diğ., 2006). Yaptığımız bu çalışma ile hem Aroklor 1242 ve hem de Aroklor 1260 uygulanmış gruplarda vitamin E'nin hücreleri serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasardan koruduğu ve serbest radikallerin miktarının azalmasıyla hücre içi antioksidan sistemde görev yapan enzimlerin aktivitelerinin de artmasına sebep olduğu ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada PCB'lerin TM3 Leydig hücrelerinde testosteron sentezinde önemli rolleri olan 3 β -HSD ve 17 β -HSD enzimlerinin aktivitesini azaltarak testosteron üretimini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca TM3 Leydig hücrelerinde toksisiteyi teşvik ettiği ve oluşan oksidatif hasara karşı vitamin E'ninde koruyucu rol oynadığı açığa çıkarılmıştır.

6. KAYNAKLAR

ABRAHAMSOHN, P.A., DOS SANTOS, M.F., ZORN, T.M.T., 2003, *The Male Reproductive System*, Basic histology text and atlas, McGraw-Hill Companies Inc., Brazil, 682-725.

ADEBUSOYE, S.A., ILORI, M.O., PICARDAL, F.W., AMUND, O.O., 2008, Extensive biodegradation of polychlorinated biphenyls in Aroclor 1242 and electrical transformer fluid (Askarel) by natural strains of microorganisms indigenous to contaminated African systems, *Chemosphere*, 73, 126-132.

AHLBORG, U.G., BECKING, G.C., BIRNBAUM, L.S., BROUWER, A., DERKS, H.J.G.M., FEELEY, M., GOLOR, G., HANBERG, A., LARSEN, J.C., LIEM, A.K.D., SAFE, S.H., SCHLATTER, C., WOEM, F., YOUNES, M., YRJANHEIKKI, E., 1994, Toxic equivalency factors for dioxin-like PCB's, *Chemosphere*, 28, 1049-1067.

AHMAD, S.U., TARIQ, S., JALALI, S., AHMAD, M.M., 2003, Environmental pollutant Aroclor 1242 (PCB) disrupts reproduction in adult male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), *Environmental Research*, 93, 272-278.

ALY, H.A.A., DOMENECH, O., ABDEL-NAIM, A.B., 2009, Aroclor 1254 impairs spermatogenesis and induces oxidative stress in rat testicular mitochondria, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1733-1738.

ANDRIC, S.A., KOSTIC, T.S., DRAGISIC, S.M., ANDRIC, N.L., STANKO, S.S., KOVACEVIC, R.Z., 2000a, Acute effects of polychlorinated biphenyl-containing and free transformer fluids on rat testicular steroidogenesis, *Environmental Health Perspectives*, 108, 955-959.

ANDRIC, S.A., STOJILKOVIC, S.S., STANKO, S.S., KOVACEVIC, R.Z., 2000b, Inhibition of rat testicular androgenesis by a polychlorinated biphenyl mixture Aroclor 1248, *Biology of Reproduction*, 62, 1882-1888.

ANDRIC, N.L., KOSTIC, T.S., ZORIC, S.K., STANIC, B.D., KOVACEVIC, R.Z., ANDRIC, S.A., KOVACEVIC, R.Z., 2006, Effects of a PCB-based transformer oil on testicular steroidogenesis and xenobiotic-metabolizing enzymes, *Reproductive Toxicology*, 22, 102-110.

APOSTOLI, P., MANGILI, A., CARASI, S., MANNO, M., 2003, Relationship between PCBs in blood and D-glucaric acid in urine, *Toxicology Letters*, 144, 17-26.

ARAS, K., ERGEN, G., KARAHAN, S., 1976, *Vitaminler*, Tıbbi Biyokimya, Ankara Basımevi, Ankara, 161-169.

ARCARO, K.F. ve GIERTHY, J.F., 2001, Assessing modulation of estrogenic activity of environmental and pharmaceutical compounds using MCF-7 focus assay, *Methods In Molecular Biology*, 176, 341-51.

ATSDR, 1997, Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (update), Atlanta: US Department of Health and Human Services.

ATSDR, 2000, Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Atlanta: US Department of Health and Human Services.

AYDIN, M., CANPOLAT, S., SEYRAN, A.D., BULMUŞ, Ö., YILMAZ, B., 2007, Poliklorlu bifenillerin sıçan korteks, hipokampus, striatum ve hipotalamus dokusunda katekolaminerjik nörotransmitter düzeylerine etkileri, *Fırat Tıp Dergisi*, 12, 88-92.

BALLSCHMITTER, K., BACHER, R., MENNEL, A., FISCHER, R., RIEHLE, U., SWEREV, M., 1992, The determination of chlorinated biphenyls, chlorinated dibenzodioxins and chlorinated dibenzofurans by GC-MS, *Journal of High Resolution Chromatography*, 15, 260-270.

BANUDEVI, S., KRISHNAMOORTHY, G., VENKATARAMAN, P., VIGNESH, C., ARULDHAS, M.M., ARUNAKARAN, J., 2006, Role of α -tocopherol on antioxidant status in liver, lung and kidney of PCB exposed male albino rats, *Food and Chemical Toxicology*, 44, 2040-2046.

BERGMEYER, M.U., 1974, Steroid dehidrogenase. In: Bergmeyer H.U. editor, *Methods of Enzymatic Analysis*, New York: Academic Press, 476-477.

BONEFELD-JORGENSEN, E.C., ANDERSEN, H.R., RASMUSSEN, T.H., VINGGAARD, A.M., 2001, Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity, *Toxicology*, 158, 141-153.

BREMNER, W.J., 1981, *Historical aspects of the study of the testis*. In: Burger H, de Kretser D (Eds), *The Testis*, Raven Press, New York, 1-8.

BURÇAK, G. ve ANDİCAN, G., 2004, Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma, *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, 35, 159-169.

BUTERİN, T., KOCH, C., NAEGELİ, H., 2006, Convergent transcriptional profiles induced by endogenous estrogen and distinct xenoestrogens in breast cancer cells, *Carcinogenesis*, 27(8), 1567-1568.

CAI, Q., RAHN, R.O., ZHANG, R., 1997, Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals, *Cancer Letters*. 119(1), 99-107.

CARPENTER, D.O., 1998, Polichlorinated biphenyls and human health, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 11, 291-303.

CARPENTER, D.O., ARCARO, K.F., BUSH, B., 1998, Human health and chemical mixtures: an overview. *Environmental Health Perspective*. 106, 1263-1270.

CHAUSSEUD, L.F., 1979, The role of glutathione and glutathione-S-transferase in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents, *Advances of Cancer Research*, 29, 175-274.

CHRISTENSEN, A.K., 2007, *A History of Leydig Cell Research*, In: Panye A.H., Hardy M.P. (Eds). *The Leydig Cell in Health and Disease*, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, 3-30.

CHOW, C.K., 2001, *Vitamin E*, In: Rucker, R.B., Suttie, J.W., McCormick, D.B., Machlin, L.J. (Eds.), *Handbook of Vitamins*, Marcel Dekker Inc., New York, Basel, 165-197.

COBURN, C.G., CURRAS-COLLAZO, M.C., KODAVANTI, P.R.S., 2007, Polybrominated diphenyl ethers and ortho-substituted polychlorinated biphenyls as neuroendocrine disruptors of vasopressin release: effects during physiological activation in vitro and structure activity relationships, *Toxicological Sciences*, 98 (1), 178-186.

CONNOR, K., RAMAMORTHY, K., MOORE, M., MUSTAIN, M., CHEN, I., SAFE, S., ZACHAREWSKI, T., GILLESBY, B., JOYEUX, A., BALAGUER, P., 1997, Hydroxylated polychlorinated biphenyls (pcbs) as estrogens and antiestrogens: structure–activity relationships, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 145, 111-123.

COOKE, P.S., ZHAO, Y., HANSEN, L.G., 1996, Neonatal polychlorinated biphenyl treatment increases adult testis size and sperm production in the rat, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136, 112-117.

COŞKUN, T., 2005, Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 69-84.

DALLE-DONNE, I., GIUSTARINI, D., COLOMBO, R., ROSSI, R., MILZANI, A., 2003, Protein carbonylation in human diseases, *Trends Molecular Medicine* 9, 169–176

DE VOOGT, P. ve BRINKMAN, U.A.Th., 1989, *Production, properties and usage of polychlorinated biphenyls*, In: Kimbrough, R, Jensen, A.A. (Eds),: *Halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins and Related Products*. Elsevier, Amsterdam, 3-45.

DE VOS, S., MAERVOET, J., SCHEPENS, P., DE SCHRIJVER, R., 2003, Polichlorinated biphenyls in broiler diets: their digestibility and incorporation in body tissues, *Chemosphere*, 51, 7-11.

DELİBAŞ, N. ve ÖZCANKAYA, R., 1995, Serbest radikaller, *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2(3), 11-17.

DENEFF, C., 1998, *Autocrine/Paracrine intermediates in hormonal action and modulation of cellular responses to hormones*, Section 7: The endocrine system, Oxford University Press, New York, I, 461-514.

DESAULNIERS, D., LEINGARTNER, K., WADE, M., FINTELMAN, E., YAGMINAS, A., FOSTER, W.G., 1999, Effects of acute exposure to PCBs 126 and 153 on anterior pituitary and thyroid hormones and FSH isoforms in adult Sprague Dawley male rats, *Toxicological Sciences* 47, 158–169.

DEVASAGAYAM, T.P., ve TARACHAND, U., 1987, Decreased lipid peroxidation in the rat kidney during gestation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 198, 273-80.

DIEMER, T., ALLEN, J.A., HALES, K.H., HALES D.B., 2003, Reactive Oxygen Disrupts Mitochondria in MA-10 Tumor Leydig Cells and Inhibits Steroidogenic Acute Regulatory (StAR) Protein and Steroidogenesis, *Endocrinology* 144(7), 2882-2891.

DÖKMECİ, İ., 2000, *Farmakoloji Temel Kavramlar Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 714- 720.

DZİENNİS, S., YANG, D., CHENG, J., 2008. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls influences stroke outcome in adult rats. *Environ Health Perspect* 116:474–80.

EISLER, R. ve BELISLE, A.A., 1996, *Planar PCB Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review*, Contaminant Hazard Reviews, Biological Report 31, Denver, 1081-2911

EUMALAI, P., KRISHNAMOORTHY, G., SELVAKUMAR, K., ARUNKUMAR, R., VENKATARAMAN, P., ARUNAKARAN, J., 2009, Studies on the protective role of lycopene against polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) induced changes in StAR protein and cytochrome P450scc enzyme expression on Leydig cells of adult rats, *Reproductive Toxicology*, 27, 41-45.

FAQI, A.S., DALSENTER, P.R., MERKER, H.J., CHAHOUD, I., 1998, Effects on developmental landmarks and reproductive capability of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in offspring of rats exposed during pregnancy, *Human & Experimental Toxicology*, 17, 365–372.

FIELDEN, M.R., HALGREN, R.G., TASHIRO, C.H.M., YEO, B.R., CHITTIM, B., CHOU, K., ZACHAREWSKI, T.R., 2001, Effects of gestational and lactational exposure to Aroclor 1242 on sperm quality and in vitro fertility in early adult and middle-aged mice, *Reproductive Toxicology*, 15, 281-292.

FISCHER, L.J., SEEGAL, R.F., GANEY, P.E., PESSAH, I.N., KODAVANTI, P.R.S., 1998, Symposium overview: toxicity of non-coplanar PCBs, *Toxicological Sciences*, 41, 49-61.

FUKUZAWA, N.H., OSHAKO, S., NAGANO, R., SAKAUE, M., BABA, T., AOKI, Y., TOHYAMA, C., 2003, Effects of 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl, a coplanar polychlorinated biphenyl congener, on cultured neonatal mouse testis, *Toxicology in vitro*, 17(3), 259-269.

GANEY, P.E., SIROIS, J.E., DENISON, M., ROBINSON, J.P., ROTH, R.A., 1993, Neutrophil function after exposure to polychlorinated biphenyls in vitro, *Environmental Health Perspectives*, 101, 430-434.

GEORGIU, M., PREKINS, L.M., PAYNE, A.H., 1987, Steroid synthesis dependent oxygen-mediated damage of mitochondrial and microsomal cytochrome P-450 enzymes in rat Leydig cell cultures, *Endocrinology*, 121, 1390-1399.

GOLDMAN, B.M. ve BLOBEL, G., 1978, Biogenesis of peroxisomes: Intracellular site of synthesis of catalase and uricase, *Proceedings in National Academic Science*, 75(10), 5066-5070.

GOUIN, T., G.O. THOMAS, I. COUSINS, J. BARBER, D. MACKAY, K.C. JONES, 2002. Air-surface exchange of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls, *Environmental Science and Technology*, 36, 426-1434

GRABIĆ, R., HANSEN, L.G., PTAK, A., CRHOVA, S., GREGORASZCZUK, E.L., 2006, Differential accumulation of low-chlorinated (Delor 103) and high-chlorinated (Delor 106) biphenyls in human placental tissue and opposite effects on conversion of DHEA to E2, *Chemosphere*, 62(4), 573-580.

GRAY, Jr. L.E., WOLF, C., LAMBRIGHT, C., MANN, P., PRICE, M., COOPER, R.L., OSTBY, J., 1999, Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolinate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat, *Toxicology and Industrial Health*, 15, 94-118.

GREGORASZCZUK, E.L., WOJTOWICZ, A.K., 2002, In vitro exposure of porcine ovarian follicular cells to PCB 153 alters steroid secretion but not their viability - preliminary study, *The Scientific World Journal*, 2, 261-267.

GREGORASZCZUK, E.L., ZEMLA, M., PTAK, A., GRABIC, R., 2005, The action of low- and high-chlorinated biphenyl mixture on prepubertal porcine ovary: steroid secretion and cells apoptosis, *Endocrine Regulations*, 39, 1-9.

HABERT, R., LEJEUNE, H., SAEZ, J.M., 2001, Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 179, 47-79.

HABIG, W.H., PABST, M.J. JAKOBY, W.B., 1974, Glutathione-S-transferase. the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.

HAFEMAN, D.G., SUNDE, R.A., HOEKSTRA, W.G., 1974, Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat, *Journal of Nutrition*, 104, 580-587.

HAIDER, S. G., PASSIA, D., VE OVERMEYER, G., 1986, Studies on fetal and postnatal development of rat Leydig cells employing 3β -hydroxysteroid dehydrogenase activity, *Acta Histochemica*, 32, 197-202.

HAIDER, S.G., 2004, Cell biology of Leydig cells in the testis, *International Review of Cytology*, 233, 181-241.

HALL, P.F., 1994, *Testicular steroid synthesis: Organization and regulation*, The Physiology of Reproduction, Raven Press, New York, 1, 1335- 1362.

HALLIWELL, B. VE GUTTERIDGE, J.M.C., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

HANSEN, L.G., 1999, *The Ortho Side of PCB's Occurrence and Disposition*, Kluwer Academic Publishers, Boston, London, 0-7923-8541-1.

HARINANTENAINA, L., 2009, *Tocotrienols in Plants: Sources and Importance*, Tocotrienols Vitamin E Beyond Tocopherols, CRC Press, New York, 43-60.

HAUSER, R., WILLIAMS, P., ALTSHUL, L., CALAFAT, A.M., 2005, Evidence of Interaction between Polychlorinated Biphenyls and Phthalates in Relation to Human Sperm Motility, *Environmental Health Perspectives*, 113(4), 425-430.

HIRABAYASHI, Y. ve INOUE, T., 2009, Aryl hydrocarbon receptor biology and xenobiotic responses in hematopoietic progenitor cells, *Biochemicals Pharmacology*, 77, 521-535.

HIRAKO, M., AOKI, M., HANAFUSA, Y., ISHIZAKI, H., KARIYA, Y., 2005, Comparison of the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in maternal and fetal blood, amniotic and allantoic fluids in cattle, *Reproductive Toxicology*, 20(2), 247-254.

HSU, S.T., MA, C.I., HSU, S., 1985, Discovery and epidemiology of PCB poisoning in Taiwan: a four year follow-up, *Environmental Health Perspectives*, 59, 5-10.

HSU, P.C., LIU, M.Y., HSU, C.C., CHEN, L.Y., GUO, Y.L., 1998, Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm. *Toxicology*, 128, 169-179.

HSU, P.C., LI, M.H., GUO, Y.L., 2003, Postnatal exposure of 2,2', 3,3', 4,6'-hexachlorobiphenyl and 2,2', 3,4', 5,6'-hexachlorobiphenyl on sperm function and hormone levels in adult rats, *Toxicology*, 187, 117-126.

HSU, P.C., PAN, M.H., LI, L.A., CHEN, C.J., TSAI, S.S., GUO, Y.L., 2007, Exposure in utero to 2,2', 3,3', 4,6'- hexachlorobiphenyl (PCB 132) impairs sperm function and

alters testicular apoptosis-related gene expression in rat offspring, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221, 68-75.

HUANG, A., POWELL, D., CHOU, K., 1998, Pre- and Postnatal Exposure to 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl: I. Effects on Breeding Ability and Sperm Fertilizing Ability in Male Mice, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(2), 204-208.

HUTZINGER, O., SAFE, S., ZITKO, V., 1974, *The Chemistry of PCB's*. CRC Press, Cleveland.

HWANG, S.G., LEE, H.C., LEE, D.W., KİM, Y.S., JOO, W.H., CHOO, Y.K., MOON, J.Y., 2001, Induction of apoptotic cell death by a p53-independent pathway in neuronal SK-N-MC cells after treatment with 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl, *Toxicology*, 165(2-3), 179-188.

İNAN, Y. ve GÜL M., 2002, *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 18-297.

JEGOU, B., 1992, The Sertoli Cell, *Baillieres Clinical Endocrinology and Metabolism*, 6(2), 273-311.

JOHANSSON, B., 1987, Lack effects of polychlorinated biphenyls on testosterone synthesis in mice. *Pharmacology and Toxicology*. 61, 220-223.

JOHANSSON, B., 1989, Effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on *in vitro* biosynthesis of testosterone and cell viability in mouse leydig cells, *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 42(1), 9-14.

JOHANSSON, C., TOFIGHI, R., TAMM, C., GOLDONI, M., MUTTI, A., CECCATELLI, S., 2006, Cell death mechanisms in AtT20 pituitary cells exposed to polychlorinated biphenyls (PCB 126 and PCB 153) and methylmercury, *Toxicology Letters*, 167, 183-190.

JONES, K.C., SANDERS, G., WILD, S.R., BURNETT, V., JOHNSTON, A.E., 1992, Evidence for a decline of PCBs and PAHs in rural vegetation and air in the United Kingdom. *Nature*, 356, 137-140.

KAKELA, R., KINNUNEN, S., KAKELA, A., HYVARINEN, H., ASIKAINEN, J., 2001, Fatty acids, lipids and cytochrome P-450 monooxygenase in hepatic microsomes of minks fed fish-based diets and exposed to aroclor 1242, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 64, 427-446

KAMOHARA, K., YAGI, N., ITOKAWA, Y., 1984, Mechanism of lipid peroxide formation in polychlorinated biphenyls (PCB) and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)-poisoned rats. *Environmantal Research*, 34, 18-23.

KATO, N., MOCHIZUKI, S., KAWAI, K., YOSHIDA, A., 1982, Effect of Dietary Level of Sulfur-Containing Amino Acids on Liver Drug-Metabolizing Enzymes, Serum

Cholesterol and Urinary Ascorbic Acid in Rats Fed PCB, *Journal of Nutrition*, 112, 848-854.

KAYAALP, S.O., 1998, *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*, Hacettepe-Taş yayıncılık, Ankara, 153-154.

KESPOPOULOU, E., POWERS, H.J., SHARMA, K.K., PEARSON, M.J., RUSSELL, J.M., COOKE, I.D., BARRATT, C.L., 1995, A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated with male infertility, *Fertility and Sterility*, 64, 825-831.

KIERSZENBAUM, A.L., 2006, *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*, Özkan Matbaacılık Gazetecilik San. Tic. Lts. Şti, Ankara, 0-323-01639-1

KIM, I.S., 2001, Effects of exposure of lactating female rats to polychlorinated biphenyls (PCBs) on testis weight, sperm production and sertoli cell numbers in the adult male offspring. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63, 5-9.

KIM, I.S., ARIYARANTE, H.B.S., MENDIS-HANDAGAMA, S.M.L.C., 2001, Effects of continuous and intermittent exposure of lactating mothers to aroclor 1242 on testicular steroidogenic function in the adult male offspring. *Tissue and Cell*. 33, 169-177.

KIMBROUGH, R.D., 1995, Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: an update, *Critical Review in Toxicology*, 25, 133-163.

KIRKMAN, M.N. ve GAETANI, G.F., 1984, Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81, 4343-4347.

KONO, Y. ve FRİDOVİCH, I., 1982, Superoxide radicals inhibit catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 257, 5751-5754

KOSOWSKI, A., ve CLOUATRE, D.L., 2009, *Vitamin E: Natural vs. Synthetic*, Tocotrienols Vitamin E Beyond Tocopherols, CRC Press, New York, 61- 75.

KOVACEVIC, R., VOJINOVIC-MILORADOV, M., TEODOROVIC, I., ANDRIC, S., 1995, Effect of PCBs on androgen production by suspension of adult rat leydig cells in vitro. *Journal Steroid of Biochemistry Molecular Biology*, 52, 595-597.

KRAMER, V.J., HELFERICH, W.G., BERGMAN, A., KLASSON-WEHLER, E., GIESY, J.P., 1997, Hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites are anti-estrogenic in a stably transfected human breast adenocarcinoma (MCF7) cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 144, 363-376.

KREILING, J.A., CRETON, R., REINISCH, C., 2007, Early embryonic exposure to polychlorinated biphenyls disrupts heat-shock protein 70 cognate expression in zebrafish. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 70, 1005-1013.

KRISHNAMOORTHY, G, MURUGESAN, P., MUTHUVEL, R., GUNADHARINI, D.N., VIJAYABABU, M.R., ARUNKUMAR, A., VENKATARAMAN, P., ARULDHAS, M.M., ARUNAKARAN, J., 2005, Effect of Aroclor 1254 on Sertoli cellular antioxidant system androgen binding protein and lactate in adult rat in vitro, *Toxicology*, 212, 195-205.

KUTLU, S., COLAKOGLU, N., HALIFEOGLU, I., SANDAL, S., SEYRAN, A.D., AYDIN, M., YILMAZ, B., 2007, Comparative evaluation of hepatotoxic and nephrotoxic effects of aroclors 1221 and 1254 in female rats, *Cell Biochemistry and Function*, 25, 167-172.

LAYTON, A.C., SANSEVERINO, J., GREGORY, B.W., EASTER, J.P., SAYLER, G.S., SCHULTZ, T.W., 2002, In vitro estrogen receptor binding of PCBs: measured activity and detection of hydroxylated metabolites in a recombinant yeast assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 180, 157-163.

LEE, D.W., OPANASHUK, L.A., 2004, Polychlorinated biphenyl mixture Aroclor 1254-induced oxidative stress plays a role in dopaminergic cell injury, *NeuroToxicology*, 25, 925-939.

LEVİN, N.E. ve CLOUATRE, D.L., 2009, *Tocotrienols in Vitamin E: Hype or Science?*, Tocotrienols Vitamin E Beyond Tocopherols, CRC Press, New York, 13- 20.

LI, L.A., WANG, P.W. ve CHANG, L.W., 2004, Polychlorinated biphenyl 126 stimulates basal and inducible aldosterone biosynthesis of human adrenocortical H295R cells, *Toxicology Applied Pharmacology*, 195, 92-102.

LI, L.A., 2007, Polychlorinated biphenyl exposure and CYP19 gene regulation in testicular and adrenocortical cell lines, *Toxicology in Vitro*, 21, 1087-1094.

LILIENTHAL, H., FASTABEND, A., HANY, J., 2000, Reduced levels of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in rat dams and offspring after exposure to a reconstituted PCB mixture, *Toxicological Sciences*, 57, 292-301.

LIMOGES, M., 1998, *Apoptosis in primary cultures of rat Leydig cells*, Doktora Tezi, Dalhousie University Halifax, Nova Scotia.

LIONE, A., 1988, Polychlorinated biphenyls and reproduction. *Reproductive Toxicology*. 2, 83-89.

LLOYD, J.W., MOORE, Jr. R.M., WOOLF, B.S., STEIN, H.P., 1976, Polychlorinated biphenyls. *Journal of Occupational Medicine*, 18, 109-113.

LORENZEN, A., MOON, T.W., KENNEDY, S.W., GLEN, G.A., 1999, Relationships between environmental organochlorine contaminant residues, plasma corticosterone concentrations, and intermediary metabolic enzyme activities in great lakes herring gull embryos. *Environmental Health Perspectives*, 107, 179-86.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951, Protein measurement with folin phenol reagent, *Journal Of Biological Chemistry*, 193, 265–275.

MA, R. ve SASSOON, D.A., 2006, PCBs exert an estrogenic effect through repression of the Wnt7a signaling pathway in the female reproductive tract, *Environmental Health Perspectives*, 114,898-904.

MACHALA, M., BLAHA, L., LEHMLER, H.J., PLÍSKOVA, M., MAJKOVA, Z., KAPPLOVA, P., SOVADÍNOVA, I., VONDRACEK, J., MALMBERG, T. AND ROBERTSON, L.W., 2004, Toxicity of hydroxylated and quinoid pcb metabolites: inhibition of gap junctional intercellular communication and activation of aryl hydrocarbon and estrogen receptors in hepatic and mammary cells. *Chemical Research in Toxicology*, 17, 340-347.

MARKLUND, S. VE MARKLUND, G., 1974, Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of p yrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474.

MAYES, B.A., MCCONNEL, E.E., NEAL, B.H., BRUNNER, M.J., HAMILTON, S.B., SULLIVAN, T.M., PETERS, A.C., RYAN, M.J., TOFT, J.D., SINGER, A.W., BROWN, J.F., MENTON, R.G., MOORE, J.A., 1998, Comparative cacinogenicity in sprague-dawley rats of the polychlorinated biphenyl mixtures aroclors 1016, 1242, 1254 and 1260, *Toxicological Sciences*, 41, 62-76.

McDOWELL, L.R., 1989, *Vitamins in Animal Nutrition – Comparative Aspects to Human Nutrition*, Vitamin A and E. Academic Press, London, 10–52, 93–131.

MILLER, S.C., BOWMAN, B.M., ROWLAND, H.G., 1983, Structure, cytochemistry, endocytic activity and immunoglobulin (Fc) receptor of rat testicular interstitial-tissue macrophages, *The American Journal of Anatomy*, 168(1), 1-13.

MLYNARCZUK, J. ve KOTWICA, J., 2005, Influence of polychlorinated biphenyles on the secretion of oxytocin from bovine luteal cells and from granulosa cells obtained from the follicles of different size, *Polish Journal of Veterinary Science*, 8, 261-7.

MOSSMAN, T., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological. Methods*, 65:55–63

MURUGESAN, P., KANAGARAJ, P., YUVARAJ, S., BALASUBRAMANIAN, K., ARULDHAS, M.M., ARUNAKARAN, J., 2005a, The inhibitory effects of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) on Leydig cell LH receptors, steroidogenic enzymes, and antioxidant enzymes in adult rats, *Reproductive Toxicology*, 20, 117–126.

MURUGESAN, P., MUTHUSAMY T., BALASUBRAMANIAN, K., ARUNAKARAN, J., 2005b, Studies on the protective role of vitamin C and E against polychlorinated biphenyl (aroclor 1254)-induced oxidative damage in leydis cells, *Free Radical Research*, 39(11), 1259-1272.

MURUGESAN, P., MUTHUSAMY T., BALASUBRAMANIAN, K., ARUNAKARAN, J., 2007a, Effects of vitamins C and E on steroidogenic enzymes mRNA expression in polychlorinated bipenyls (Aroclor 1254) exposed adult rat Leydig cells, *Toxicology*, 232, 170-182.

MURUGESAN, P., BALAGANESH, M., BALASUBRAMANIAN, K., ARUNAKARAN, J., 2007b, Effects of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) on steroidogenesis and antioxydant system in cultured adult rat Leydig cells, *Journal of Endocrinology*, 192, 325-338.

MURUGESAN, P., MUTHUSAMY, T., BALASUBRAMANIAN, K., ARUNAKARAN, J., 2008, Polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) inhibits testosterone biosynthesis and antioxidant enzymes in cultured rat Leydig cells, *Reproductive Toxicology*, 25, 447-454.

NESARETNAM, K., CONCARAN, D., DILS, R.R., DARBRE, P., 1996, 3,4,3',4'-Tetrachloro biphenyl acts as an estrogen *in vitro* and *in vivo*. *Molecular Endocrinology*, 10, 923-936.

NEVBERNE, P.M., VE CORNER, M.W., 1989, *The Vitamins*, Clinical Biochemistry of domestic animals, Academic Press Inc., New York, 4, 796-834.

NISHIDA, N., FARMER, J.D., KODAVANTI, P.R.S., TILSON, H.A., MACPHAIL, R.C., 1997, Effects of acute and repeated exposures to Aroclor 1254 in adult rats: motor activity and flavor aversion conditioning, *Fundamental and Applied Toxicology*, 40, 68-74.

OAKLEY, G.G., DEVANABOYINA, U., ROBERTSON, L.W., GUPTA, R.C., 1996, Oxidative DNA damage induced by activation of polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for PCB-induced oxidative stress in breast cancer, *Chemical Research in Toxicology*, 9, 1285-1292.

ODA, H., YAMASHITA, K., SASAKI, S., HORIO, F., YOSHIDA, A., 1987, Long-term effects of dietary polychlorinated biphenyl and high level of vitamin E on ascorbic acid and lipid metabolism in rats, *Journal of Nutrition*, 117, 1217-1223.

OENGA, G.N., SPINK, D.C., CARPENTER, D.O., 2004, TCDD and PCBs inhibit breast cancer cell proliferation *in vitro*, *Toxicology in Vitro*, 18, 811-819.

OMARA, F.O., FLIPO, D., BROCHU, C., DENIZEAU, F., BROUSSEAU, P., POTWOROWSKI, E.F., FOURNIER, M., 1998, Lack of suppressive effects of mixtures containing low levels of methylmercury (MeHg), polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and Aroclor biphenyls (PCBs) on mixed lymphocyte reaction phagocytic, and natural killer cell activities of rat leukocytes *in vitro*, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 54 (7), 561-577.

OOMEN, G.,A., TOLLS, J., KRUIDENIER, M., BOSGRA, S.S.D., SIPS, J.A.M., GROTEN, J.P., 2001, Availability of polychlorinated biphenyls (PCB's) and lindane for uptake by intestinal Caco-2 cells, *Environmental Health Perspectives*, 109 (7), 731-737.

OSKAM, I.C., LYCHE, J.L., KROGENAES, A., THOMASSEN, R., SKAARE, J.U., WIGER, R., DAHL, E., SWEENEY, T., STIEN, A., ROPSTAD, E., 2005, Effect of long-term maternal exposure to low doses of PCB 126 and PCB 153 on the reproductive system and related hormones of young male goats, *Reproduction*, 130, 731-742.

OSKAM, I.C., ROPSTAD, E., SMITH, A.J., SKAARE, J.U., TVERDAL, A., BERG, K.A., WIGER, R., 2004. Effects of PCB 99 and PCB 153 exposure on spermatogenesis in young adult C57BL6 mice, *Reproductive Toxicology*, 19, 169-180.

PARKINSON, A., SAFE, S.H., ROBERTSON, L.W., THOMAS, P.E., RYAN, D.E., REIK, L.M., LEVIN, W., 1983, Immunochemical quantitation of cytochrome P-450 isoenzymes and epoxide hydrolase in liver microsomes from polychlorinated or polybrominated biphenyls-treated rats. A study of structure-activity relationships, *Journal of Biological Chemistry*, 258, 5967-5976.

PAVUK, M., CERHAN, J.R., LYNCH, C.F., SCHECTER, A., PETRIK, J., CHOVANCOVA, J., KOCAN, A., 2004, Environmental exposure to PCBs and cancer incidence in eastern Slovakia, *Chemosphere*, 54, 1509-1520.

PAYNE, A.H., 2007, *Steroidogenic Enzymes in Leydig Cells*, The Leydig Cell in Health and Disease. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, 3-30.

PELTOLA, V., MANTYLA, E., HUHTANIEMI, I., AHOTUPA, M., 1994, Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the rat testis after cigarette smoke inhalation or administration of polychlorinated biphenyls or polychlorinated naphthalenes, *Journal of Andrology*, 15, 353-361.

PELUSO, J.J., PAPPALARDO, A., TROLICE, M.P., 1996, N-cadherin-mediated cell contact inhibits granulosa cell apoptosis in progesterone-independent manner, *Endocrinology*, 137(4), 1196-1203.

PEREZ ARMENDARIZ, E.M., ROMANO M.C., LUNA J., MIRANDA C., BENNETT M.V., MORENO A.P., 1994, Characterization of gap junctions between pairs of Leydig cell from mouse testis, *American Journal of Physiology*, 267 (2 pt 1). C570-580.

PETIT, F., LE GOFF, P., CRAVEDI, J.P., VALOTAIRE, Y., PAKDEL, F., 1997, Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19, 321-35.

PFLIEGER-BRUSS, S., HAGEMANN, S., KÖRNER, W., HANF, V., KÖHN, F.M., MÜLLER, C., SCHILL, W.B., 2006, Effects of single non-ortho, and di-ortho chlorinated biphenyls on human sperm function in vitro, *Reproductive Toxicology*, 21, 280-284.

PILLON, A., BOUSSIOUX, A.M., ESCANDE, A., AIT-AISSA, S., GOMEZ, E., FENET, H., RUFF, M., MORAS, D., VIGNON, F., DUCHESNE, M.J., CASELLAS, C., NICOLAS, J.C., BALAGUER, P. 2005, Binding of estrogenic compounds to recombinant estrogen receptor-alpha: application to environmental analysis. *Environmental Health Perspectives*, 113, 278-284.

PLATONOW, N.S., MEADS, E.B., LIPTRAP, R.M., LOTZ, F., 1976, Effects of some commercial preparations of polychlorinated biphenyls in growing piglets, *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 40(4), 421-428.

PLISKOVA, M., VONDRACEK, J., CANTON, R.F., NERA, J., KOCAN, A., PETRIK, J., TRNOVEC, T., SANDERSON, T., VAN DEN BERG, M., MACHALA, M., 2005, Impact of polychlorinated biphenyls contamination on estrogenic activity in human male serum, *Environmental Health Perspectives*, 113, 1277-1284.

PTAK, A., LUDEWIG, G., LEHMLER, H.J., WOJTOWICZ, A.K., ROBERTSON, L.W., GREGORASZCZUK, E.L., 2005, Comparison of the actions of 4-chlorobiphenyl and its hydroxylated metabolites on estradiol secretion by ovarian follicles in primary cells in culture, *Reproductive Toxicology*, 20, 57-64.

PUNTARULO, S. ve CEDERBAUM, A.I., 1988, Effects of oxygen concentration on microsomal oxidation of ethanol and generation of oxygen radicals, *Biochemical Journal*, 251, 787-794.

PUTNAM, M.E., COMBEN, N., 1987, Vitamin E, *Veterinary Record.*, 121, 541-545.

QUENSEN III, J.F., STEPHEN, A.B., JAMES, M.T., 1990, Dechlorination of Four Commercial Polychlorinated Biphenyl Mixtures (Aroclors) by Anaerobic Microorganisms from Sediments, *Applied And Environmental Microbiology*, 56(8), 2360-2369.

RAYCHOUDHURY, S.S., FLOWERS, A.F., MILETTE, C.F., FINLAY, M.F., 2000, Toxic effects of polychlorinated biphenyls on cultured rat Sertoli cells, *Journal of Andrology*, 21, 964-973.

RICE, D., ve KENDY, S., 1988, Vitamin E: Punction and Effects of Deficiency. *Br. Vet. J.*, 144, 482-496.

RICHARDSON, J.R., MILLER, G.W., 2004, Acute exposure to aroclor 1016 or 1260 differentially affects dopamine transporter and vesicular monoamine transporter 2 levels, *Toxicology Letters*, 148, 29-40.

ROGAN, W.J. ve GLADEN, B.C., 1992, Neurotoxicology of PCBs and related compounds, *Neurological Toxicology*, 13, 27-36.

ROMMERTS, F.F.G., 2004, *Testosterone: an overview of biosynthesis, transport, metabolism and non-genomic actions*, Testosterone Action Deficiency Substitution, Cambridge University Press, The Edinburgh Building, Cambridge, pp. 1-37.

RUSSELL, S.T., WYKE, S.M., TISDALE, M.J., 2006, Mechanism of induction of muscle protein degradation by angiotensin II. *Cell Signaling* 18, 1087–1096.

SAEZ, J.M., 1994, Leydig cells: Endocrine, paracrine and autocrine regulation, *Endocrine Reviews*, 15(5), 574-626.

SAFE, S., 1994, Polychlorinated bipheyls (PCBs): Environmental impact, biochemical and toxic responses and implications for risk assessment, *Critical Reviews Toxicology*, 24, 87– 149.

SAFE, S., 2002, Environmental estrogens: roles in male reproductive tract problems and in breast cancer, *Reviews on Environmental Health*, 17, 253-262.

SAFE, S. ve WORMKE, M., 2003, Inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor α cross-talk and mechanisms of action *Chemical Research in Toxicology*, 16, 807-16

SANCHEZ, E., SANTIAGO, F., LOPEZ-APARICIO, P., RECIO, M.A., PEREZ-ALBARSANZ, M.A., 2000, Selective fatty acid release from intracellular phospholipids caused by PCBs in rat renal tubular cell cultures, *Chemico-Biological Interactions*, 125, 117-131.

SANCHEZ-ALONSO, J.A., LOPEZ-APARICIO, P., RECIO, M.N., PEREZ-ALBARSANZ, M.A., 2003, Apoptosis-mediated neurotoxic potential of a planar (PCB 77) and a nonplanar (PCB 153) polychlorinated biphenyl congeners in neuronal cell cultures, *Toxicology Letters*, 144, 337-349.

SANDAL, S., YILMAZ, B., CARPENTER, D.O., 2008, Genotoxic effects of PCB 52 and PCB 77 on cultured human peripheral lymphocytes, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 654, 88-92.

SANTIAGO, M.F., PEREZ-REYES, P.L., APARICIO, P.L., RECIO, M.N., PEREZ-ALBARSANZ, M.A., 2006, Differential effects of PCBs on the induction of apoptosis machinery and PKC α translocation in rat renal tubular cell cultures, *Toxicology Letters*, 163, 91-100.

SAWYER, C.N., P.L. MCCARTY, G.F. PARKIN, 1994, *Chemistry for Environmental Engineering*, McGraw-Hill, Inc.

SCHILDERMAN, P.A.E.L., MAAS, L.M., PACHEN, D.M.F.A., DE KOK, T.M.C.M., KLEÏNJANS, J.C.S., VAN SCHOOTEN, F.J., 2000, Induction of DNA adducts by several polychlorinated biphenyls. *Environmental Molecular Mutagenesis* 36(2), 79–86.

SCHRADER, J.T. ve COOKE, M.G., 2003, Effects of Aroclors and individual PCB congeners on activation of the human androgen receptor in vitro, *Reproductive Toxicology*, 17, 15-23.

SCOTT, M.L., 1969, *Studies on vitamin E and related factors in nutrition and metabolism*. In: Deluca, The fat soluble vitamins, University of Wisconsin Press, Madison, pp.355-368.

SENTHILKUMAR, J., BANUDEVI, S., SHARMILA, M., MURUGESAN, P., SRINIVASAN, N., BALASUBRAMANIAN, K., ARULDHAS, M.M., ARUNAKARAN, J., 2004, Effects of Vitamin C and E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells, *Reproductive Toxicology*, 19, 201–208.

SEYRAN, A. ve ERİŞİR, M., 2008, Poliklorlu bifeniller ve sağlık üzerine etkileri, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 22 (1), 33-40.

SHAIN, W., OVERMANN, S.R., WILSON, L.R., KOSTAS J., BUSH B. 1986, A congener analysis of polychlorinated biphenyls accumulating in rat pups after perinatal exposure, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 15, 687–707.

SHARPE, R.M. VE SKAKKEBAEK, N.E., 1993, Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract, *Lancet*, 341, 1392–1395.

SHIN, K.J., BAE, S.S., HWANG, Y.A., SEO, J.K., RYU, S.H., SUH, P.G., 2000, 2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl induces apoptosis in human monocytic cells, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 169, 1-7.

SIDDONS, R.C. ve MILLS, C.F.,N, 1981, Glutathione peroxidase activity and erythrocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status?, *Brit. J. Nutr.*, 46, 345-355.

SILBERHORN, E.M., GLAURET, H.P., ROBERTSON, L.W., 1990, Carcinogenicity of polyhalogenated biphenyls: PCBs and PBBs, *CRC critical reviews of toxicology*, 20, 439-496.

SIMONE, R., ve PALOZZA, P., 2008, *Antioxidant activity of tocotrienols in cells and serum*, Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols, CRC Press, 99-106.

SINHA, A.K., 1972, Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47, 389-394.

SIPKA, S., EUM, S.Y., SON, K.W., XU, S., GAVALAS, V.G., HENNIG, B., TOBOREK, M., 2008, Oral administration of PCBs induces proinflammatory and prometastatic responses, *Environmental Toxicology Pharmacology*, 25, 251-259.

SKERFVING, S., SVENSSON, B.G., ASPLUND, L., HAGMAR, L., 1994, Exposure to mixture and congeners of polychlorinated biphenyls, *Clinical Chemistry*, 40, 1409-1415

SPINK, DC, LINCOLN, DW, DICKERMAN, HW., GIERTHY, JF., 1990, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes an extensive alteration of 17 β -estradiol metabolism

in human breast cancer cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 6917-6921.

SRIDHAR, M., VENKATARAMAN, P., SIVA, D., ARUN KUMAR, A., ARULDHAS, M.M., SRINIVASAN, N., 2004, Impact of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) and vitamin C on antioxidant system of rat ventral prostate, *Asian Journal of Andrology*, 6, 19–22.

STENBERG, M. ve ANDERSSON, P.L., 2008, Selection of non-dioxin-like PCBs for in vitro testing on the basis of environmental abundance and molecular structure, *Chemosphere*, 71: 1909-1915.

STOCCO, D.M. ve CLARK, B.J., 1996, Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis, *Biochemical Toxicology*, 51(3), 197-205.

ŞİMŞEK, F., 1999, Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar Velipit Peroksidasyonu, *Pediatric Dergisi*, 8(1), 42-47.

TAKACS, P., KAUMA, S. W., SHOLLEY, M. M., WALSH, S. W., DINSMOOR, M. J., GREEN, K., 2001, Increased circulating lipid peroxides in severe preeclampsia activate NF-kappaB and upregulate ICAM-1 in vascular endothelial cells. *FASEB J* 15, 279–281.

TAN, Y., LI, D., SONG, R., LAWRENCE, D., CARPENTER, D.O., 2003, Ortho-substituted PCB's kill thymocytes, *Toxicological Sciences*, 76, 328-337.

TWAROSKI, L.W., O'BRIEN, M.L., LARMONIER, N., GLAURET, H.P., ROBERTSON, L.W., 2001a, Polychlorinated biphenyls-induced effects of metabolic enzymes. Ap-1 binding, vitamin E and oxidative stress in the rat liver, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 171, 85-93.

TWAROSKI, L.W., O'BRIEN, M.L., LARMONIER, N., GLAURET, H.P., ROBERTSON, L.W., 2001b, Polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on hepatic glutathione, glutathione-related enzymes and selenium status: implications for oxidative stress, *Biochemical Pharmacology*, 62, 273-278.

ULREY, D.E., 1981, Vitamin E for swine, *Journal of Animal Science*, 53(4), 1039-1055.

VARANDA, W.A. ve DE CARVALHO, A.C., 1994, Intercellular communication between mouse Leydig cell, *American Journal of Physiology*, 267(2 pt 1), C563-569.

VENKATARAMAN, P., KRISHNAMOORTHY, G., VENGATESH, G., SRINIVASAN, N., ARULDHAS, M.M., ARUNAKARAN, J., 2008, Protective role of melatonin on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress and changes in acetylcholine esterase and membrane bound ATPases in cerebellum, cerebral cortex and hippocampus of adult rat brain, *International Journal of Developmental Neuroscience*, 26, 585-591.

WAKUI, S., TAKAGI, F., MUTO, T., YOKOO, K., HIRONO, S., KOBAYASHI, Y., SHITORA, K., AKAHORI, F., SUZUKI, Y., HANO, H., ENDOU, H., KANAI, Y., 2007, Spermatogenesis in aged rats after prenatal 3,3', 4,4', 5-pentachlorobiphenyl exposure, *Toxicology*, 238, 186-191.

WAALKENS-BERENDSEN, I.D.H., PROOIJJE, A.E.S.-V., BOUWMAN, C.A., VAN DEN BERG, M., SNOEIJ, N.J., 1996, Reproductive effects in F1-generation rats perinatally exposed to PCB126, PCB 118, PCB 153 OR 2,3,4,7,8-PnCDF, *Toxicology Letters*, 88 Supplement 1, 64.

WHO, 1993, Polychlorinated biphenyls and terphenyls (Second Edition), *Environmental Health Criteria*, Geneva, 140.

WOODHOUSE, A.J. ve COOKE, G.M., 2004, Suppression of aromatase activity in vitro by PCBs 28 and 105 and aroclor 1221, *Toxicology Letters*, 152, 91-100.

YEO, H.G., CHOI, M.Y., CHUN, T.W., KIM, K.C., CHO, Y., SUNWOO, 2004. Concentration characteristics of atmospheric PCBs for urban and rural area, *Korea Science of the Total Environment*, 324, 261-270.

YILMAZ, B., SANDAL, S., CHEN, C.H., CARPENTER, D.O., 2006, Effects of PCB 52 and PCB 77 on cell viability, [Calcium]_i levels and membrane fluidity in mouse thymocytes, *Toxicology*, 217, 184-193.

YILMAZ, B., SANDAL, S., CARPENTER, D.O., 2010, PCB 9 exposure induces endothelial cell death while increasing intracellular calcium and ROS levels, *Environmental Toxicology*, DOI: 10.1002/tox.20676.

YOO, B.S., JUNG, K.H., HANA, S.B., KIM, H.M., 1997, Apoptosis-mediated immunotoxicity of polychlorinated biphenyls (PCB's) in murine splenocytes, *Toxicology Letters*, 91, 83-89.

YOON, K., PALLARONI, L., STONER, M., GAIDO, K., SAFE, S., 2001, Differential activation of wild-type and variant forms of estrogen receptor alpha by synthetic and natural estrogenic compounds using a promoter containing three estrogen-responsive elements. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 78, 25-32.

ZHANG, J., LIANG, J., ZHU, H., LI, C., WU, Q., 2011, PFOS and PCB 153 Have Direct Adverse Effects on Neonatal Testis Modeled Using a Coculture of Primary Gonocyte and Sertoli Cells, *Environmental :Toxicology*, DOI 10.1002/tox.

ZIELINSKI, H., 2009, *Tocotrienols: Distribution and Sources Cereals—Role in Human Health*, Tocotrienols Vitamin E Beyond Tocopherols, CRC Press, New york, 23-42.

7. EKLER

Tablo 7.1. Çeşitli ticari PCB karışımlarındaki PCB'lerin bulunma oranları (Hansen, 1999).

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
1	35.80	15.53	0.54	0.04	0.00	0.02	0.03
2	3.81	1.96	0.03	0	0	0	0
3	20.44	10.28	0.18	0.01	0.00	0.00	0.00
4	6.19	5.35	3.08	0.18	0.06	0.02	0.05
5	0.74	0.49	0.14	0.002	0	0.000	0
6	3.82	3.01	1.43	0.07	0.02	0.01	0.02
7	1.70	1.11	0.26	0.009	0	0	0
8	12.34	10.71	7.05	0.53	0.13	0.04	0.11
9	1.74	1.27	0.50	0.02	0	0	0.001
10	0.80	0.59	0.20	0	0	0	0
11	0.16	0	0	0	0	0	0
12	0.59	0.35	0.06	0	0	0	0
13	1.12	0.72	0.22	0.009	0	0	0
14	0.001	0.012	0	0	0	0	0
15	4.18	3.21	2.10	0.14	0.03	0.01	0.03
16	0.31	1.79	3.14	0.88	0.09	0.01	0.05
17	0.34	1.83	3.13	0.99	0.08	0.02	0.05
18	0.78	4.86	8.53	3.79	0.25	0.05	0.15
19	0.08	0.46	0.80	0.18	0.00	0.00	0.01
20	0.07	0.42	0.72	0.11	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0
22	0.26	1.62	2.84	1.35	0.04	0.01	0.05
23	0	0.006	0.011	0.002	0	0	0
24	0.02	0.08	0.13	0.00	0	0	0
25	0.09	0.37	0.59	0.07	0	0	0.01
26	0.13	0.75	1.28	0.31	0.035	0.004	0.02
27	0.05	0.12	0.41	0.10	0	0	0.004
28	0.62	3.91	6.86	4.58	0.19	0.03	0.11
29	0.013	0.053	0.081	0.007	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
31	0.60	4.14	7.34	5.27	0.28	0.04	0.12
32	0.17	1.07	1.90	0.90	0.05	0.01	0.03
33	0.48	2.86	5.01	2.12	0.16	0.03	0.10

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
34	0.000	0.013	0.025	0.004	0	0	0
35	0.010	0.051	0.076	0.002	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0
37	0.19	1.13	2.03	0.87	0.07	0.01	0.03
38	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0
40	0.04	0.38	0.76	1.03	0.12	0.00	0.01
41	0.03	0.35	0.68	0.76	0.01	0.00	0.01
42	0.09	0.68	1.19	1.73	0.15	0.01	0.02
43	0	0.10	0.18	0.24	0	0	0
44	0.21	1.81	3.55	5.70	2.31	0.035	0.079
45	0.04	0.46	0.89	1.00	0.05	0.003	0.007
46	0.02	0.19	0.36	0.43	0	0.001	0.001
47	0.05	0.49	0.93	1.95	0.14	0.003	0.011
48	0.06	0.61	1.18	1.60	0.12	0.003	0.011
49	0.15	1.36	2.53	4.15	1.10	0.014	0.058
50	0	0	0.005	0	0	0	0
51	0.01	0.12	0.23	0.31	0	0	0
52	0.22	1.84	3.53	6.25	5.38	0.24	0.14
53	0.04	0.37	0.71	0.96	0.12	0.00	0.01
54	0	0.002	0.008	0.004	0	0	0
55	0	0.049	0.099	0.055	0	0	0
56	0.12	0.92	1.81	3.18	0.55	0.02	0.03
57	0	0.009	0.019	0.023	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	0
59	0.01	0.18	0.32	0.30	0.02	0.00	0.00
60	0.07	0.60	1.18	2.26	0.18	0.04	0.02
61	0	0	0	0	0	0	0
62	0	0	0	0	0	0	0
63	0.01	0.10	0.12	0.18	0.02	0	0
64	0.10	0.87	1.70	3.17	0.59	0.01	0.03
65	0	0	0	0	0	0	0
66	0.21	1.73	3.39	6.53	1.01	0.02	0.06
67	0.01	0.08	0.16	0.11	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0
69	0	0	0	0	0	0	0

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
70	0.24	1.90	3.73	7.34	3.49	0.04	0.10
71	0.06	0.54	1.03	1.77	0.15	0.01	0.01
72	0	0.001	0.012	0.015	0	0	0
73	0	0	0.001	0	0	0	0
74	0.12	0.92	1.81	3.91	0.84	0.05	0.05
75	0	0.023	0.042	0.08	0	0	0
76	0.01	0	0.08	0.13	0.02	0	0
77	0.01	0.16	0.31	0.47	0.03	0	0
78	0	0	0	0	0	0	0
79	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0.004	0.011	0.017	0	0	0
81	0.00	0.12	0.26	0.72	1.11	0	0
82	0	0.04	0.11	0.23	0.48	0.01	0.00
83	0.02	0.19	0.41	1.09	2.32	0.11	0.04
84	0.03	0.17	0	1.06	1.28	0.01	0.02
85	0	0.013	0	0.098	0.060	0	0
86	0.04	0.22	0.46	1.28	3.99	0.41	0.11
87	0	0	0	0.02	0	0	0
88	0	0.05	0.08	0.185	0.09	0	0
89	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0.10	0.21	0.59	0.93	0.01	0.01
91	0.02	0.05	0.09	0.31	1.29	0.30	0.08
92	0	0	0	0.032	0	0	0
93	0	0	0.01	0.027	0.024	0	0
94	0.05	0.30	0.61	1.70	6.25	2.45	0.93
95	0	0.01	0.02	0.07	0.04	0	0
96	0.03	0.18	0.38	1.10	2.62	0.09	0.04
97	0	0	0	0	0	0	0
98	0.04	0.21	0.46	1.64	3.02	0.04	0.05
99	0	0	0	0	0	0	0
100	0.07	0.33	0.69	2.05	8.02	3.13	1.13
101	0	0.03	0.07	0.18	0.15	0	0
102	0	0	0	0.01	0.03	0	0
103	0	0	0	0	0	0	0
104	0.05	0.21	0.47	1.53	2.99	0.22	0.09
105	0	0	0	0	0	0	0

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
106	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0.03	0.06	0.16	0.37	0.01	0.01
109	0.05	0.38	0.83	2.76	9.29	1.33	0.39
110	0	0	0	0	0	0	0
111	0	0	0	0	0	0	0
112	0	0	0	0	0	0	0
113	0	0	0	0	0	0	0
114	0	0.02	0.04	0.12	0.18	0.001	0
115	0	0.01	0.04	0.11	0.20	0.001	0
116	0	0	0	0	0	0	0
117	0	0.01	0.03	0.10	0.23	0	0
118	0.08	0.29	0.66	2.32	7.35	0.48	0.15
119	0	0	0	0.06	0.08	0	0
120	0	0	0	0	0	0	0
121	0	0	0	0	0	0	0
122	0	0	0.01	0.06	0.10	0	0
123	0	0	0.03	0.08	0.15	0	0
124	0	0.00	0.03	0.08	0.29	0.007	0.003
125	0	0.01	0.02	0.04	0.02	0	0
126	0	0	0	0.003	0.002	0	0
127	0	0	0	0	0	0	0
128	0	0	0.02	0.10	1.42	0.53	0.19
129	0	0	0.00	0.03	0.60	0.22	0.04
130	0	0	0	0.03	0.60	0.22	0.04
131	0	0	0	0	0.19	0.07	0
132	0	0.02	0.04	0.15	2.29	2.90	1.21
133	0	0	0	0	0.11	0.07	0.04
134	0	0	0	0.01	0.37	0.34	0.13
135	0	0	0	0.04	0.61	1.08	0.66
136	0	0.003	0.001	0.05	0.70	1.46	1.00
137	0	0	0	0.03	0.42	0.02	0.01
138	0	0.06	0.10	0.39	5.80	6.54	2.74
139	0	0	0	0	0.15	0	0
140	0	0	0.01	0.08	0.98	2.62	1.66
141	0	0	0	0	0	0	0

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
142	0	0	0	0	0	0	0
143	0	0	0	0	0	0	0
144	0	0	0	0.01	0.24	0.61	0.41
145	0	0	0	0	0	0	0
146	0	0	0	0.04	0.67	1.15	0.59
147	0	0	0	0	0.102	0	0
148	0	0	0	0	0	0	0
149	0	0.05	0.06	0.29	3.65	8.75	6.40
150	0	0	0	0	0	0	0
151	0	0.01	0.00	0.06	0.69	3.04	2.97
152	0	0	0	0	0	0	0
153	0.0015	0.05	0.06	0.33	3.77	9.39	7.10
154	0	0	0	0	0.04	0	0
155	0	0	0	0	0	0	0
156	0	0	0.01	0.05	0.82	0.52	0.16
157	0	0	0	0.01	0.19	0.02	0.00
158	0	0	0.011	0.04	0.81	0.58	0.20
159	0	0	0	0	0	0	0
160	0	0	0	0	0	0	0
161	0	0	0	0	0	0	0
162	0	0	0	0	0	0	0
163	0	0.015	0.010	0.07	1.03	2.42	1.52
164	0	0	0.001	0.02	0.40	0.69	0.27
165	0	0	0	0	0	0	0
166	0	0	0	0	0.05	0	0
167	0	0	0	0.01	0.27	0.19	0.03
168	0	0	0	0	0	0	0
169	0	0	0	0	0.05	0	0
170	0	0	0	0.04	0.52	4.11	3.26
171	0	0	0	0	0.14	1.11	0.87
172	0	0	0	0	0.07	0.70	0.62
173	0	0	0	0	0	0.10	0.04
174	0	0	0	0.04	0.34	4.96	6.33
175	0	0	0	0	0	0.17	0.18
176	0	0	0	0	0.04	0.59	0.70
177	0	0	0	0.02	0.20	2.57	2.77

PCB	A1221	A1232	A1242	A1248	A1254	A1260	A1262
178	0	0	0	0	0.03	0.83	1.21
179	0	0	0	0.01	0.10	2.03	3.33
180	0	0.02	0.00	0.11	0.67	11.38	14.13
181	0	0	0	0	0	0.01	0
182	0	0	0	0.03	0.18	2.41	2.88
183	0	0	0	0	0	0	0
184	0	0	0	0	0	0	0
185	0	0	0	0	0	0.55	0.87
186	0	0.01	0	0.04	0.25	5.40	9.15
187	0	0	0	0	0.01	0.10	0.04
188	0	0	0	0	0	0	0
189	0	0	0	0	0.01	0.10	0.04
190	0	0	0	0	0.07	0.82	0.76
191	0	0	0	0	0	0.17	0.13
192	0	0	0	0	0	0	0
193	0	0	0	0	0.03	0.53	0.66
194	0	0	0	0	0.01	2.07	4.06
195	0	0	0	0	0	0.84	1.43
196	0	0	0	0	0	1.09	2.26
197	0	0	0	0	0	0.07	0.13
198	0	0	0	0	0	0.10	0.23
199	0	0	0	0	0.01	1.78	4.74
200	0	0	0	0	0	0.25	0.65
201	0	0	0	0	0	0.24	0.62
202	0	0	0	0	0	0.33	1.08
203	0	0	0	0	0.02	1.40	4.24
204	0	0	0	0	0	0	0
205	0	0	0	0	0	0.10	0.17
206	0	0	0	0	0.03	0.53	1.26
207	0	0	0	0	0	0.05	0.17
208	0	0	0	0	0.01	0.13	0.28

ÖZGEÇMİŞ

20 Mart 1981’de İstanbul’da doğdum. Öğrenim hayatıma 1987 yılında Cengiz Topel İlkokulu’nda başladım. İlkokula 1989-1992 yılları arasında Yeşilova İlkokulu’nda devam ettim. 1992-1995 yılları arasında Sefaköy Lisesi’nde Ortaokula devam ettim. 1995-1998 yılında Sefaköy Lisesi’nde lise bölümüne devam ettim ve 1998 yılında mezun oldum. 1998 yılında İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde Lisans öğrenimime başladım. 2002 Haziran ayında İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü’ndeki lisans eğitimini tamamladım. 2002 Eylül ayında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji Programı’nda yüksek lisans eğitimine başladım. 2006 Temmuz ayında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji Programı’nda yüksek lisans eğitimimi tamamlayarak aynı yıl Eylül ayında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji Programı’nda doktora eğitimime başladım.