

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİSFENOL S'İN ERKEK RATLARDA ADRENAL BEZ ÜZERİNDEKİ
TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevnur ÖZCAN
Danışman: Prof. Dr. Burak KAPTANER

VAN – 2024

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİSFENOL S'NİN ERKEK RATLARDA ADRENAL BEZ ÜZERİNDEKİ
TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevnur ÖZCAN

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Burak KAPTANER (Danışman)

Doç. Dr. Can YILMAZ (Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Buket BAKAN (Üye)

VAN – 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Burak KAPTANER danışmanlığında, Sevnur ÖZCAN tarafından sunulan “Bisfenol S’nin Erkek Ratlarda Adrenal Bez Üzerindeki Toksik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili hükümleri gereğince 07/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği /~~oy~~ ~~çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Burak KAPTANER

İmza:

Üye: Doç. Dr. Can YILMAZ

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Buket BAKAN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun /.... /..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sevnur ÖZCAN

ÖZET

BİSFENOL S'NİN ERKEK RATLARDA ADRENAL BEZ ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZCAN, Sevnur

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Burak KAPTANER

Haziran 2024, 49 sayfa

Bu çalışmada, polikarbonat plastikler ve epoksi reçinelerin üretiminde bisfenol A'nın yerine bir alternatif olarak tercih edilen bisfenol S (BPS)'nin, erkek Wistar albino ratların adrenal bezi üzerindeki toksik etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda 28 adet erişkin erkek rat, rastgele olarak her birinde 7 hayvan olacak şekilde, 4 gruba ayrıldı. Grup I'deki hayvanlara oral gavaj ile günlük olarak çeşme suyu verildi. Grup II'deki hayvanlara oral olarak test kimyasalının çözündüğü bir vehikül (etanol-zetinyası karışımı) verildi. Grup III ile IV'deki hayvanlara ise sırasıyla; BPS'nin 5 ve 20 mg/kg/vücut ağırlığı dozları, oral gavaj ile günlük olarak uygulandı. Bütün uygulamalar, 28 gün sonunda sonlandırıldı. Daha sonra ratların adrenal bezleri çıkartıldı ve bazı antioksidan savunma sistem göstergelerinin (malondialdehit (MDA) düzeyi, glutatyon S-transeraz (GST) aktivitesi ve redükte glutatyon (GSH)) analizleri ile histopatolojik incelemeler, gerçekleştirildi. BPS'nin adrenal bezdeki MDA düzeyinde anlamlı artışlara neden olduğu bulundu ve GST aktivitesini en yüksek dozda azalttığı belirlendi. Bununla birlikte, adrenal bez GSH düzeyinin BPS maruziyeti sonrasında, anlamlı değişimler göstermediği bulundu. BPS'nin adrenal korteksin zona fasikulata tabakası hücrelerinde vakuolizasyon artışı ile vakuolar dejenerasyona sebep olduğu gözlemlendi. Bu çalışmadan elde edilen veriler, BPS'nin adrenal bezde oksidatif stresi uyarabildiğini ve yapısal değişikliğe neden olabildiğini göstermektedir. BPS'nin böbreküstü bezi üzerindeki olumsuz etkileri ve bu etkiler ile ilişkili olarak ortaya çıkacak muhtemel sağlık problemleri göz önünde tutularak, tüketici ürünlerindeki kullanımından kaçınılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Adrenal bez, Bisfenol S, GST, Histopatoloji, Oksidatif stres

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE TOXIC EFFECTS OF BISPHENOL S ON THE ADRENAL GLAND IN MALE RATS

ÖZCAN, Sevnur

M.Sc. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Burak KAPTANER

June 2024, 49 pages

In this study, it was aimed to examine toxic effects of bisphenol S (BPS), which is preferred as an alternative instead of bisphenol A in the production of polycarbonate plastics and epoxy resins, on the adrenal glands of male Wistar albino rats. Toward this aim, 28 adult male rats were randomly divided into 4 groups with 7 in each. Group I was given tap water daily via oral gavage. Group II was orally administrated a vehicle (ethanol-olive oil mixture) in which the test chemical was dissolved. Groups III and IV were administrated BPS at doses of 5 and 20 mg/kg of body weight (bw)/day via oral gavage, respectively. All of the treatments were terminated after 28 days. Following this, the adrenal glands were removed and analyses of some antioxidant defense system indicators (malondialdehyde (MDA) level, glutathione S-transferase (GST) activity, and reduced glutathione (GSH) content) and histopathological examinations were performed. The BPS caused significant increases in the MDA level of the adrenal gland and reduced the GST activity at the highest dose. However, the GSH level of the adrenal gland did not show significant changes after exposure to BPS. The BPS caused increased vacuolization and vacuolar degeneration in the zona fasciculata layer cells of the adrenal cortex. The data obtained showed that BPS could induce oxidative stress and cause structural changes in the adrenal gland. The utilization of the BPS in consumer products should be avoided considering the negative effects that it has on the adrenal gland and the possible health problems associated with those impacts.

Keywords: Adrenal gland, Bisphenol S, Histopathology, GST activity, Oxidative stress

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesi sırasında bilgilerini benimle paylaşan ve bana zamanını ayıran kıymetli hocam Prof. Dr. Burak KAPTANER'e ve laboratuvar çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan fedakar arkadaşım Handan AYKUT'a, minnet duygularımı ifade ederek, teşekkürlerimi borç bilirim. Tez yazım sürecinde bana destek olan değerli arkadaşlarım, Hilal KARABULUT'a, Emre KARA'ya ve Sudenur KELEŞ'e teşekkür ederim. Hayatımın her evresinde yanımda olan aileme ise teşekkürü borç bilirim. Bu çalışma sırasında gösterdikleri yardımlardan dolayı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün akademik ve idari personeli ile ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi personeli Orhan ASLAN'a ayrıca teşekkür ederim.

2024

Sevnur ÖZCAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	3
2.1. Adrenal Bezin Fonksiyonel Anatomisi.....	3
2.2. Adrenal Bezin Kan Desteği.....	4
2.3. Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Korteks Aksı	4
2.4. Adrenal Korteks Steroidleri ve Bunların Biyosentezi	6
2.5. Adrenal Medulla Hormonlarının Sentez ve Salınımı	7
2.6. Adrenal Bezin Toksik Maddelere Olan Hassasiyeti.....	8
2.7. Klinik Olmayan Güvenilirlik Çalışmalarında Adrenal Bez Toksisitesi İçin Pratik Yaklaşımlar	9
2.8. Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Adrenal Bez Üzerindeki Etkileri.....	10
2.9. Bir Endokrin Bozucu Olarak Bisfenol A ve Adrenal Bez Üzerindeki Etkileri ..	13
2.10. Bir BPA Analogu Olarak BPS	15
2.11. Çalışmanın Amacı	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Deney Hayvanı	19
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	19
3.3. DeneySEL Dizayn.....	20
3.4. Doku Örneklerinin Alınması.....	21
3.5. Antioksidan Savunma Sistemi Göstergelerinin Tayini	21
3.5.1. Doku Homojenizasyonu	21
3.5.2. Total Protein Tayini	22

3.5.3. Malondialdehit Düzeyi Tayini	23
3.5.4. Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesi Tayini	25
3.5.5. Redükte Glutasyon Tayini	26
3.6. Histolojik Prosedürler	27
3.7. İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. BPS'nin Adrenal Bezdeki MDA Düzeyi, GST Aktivitesi ve GSH İçeriği Üzerindeki Etkisi.....	29
4.2. Histolojik Değişimler	31
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	39
ÖZ GEÇMİŞ.....	47

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazların listesi	19
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasalların listesi	20
Çizelge 3.3 MDA ölçümünde küvete pipetlenen bileşenler, miktarları ve ölçüm prosedürü.....	24
Çizelge 3.4 GST aktivitesi ölçümünde küvete pipetlenen bileşenlerin miktar ve konsantrasyonları.....	26
Çizelge 4.1 BPS maruziyeti sonrasında adrenal korteksin Zf tabakasında belirlenen histopatolojik değişimlerin belirlendiği rat sayıları ve bunlara ait skorlar	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Adrenal bezin kan desteği.....	5
Şekil 3.1 Protein standart eğrisi	23
Şekil 3.2 1,1,3,3-tetraetoksipropan standartlarından türetilen standart eğri.....	24
Şekil 3. 3 GSH standart eğrisi	27
Şekil 4.1 BPS'nin adrenal bezdeki MDA düzeyi üzerindeki etkisi.....	29
Şekil 4.2 BPS'nin adrenal bezdeki GST aktivitesi üzerindeki etkisi.....	30
Şekil 4. 3 BPS'nin adrenal bezdeki GSH içeriği üzerindeki etkisi.....	30
Şekil 4.4 Kontrol grubuna bir bireyde adrenal bezin histolojik kısımlarına ait genel bir görüntü.....	32
Şekil 4.5 Kontrol grupları (A, B) ve BPS uygulanan gruplarda (C, D) adrenal bezin korteksinde Zf tabakasına ait histolojik görüntüler	32



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
ΔA	Absorbans değişimi
λ	Dalga boyu
A	Absorbans
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
g	Santrifüj kuvveti
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
mM	Milimolar
n	Birey sayısı
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
P	İstatistiksel önem derecesi
pH	Bir çözeltinin asitlik-bazlık derecesini gösteren ölçü birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
sn	Saniye
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
μmol	Mikromol

Simgeler	Açıklama
v	Hacim
v/v	Hacimce Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ANOVA	Varyans Analizi
BPA	Bisfonel A
BPF	Bisfenol F
BPS	Bisfenol S
BSA	Sığır Serum Albümin
CAT	Katalaz
CDNB	1-Kloro-2,4-Dinitrobenzen
DMBA	7,12-dimetilbenz(a)antrasen
DOPA	Dihidroksifenilalanin
DTNB	5,5'-Ditiyobis-2-Nitrobenzoik Asit
FeSO₄	Demir Sülfat
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Redükte Glutasyon
GST	Glutasyon-S-Transferaz
HCl	Hidroklorik Asit
H & E	Hematoksilen ve Eozin
MDA	Malondialdehit
PBS	Fosfat Tuz Tamponu
PNMT	Feniletanolamin-N-Metiltransferaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TCA	Triklor Asetik Asit

v.a.	Vücut Ağırlığı
Zf	Zona Fasikulata
Zg	Zona Glomerulosa
Zr	Zona Retikularis





1. GİRİŞ

Endokrin bozucu kimyasalların insan patofizyolojisindeki rolleri son yıllarda oldukça dikkat çekici bir hal almıştır. Bu kimyasalların endokrin sistem üzerindeki etkilerinin aydınlatılmasına yönelik literatürde çok sayıda çalışma yer almakta ve yeni çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Birleşik Devletler Koruma Ajansı endokrin bozucu bir kimyasal, endojen hormonların sentezlerini, sekresyonlarını, taşınmalarını, metabolize edilmelerini, reseptöre bağlanmalarını ve elimine edilmelerini engelleyebilen ve endokrin sistemler ile homeostatik sistemlerde değişikliğe yol açabilme gücüne sahip, ekzojen bir bileşik olarak tanımlamaktadır. Bu kimyasallar orijinlerine göre, endüstriyel (örneğin; dioksinler, poliklorlu bifeniller ve alkilfenoller), zirai (pestisitler, insektisitler, herbisitler, fitoösterojenler ve fungusitler), evsel (fitalatlar, polibromlu bifeniller, bisfenol A (BPA)) ve farmasötik (parabenler) olmak üzere gruplandırılmaktadırlar. Ek olarak, kadmiyum, kurşun, civa ve arsenik gibi ağır metaller de oldukça uzun olan endokrin bozucular listesine dahil edilebilmektedir (Lauretta vd., 2019).

BPA, bisfenol ailesine ait iyi bilinen bir bileşiktir. Çok sayıda tüketici ürününde bir monomer olarak bulunan, polikarbonat plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılan bu bileşiğin, endokrin bozucu yönü iyi bir şekilde ortaya konulmuştur. İnsanlarda yapılan biyo-izleme çalışmalarında BPA'nın kan, plazma, serum ve doku örnekleri ile idrar örneklerinde belirlenebildiği ve insanlarda gelişimsel, üreme ve bağışıklık sistemi ile ilgili, kardiyovasküler, metabolik (diyabet) problemler ile hormon bağımlı kanserlere neden olabileceği ifade edilmiştir (Andújar vd., 2019; Mustieles vd., 2020). Yol açtığı sağlık sorunları nedeniyle bazı ülkelerde BPA kullanımına, sınırlamalar ve yasaklamalar getirilmiştir. Bu nedenle, üretim aşamasında BPA'nın yer aldığı ürünlerde, BPA'ya alternatif olarak, bisfenol F (BPF) ve bisfenol S (BPS) gibi BPA türevleri tercih edilmeye başlanmıştır (Sur vd., 2017). Bununla birlikte, BPF, BPS, bisfenol B, bisfenol AF, bisfenol AP, bisfenol Z gibi birçok BPA analogunun da BPA'ya benzer şekilde östrojenik aktivite gösterebildikleri, toksik etkilere sahip oldukları ve nörodavranışsal bozukluklara yol açabildikleri bildirilmiştir (İyigündoğdu vd., 2020; Mustieles vd., 2020).

Adrenal bez, gelişim, immun fonksiyon, enflamasyon, su-elektrolit dengesi ve karbohidrat ile protein metabolizması gibi önemli fizyolojik süreçleri etkileyen ve bu süreçler aracılığıyla, karaciğer, böbrek, kalp, kemik dokusu ve sinir sistemi gibi önemli doku, organ ve sistemlerin işlevlerini tamamlayan önemli bir endokrin bezdir (Harvey, 2010). Bu endokrin organ, toksik maddelere ve endokrin bozucu kimyasallara karşı da oldukça hassastır (Ribelin, 1984; Egalini vd., 2022). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar BPA'nın bu bezin yapı ve fonksiyonunda olumsuz etkilere neden olabildiği bildirilmiştir (Panagiotidou vd., 2014; Dawood, 2016; Olukole vd., 2019). Öte yandan, BPA analoglarının adrenal bez üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduklarına dair yapılmış olan deneysel çalışma sayısı oldukça azdır (Kaptaner vd., 2024). Bu nedenle bu çalışmada, bir BPA analogu olan ve BPA'nın yerine bir alternatif olarak tercih edilen BPS'nin erkek ratların adrenal bezi üzerindeki negatif etkisinin, histolojik değişim ve oksidatif stres göstergeleri (doku malondialdehit düzeyi, redükte glutatyon içeriği ve glutatyon S-tranferaz aktivitesi) kullanılarak, araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1 Adrenal Bezin Fonksiyonel Anatomisi

Adrenal bez memelilerde, her biri böbreğin anteryör kutbuna bitişik olarak konumlanan, bir çift organdır. Bez embriyonik ve fonksiyonel olarak iki ayrı endokrin dokudan oluşur. Bunlardan birincisi, mezodermden köken alan ve kolesterol türevli steroid hormonları salgılayan, adrenal kortekstir. İkincisi ise embriyolojik olarak nöral krestten köken alan ve tirozin aminoasitinin metabolizması aracılığı ile oluşturulan katekolaminleri salgılandığı, adrenal medulladır (Inomata ve Sasano, 2015).

Adrenal korteks histolojik olarak üç farklı tabakadan meydana gelir. Bu tabakalardan zona glomerulosa (Zg) en dış tabakadır ve bezi çevreleyen ince fibröz kapsülün altında yerleşim gösterir. Tabaka, kolumnar hücrelerin kemer veya yay şeklinde sıralandığı ince bir alanı oluşturur. Zg, bir mineralokortikoid hormon olan aldosteronu sentezler. Bu hormon böbreklerden sodyum geri emiliminin hızlandırılmasından ve potasyum atılımının uyarılmasından sorumludur. Dolayısıyla, ekstrasellular sıvı hacminin indirekt olarak düzenlenmesini gerçekleştirir. Bu tabakanın kaybı, yüksek potasyum geri kazanımı ile aşırı sodyum, klor ve su kaybından dolayı ölüm ile sonuçlanabilir. Zona fasikulata (Zf) bütün türlerde korteksin en geniş bölümünü (%70>) oluşturur ve birçok türde benzer bir görünüm sergiler. Bu zonun hücreleri, küçük kapillerler ile ayrılan radyal kordlar şeklinde sıralanırlar. Bol miktarda lipid damlacığı içeren ve polihedral şekilli olan bu hücreler, glukokortikoidler için kaynak teşkil ederler. Korteksin üçüncü tabakasını oluşturan zona retikularis (Zr), medullaya bitişik olan ve en içteki bölümdür. Çok azı düzenli ve birçoğu kümeler halinde sıralanan polihedral hücrelerden oluşur. Zf, glukokortikoidlerin ve bazı türlerde az miktarda cinsiyet steroidlerinin (androjenler, östrojenler ve progestinler) üretimini gerçekleştirir (Rosol vd., 2001; Inomata ve Sasano, 2015).

Adrenal medullanın sekretuar hücreleri kromaffin hücreler olarak isimlendirilir ve bu hücreler katekolaminlerin sentez ve depolanma bölgesini oluştururlar. Bu kısım erişkinlerde üç tip hücreyi içerir; bunlar, epinefrin (adrenalin) hücreleri (%66-75), norepinefrin hücreleri (%25-33) ve küçük granül içeren hücrelerdir. Adrenal medulla bu hücrelere ek olarak, presinaptik sempatik gangliyon hücrelerini de barındırır. Medullada üretilen başlıca katekolaminler, adrenalin (epinefrin) ve daha az oranda noradrenalin

(norepinefrin)'dir. Medullar hücreler bu hormonlara ilaveten metenkefalin, P maddesi, nörotensin, nöropeptid Y ve kromogranin gibi peptidleri de üretir (Rosol vd., 2001).

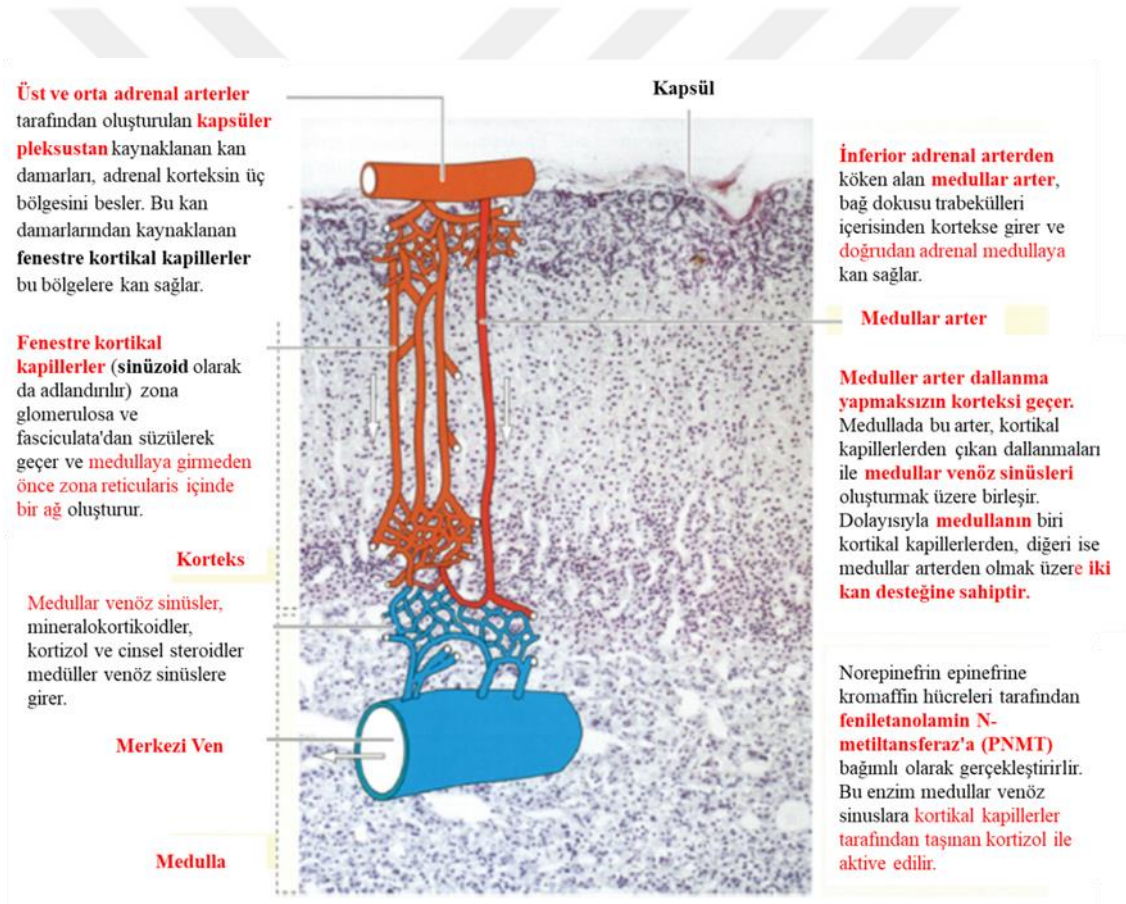
2.2 Adrenal Bezin Kan Desteği

Adrenal bez, boyutuna göre kardiyak debisi büyük olan ve yüksek derecede damarlı bir dokudur. Adrenal bezlere sağlanan arteriyal kan desteği esas olarak dorsal aortdan, subkapsüler sinüzoidal vasküler pleksus oluşturan birkaç küçük arter aracılığı ile sağlanır. Bu pleksustan üç takım dallanma ortaya çıkar. Bunlardan birincisi kapsülü besler. İkincisi kortekse giriş yapar ve Zg ile Zf arasındaki sinuzoidleri oluşturur. Bu sinuzoidler daha sonra Zr'de birleşir ve medullaya girmeden önce kapiller bir ağ oluşturur. Üçüncü arter seti ise herhangi bir dallanma yapmaksızın korteksin bağ dokusu trabekülleri arasından geçen ve sadece medullaya kan desteği sağlayan, medullar arterlerdir. Kan, merkezi bir ven içerisine direne olan geniş medullar sinuzoidler içerisine sentripetal olarak (merkeze doğru) akar. Medullaya sağlanan bu iki taraflı kan desteği, feniletanolamin-N-metiltransferaz aktivasyonu için gerekli olan glukokortikoidlerin yüksek miktardaki transportu ve hızlı stres yanıtı sırasında, medullaya taze kanın sağlanması ile sonuçlanır. Adrenal kan desteğinin bu eşsiz anatomik özellikleri bezin fonksiyonu için önemlidir ancak bezde lezyonların gelişimi açısından ters bir etki meydana getirir. Kan daha sonra medullar venler aracılığı ile adrenal bezi terkeder (Şekil 2.1) (Rosol vd., 2001; Inomata ve Sasano, 2015).

2.3 Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Korteks Aksı

Adrenal korteksten glukokortikoidlerin (insanda, insan olmayan primatlarda ve köpeklerde, kortizol; ratlarda ve farede kortikosteron) salınımı, hipofiz ve hipotalamustan salgılanan hormonlar tarafından kontrol edilir. Adenohipofizde (ön hipofiz) üretilen adrenokortikotropik hormon (ACTH), kan dolaşımına salgılanır ve adrenal beze taşınır. Hormon adrenal bezin Zf bölümünden, glukokortikoidlerin sentezini ve salgılanmasını gerçekleştirir. Hipofiz bezinden ACTH'nın sentez salınımını ise hipotalamusun kortikotropin salıverici hormonu (CRH) tarafından ve arjinin vazopressin tarafından uyarılır. Öte yandan, başka hormonlar da ACTH salınımını etkileyebilirler. Glukokortikoidler ACTH salınımını azaltmak için, hem hipofiz hem de

hipotalamus üzerinde negatif geribildirim üretir ve bu şekilde aksı düzenlerler. ACTH'nin adrenokortikal aktiviteyi kontrol eden başlıca hormon olmasına rağmen, çok sayıda farklı hormon ile biyokimyasal faktörün, adrenal korteksten steroid hormon sentez ve üretimini etkilediği bilinmektedir. Hipotalamus-hipofiz-adrenal korteks aksı (HPA)'nın temel aktivatörü, psikolojik ve fiziksel olabilen, soğuk, egzersiz, anestezi, enfeksiyon durumu, hipoglisemi, kazalar ve toksik hasar gibi stres faktörleridir (kemirgenlerde, kafes/hayvan yatağı bozukluğu, gürültü, uyarılma, ağrı, sinirlendirme, alışık olunmayan ortamlar ve koku da HPA aksının uyarılmasına neden olabilir). ACTH'nin aldosteronu etkileyebilmesi söz konusu olsa da, genel olarak, aldosteronun ACTH'nin kontrolü altında olmadığı düşünülür (Harvey, 2010).



Şekil 2.1 Adrenal bezin kan desteği (Kierszenbaum (2007)'a göre Inomata ve Sasano (2015))

2.4 Adrenal Korteks Steroidleri ve Bunların Biyosentezi

Adrenal korteks üç temel hormon tipini salgılar: Mineralokortikoidler (aldosteron ve deoksikortikosteron), glukokortikoidler (kortizol ve kortikosteron) ve cinsiyet steroidleri (esas olarak androjen öncüleri dehidroepiandrosteron ve androstenedion). Bu kortikosteroidlerden fizyolojik olarak en önemlileri, ekstrasellular sıvılarda Na^+/K^+ dengesini düzenleyen, ayrıca kan basıncı homeostazisini etkileyen, mineralokortikoidlerdir. Glukokortikoidler glukoz homeostazisi, organizmanın stresörlere yanıtı, immun düzenlenme ve diğer önemli fonksiyonlar açısından önemlidirler. Adrenal androjenler, sitokrom P-450-17 (CYP17: hem 17α -hidroksilaz hem de 17, 20-liyaz aktivitelerine sahip olan tek bir enzim) tarafından oluşturulur. CYP17, prenenolon ile progesteronu, 17α -hidroksisteroidlere dönüştürmek için hidroksiller. Bu süreç ise Zf ile Zr'de meydana gelir ancak Zg'de gerçekleşmez (Inomata ve Sasano, 2015). Steroid hormonların öncüsü, 17-karbon steroid çekirdeğine sahip olan kolesteroldür. Kolesterol farklı kaynaklardan türevlenebilir. Kortikal hücrelerde asetattan yeniden sentezlenebilir veya düşük ve yüksek dansiteli lipoproteinlerden absorbe edilebilir (Rosol vd., 2001). Adrenal bezde asetattan yeniden sentezlenir veya plazma lipoproteinlerinden reseptör aracılı bir şekilde yeniden alınımı gerçekleştirilir. İnsanda, sığırdaki ve diğer birçok türde plazmadaki kolesterolün çoğu düşük dansiteli lipoproteinlere bağlıdır ancak ratlarda diğer kemirgenlerde çoğunlukla yüksek dansiteli lipoproteinler ile ilişkilidir (Inomata ve Sasano, 2015). Kolesterol, nötral lipid damlacıklarında kortikosteroid biyosentezi için hazır ve elde edilebilir bir havuz olarak, kolesterol asetat şeklinde depo edilir. Kolesterol, mitokondri ve düz endoplazmik retikulumdaki sitokrom P-450 (CYP) enzimleri tarafından steroid hormon ara ürünlerine ve olgun hormonlara dönüştürülür. Sentez mitokondride başlar, düz endoplazmik retikulumda devam eder ve mitokondride tamamlanır. CYP-450 enzimleri ve dehidrogenazlar sıralı bir şekilde, pregnenolonun, progesteronun ve daha sonra da androjenler, glukokortikoidler ve mineralokortikoidlerin üretimlerini katalizlerler (Rosol vd., 2001).

Kortikol hücreler tarafından kolesterolden üretilen ilk steroid hormon, pregnenolondur. Pregnenolon, mitokondriyal CYP11A1 (kolesterol yan zincir klivaj 20α , $22R$ -hidroksilaz) etkisi ile üretilir. Bu reaksiyon, steroid hormon biyosentezinin

hızını sınırlar ve ACTH'nin kontrolü altındadır. ACTH, G proteinlerine bağlı hücre membran reseptörlerine bağlanır ve sitoplazmik siklik adenosin monofosfatı seviyesinin yükselmesini aynı zamanda kolesterolün CYP11A1 tarafından elde edilebilirliğini uyarır. Bu da pregnenolon sentezi ile sonuçlanır. Kemirgenlerde pregnenolon sentezinden sonra glukokortikoidlerin sentezi, kortikosteron üretimi için mitokondri ve endoplazmik retikulumda devam eder. Kortikosteron, ratlarda, farelerde ve tavşanlardaki temel glukokortikoiddir. Bu türlerde Zf ile Zr anlamlı miktarda androjen ve kortizol salgılamazlar. Bunun nedeni ise bu türlerin adrenal bezlerindeki CYP17 eksikliğidir. Hamsterler, kobay (Hint domuzu), köpek, kedi, insan olmayan primatlar ve insanda, düz endoplazmik retikulum kortizol sentezinden sorumlu olan ilave hidroksilazlara sahiptir. Bu türlerde kortizol, kortikosterona göre daha fazla miktarlarda üretilir ve glukokortikoid üretiminin yaklaşık %80'ini temsil eder. Ek olarak, kortikal hücrelerde androjenler de üretilebilir (özellikle Zr tabakasında). Zr'de üretilen androjenler, kortikal hücrelerin kendileri veya gonadlar gibi diğer organlardaki metabolik yollar aracılığı ile testosteron veya östrojene metabolize edilebilir. Ağırlıklı olarak kortikosteron üreten türler (rat ve fare gibi), adrenal bezlerinde az miktarda cinsiyet hormonu üretimine sahiptirler (Rosol vd., 2001; Inomata ve Sasano, 2015).

Aldosteron, temel olarak Zg'de üretilir çünkü CYP11B2 sadece bu zonda bulunur. Anjiyotensin II ve potasyum aldosteron üretimini uyarır. Anjiyotensin II, bir hormon öncüsü olan ve böbreklerdeki jugstaglomerular aparatlar tarafından sentezlenen renin enziminin aktivitesi neticesinde karaciğerde üretilen, anjiyotensinojenden üretilir. Anjiotensinojen ilk olarak renin tarafından, bir dekaeptid olan, anjiyotensine parçalanır. Daha sonra farklı dokularda mevcut olan anjiyotensin dönüştürücü enzim aracılığı ile anjiyotensin II'ye dönüştürülür. Anjiyotensin II, aldosteron üretiminin artırılması için uyarıcı bir hormondur. Üretilen aldosteron, böbreklerdeki hedef hücrelerini etkileyerek sodyum geri kazanımını ve potasyumun atılımını sağlar, neticede kan hacmi yükselir (Rosol vd., 2001).

2.5 Adrenal Medulla Hormonlarının Sentez ve Salınımı

Medulladaki kromaffin hücreler, asetilkolin ve kalsiyum iyonuna yanıt olarak kana epinefrin (adrenalin) ve norepinefrin (noradrenalin) salgılarlar. Bunların salınımı öncelikle splanknik sinirden çıkan kolinergik sinir aracılığı ile gerçekleştirilir. Epinefrin

sentezindeki ilk basamak, tirozinin tirozin hidroksilaz tarafından dihidroksifenilalanin (DOPA)'e enzimatik olarak dönüştürülmesidir. DOPA, aromatik L-amino asit dekarboksilaz ile dopamine dönüştürülür. DOPA ve dopamin sentezi sitolde gerçekleştirilir. Dopamin daha sonra norepinefrine dönüştürüldüğü, kromaffin granülüne giriş yapar. Norepinefrin sentezi, dopamin β -hidroksilazın bulunduğu salgı granüllerinde gerçekleşir. Norepinefrin sitozolde, feniletanolamin-N-metiltransferaz (PNMT) tarafından epinefrine dönüştürülmek üzere, salgı granülünü terkeder ve meydana gelen epinefrin hücrede depo edildiği granüle tekrar giriş yapar. PNMT aktivitesi, adrenal korteksten sağlanan sinusoidal kandaki lokal glukokortikoidlerin yüksek konsantrasyonu tarafından uyarılır. Katekolaminlerin salgılanması, sempatik sinir uyarımı ile kontrol edilir. Katekolaminlerin üretimi ve salgılanması, stres, travma, şok, açlık, hipoksi ve hipoglisemi gibi akut olaylar tarafından harekete geçirilir (Rosol vd., 2001; Inomata ve Sasano, 2015).

2.6 Adrenal Bezin Toksik Maddelere Olan Hassasiyeti

Adrenal bez toksik ataklara karşı oldukça hassas olmakla birlikte, endokrin lezyonların en sık gözlemlendiği endokrin organdır (Ribelin, 1984; Harvey, 2010). Çok sayıda ajanın adrenal bez üzerinde çarpıcı etkiler meydana getirdiği rapor edilmiştir ve adrenal bez için toksik olan maddelerin doğasına yönelik öngörüler ile ilgili ciddi oranda eksiklikler mevcuttur. Bu toksik ajan silsilesi kadmiyum tuzları gibi ağır metaller ile karbon tetraklorür gibi endüstriyel solventler gibi basit yapılı organoklorlu kimyasallardan, ketokonazol ve etomitat gibi kompleks aromatik hidrokarbonlara kadar değişebilmektedir (Hinson ve Raven, 2006).

Adrenal bezi, toksik etkilere karşı hassas hale getiren bazı özellikleri mevcuttur. Bunlardan birincisi kuşların ve balıkların interrenal organında olmayan, özellikle memeli adrenal bezinde gözlenen ayrı ve yüksek derecede vasküler bir endokrin organ olma özelliğidir. Ek olarak bütün omurgalılarda ortak olan bezdeki steroidogenezis için gerekli özellikler toksik maddelerin etkilerine hassasiyeti meydana getirmektedir. Organa olan zengin kan akışı, toksinlerin ve steroid ürünlerin etkili bir şekilde ortadan kaldırılması sırasında oluşan metabolik substratların yayılmasını hızlandırmaktadır. Adrenal bez, lipid peroksidasyon kapasitesi yüksek olan bir bezdir (Brogan vd., 1984; Hinson ve Raven, 2006; Inomata ve Sasano, 2015).

Adrenal bezin toksik maddelere karşı hassasiyetini artıran nedenler, aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır (Hinson ve Raven, 2006; Harvey, 2010; Inomata ve Sasano, 2015):

1. Bezin yüksek derecede vasküler olmasından kaynaklı bezdeki fazla kan akışının, toksik maddelerin etkili bir şekilde yayılmasına imkan sağlaması.
2. Bezin fonksiyonunda yer alan birçok bölgenin (enzimler, reseptörler ve transkripsiyon faktörleri gibi) toksik maddelerin saldırılarından etkilenebilmesi.
3. Lipoproteinlerin (ve bunlarla ilişkili lipofilik ajanların) alınıp ve depolanma mekanizmaları.
4. Steroid biyosentezi sırasında serbest radikallerin oluşumu.
5. Doymamış yağ asitleri bakımından yüksek membran içeriğinin bir sonucu olarak, lipid peroksidasyon potansiyeli.
6. Sitokrom p450 ailesine ait enzimler tarafından, toksik maddelerin aktivasyon potansiyeli.

2.7 Klinik Olmayan Güvenilirlik Çalışmalarında Adrenal Bez Toksisitesi İçin Pratik Yaklaşımlar

Genel olarak, bir test maddesinin adrenal bez üzerindeki etkisi ilk olarak, nekropsi esnasında büyüklüğündeki ve rengindeki değişimden veya yapılan histolojik inceleme neticesinde ortaya konur. Serum/plazma hormon seviyelerinin ölçümü, özel boyamalar veya hormonal peptidlere özgü antikorlar kullanılarak gerçekleştirilen immunohistokimyasal incelemeler de önemli bilgiler sağlayabilir ancak bu incelemelerin rutin toksisite çalışmalarında gerçekleştirilmesi, zaman ve maliyet açısından pek önerilmez. Yapılan ön çalışmalarda adrenal bezlerin değerlendirilmesi için adım adım ilerlemek ve elde edilen verilere ihtiyaç duyulduğunda test parametreleri eklemek daha uygundur. Bu çalışmalarda, klinik belirtiler, vücut ağırlığı, besin tüketimi ve klinik patolojiyi kapsayan (serum sodyum, potasyum, glukoz seviyeleri vb.) antemortem veriler ile kaba patoloji, organ ağırlığı, adrenal bez ve onunla ilişkili organların (timüs, hipofiz, böbrek vs) histopatolojilerini içeren postmortem veriler, dikkatli bir şekilde ele alınmalıdır. Bir test maddesi ile ilişkili olarak adrenal bezde bir değişimin belirlenmesi ve bu değişimin direkt bir etki sonucunda mı yoksa ilişkili diğer faktörlerden dolayı mı meydana geldiğini belirlemek, önemlidir. Bir test maddesinin

toksik etki şeklini açıklamak için, hormon (ACTH, kortikosteron/kortizol, aldosteron) seviyelerinin veya CYP enzim aktivitelerinin ölçümü kritik bilgi sağlar. Adrenal bez *in vivo* 'da, hipotalamus ve hipofizin kontrolü altındadır. Bu durum test kimyasalının toksik etki şeklini açıklamayı zorlaştırır. Böyle durumlarda, spesifik bir hücre hattını içeren *in vitro* bir sistem veya adrenal bez ile ilişkili organların ve hormonların kontrolü dışında olan primer hücre kültürü veya raportör gen ölçümü, bilgi verici olabilir. Gelecekteki toksisite değerlendirmelerinde, *in vivo* çalışmalar öncesinde, *in silico* sistemler ile yapı aktivitesi korelasyonu veya reseptör bağlanma aktivitesine ilişkin bazı bilgilerin elde edilmesi destekleyici olabilir (Inomata ve Sasano, 2015).

2.8 Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Adrenal Bez Üzerindeki Etkileri

Endokrin bozucu kimyasallar, doğal hormonların aktivitesini etkileyen ekzojen kimyasallar veya kimyasal karışımlarıdır. Bu kimyasallar organizmada ve organizmanın nesillerinde, doğal hormonların sentezini, salınımını, taşınmasını, metabolizmasını, reseptörlere bağlanma ve hedef hücrelerdeki etkilerini değiştirebilirler (Aksan ve Özdemir, 2016). Endokrin bozucuların farklı alanlardaki (zirai, endüstriyel, evsel ve farmasötik) sık ve fazla kullanımları, insan vücuduna neredeyse her yoldan (solunum, sindirim ve dermal olarak) giriş yapmalarına ve yağ dokusunda uzun yıllar boyunca birikmelerine olanak sunar. Bu durum, bu kimyasallara kronik olarak küçük miktarlarda bile maruz kalmanın tehlikesini kolaylıkla açıklar ve ortaya koyar (Egalini vd., 2022).

Adrenal bezdeki fonksiyonel bozukluklar, hormonların yeterli miktarda üretilmemesi veya aşırı üretilmesi ile karakterize edilir. Addison hastalığı (primer hipoadrenalizm), Cushing sendromu (hiperkortizolizm), Conn sendromu (primer hiperaldosteronizm) ve çocuklardaki prematür adrenarş ile adonogenital sendroma ve kadınlardaki hirsutizm ile infertilite gibi rahatsızlıklara neden olma ihtimali olan androjen fazlalığı, gibi rahatsızlıklar bu bozukluklar arasındadır. Bazen bezdeki aşırı hormon üretiminin altında adenom ve karsinomlar yatabilir. Bunlar da ilaçlar veya endokrin bozucu kimyasallara maruz kalma sonucunda meydana gelebilir (Nanba vd., 2021; Egalini vd., 2022). Daha önce de belirtildiği gibi, adrenal bez toksik saldırılara karşı hassas olduğu için endokrin lezyonların en sık gözlemlendiği bölgedir ve adrenal bez üzerindeki olumsuz etkilerinin, *in vitro* ve *in vivo* 'da rapor edildiği, çok sayıda kimyasal

sınıfı mevcuttur. Bunlar arasında, pestisitler, plastikleştiriciler, dioksinler, poliklorlubifeniller ve polikromatik hidrokarbonlar yer almaktadır (Egalini vd., 2022).

Hinson (2006)'a ait bir derlemede, farklı tipteki endokrin bozucuların adrenal bez üzerindeki toksik etki mekanizmaları irdelenmiştir. Buna göre, DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen)'nin adrenal bez üzerinde toksik etki gösterebilmesi için CYP1B1 tarafından metabolize edilmesi gerektiği ifade edilmiştir. Bir aldosteron antagonisti olan spironolaktonun adrenal bezde yol açtığı lezyonların, adrenal CYP 450 enzimlerinin aktivasyonunun ve metabolizasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. Fitoöstrojenler ve diğer endokrin bozucuların, adrenal steroidogenezis üzerinde etkili oldukları belirtilmiştir. Bazı maddelerin ise adrenal steroidojenik enzimler üzerinde direkt olarak inhibe edici potansiyelleri ile toksik etki gösterdikleri ifade edilmiştir. Mesela, kardiyak glikozitler olan digoksin ve digitoksin, bir sedatif olan etomidat, bir antimikotik olan ketokonazol, nitrofuran antibiyotikler ve lüteolitik ajan azasten gibi teröpotik ajanların, steroidogenezis üzerinde inhibe edici etkiye sahip oldukları bildirilmiştir. Bu ajanlar arasında bazıları, özellikle de ketokonazol, aşırı glukokortikoid salgılanması ile karakterize edilen Cushing sendromunun tedavisinde kullanılır. Diğer iyi bilinen adrenal steroidojenik enzim inhibitörü ise bir pestisit olan DDD'nin türevi, mitotan (p,p'-DDD)'dır. Bu ise veteriner uygulamalarında yine Cushing sendromunu tedavi etmek için kullanılır. Bazı ajanların ise enzim ekspresyonunu artırdığı belirtilmiştir. Poliklorlu bifenil 126 (PCB 126)'nın aldosteron sentezinin son basamağını katalizleyen CYP11B2'nin ekspresyonunu artırdığı, dolayısıyla aldosteron biyosentezini yükselttiği rapor edilmiştir. Direkt olmazsa bile kurşunun da aldosteron sentezinde benzer bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bir herbisit sınıfının (2-kloro-s-triazin herbisitler) aromatazı kodlayan CYP19 ekspresyonunu artırdığı belirtilmiş ve adrenal österojen üretimini tetikleyebileceği ifade edilmiştir. Bazı toksik maddelerin ise adrenokortikal hücreler üzerindeki reseptör aktivitesini değiştirdiği ortaya konulmuştur (örneğin, PCB126). Bazı ilaçların (metirapon ve mifepriston) ve likorisin (meyan kökü) de adrenal bez fonksiyonunu etkilediği rapor edilmiştir.

Sistemik bir fungusit olan metil tiyofanata maruz bırakılan gebe ratların yavrularının adrenal korteksinde, karyomegali ve hidropik dejenerasyon içeren histopatolojik değişimler gözlenmiştir (Maranghi vd., 2003).

Bir poliklorlu bifenil olan Klofen A60, dietil fitalat ve bunların her ikisinin karışımına maruz bırakılan Wistar sıçanların erkek ebeveynlerinde ve erkek F1 jenerasyonunda, adrenal korteksin Zf tabakasında vakuolizasyon ve dejenerasyon gibi histopatolojik değişimlerin meydana geldiği, bildirilmiştir. Klofen A60'ın dışı ebeveynlerde ve bunların F1 jenerasyonunda ise adrenal korteksin Zf tabakasında intrasellüler vakuolizasyon ile dejenerasyona neden olduğu bildirilmiştir (Pereira vd., 2007).

Başka bir çalışmada ise bir piretroid insektisit olan lambda-sihalotrine subakut olarak maruz bırakılan erkek ratlarda, adrenal bezde meydana gelen toksik etkiler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bu insektisit adrenal bezde histopatolojik değişimleri artırdığı ve toksik etkilere yol açtığı ifade edilmiştir (Oularbi, 2014).

Bir organofosfat insektisit olan diazinona maruz bırakılan farelerin adrenal bezinde, korteks ve medulladaki hücre büyüklüklerinin doz ve maruziyet zamanına bağlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir. Histolojik olarak, Zf tabakasının kalınlığında artış ve Zr tabakasında makroveziküler steatozis gibi değişimler meydana geldiği belirlenmiştir. Öte yandan, medullanın kromaffin hücrelerinde apoptotik değişimler ile birlikte granüler azalma tespit edilmiştir (Raees vd., 2012).

Sentetik ve santral etkili bir analjezik olan tramadola maruz bırakılan erkek ratların adrenal bezlerinin Zf ile Zg tabakalarındaki hücrelerde balonlaşma ile vakuolizasyon, büzüşme ve piknotik nukleus, Zr tabakasında ise kılcak kan damarlarında kongesyon ile hücrelerde mitotik figürler gibi ileri derecede histopatolojik değişimlerin meydana geldiği gözlenmiştir. Öte yandan, adrenal kortekste uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ile kaspaz-8'in immunohistokimyasal lokalizasyonlarında artışların olduğu belirlenmiştir. Tramadolun serum kortizol ile dehidroepiandrostenedion sülfat hormonlarının seviyelerinde yükselmelere neden olduğu, ek olarak adrenal MDA düzeyi ile glutatyon peroksidaz ve tiredoksin redüktaz ekspresyonlarının tramadol tarafından uyarıldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak tramadolun, adrenal yetmezliği indükleyebileceği ifade edilmiştir (Abdelaleem vd., 2017).

Ketokonazola maruz bırakılan erkek ratların adrenal bezlerinin Zf ile Zr tabakalarında vakuolizasyon ve hipertrofi gibi histopatolojik değişimler belirlenmiştir. Ketokonazolun kandaki deoksikortikosteron düzeyini artırdığı, ketokonazol maruziyeti sonrası ACTH maruziyetinin ise başka steroid hormonların da uyarılmalarına neden

olduğu ifade edilmiştir. Dolayısıyla, kan steroid seviyelerinde ketokonazol tarafından meydana getirilen değişikliklerin, ACTH tarafından daha hassas hale getirilebileceği bildirilmiştir (Tochitani vd., 2019).

Di-(2-etilheksil) fitalat (DEHP)'ın iki farklı konsantrasyonunun (133 ve 1330 µg/L) içme suyu ile uygulandığı olgun dişi farelerde, böbreküstü bezinin yaş ağırlığının arttığı belirlenmiştir. DEHP maruziyeti neticesinde, Zf çapının arttığı ancak hücrelerin morfolojisi ve korteksin zonları içindeki düzenlemelerinde gruplar arasında farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Ekstraselüler matriks düzeninde de kontrol ve DEHP grupları arasında fark bulunmamıştır. CYP11B1 enziminin immünohistokimyasal olarak Zf'de lokalize olduğu ve yoğunluğunun gruplar arasında farklılık göstermediği bildirilmiştir. DAX1'in ise Zg ve Zg'de lokalize olduğu ve DEHP uygulaması ile ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. Öte yandan CYP17A1 enziminin, 1330 µg/L DEHP'ye maruz bırakılan hayvanlarda, bezin Zg tabakasında lokalize olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, düşük doz DEHP'ye kronik olarak maruziyetin, adrenal korteksin mikroskobik anatomisini ve işlevini değiştirebileceği ifade edilmiştir (Lee vd., 2021).

2.9 Bir Endokrin Bozucu Olarak Bisfenol A ve Adrenal Bez Üzerindeki Etkileri

Bisfenoller merkezi bir karbon atomu ile ayrılan iki benzen halkasına sahip ve genellikle her iki benzen halkası üzerinde 4-OH yapısı bulunduran bir kimyasal sınıftır. Bisfenoller, ketonların veya aldehytlerin fenollerle yoğunlaştırılması sonucunda üretilirler. Bisfenollerin isimlendirilmesi ise iki hidroksifenili bağlayan reaktan gruba göre yapılır. Örneğin bisfenol A (BPA), reaktan grup olarak aseton, bisfenol F (BPF) formaldehit, bisfenol S (BPS) ise kükürt trioksit içerir (Fiege vd., 2012; Fan ve Lee, 2017; Sur vd., 2017). Dianin tarafından 1891' de sentezlenen ve östrojenik aktivitesi 1936 yılında belirlenen BPA, endokrin aktivitesi bilinen en eski sentetik bileşiklerden birisidir. Bununla birlikte, sentetik bir östrojen olarak tanımlanmasına rağmen, dünya çapında en çok üretilen ve kullanılan kimyasallardan biri haline gelmiştir. BPA, 1950'li yıllarda, hafif, şeffaf, renklendirilebilir, darbeye, ısıya ve kimyasallara karşı dayanıklı, zamanla değişebilen, kalıplanması ve ısıyla şekillendirilmesi kolay, mucizevi ucuz bir ürün olan polikarbonat plastiği üretmek için polimerize edilebilmiştir. BPA üretiminin yaklaşık %70'i (yılda 3.4 milyon ton) birçok alanda (optik, medya, otomotiv, elektrik-kara elektroniği, evsel araç ve gereçler, inşaat, medikal, paketlenme gibi alanlarda)

yaygın olarak kullanılan çok sayıda ürünün üretiminde yer alan polikarbonat plastiklerin üretiminde kullanılmaktadır. BPA'nın yaklaşık %20'si ise, esas olarak yiyecek ve içecek metal kutularının iç yüzeyini kaplamak için kullanılan epoksi reçinelerinin temel bir bileşeni olarak kullanılır. En dikkat çekici endokrin bozucu kimyasallar birisi olan BPA'nın sağlık üzerindeki olumsuz etkileri ise yapılan birçok bilimsel çalışma ile ortaya konulmuştur (Eladak vd., 2015). İnsanların BPA'ya maruziyeti temel olarak, gıdalar ve gıda temaslı materyaller ile meydana gelmektedir. Lipofilik bir bileşik olan BPA, yağ dokusu, beyin, karaciğer ve anne sütünde tespit edilmiştir. BPA, plasenta ve amniyon sıvısına geçerek, fötüsü ve bebeği etkileyebilmektedir. BPA'nın, obezite, diyabet, kronik solunum hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, renal hastalıklar, davranış bozuklukları, meme kanseri, diş gelişim bozuklukları ve üreme bozuklukları gibi sağlık sorunları ile ilişkili olduğu da, rapor edilmiştir (Andújar vd., 2019; Gorini vd., 2020; İyigünder vd., 2020). Sağlık üzerindeki bu ciddi olumsuz etkilerinden dolayı bazı ülkelerde BPA'nın kullanımına sınırlandırma ve yasaklama getirilmiştir. Bunun bir sonucu olarak, üreticiler de ürettikleri ürünlerde, BPA'ya alternatif olacak yeni seçenekler bulma çabası içerisinde girmiş ve BPA yerine analoglarının (BPS ve BPF gibi) kullanımına yönelmişlerdir (Sur vd., 2017). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar, BPA analoglarının da organizmalar üzerinde genotoksik, immünotoksik, nörotoksik ve endokrin bozucu etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (Lee vd., 2021; Jambor vd., 2019).

Panagiotidou vd. (2014), gebelik ve laktasyon dönemindeki ratları BPA'nın düşük dozuna (40 µg/kg/vücut ağırlığı), hem dinlenme hem de akut stres koşulları altında maruz bıraktıktan sonra, bu ratların puberte dönemindeki erkek ve dişi yavru bireylerinde, BPA'nın HPA aksı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yapılan histolojik incelemeler neticesinde yavru erkek bireylerin adrenal bezinde Zr tabakasında daralma ve her iki cinsiyette adrenal Zf tabakasında hiperplazi gibi değişimler belirlemişlerdir. Yavru dişi bireylerin adrenal ağırlığının ise BPA maruziyeti neticesinde arttığını bildirilmiştir. BPA'nın yavru dişi bireylerde bazal kortikosteron düzeyini ve hipotalamik glukokortikoid reseptör seviyelerini azalttığı belirlenmiştir. Stres ile uyarılan BPA'ya maruz bırakılmış yavru dişilerde ise anksiyete benzeri davranış şekli, daha az şiddetli kortikosteron yanıtı ve hipotalamustaki glukokortikoid reseptör seviyelerinde azalmanın olmadığı tespit edilmiştir. BPA'ya maruz bırakılan yavru

erkeklerde ise kortikosteron yanıtının, yavru diş bireylere kıyasla, uzadığı bildirilmiştir. Bu bireylerde, kontrol grubu yavru erkek bireylerine göre pro-opiomelanokortin seviyelerinin arttığı ve hipofiz kortikotropin salıverici reseptör-1 düzeyinin korunduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre, düşük doz BPA'ya perinatal dönemde kronik olarak maruz kalmanın, bazal ve stres ile uyarılmış HPA aks aktivitesini cinsiyete özgü bir şekilde bozduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak, BPA'nın stres ile ilişkili hastalıklara karşı hassasiyeti artırabileceğini ifade etmişlerdir.

Farklı bir çalışmada, BPA'ya perinatal dönemde maruz bırakılan ratların hipokampusünde glukokortikoid reseptörü ile mineralokortikoid mRNA seviyelerinin değiştiği, bunun da glukokortikoid reseptör aracılı HPA geri bildirimini ve mineralokortikoid reseptörü ile uyarılan nNOS-CREB (nöronal nitrikoksit sentaz-fosfo cAMP yanıt elementi bağlanma proteini) sinyal yolunu bozduğu belirlenmiştir. Bu etkilerin bir sonucu olarak, perinatal dönemdeki BPA maruziyetinin erişkin ratlarda, anksiyete ve depresyon benzeri davranışları cinsiyete bağlı bir şekilde değiştirebileceği bildirilmiştir (Chen vd., 2014).

BPA'ya maruz bırakılan ratlarda adrenal indeksin anlamlı olarak arttığı ve plazma kortikosteron ile ACTH düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir. BPA'nın adrenal bezin Zg tabakasında vasküler konjesyon, balonlu vakuol, konjesyonlu ve genişlemiş kapillerler ile piknotik çekirdekli hücreler gibi histopatolojik değişimlere neden olduğu, Zf tabakasında ise hiperplaziyi uyardığı belirlenmiştir. Benzer histopatolojilerin medullanın kromaffinde hücrelerinde de gözlemlendiği ifade edilmiştir. Öte yandan adrenal bezdeki α -düz kas aktin ile vimentin immun boyanmalarının, BPA maruziyeti sonrasında azaldıkları gözlenmiştir. BPA'nın adrenal bezde, oksidatif stres göstergelerinden glutatyon peksidaz (GPx) aktivitesi ile redükte glutatyon (GSH) içeriğini azalttığı, malondialdehit (MDA) ile hidrojen peroksit düzeylerini ise artırdığı tespit edilmiştir. Ratlara BPA ile birlikte eş zamanlı olarak verilen melatonin hormonunun ise BPA'nın adrenal bezde meydana getirdiği olumsuz etkileri düzelttiği ifade edilmiştir (Olukole vd., 2019).

2.10 Bir BPA Analogu Olarak BPS

BPA'nın yerine bir alternatif olarak kullanılan BPS, önemli bir BPA analogudur. Kimyasal ismi bis(4-hidroksifenil)sulfon olan BPS'nin moleküler ağırlığı, 250.27

g/mol'dür. BPS, epoksi reçineleri, konserve kutuları, içecek kutuları, termal fatura kâğıtları, hazır yemek kutuları, bagaj etiketleri, el ilanları ve gazete materyali gibi çeşitli endüstriyel ürünlerinde, BPA yerine kullanılmaktadır. Bunun nedeni ise BPS'nin yüksek sıcaklıktaki stabilitesi ve güneş ışığına karşı dirençli olmasından dolayıdır. Üreticiler, BPA'nın sağlık üzerindeki olumsuz etkilerinden kaçınmak için son zamanlarda, ürettikleri endüstriyel ürünlerde BPS kullanmayı tercih etmektedirler (Chen vd., 2002; Sur vd., 2017; İyigündoğdu vd., 2020). BPS'nin varlığı, BPA'ya eşdeğer konsantrasyonlarda, yüzey suları, sediment ve kanalizasyon sularında saptanmış ve çevresel açıdan BPA ile aynı etkide olduğu gösterilmiştir (Sur vd., 2017). Bununla birlikte, BPS'nin insan doku ve idrar örneklerinde BPA ile kıyaslanabilir düzeylerde ölçüldüğü bildirilmiştir (İyigündoğdu vd., 2020). BPS'ye maruz bırakılan ratlarda, esas atılım yolunun idrar olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, idrar ile atılımın zamana bağlı olarak azaldığı, fekal atılımın ise arttığı gözlenmiştir. Safra kesesi kannule edilen ratlarda, BPS'nin tek bir gavaj dozunun uygulanması sonrasında, %53'ünün safra içine salgılandığı dolayısıyla büyük oranda enterohepatik dolaşıma girdiği bildirilmiştir. Ratlarda ve farelerde intravenöz BPS uygulaması sonucunda atılımın, gavaj uygulamasındakine benzer olduğu belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, gavaj uygulamasından sonra dışkı ile atılan dozun, absorbe edilen doz olabileceği ifade edilmiştir. Glukuronid ve sülfat konjugatları gibi üriner metabolitlerin, ana bileşiğin ortalaması kadar olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, BPS'ye oral olarak maruziyet sonrasında iyi absorbe edildiği ve dokularda minimal düzeyde tutularak atıldığı belirlenmiştir (Waidyanatha vd., 2018). Bununla birlikte, yapılan bilimsel çalışmalarda, BPS'nin de BPA'ya benzer olarak, akut ve kronik toksik etkiler gösterebildiği, genotoksik etkilere yol açtığı ve östrojenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Sur vd., 2017).

BPS'ye maruz bırakılan dişi sıçanlarda, puberte başlangıcı ile östrus siklusunda gecikme, vücut ağırlığında azalma ve gonadosomatik indeks değerleri ile uterus ağırlığında düşüşler tespit edilmiştir. Plazma testosteron ve östradiol düzeylerinin BPS maruziyeti sonrasında yükseldiği, plazma progesteron, lüteinizan hormon ve folikül stimüle edici hormon düzeylerinin ise azaldığı gözlenmiştir. Ovaryumda ise atretik ve kistik foliküllerin varlığında doza bağımlı bir şekilde artışların meydana ifade

edilmiştir. Dolayısıyla BPS'nin, BPA'ya benzer olarak, dişi sıçanların ovaryumunda yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (Ahsan vd., 2018).

Ullah vd. (2019), BPA ve analoglarına (BPB, BPF ve BPS) gebeliğin 1. gününden 21. gününe kadar maruz bıraktıkları sıçanların yavru erkek bireylerinin üreme dokularında antioksidan enzim düzeylerinin etkilendiğini, plazma testosteron/östrojen seviyelerinde değişimler meydana geldiğini ve testis/epididimis dokularında histopatolojik lezyonlar gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak BPA ve analoglarının, erkek üreme sisteminin gelişimi üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği saptanmıştır.

BPS'ye maruz bırakılan erkek ratlarda, eritrosit sayısının, lökosit sayısının, hemoglobin konsantrasyonunun ve pıhtılaşma zamanının doza bağımlı bir şekilde ve anlamlı olarak azaldıkları belirlenmiştir. Öte yandan, total serum glukoz ve protein seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. BPS'nin serumda, total kolesterol, trigliserit, gliserolsüz trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein, çok düşük yoğunluklu lipoprotein düzeylerini artırdığı, yüksek yoğunluklu lipoprotein konsantrasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkalın fosfataz aktivitelerinin, BPS maruziyeti sonrasında, arttığı belirlenmiştir. Serum kalsiyum, bilirubin ve üre düzeylerinin ise BPS dozuna bağımlı olarak yükseldiği saptanmıştır. Sonuç olarak, BPS'nin ratlarda kan fonksiyonlarını bozabileceği ve kardiyovasküler risklere yol açabileceği bildirilmiştir (Pal vd., 2017).

2.11 Çalışmanın Amacı

Literatürde, BPA yerine bir alternatif olarak kullanılan BPS'nin, rat adrenal bezi üzerindeki etkileri ile ilgili herhangi bir çalışma ile karşılaşılammıştır. Bu nedenle bu çalışmada;

1. BPS'ye maruz bırakılan ratların adrenal bezinde meydana gelen histopatolojik değişimlerin belirlenmesi,
2. BPS'nin adrenal bezde, oksidatif stres belirteçlerinden GSH içeriği ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyi üzerindeki etkisinin tespit edilmesi,
3. BPS'nin bir faz-II metabolize edici enzim olan glutatyon S-transferaz aktivitesi üzerindeki etkisinin araştırılması, amaçlanmıştır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanı

Çalışmada ağırlıkları 175-295 g olan 2-3 aylık, toplam 28 adet, *Wistar albino* erkek rat kullanıldı. Ratlar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Ratlar deney süresince, ortalama 25 °C sıcaklık, %50 ile 70 arasında nem ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodu altında barındırıldı. Hayvanların standart plastik kaplarda *ad libitum* (istenildiği kadar) olarak beslenmeleri sağlandı. Deneyler, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Deneyler sırasında meydana gelebilecek olumsuzlukların en aza indirilmesi için gerekli olan bütün önlemler alındı. Çalışma süresince, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'nde belirtilen kurallara riayet edildi. Bu tez çalışması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (VAN YUHADYEK) tarafından onaylanmıştır (Karar no: 2024/05-21).

3.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve kimyasallar sırasıyla, Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazların listesi

Cihaz	Marka	Model
Rotari mikrotom	MICROM GmbH	H315
Kamera ataçmanlı mikroskop	Leica	DM500 / ICC50 HD
Spektrofotometre	Shimadzu	UV-VIS 1800
Soğutmalı mikrosanrifüj	Thermo Fisher	Micro CL 17R 75002455
Ultrasonik homojenizatör	Jencons	LU7 8UA
pH metre	Selecta	PH 2005
Manyetik karıştırıcı	Heidolph	MR 3001
Vorteks	Heidolph	Reax Top QO4
Hassas terazi	Sartorius	ED 224S
Buzdolabı	Beko	BK 9330 NF
Derin dondurucu	Beko	BK 7971 DF
Su banyosu	Nüve	NB 5

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasalların listesi

Kimyasal/Sarf	Marka	Katalog numarası
Bisfenol S (BPS; Bis-(4-hidroksifenil)-sulfon (sinonim: 4,4'-Sulfonildifenol), $C_{12}H_{10}O_4S$, saflık: %99.7,)	Acros Organics, New Jersey, ABD	146915000
GSH (Redükte Glutasyon)	Sigma-Aldrich	G4251
CDNB (1-kloro-2,4-dinitrobenzen)	Fluka	24440
DTNB (5,5'-ditiyobis-2nitrobenzoik asit)	Sigma	D8130
Etanol (% 99.9)	Merck	1.00983
Fosfat tuz tamponu (PBS)	Sigma	P4417
Sığır serum albumin	Fluka	05471
Coomasie Brilliant G	Applichem	A3480
1,1,3,3-Tetraetoksipropan	Aldrich	T9889
2-Tiyobarbiturik asit	Merck	1.08180
Trikloroasedik asit	Merck	1.00810
KH_2PO_4	Merck	1.04873
Na_2HPO_4	Sigma-Aldrich	71640
NaH_2PO_4	Fluka	71496
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Merck	1.06404
NaCl	Merck	1.06404
Sodyum sitrat tribazik dihidrat	Sigma	S4641

3.3 Deneyisel Dizayn

Her grupta yedi (7) adet rat olacak şekilde, toplam dört (4) deney grubu oluşturuldu. Ratlar gruplara rastgele olarak dağıtıldı. Deneyisel uygulamalar, toplam 28 gün süre ile gerçekleştirildi. Test kimyasalı olan bisfenol S (BPS; Bis-(4-hidroksifenil)-sulfon (sinonim: 4,4'-Sulfonildifenol), $C_{12}H_{10}O_4S$, saflık: %99.7, kod: 146915000, Acros Organics, New Jersey, ABD)'nin, hayvanlara oral gavaj ile günlük olarak uygulanmasından önce, etanol-zeytinyağı karışımı (1:4 v/v) içerisinde tamamen çözünmesi sağlandı (Pal vd., 2017; Da Silva vd., 2018). Çalışmada belirlenen BPS konsantrasyonları, daha önce bisfenoller ile yapılmış olan ve ratların kullanıldığı deneyler çalışmaları göre belirlendi (Yamasaki vd., 2002; Higashihara vd., 2007; Pal vd., 2017; da Silva vd., 2018, Olukole vd., 2019; Sencar vd., 2021). Gruplardaki

hayvanların deney süresince standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışmadaki deneysel gruplar aşağıda belirtilmiştir:

Grup I: Normal kontrol (NK) grubu hayvanlarını (n=7) içeren ve hayvanlara sadece içme suyunun oral gavaj yolu ile günlük olarak verildiği gruptur.

Grup II: Vehicle kontrol (VK) grubu hayvanlarını (n=7) içeren ve hayvanlara sadece test kimyasalının çözündüğü etanol-zeytinyağı karışımı (1:4 v/v)'nın, oral gavaj yolu ile günlük olarak verildiği gruptur.

Grup III: BPS'nin 5 mg/kg/v.a. konsantrasyonunun (etanol-zeytinyağı karışımı içerisinde tamamen çözündürülmesinden sonra) her hayvanın (n=7) vücut ağırlığına göre oral gavaj yolu ile günlük olarak uygulandığı gruptur (BPS-5).

Grup IV: BPS'nin 20 mg/kg/v.a. konsantrasyonunun (etanol-zeytinyağı karışımı içerisinde tamamen çözündürülmesinden sonra) her hayvanın (n=7) vücut ağırlığına göre oral gavaj yolu ile günlük olarak uygulandığı gruptur (BPS-20).

3.4 Doku Örneklerinin Alınması

Deney süresinin tamamlanmasının ardından ratlar, ketamin/ksilazin karışımı ile anestezi edildi. Daha sonra, her hayvanın adrenal bezleri dikkat bir şekilde çıkartıldı. Sağ adrenal bez histolojik incelemeler için, sol adrenal bez ise biyokimyasal analizler için kullanıldı.

3.5 Antioksidan Savunma Sistemi Göstergelerinin Tayini

3.5.1 Doku homojenizasyonu

Derin dondurucuda (-20 °C) saklanan adrenal bezler, homojenizasyon öncesinde çıkartılarak buz üzerinde erimeleri sağlandı. Her hayvana ait adrenal bez, PBS (pH: 7.4) içerisinde, ultrasonik parçalayıcı kullanılarak, 3 dk. boyunca homojenize edildi. Homojenatlar, 15000 × g'de 20 dk boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alınarak, tüplere aktarıldı. Yapılan bu işlemlerin hepsi, +4 °C veya buz üzerinde gerçekleştirildi. Elde edilen süpernatantlar, total protein tayini ve antioksidan savunma sistemi göstergelerinden malondialdehit (MDA) düzeyi, glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi ve redükte glutatyon (GSH) içeriği analizleri için -20 °C'de saklandı.

3.5.2 Total Protein Tayini

Her hayvanın adrenal bezinin homojenizasyonu sonrasında elde edilen süpernatantlardaki total protein tayini, Bradford (1976) metoduna göre BSA'nın standart olarak kullanılması ile gerçekleştirildi.

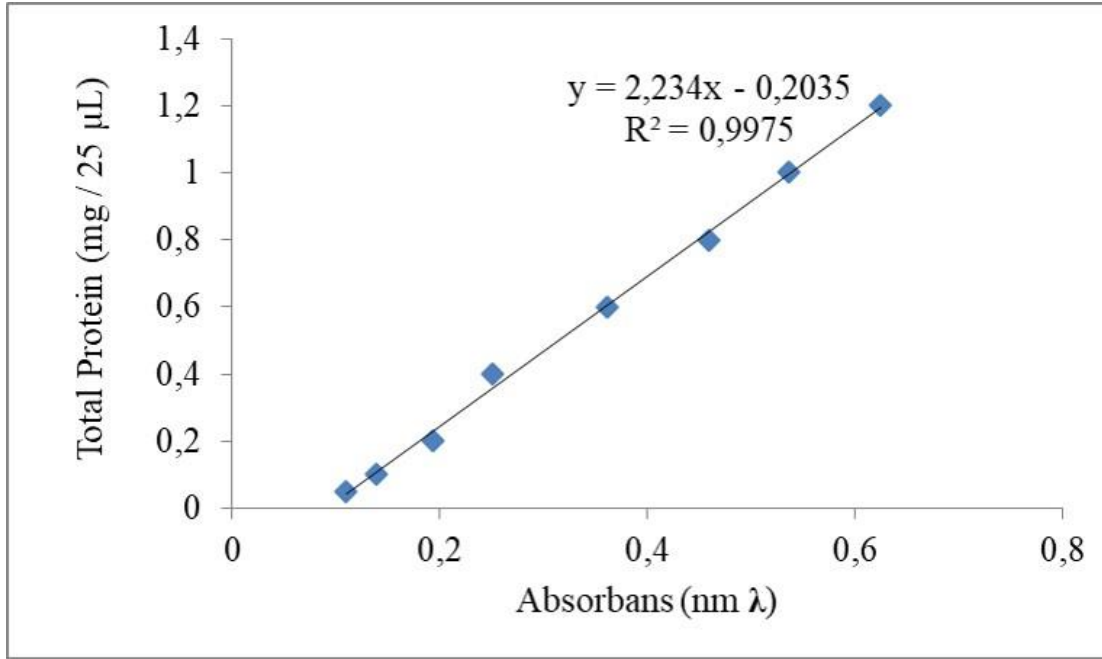
Prensip: Bradford metodu, proteine bağlanan Coomasie Blue G boya reaktifinin, 595 nm dalga boyundaki maksimum absorpsiyonunun, spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır.

Ayırıcılar:

1. Konsantre Bradford solüsyonu (5×): 100 mg Coomasie Blue G, 50 mL absolü etanol ve 100 mL ortofosforik asit (%85) içerisinde çözülür. Solüsyon distile su ile 200 mL'ye tamamlanır ve filtre edilir.

2. Bradford solüsyonu (1×): Yukarıda hazırlanan solüsyonun, distile su ile 1:5 oranında sulandırılması ile hazırlanır.

Yöntem: Standartlar hazırlanmadan önce 10 mg/mL stok BSA hazırlandı. Stoktan seri sulandırmalar yapılarak 0.05 ile 1.2 mg aralığında toplam 8 adet standart oluşturuldu. Standartlar, kör ve örnekler, Bradford solüsyonu ile muamele edildikten sonra, 20 dk boyunca karanlık ortamda inkübe edildi. Spektrofotometre köre karşı sıfırlandıktan sonra, örnek ve standartların absorbansı, 595 nm dalga boyunda ölçüldü. Standartlara karşılık gelen absorbans değerlerine dayalı olarak standart eğri oluşturuldu (Şekil 3.1). Örneklerdeki total protein konsantrasyonu eğriye ait fonksiyon kullanılarak belirlendi. Sonuçlar mg/mL protein olarak ifade edildi.



Şekil 3.1 Protein standart eğrisi

3.5.3 Malondialdehit Düzeyi Tayini

Prensip: Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile pembe renkli forma girmesi prensibine dayanır (Buege ve Aust, 1978).

Yöntem: MDA içeriği, Buege ve Aust (1978)'a göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Özet olarak; 0.05 mL 150 mM Tris-HCl tamponu (pH: 7.1), 0.05 mL süpernatant üzerine eklendi. Daha sonra bu karışıma, 0.05 mL 1.5 mM askorbik asit ve 0.05 mL 1 mM FeSO₄ ilave edildi. Bu karışımın total hacmi, distile su ile 0.5 mL'ye tamamlandı. Bu bileşenlerin olduğu tüpler vortekslendikten sonra, 37°C'de 15 dk boyunca inkübe edildi. Daha sonra tüplere 0.5 mL trikloroasetik asit (%10) ve 1 mL TBA (%0.375) eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra kaynar suda 15 dk'lığına inkübasyona bırakıldı. Tüpler oda sıcaklığına getirildikten sonra, 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Son olarak, elde edilen süpernatantlar kullanılarak, 532 nm dalga boyunda, spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirildi (Çizelge 3.3). Örneklerdeki MDA konsantrasyonu, eksternal 1,1,3,3-tetraetoksipropen standartlarından (0.3125 nmol ile 100 nmol aralığında, toplam 11 adet) türetilen standart eğri kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.2). Sonuçlar, "nmol/mg protein" olarak sunuldu.

Çizelge 3.3 MDA ölçümünde küvete pipetlenen bileşenler, miktarları ve ölçüm prosedürü

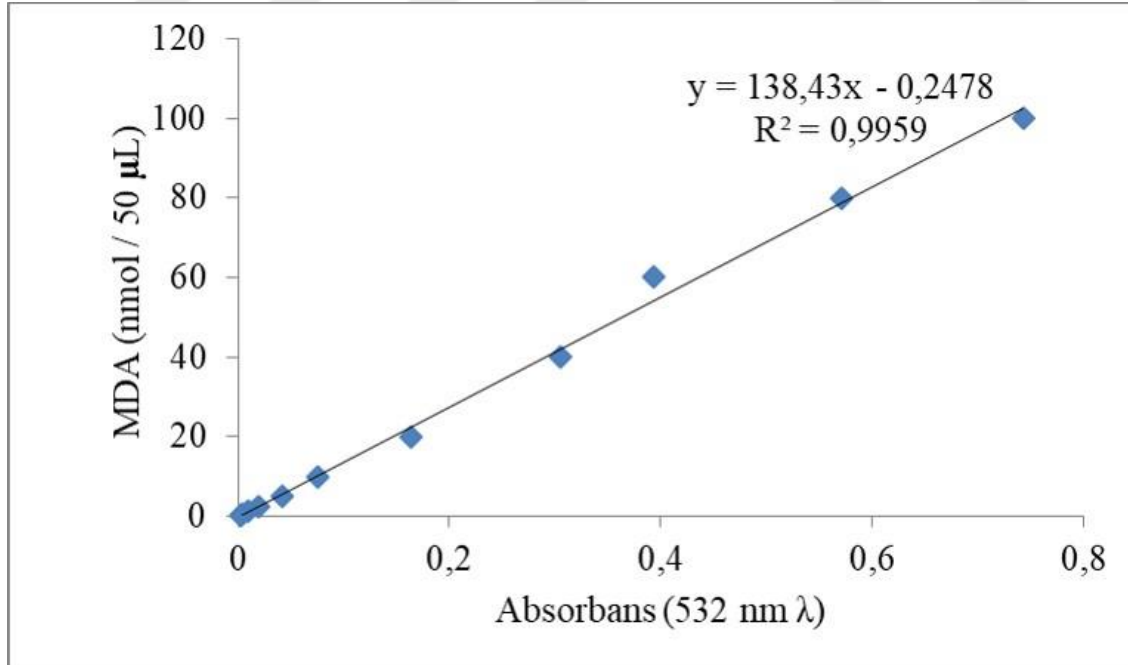
Ayrıçalar	Numune (mL)	Standart (mL)	Kör (mL)
Numune	0.05	---	---
Kör	---	---	0.05
Standart	---	0.05	---
Tris-HCl tamponu (150 mM)	0.05	0.05	0.05
Askorbik asit çözeltisi (1.5 mM)	0.05	0.05	0.05
FeSO ₄ .7H ₂ O (1 mM)	0.05	0.05	0.05
Distile Su	0.3	0.3	0.3

-Tüplere yukarıda verilen bileşenler eklendikten sonra, tüpler karıştırılır ve tüpler 37 °C’de 15 dk inkübe edilir.

-İnkübasyon tamamlandıktan sonra tüplere aşağıdaki bileşenler eklenir ve vortekslenir. Tüpler vortekslendikten sonra kaynar su banyosunda (95 °C) 15 dk bekletilir.

TCA (%10)	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
TBA Çözeltisi (%0,375)	1 mL	1 mL	1 mL

-Tüpler 3000 rpm’de 10 dk santrifüj edilir. Süpernatantlar alınarak, 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma yapılır. Sonuçlar standart grafikten elde edilen denklem (Şekil 3.4) kullanılarak değerlendirilir.



Şekil 3.2 1,1,3,3-tetraetoksipran standartlarından türetilen standart eğri

3.5.4 Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesi Tayini

Prensip: GST, elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonunu, GSH'ın –SH grubu ile tepkime vermelerini katalizleyerek gerçekleştirir (Eşitlik 3.1). Enzimin aktivite tayini, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)'in GSH ile konjugasyonu sırasında meydana gelen absorbans artışının, 340 nm dalga boyunda ve 25 °C'de spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır (Habig vd., 1974).



Yöntem: Çizelge 3.4'te çözeltiler sırasıyla belirtilen miktarlarda küvete eklendikten sonra, küvet iyice çalkalandı. Daha sonra absorbanstaki artış 340 nm'de, 3 dk boyunca her 30 sn'de bir kaydedildi.

Her örneğin absorbansındaki dk başına değişim (ΔA) belirlendikten sonra aşağıda verilen formüle göre, GST'nin molar ekstinksiyon katsayısı (9.6 mmol/L/cm) ve küvetteki sulandırma oranı hesaba katılarak, enzimin mL'deki aktivitesi belirlendi (Eşitlik 3.2). Sonuçlar, “nmol CDNB-glutasyon konjugatı/dk/mg protein” olarak ifade edildi.

Çizelge 3.4 GST aktivitesi ölçümünde küvete pipetlenen bileşenlerin miktar ve konsantrasyonları

Küvete pipetlenen bileşen	Kör (mL)	Örnek (mL)	Son Konstrasyon (mM)
PBS (0.11 M)	2.7	2.7	100 mM
Distile su	0.1	-	-
CDNB (30 mM)	0.1	0.1	1 mM
GSH (30 mM)	0.1	0.1	1 mM
Süpernatant	-	0.1	-

Hesaplama:

$$\text{GST aktivitesi (mmol/dk/L)} = \frac{\Delta A}{9.6} \times \frac{V_t}{V_0} \times \text{SO} \quad (3.2)$$

ΔA : Absorbansın 340 nm’de, dk başına değışimi

Vt: Toplam hacim

Vö: Örnek hacmi

SO: Süpernatant sulandırma oranı

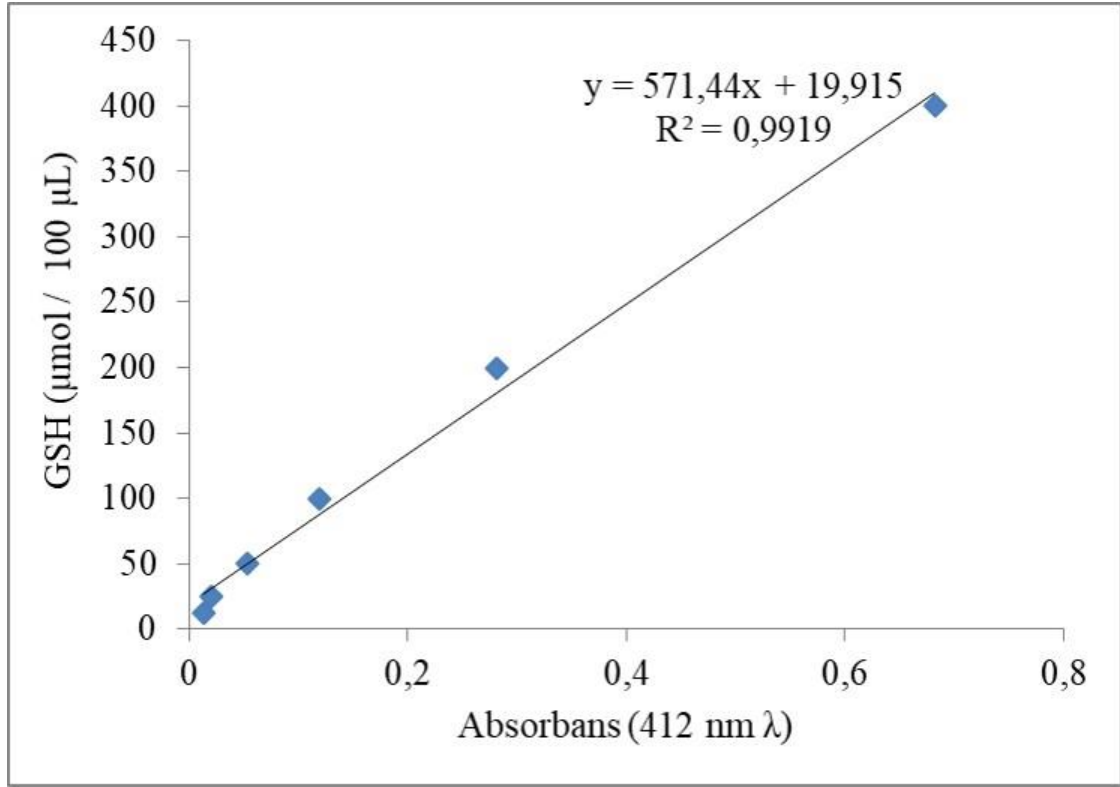
3.5.5 Redükte Glutasyon Tayini

Prensip: Redükte GSH içeriğı tayininde süpernatanttaki sülfidril gruplarının, fosfat tamponu kullanılarak, 5,5’-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin absorbansı, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür (Beutler, 1984).

Ayır  lar:

1. Fosfat tamponu: 0.3 M NaH₂PO₄ distile su ile hazırlandı (pH: 6.8).
2. DTNB (Ellman Ayır  ): 40 mg DTNB’nin, % 1’lik 100 mL sodyum sitrat çözeltisi içerisinde çözünmesi ile hazırlandı.

Yöntem: Tüplerin içerisine 100  L süpernatantlardan alındıktan sonra üzerine 0.5 mL fosfat tamponu eklendi. Vortekslenen tüpler, sıcak su banyosunda 60  C’de 10 dakika bekletildi. Tüpler oda sıcaklığına getirildikten sonra her tüpe 100  L DTNB ayır   eklenerek Shimadzu UV/VIS-1800 marka spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda, köre karşı okuma yapıldı. Standartlar için 100  M GSH stok çözeltisi, fosfat tamponu içerisinde taze olarak hazırlandı. Daha sonra stok çözeltisi seyreltilerek 100  L’de 400  M ile 12.5  M konsantrasyon aralığında 6 adet standart hazırlandı. GSH standartlarına karşılık gelen absorbans değerlerinden oluşturulan standart eğri (şekil 3.3)’ye göre örneklerdeki GSH konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar “ mol GSH / mg protein” olarak ifade edildi.



Şekil 3.3 GSH standart eğrisi

3.6 Histolojik Prosedürler

Hayvanlardan çıkartılan adrenal bezler, %10'luk nötral tamponlu formaldehit fiksatifli ile 48 saat tespit edildi. Tespit edilen dokular, fosfat tuz tamponu (PBS; 0.01 M, pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra dereceli etanol (%70, %80, %96 ve absölü) serilerinden geçirilerek, dehidrate edildi. Dokular daha sonra ksilende şeffaflaştırılarak parafine gömüldü. Parafin bloklardan Rotary mikrotom ile alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, adeziv kaplı lamlara aktarıldı. Kesitler rutin histolojik incelemeler için, Hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyandı (Üstünel, 2001). Kesitler entallan ile kapatıldıktan sonra kamera ataçmanlı mikroskop ile incelenerek adrenal bezde meydana gelen histopatolojik değişimler belirlendi ve her deneysel grup için skorlamalar yapıldı (Ribelin, 1984; Yarrington ve Reindel 1996; Raees vd., 2012; Panagiotidou vd., 2014; Pereira vd., 2017; Tochitani vd., 2019; Lee vd., 2021). Daha sonra kesitlerden 400× büyütmede fotoğraflar alındı.

3.7 İstatistiksel Analizler

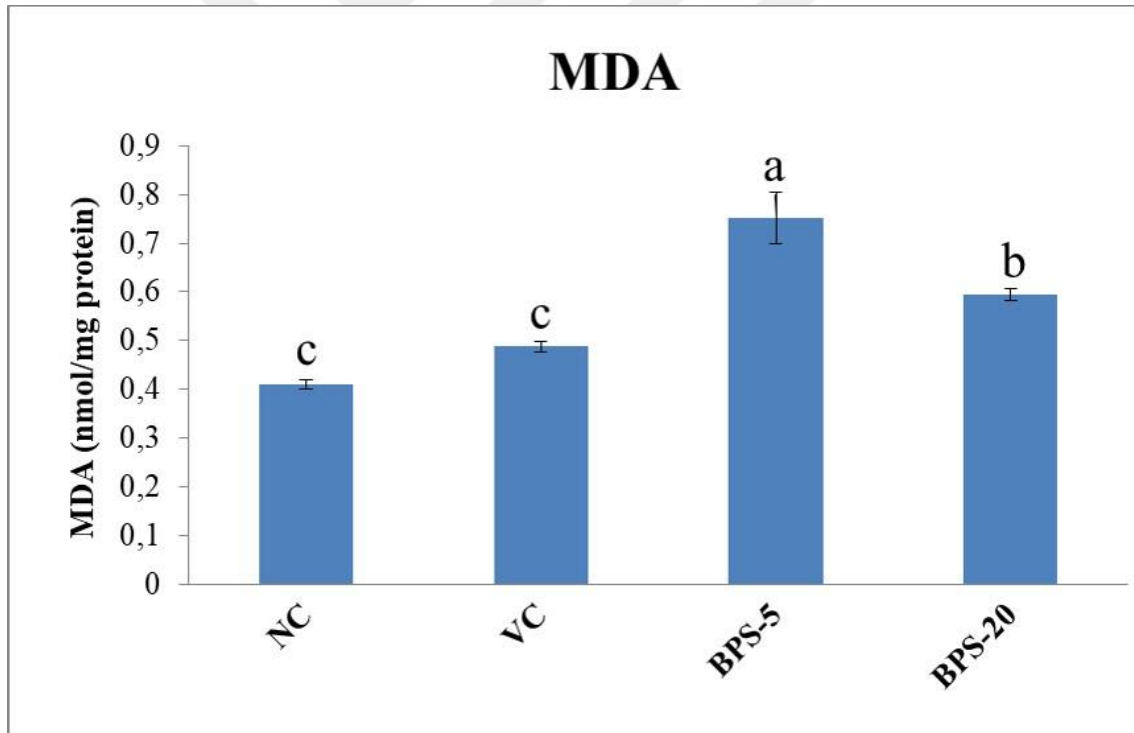
Çalışmadan elde edilen veriler, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 20.0 istatistik paket programı (IBM SPSS Statistics)'nda, varyans analizi (ANOVA) ile analiz edildi. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesi için post-hoc Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Analizler sonucunda elde edilen veriler, “ortalama $\pm$ standart hata” olarak ifade edildi. İstatistiksel önem derecesi $P < 0.05$ seviyesinde kabul edildi.



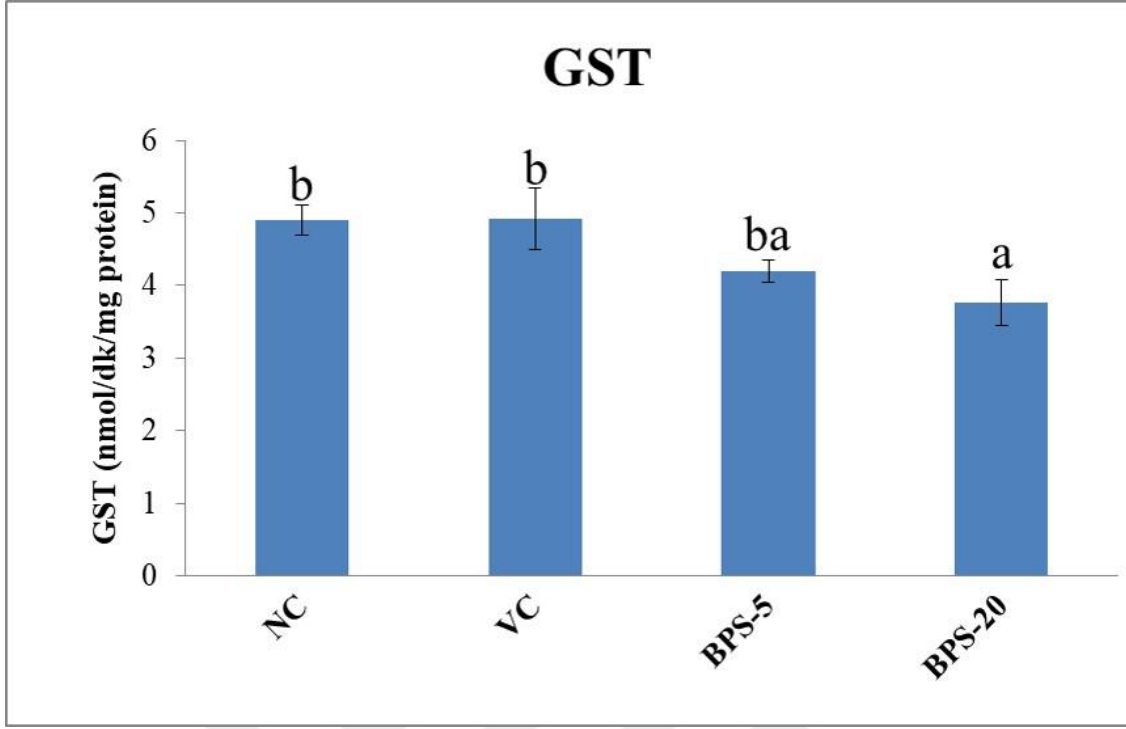
4. BULGULAR

4.1 BPS'nin Adrenal Bezdeki MDA Düzeyi, GST Aktivitesi ve GSH İçeriği Üzerindeki Etkisi

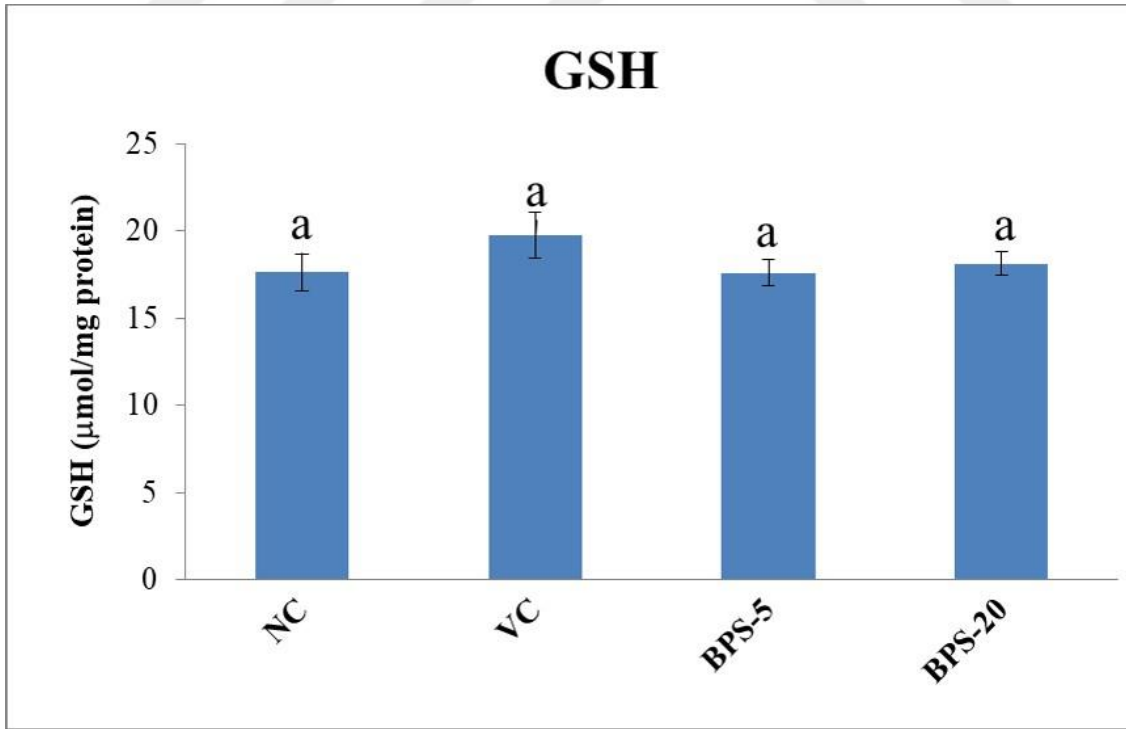
BPS'nin, adrenal bezdeki MDA düzeyleri üzerinde, kontrol gruplarına kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı yükselmelere yol açtığı tespit edildi ($P<0.05$) (Şekil 4.1). Adrenal bezdeki GST aktivitesinin BPS'nin 5 ile 20 mg/kg konsantrasyonlarında, kontrol gruplarına kıyasla, düşüşler meydana geldiği, bununla birlikte sadece 20 mg/kg BPS konsantrasyonundaki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($P<0.05$) (Şekil 4.2). BPS'nin 5 ile 20 mg/kg konsantrasyonlarının adrenal bezdeki GSH içeriği üzerinde ise kontrol gruplarına kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı değişimlere neden olmadığı belirlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.1 BPS'nin adrenal bezdeki MDA düzeyi üzerindeki etkisi. Sütunlar üzerindeki farklı harfler, Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı olan farklılıkları ifade etmektedir ($P<0.05$)



Şekil 4.2 BPS'nin adrenal bezdeki GST aktivitesi üzerindeki etkisi. Sütunlar üzerindeki farklı harfler, Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı olan farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$)



Şekil 4.3 BPS'nin adrenal bezdeki GSH içeriği üzerindeki etkisi. GSH düzeyinde, Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan farklılıklar belirlenmemiştir ($P > 0.05$)

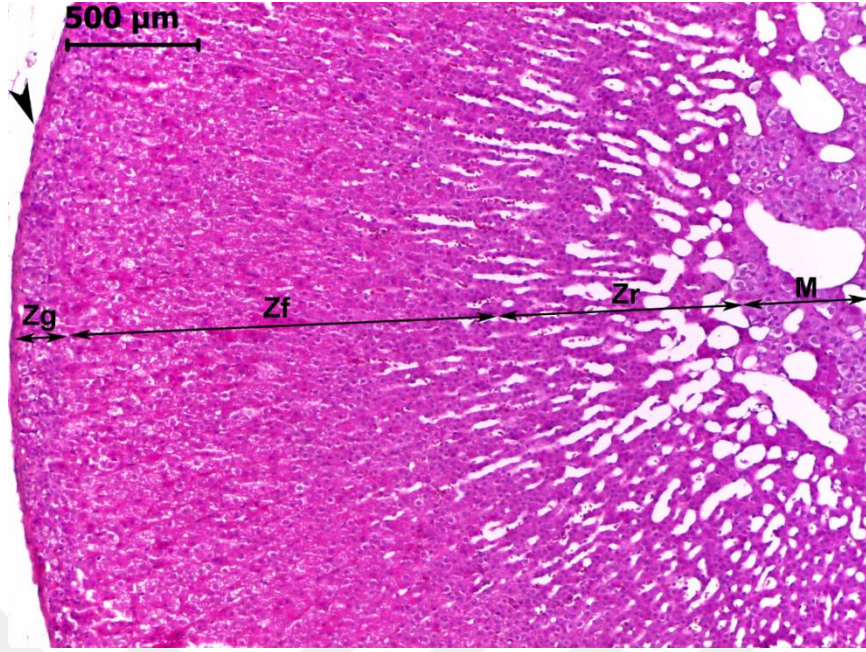
4.2 Histolojik Değişimler

Adrenal bezden alınan kesitlerde yapılan histolojik incelemeler sonucunda, kontrol gruplarına ait bireylerin adrenal bezlerinde korteks ve medulla bölümlerinin, normal histolojik görünümüne sahip oldukları gözlemlendi. Zg, Zf ve Zr tabakalarından oluşan adrenal korteksin Zg tabakasının, bezi çevreleyen kapsülün altında kemer veya yay şeklinde tabaka oluşturan ve koyu çekirdekli oval veya yuvarlak hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Zf tabakasındaki hücrelerin veziküler yuvarlak çekirdeğe sahip oldukları, radyal olarak düzenlendikleri ve kapillerler ile çevrelendikleri belirlendi. Bu zondaki hücrelerin bazılarının kübik şekilli oldukları ve asidofilik sitoplazmalarında az miktarda vakuol içerdikleri, bazılarının ise polihedral şekle sahip oldukları ve sitoplazmalarında vakuolizasyon gösterdikleri gözlemlendi. Korteksin en içteki Zr tabakasının ise asidofilik sitoplazmaya sahip, çekirdeği koyu boyanan, düzensiz bir ağ şeklinde düzenlenen ve geniş sinüzoidler ile çevrelenen hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Bezin merkezinde yer alan medulla tabakasına ait hücrelerin, yuvarlak şekilli oldukları, sitoplazmalarının bazofilik boyandığı ve küme şeklinde düzenlendikleri belirlendi (Şekil 4.4).

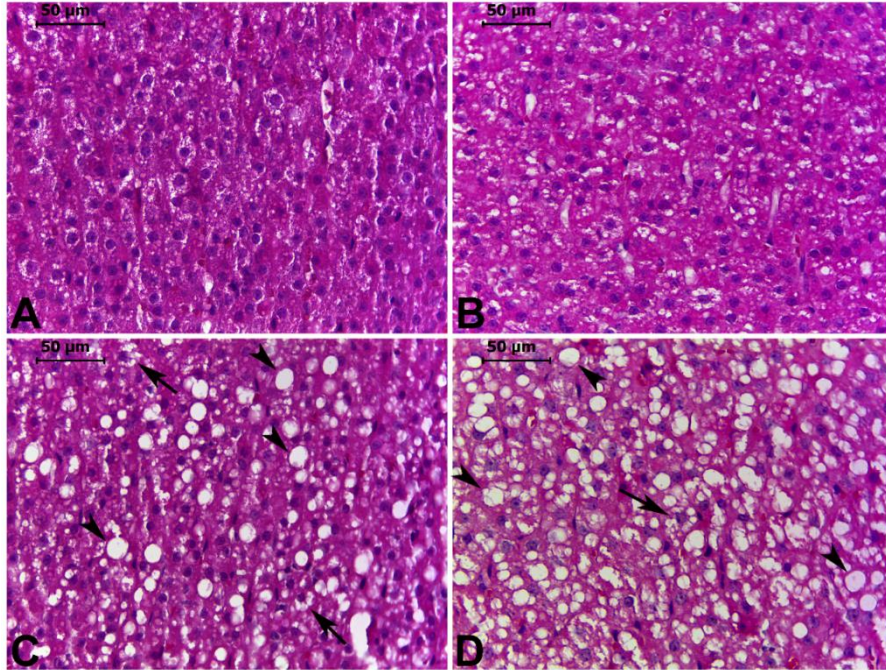
BPS'ye maruz bırakılan gruplardaki ratların adrenal bezinde, korteksin Zg ile Zr tabakalarında ve medulla tabakasında, kontrol gruplarındaki ratlar ile kıyaslandığında, histopatolojik değişimler gözlenmedi ancak BPS'nin her iki konsantrasyonunun adrenal korteksin Zf tabakasında, histopatolojik değişimlere yol açtığı belirlendi. Buna göre, BPS'nin Zf hücrelerinde vakuolizasyonu artırdığı ve vakuolar dejenerasyona neden olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5). BPS'nin adrenal korteksin Zf tabakasında neden olduğu histopatolojik değişimlerin belirlendiği birey sayıları ve bu histopatolojilere ait skorlar, Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1 BPS maruziyeti sonrasında adrenal korteksin Zf tabakasında belirlenen histopatolojik değişimlerin belirlendiği rat sayıları ve bunlara ait skorlar

Histopatolojik değişim ve derecesi	Kontrol	Vehicle kontrol	BPS-5 mg/kg	BPS-20 mg/kg
Artan vakuolizasyon / vakuolar dejenerasyon	Birey Sayısı	0/7	0/7	3/7
	Hafif			2
	Orta		1	3
	Şiddetli		2	2



Şekil 4.4 Kontrol grubuna bir bireyde adrenal bezin histolojik kısımlarına ait genel bir görüntü. Ok başı: kapsül, Zg: zona glomeruloza, Zf: zona fasikulata, Zr: zona retikularis, M: medulla, (H&E)



Şekil 4.5 Kontrol grupları (A, B) ve BPS uygulanan gruplarda (C, D) adrenal bezin korteksinde Zf tabakasına ait histolojik görüntüler (H&E). A: Normal görünüme sahip kontrol grubu, B: Normal görünüme sahip VC grubu, C: BPS'nin 5 mg/kg konsantrasyonuna maruz bırakılan grupta artan vakuolizasyon (oklar) ve vakuolar dejenerasyon (ok başları) gösteren hücreler, D: BPS'nin 20 mg/kg konsantrasyonuna maruz bırakılan grupta artan vakuolizasyon (ok) ve vakuolar dejenerasyon (ok başları) gösteren hücreler

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Adrenal bez, gelişim, immun fonksiyon, enflamasyon, su ve elektrolit dengesi ve karbonhidrat ile protein metabolizması gibi önemli fizyolojik süreçleri etkileyen ve bu süreçler aracılığıyla, karaciğer, böbrek, kalp, kemik ve sinir sistemi gibi önemli organ ve dokuların fonksiyonlarını tamamlayan önemli bir endokrin bezdir (Harvey, 2010). Öte yandan, adrenal bez endokrin sistem içerisinde toksik maddelerin ve endokrin bozucu kimyasalları hedefinde olan ve bu maddelere karşı oldukça hassas olan bir organdır (Ribelin, 1984; Egalini vd., 2022). Sağlık üzerindeki olumsuz etkileri çok sayıda bilimsel çalışma ile ortaya konulan BPA, endokrin bozucular arasında en dikkat çekenlerden birisidir. Çok farklı sektörler (örneğin; endüstri, inşaat ve yapı, medikal, elektronik ve paketleme) ait ürünlerin üretimi sırasında kullanımı yaygın olan BPA'nın, insan sağlığı üzerindeki negatif etkileri, net bir şekilde ortaya konulmuştur (Eladak vd., 2015; Mustieles vd., 2020). Son yıllarda ratlar ile yapılan deneysel çalışmalarda, BPA'ya gerek perinatal olarak gerekse erişkin dönemlerde maruz kalmanın, adrenal bezin yapı ve fonksiyonunu olumsuz olarak etkileyebildiği (Panagiotidou vd., 2014; Dawood, 2016; Olukole vd., 2019) ve stres ile ilgili hastalıklara karşı hassasiyeti artırabileceği bildirilmiştir (Panagiotidou vd., 2014). BPA'nın insan ve çevre sağlığı üzerinde gösterdiği ciddi olumsuz etkilerin anlaşılması, bu kimyasalın kullanımına sınırlamalar ve yasaklamalar ile sonuçlanmış ve üreticiler ürettikleri ürünlerde, BPA'ya alternatif olabilecek ve ondan daha zararsız olduğunu düşündükleri, BPS ve BPF gibi BPA yapısal analoglarına yönelmişlerdir. Bununla birlikte bu analogların da BPA'ya benzer hatta ondan daha fazla toksik etkilere sahip oldukları, son yıllarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Rochester ve Bolden, 2015; Sur vd., 2017; İyigündoğdu vd., 2020). Öte yandan, yaptığımız literatür araştırması kapsamında, BPS'nin adrenal bez üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduğuna dair daha önce yapılmış olan herhangi bir çalışma ile de karşılaşmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, birçok ürünün üretiminde BPA'ya alternatif olarak kullanılan ve bir BPA analogu olan BPS'nin *Wistar albino* ratların adrenal bezi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Hücrel membranlar, fosfolipidler ve serbest kolesterol üzerinde esterleşmiş olan, önemli miktarda çoklu doymamış yağ asiti içerirler. Lipid peroksidasyonu genel olarak, serbest radikaller veya radikal olmayan türler gibi oksidanların, özellikle çoklu doymamış yağ asitler gibi karbon-karbon çift bağ içeren lipidlere saldırarak, bir

karbondan hidrojenin uzaklaştırılmasını ve yerine oksijen eklenmesini kapsayan bir dizi değişikliğin meydana geldiği bir süreci ifade eder. Hücrelerde meydana gelen lipid peroksidasyonu neticesinde oluşan lipid peroksil radikalleri ve hidroperoksiller, membran yapısında bozulmalara neden olur. Toksik koşullar altında lipid peroksidasyon düzeyinin artışı, hücrelerde onarım kapasitesini alt eden oksidatif hasar düzeyini belirler. Sonuç olarak hücrelerde, apoptoz ile nekroz gibi durumlar ortaya çıkar. Bu iki durumda da farklı patolojilerin meydana gelişinin kolaylaştığı ve yaşlanmanın hızlandığı, moleküler hücre hasarının ortaya çıkması söz konusu olur. MDA, hücre membranlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan son ürünlerden birisidir ve lipid peroksidasyonunun yaygın olarak kullanılan bir göstergesidir (Yin vd., 2011; Ayala vd., 2014). MDA aynı zamanda, dokulardaki oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir indikatördür (Valenzuela, 1990; Singh vd., 2014). Bu çalışmada BPS'nin, adrenal bezdeki MDA düzeyini anlamlı olarak yükselttiği belirlendi. Benzer olarak BPA'ya maruz bırakılan ratların karaciğer, böbrek, beyin, kalp, ovaryum ve testis dokularında MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (Aydoğan vd., 2008; Korkmaz vd., 2010; Abdel-Wahab, 2014; Aboul Ezz vd., 2015; Avcı vd., 2016; Mahmoudi vd., 2016; Othman vd., 2016; Apaydin vd., 2019; Uzunhisarcikli ve Aslanturk, 2019). BPA'ya maruz bırakılan ratların adrenal bezinde de MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı ve oksidatif stresin uyarıldığını belirlenmiştir (Olukole vd., 2019). Gerek *in vitro* gerekse *in vivo*'da yapılan deneysel çalışmalar, BPA benzer olarak, BPF, BPS, BPB ve BPAF gibi BPA analoglarının, farklı tip hücre ve dokularda lipid peroksidasyon düzeyini uyarabildiklerini rapor etmişlerdir (Ullah vd., 2016; Ullah vd., 2018; Ullah vd., 2019; Maćczak vd., 2017; Aykut ve Kaptaner, 2021; Linillos-Pradillo vd., 2023a). Bu çalışma ile uyumlu olarak, bir BPA analogu olan BPF'ye maruz bırakılmış ratların adrenal bezinde de MDA düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Kaptaner vd., 2024). Çalışmamızda BPS maruziyeti sonucunda adrenal bezde gözlenen MDA düzeyindeki yükselmeler, steroid hidrosilasyon reaksiyonları sırasında meydana gelen reaktif oksijen türlerinin artışına ve bez hücrelerinin doymamış yağ asitleri bakımından zengin olan membran içeriğine atfedilebilir (Brogan vd., 1984; Inomata ve Sasano, 2015; Egalini vd., 2022).

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve GST gibi enzimatik antioksidanlar, reaktif oksijen türleri tarafından oluşturulan oksidatif

strese karşı hücrel korunmayı sağlamada önemli rol oynarlar (Matés, 2000). Başlıca faz-II detoksifiye edici bir enzim olan GST, elektrofilik substratları GSH'a konjuge ederek, daha az reaktif ve daha fazla çözünabilir bileşiklerin oluşmasını gerçekleştirir. Bu aktivite, hem peroksil lipidlerin detoksifikasyonunda hem de zenobiyotiklerin metabolize edilmesinde kritiktir. Birçok zenobiyotiğin metabolize edilmesi ile ilişkili olarak detoksifiye edici rol oynayan bu enzim, neticede hücreleri toksik maddelere ve oksidatif strese karşı korur (Sharma vd., 2004; Aitken ve Roman, 2008). Bu çalışmada, BPS'nin adrenal bezdeki GST aktivitesinde azalmalara yol açtığı ve BPS'nin yüksek dozunda (20 mg/kg) meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Benzer olarak BPA'ya maruz bırakılan ratların farklı dokularında, GST de dahil olmak üzere, antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GPx) aktivitelerinde düşüşler meydana geldiği bildirilmiştir (Abdel-Wahab, 2014; Sangai vd., 2014; Othman vd., 2016; Apaydin vd., 2019; Uzunhisarcikli ve Aslanturk, 2019). Hassan vd. (2012), BPA'ya maruz bırakılan ratların karaciğerinde GST'nin hem aktivitesinde hem de gen ekspresyonunda azalmaların meydana geldiğini belirlemişlerdir. Yapılan bir çalışmada ise BPA'ya maruz bırakılmış olan emziren ratlarda ve bunların dişi yavrularında karaciğer SOD, CAT, GPx, glutatyon redüktaz ve GST aktivitelerinin düştüğü rapor edilmiştir (Linillos-Pradillo vd., 2023b). Farklı bir çalışmada ise BPF'nin de BPA'ya benzer şekilde, emziren ratların ve bunların dişi ile erkek yavrularının karaciğerlerinde antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx, glutatyon redüktaz ve GST) aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir (Linillos-Pradillo vd., 2023a). Bu çalışmada GST aktivitesinde gözlenen düşüşler, BPS'nin de BPA ve BPF'ye benzer olarak enzimin detoksifiye edici rolü üzerinde olumsuz etki gösterebildiğini ve bu zenobiyotiğin bezde düzgün bir şekilde elimine edilmesinde bozulmaya yol açabileceğini ortaya koymaktadır. BPS'nin adrenal bezdeki GST aktivitesi üzerinde gösterdiği böyle bir etkinin altında ise yükselen lipid peroksidasyonu ile bağlantılı olarak artan serbest radikal oluşumunun olabileceği ifade edilebilir (Linillos-Pradillo vd., 2023a; Uzunhisarcikli ve Aslanturk, 2019).

Memeli hücrelerinde enzimatik olmayan esansiyel bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve prooksidanlara direkt olarak bağlanarak hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Stephensen vd., 2002). Tripeptid (γ -glutamil-sisteinil-glisin) yapısındaki bu antioksidan, GPx'ler, GST'ler ve gliksalazlar gibi antioksidan ve detoksifiye edici enzimler için de bir kofaktör rolü oynar (Averill-Bates, 2023). Geçmişte yapılan

deneysel çalışmalar, BPA'ya maruz bırakılan ratların dokularında genel olarak GSH düzeyinde azalmaların meydana geldiğini rapor etmişlerdir (Aydoğan vd., 2008; Korkmaz vd., 2010; Abdel-Wahab, 2014; Aboul Ezz vd., 2015; Othman vd., 2016; Linillos-Pradillo vd. 2023b). Öte yandan, ratlar ile yapılan bazı çalışmalarda, BPA maruziyetinin doku GSH düzeylerinde anlamlı değişimlerin meydana gelmediği bildirilmiştir. Örneğin, BPA'ya maruz bırakılan farelerin beyin, karaciğer ve böbrek dokularında GSH düzeyinin anlamlı değişimler göstermediği, sadece testis dokusunda düşüş olduğu tespit edilmiştir (Kabuto vd., 2003). Farklı bir çalışmada ise BPA'ya embriyonik/fötal yaşam boyunca maruz bırakılan yavru erkek farelerin, beyin, karaciğer, böbrek ve testis dokularında, GSH düzeylerinin değişmediği belirlenmiştir (Kabuto vd., 2004). Bu çalışmalardan başka, BPA'nın düşük dozunun, emziren ratların karaciğer GSH düzeyini anlamlı olarak azalttığı ancak yüksek dozunun herhangi bir değişime yol açmadığı rapor edilmiştir (Linillos-Pradillo vd., 2023b). Benzer bir etki, BPF'ye maruz bırakılmış olan emziren ratlar ile yavrularında da gözlenmiştir. Buna göre, düşük doz BPF'ye maruz bırakılan emziren ratlarda ve bunların dişi ile erkek yavrularında, karaciğer GSH seviyesinin azaldığı ancak BPF'nin yüksek dozunun, emziren anne ve yavru erkek bireylerin karaciğer GSH düzeylerini değiştirmediği ifade edilmiştir (Linillos-Pradillo vd., 2023a). Bu çalışmalara benzer olarak çalışmamızda, BPS'nin adrenal bezdeki GST aktivitesinde anlamlı değişimler meydana getirmediği belirlendi. Yukarıda sözü edilen çalışmalar göz önünde tutulduğunda, bisfenollere maruz kalım sonrasında doku GSH düzeyindeki değişimlerin çalışmalar arasında, hatta aynı çalışma içerisinde dahi uyumlu olamayabileceği görülebilmektedir. Bu tarz farklılıklar, dokuya, deney dizaynına, uygulanan bisfenolün dozu, süresi ve verilme şekline bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir. GSH'ı bir kofaktör olarak kullanan GST ve GPx'in aktivitesindeki artışlar, GSH havuzunda azalmaya neden olur (Deneke ve Fanburg, 1996; Świergosz-Kowalewska vd., 2006; Aboul Ezz vd., 2015). GST aktivitesinin bu çalışmada tam tersine azaldığı belirlendi. Öte yandan, BPA ve BPF'ye maruz kalan ratların dokularında GPx aktivitesinde de düşüşler meydana gelebildiği belirlenmiştir (Abdel-Wahab, 2014; Hassan vd., 2012; Sangai vd., 2014; Othman vd., 2016; Apaydin vd., 2019; Uzunhisarcikli ve Aslanturk, 2019; Linillos-Pradillo vd., 2023a; Linillos-Pradillo vd., 2023b). Dolayısıyla adrenal bezdeki GSH seviyesinde herhangi değişimin meydana gelmemiş olması, GST aktivitesinin azalması ve bu

çalışmada ölçülmemiş olsa bile GPx aktivitesindeki muhtemel bir düşüşe bağlı olarak, GSH'ın yeterince tüketilememesinden dolayı, gerçekleşmiş olabilir (Cartana vd., 1992). Bu çalışmadakine benzer bir durum, bir herbisit olan atrazine uzatılmış bir periyot süresince (16 gün) maruz bırakılan ratların testis ve epididimis dokularında da bildirilmiştir. Her iki dokuda GST seviyesinin azaldığı ve GSH düzeyinin, lipid peroksidasyon seviyesinin artmasına rağmen, değişmediği belirlenmiştir. Araştırmacılar yeterli miktarda ve değişmeyen askorbik asit düzeyinin GSH'ın seviyesinin stabil olması ile ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir (Abarikwu vd., 2010). BPS maruziyeti sonrasında adrenal bezdeki değişmeyen GSH seviyesinin altında yatan sebeplerin ortaya konulması için BPS'nin GSH biyosentezinde rol oynayan yolaklar üzerindeki etkisi ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Histopatolojik bulgulara göre BPS'nin adrenal korteksin Zf tabakasına ait hücrelerde vakuolizasyon artışına ve vakuolar dejenerasyona neden olduğu gözlemlendi. Bu gözlemler ile uyumlu olarak, endokrin aktiviteye sahip toksik kimyasallara maruz bırakılan ratların adrenal bezlerinde de histopatolojik değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir. Bu kimyasallar arasında bir plastikleştirici olan dietilhekzil fitalat ile bir poliklorlu bifenil olan Klofen A60 (Pereira vd., 2007), sistemik bir fungusit olan metil tiyofanat (Maranghi vd., 2003), bir piretroid insektisit olan lamda sihalotrin (Oularbi vd., 2014) ve bir fungusit olan ketokonazol (Tochitani vd., 2019) sayılabilir. BPA'ya perinatal dönemde kronik olarak maruz yavru ratlarda adrenal bezin Zf tabakasında hiperplazinin meydana geldiği bildirilmiştir (Panagiotidou vd., 2014). Olukole vd. (2019) ise BPA'ya maruz bırakılan ratların adrenal bezinde vasküler kongesyon, balonlu vakuol oluşumu, piknotik çekirdekli hücrelerin varlığı, hiperplazi ve kongesyon ile balonlaşma gösteren kapillerler gibi bir dizi histopatolojik değişim belirlemişlerdir. Yapılan son bir çalışmada, BPF'nin de rat adrenal korteksinde vakuolar dejenerasyon ve nekrotik dejenerasyon gibi histopatolojik değişimlere yol açtığı rapor edilmiştir (Kaptaner vd., 2024). Adrenal bez morfolojik yapısı ve biyokimyasal özellikleri nedeniyle toksik maddelere hassas bir endokrin organdır. Bezin zengin vasküler yapısı nedeniyle beze gelen kan akışının fazla olması, histopatolojik lezyonların oluşumuna olanak sağlar. Özellikle adrenal korteks, lipofilik toksik maddelerden en çok olumsuz etkilenen tabakadır. Bu tabakanın hücrelerinin membran yapısının, steroidogenezis sırasında kullanılan lipidler açısından zengin olmasından dolayı, bezdeki dejeneratif

değişimler çoğunlukla bu bölgede ortaya çıkar. Bu tabakanın hücreleri steroid üretimi ve aynı zamanda zenobiyotik metabolizmasında rol oynayan CYP-450 ailesi dahil olmak üzere farklı enzimleri içerir. CYP-450 enzimleri için (psödö)substratlar olarak davranan toksik zenobiyotikler sonradan, toksisiteye aracılık eden daha reaktif metabolitlere de dönüşebilir. Bunlar dışında, CYP-450 enzimleri tarafından gerçekleştirilen hidroksilasyon reaksiyonları sırasında açığa çıkan serbest radikallerin oluşum hızı, toksik maddelere maruz kalım sonrasında artar. Bu durum da adrenokortikal hücrelerde hasar ile sonuçlanabilir (Yarrington ve Reindel, 1996; Harvey, 2010; Inomata ve Sasano, 2015). Dolayısıyla, bu çalışmada BPS maruziyeti sonucunda belirlenen adrenokortikal hücrelerdeki histopatolojik değişimler, bezde artan lipid peroksidasyon düzeyi ile serbest radikal oluşumundan kaynaklanmış olabilir (Sangai vd., 2014; Apaydin vd., 2019; Olukole vd., 2019; Kaptaner vd., 2024).

Sonuç olarak bu çalışmada, endokrin bozucu yönü iyi bilinen ve ciddi sağlık problemleri ile ilişkisi rapor edilmiş olan BPA'nın yerine, bir alternatif olarak tercih edilen BPS'nin, rat adrenal bezi üzerinde negatif etkiler oluşturabildiği belirlendi. BPS'nin adrenal bezde MDA düzeyinde artışa ve bir faz II detoksifiye edici enzim olan GST'nin aktivitesinde azalmaya neden olduğu, dolayısıyla oksidatif stresi uyarabildiği, aynı zamanda bezin yapısında histopatolojik lezyonların gelişimine yol açtığı gözlemlendi. Elde edilen veriler BPS'nin adrenal bez üzerinde BPA'ya benzer etkiler gösterebildiğini ve endüstriyel uygulamalarda BPA'nın yerine güvenilir bir alternatif olarak kullanımının uygun olmadığını göstermektedir. Belirlenen bu etkiler, BPS'nin insan sağlığı için risk oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, tüketici ürünlerinin üretiminde bu kimyasalın tercih edilmemesine yönelik önlemler alınarak, gündelik yaşamda bu kimyasala maruz kalmanın önüne geçilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abarikwu, S. O., Adesiyan, A. C., Oyeloja, T. O., Oyeyemi, M. O., Farombi, E. O. (2010). Changes in sperm characteristics and induction of oxidative stress in the testis and epididymis of experimental rats by a herbicide, atrazine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 874-882. doi: 10.1007/s00244-009-9371-2
- Abdelaleem, S. A., Hassan, O. A., Ahmed, R. F., Zenhom, N. M., Rifaai, R. A., El-Tahawy, N. F. (2017). Tramadol induced adrenal insufficiency: histological, immunohistochemical, ultrastructural, and biochemical genetic experimental study. *Journal of Toxicology*, 1-14. doi: 10.1155/2017/9815853
- Abdel-Wahab, W. M. (2014). Thymoquinone attenuates toxicity and oxidative stress induced by bisphenol A in liver of male rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 17(11), 1152-1160. doi: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.1152.1160>
- Aboul Ezz, H. S., Khadrawy, Y. A., Mourad, I. M. (2015). The effect of bisphenol A on some oxidative stress parameters and acetylcholinesterase activity in the heart of male albino rats. *Cytotechnology*, 67, 145-155. doi: 10.1007/s10616-013-9672-1
- Ahsan, N., Ullah, H., Ullah, W., Jahan, S. (2018). Comparative effects of Bisphenol S and Bisphenol A on the development of female reproductive system in rats; a neonatal exposure study. *Chemosphere*, 197, 336-343. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.118
- Aitken, R. J., Roman, S. D. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*, 154-171. doi: 10.1007/978-0-387-09597-4_9
- Aksan, A., Özdemir, A. (2016). Endokrin bozucular. *Hacettepe University Faculty of Health Sciences Journal*, 3(2), 1-14. doi: <https://doi.org/10.21020/hsbf.288495>
- Andújar, N., Gálvez-Ontiveros, Y., Zafra-Gómez, A., Rodrigo, L., Álvarez-Cubero, M. J., Aguilera, M., Monteagudo, C., Rivas, A. (2019). Bisphenol A analogues in food and their hormonal and obesogenic effects: a review. *Nutrients*, 11(9), 2136. doi: 10.3390/nu11092136
- Apaydin, F. G., Aslanturk, A., Uzunhisarcikli, M., Bas, H., Kalender, S., Kalender, Y. (2019). Histopathological and biochemical studies on the effect of curcumin and taurine against bisphenol A toxicity in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 12302-12310. doi: 10.1007/s11356-019-04578-4
- Avci, B., Bahadır, A., Tuncel, O. K., Bilgici, B. (2016). Influence of α -tocopherol and α -lipoic acid on bisphenol-A-induced oxidative damage in liver and ovarian tissue of rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(8), 1381-1390. doi: 10.1177/0748233714563433
- Averill-Bates, D. A. (2023). **The Antioxidant Glutathione. In Vitamins and hormones** (Vol. 121, pp. 109-141). Academic Press. doi: 10.1016/bs.vh.2022.09.002
- Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 9(11) 1-30. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/360438>

- Aydoğar, M., Korkmaz, A., Barlas, N., Kolankaya, D. (2008). The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats. *Toxicology*, 249(1), 35-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.04.002>
- Aykut, H., Kaptaner, B. (2021). *In vitro* effects of bisphenol F on antioxidant system indicators in the isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Biology Reports*, 48(3), 2591-2599. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06310-3>
- Beutler, E. (1984). Red cell metabolism. In E. Beutler (eds), **A manual of biochemical methods**. (3rd, ed.: pp.105–106). Grune Stratton, Orlando, FL.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999
- Brogan III, W. C., Eacho, P. I., Hinton, D. E., Colby, H. D. (1984). Effects of carbon tetrachloride on adrenocortical structure and function in guinea pigs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 75(1), 118-127. doi: [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90082-6](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90082-6)
- Buege, J. A., Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310. doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6
- Cartana, J., Romeu, A., Arola, L. L. (1992). Effects of copper, cadmium and nickel on liver and kidney glutathione redox cycle of rats (*Rattus* sp.). *Comparative Biochemistry and Physiology. C: Comparative Pharmacology and Toxicology*, 101(2), 209-213. doi: 10.1016/0742-8413(92)90262-6
- Chen, F., Zhou, L., Bai, Y., Zhou, R., Chen, L. (2014). Sex differences in the adult HPA axis and affective behaviors are altered by perinatal exposure to a low dose of bisphenol A. *Brain Research*, 1571, 12-24. doi: 10.1016/j.brainres.2014.05.010
- Chen, M. Y., Ike, M., Fujita, M. (2002). Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(1), 80-86. doi: 10.1002/tox.10035
- da Silva, M. M., Xavier, L. L. F., Gonçalves, C. F. L., Santos-Silva, A. P., Paiva-Melo, F. D., De Freitas, M. L., Fortunato, R.S., Miranda-Alves, L., Ferreira, A. C. F. (2018). Bisphenol A increases hydrogen peroxide generation by thyrocytes both *in vivo* and *in vitro*. *Endocrine Connections*, 7(11), 1196-1207. doi: 10.1530/EC-18-0348
- Dawood, G. A. (2016). Histological study of Bisphenol-A effect on the adrenal gland in the female rats. *Journal of Kerbala University*, 12, 87-95.
- Dawood, G.A. (2016). Histological study of Bisphenol-A effect on the adrenal gland in the female rats. *Journal of Kerbala University*, 12, 87-95.
- Deneke, S. M., Fanburg, B. L. (1996). Regulation of cellular glutathione. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 257(4), L163-L173. doi: 10.1152/ajplung.1989.257.4.L163
- Dianin, A. P. (1891). Condensation of ketones with phenols. *Zhurnal Russkogo Fiziko-Khimicheskogo Obshchestva. J. Russ. Phys. Chem. Soc. St. Petersburg*, 23(488-517), 601-611.
- Egalini, F., Marinelli, L., Rossi, M., Motta, G., Prencipe, N., Rossetto Giaccherino, R., Pagano, L., Grottoli, S., Giordano, R. (2022). Endocrine disrupting chemicals: effects on pituitary, thyroid and adrenal glands. *Endocrine*, 78(3), 395-405. doi: 10.1007/s12020-022-03076-x

- Eladak, S., Grisin, T., Moison, D., Guerquin, M. J., N'Tumba-Byn, T., Pozzi-Gaudin, S., Benachi A., Livera, G., Rouiller-Fabre, V., Habert, R. (2015). A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility*, 103(1), 11-21. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.11.005
- Fan, H., Lee, K-F. (2017). Bisphenol Compounds on Human Reproduction Health. *Gynecol Obstet Res Open Journal*, 4(2): 30-35.
- Fiege, H.; Voges, H. W.; Hamamoto, T.; Umemura, S.; Iwata, T.; Miki, H.; Fujita, Y.; Buysch, H. J.; Garbe, D.; Paulus, W. (2012) Phenol derivatives. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 521-582.
- Gorini, F., Bustaffa, E., Coi, A., Iervasi, G., Bianchi, F. (2020). Bisphenols as environmental triggers of thyroid dysfunction: clues and evidence. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(8), 2654. doi: 10.3390/ijerph17082654
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Harvey, P. W. (2010). Toxic Responses of the Adrenal Cortex. *Comprehensive Toxicology*, 265-289. doi:10.1016/b978-0-08-046884-6.01115-5.
- Hassan, Z. K., Elobeid, M. A., Virk, P., Omer, S. A., ElAmin, M., Daghestani, M. H., AlOlayan, E. M. (2012). Bisphenol A induces hepatotoxicity through oxidative stress in rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012(1), 194829. doi: 10.1155/2012/194829
- Higashihara, N., Shiraishi, K., Miyata, K., Oshima, Y., Minobe, Y., Yamasaki, K., (2007). Subacute oral toxicity study of bisphenol F based on the draft protocol for the "Enhanced OECD Test Guideline no. 407". *Archives of Toxicology*, 81(12): 825-832. doi: 10.1007/s00204-007-0223-4
- Hinson, J. P., Raven, P. W. (2006). Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 20(1), 111-120. doi: 10.1016/j.beem.2005.09.006
- Inomata, A., Sasano, H. (2015). Practical approaches for evaluating adrenal toxicity in nonclinical safety assessment. *Journal of Toxicologic Pathology*, 28(3), 125-132. doi: 10.1293/tox.2015-0025
- İyigündoğdu, İ., Üstündağ, A., Duydu, Y. (2020). Toxicological evaluation of bisphenol A and its analogues. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(4), 457. doi: 10.4274/tjps.galenos.2019.58219
- Jambor, T., Kovacikova, E., Greifova, H., Kovacik, A., Libova, L., Lukac, N. (2019). Assessment of the effective impact of bisphenols on mitochondrial activity and steroidogenesis in a dose-dependency in mice TM3 Leydig cells. *Physiological Research*, 68(4), 689-693. doi: 10.33549/physiolres.934200
- Kabuto, H., Amakawa, M., Shishibori, T. (2004). Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sciences*, 74(24), 2931-2940. doi: 10.1016/j.lfs.2003.07.060
- Kabuto, H., Hasuike, S., Minagawa, N., Shishibori, T. (2003). Effects of bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues. *Environmental Research*, 93(1), 31-35. doi: 10.1016/s0013-9351(03)00062-8

- Kaptaner, B., Doğan, A., Yılmaz, C., Aykut, H., Doğan, E., Fidan Babat, C., Dönmez, F., (2024). Histopathological and Biochemical Alterations in the Adrenal Gland of Male Rats Exposed to Bisphenol F. *Biology Bulletin*, 1-10 doi: 10.1134/S1062359023606717
- Kierszenbaum, A. L., Tres, L. L. (2007). *Endocrine system. histology and cell biology: an introduction to pathology*, (2nd ed. pp.537-567). Elsevier Ltd., Philadelphia.
- Korkmaz, A., Ahbab, M. A., Kolankaya, D., Barlas, N. (2010). Influence of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced oxidative damages in liver of male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2865-2871. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.019>
- Lauretta, R., Sansone, A., Sansone, M., Romanelli, F., Appetecchia, M. (2019). Endocrine disrupting chemicals: effects on endocrine glands. *Frontiers in Endocrinology*, 10(178), 1-7. doi: 10.3389/fendo.2019.00178
- Lee, B. Y., Jo, J. B., Choi, D., Lee, S. H., Cheon, Y. P. (2021). A chronic-low-dose exposing of dehp with oecd tg 443 altered the histological characteristics and steroidogenic gene expression of adrenal gland in female mice. *Development & Reproduction*, 25(4), 257. doi: 10.12717/DR.2021.25.4.257
- Linillos-Pradillo, B., Rancan, L., Murias, J. G., Schlumpf, M., Lichtensteiger, W., Tresguerres, J. A. F., Vara, E., Paredes, S. D. (2023a). Oxidative stress increases in liver of lactating rats after BPF-low-dose exposure: perinatal effects in the offspring. *Scientific Reports*, 13(1), 11229. doi: 10.1038/s41598-023-38434-w
- Linillos-Pradillo, B., Rancan, L., Paredes, S. D., Schlumpf, M., Lichtensteiger, W., Vara, E., Tresguerres, J. A. (2023b). Low dose of BPA induces liver injury through oxidative stress, inflammation and apoptosis in long-evans lactating rats and its perinatal effect on female PND6 offspring. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4585. doi: 10.3390/ijms24054585
- Maćczak, A., Cyrkler, M., Bukowska, B., Michałowicz, J. (2017). Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (*in vitro* study). *Toxicology in Vitro*, 41: 143-149. doi: 10.1016/j.tiv.2017.02.018
- Mahmoudi, A., Ghorbel, H., Marrekchi, R., Isoda, H., Sayadi, S. (2015). Oleuropein and hydroxytyrosol protect from bisphenol A effects in livers and kidneys of lactating mother rats and their pups'. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67(7-8), 413-425. doi: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2015.04.007>
- Maranghi, F., Macrì, C., Ricciardi, C., Stazi, A. V., Rescia, M., Mantovani, A. (2003). Histological and histomorphometric alterations in thyroid and adrenals of CD rat pups exposed in utero to methyl thiophanate. *Reproductive Toxicology*, 17(5), 617-623. doi: 10.1016/s0890-6238(03)00105-9
- Mates, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104. doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00306-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00306-1)
- Mates, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104. doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00306-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00306-1)
- Mustieles, V., d'Cruz, S. C., Couderq, S., Rodríguez-Carrillo, A., Fini, J. B., Hofer, T., Steffensen, I. L., Dirven, H., Barouki, R., Olea, N., Fernández, M.F., David, A. (2020). Bisphenol A and its analogues: A comprehensive review to identify and

- prioritize effect biomarkers for human biomonitoring. *Environment International*, 144, 105811. doi: 10.1016/j.envint.2020.105811
- Nanba, K., Blinder, A. R., Rainey, W. E. (2021). Primary cultures and cell lines for *in vitro* modeling of the human adrenal cortex. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 253(4), 217-232. doi: 10.1620/tjem.253.217
- Olukole, S. G., Lanipekun, D. O., Ola-Davies, E. O., Oke, B. O. (2019). Melatonin attenuates bisphenol A-induced toxicity of the adrenal gland of Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 5971-5982. doi: 10.1007/s11356-018-4024-5
- Othman, A. I., Edrees, G. M., El-Missiry, M. A., Ali, D. A., Aboel-Nour, M., Dabdoub, B. R. (2016). Melatonin controlled apoptosis and protected the testes and sperm quality against bisphenol A-induced oxidative toxicity. *Toxicology and Industrial Health*, 32(9), 1537-1549. doi: <https://doi.org/10.1177/074823371456>
- Oularbi, H. K. (2014). Biochemical and histopathological changes in the kidney and adrenal gland of rats following repeated exposure to Lambda-Cyhalothrin. *Journal of Xenobiotics*, 4(1), 2240. doi: <https://doi.org/10.4081/xeno.2014.2240>
- Pal, S., Sarkar, K., Nath, P. P., Mondal, M., Khatun, A., Paul, G. (2017). Bisphenol S impairs blood functions and induces cardiovascular risks in rats. *Toxicology Reports*, 4, 560-565. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.10.006
- Panagiotidou, E., Zerva, S., Mitsiou, D. J., Alexis, M. N., Kitraki, E. (2014). Perinatal exposure to low-dose bisphenol A affects the neuroendocrine stress response in rats. *J Endocrinol*, 220(3), 207-218. doi: 10.1530/JOE-13-0416
- Pereira, A., Carvalho, A. P., Cruz, C., Saraiva, A. (2017). Histopathological changes and zootechnical performance in juvenile zebrafish (*Danio rerio*) under chronic exposure to nitrate. *Aquaculture*, 473, 197-205. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.018>
- Pereira, C., Mapuskar, K., Rao, C. V. (2007). A two-generation chronic mixture toxicity study of Clophen A60 and diethyl phthalate on histology of adrenal cortex and thyroid of rats. *Acta Histochemica*, 109(1), 29-36. doi: 10.1016/j.acthis.2006.09.008
- Raees, K., Ishfaq, R., Ullah, A., Tahir, M. Z., Abbas, T., Tahir, H. M., Mukhtar, M. K. Arshad, M., Khan, S. Y., Ahmad, K. R. (2012). Histological and micrometric effects of diazinon exposure on adrenal medulla and cortex in mice. *Journal of Applied Animal Research*, 40(4), 267-272. doi: <https://doi.org/10.1080/09712119.2012.672309>
- Ribelin, W. E. (1984). The effects of drugs and chemicals upon the structure of the adrenal gland. *Toxicological Sciences*, 4(1), 105-119. doi: <https://doi.org/10.1093/toxsci/4.1.105>
- Rochester, J. R., Bolden, A. L. (2015). Bisphenol S and F: a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environmental Health Perspectives*, 123(7), 643-650. doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.140898>
- Rosol, T. J., Yarrington, J. T., Latendresse, J., Capen, C. C. (2001). Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *Toxicologic pathology*, 29(1), 41-48. doi: <https://doi.org/10.1080/019262301301418>
- Sangai, N. P., Verma, R. J., Trivedi, M. H. (2014). Testing the efficacy of quercetin in mitigating bisphenol A toxicity in liver and kidney of mice. *Toxicology and Industrial Health*, 30(7), 581-597. doi: 10.1177/0748233712457438

- Sencar L, Coskun G, Şaker D, Sapmaz, T., Tuli, A., Özgür, H., Polat S. (2021). Bisphenol A decreases expression of Insulin-like factor 3 and induces histopathological changes in the Testes of Rats. *Toxicology and Industrial Health*, 37(6): 314–327. doi: <https://doi.org/10.1177/07482337211014097>
- Sharma, R., Yang, Y., Sharma, A., Awasthi, S., Awasthi, Y. C. (2004). Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxidants and Redox Signaling*, 6(2), 289-300. doi: <https://doi.org/10.1089/152308604322899350>
- Singh, Z., Karthigesu, I. P., Singh, P., Rupinder, K. (2014). Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: a review. *Iranian Journal of Public Health*, 43(3), 7-16.
- Stephensen, E., Sturve, J., Förlin, L. (2002). Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(3), 435-442. doi: [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00129-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00129-1)
- Sur, Ü., Oral, D., Erkekoğlu, P., Koçer-Gümüşel, B. (2017). Bisfenol türevleri daha güvenli mi?-bisfenol F ve bisfenol S'in toksik etkileri. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(3), 225-237.
- Świergosz-Kowalewska, R., Bednarska, A., Kafel, A. (2006). Glutathione levels and enzyme activity in the tissues of bank vole *Clethrionomys glareolus* chronically exposed to a mixture of metal contaminants. *Chemosphere*, 65(6), 963-974. doi: [10.1016/j.chemosphere.2006.03.040](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.040)
- Tochitani, T., Yamashita, A., Matsumoto, I., Kouchi, M., Fujii, Y., Miyawaki, I. (2019). Dose-and time-dependent changes in blood and adrenal levels of multiple steroids in rats after administration of ketoconazole with or without ACTH. *The Journal of Toxicological Sciences*, 44(9), 601-610. doi: <https://doi.org/10.2131/jts.44.601>
- Ullah, A., Pirzada, M., Jahan, S., Ullah, H., Razak, S., Rauf, N., Khan, M. J., Mahboob, S. Z. (2019). Prenatal BPA and its analogs BPB, BPF, and BPS exposure and reproductive axis function in the male offspring of Sprague Dawley rats. *Human & Experimental Toxicology*, 38(12), 1344-1365. doi: [10.1177/0960327119862335](https://doi.org/10.1177/0960327119862335)
- Ullah, A., Pirzada, M., Jahan, S., Ullah, H., Shaheen, G., Rehman, H., Siddiqui, M.F., Butt, M. A. (2018). Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S: Comparative *in vitro* and *in vivo* studies on the sperms and testicular tissues of rats. *Chemosphere*, 209, 508-516. doi: [10.1016/j.chemosphere.2018.06.089](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.089)
- Ullah, H., Jahan, S., Ain, Q. U., Shaheen, G., Ahsan, N. (2016). Effect of bisphenol S exposure on male reproductive system of rats: A histological and biochemical study. *Chemosphere*, 152, 383-391. doi: [10.1016/j.chemosphere.2016.02.125](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.125)
- Uzunhisarcikli, M., Aslanturk, A. (2019). Hepatoprotective effects of curcumin and taurine against bisphenol A-induced liver injury in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 37242-37253. doi: [10.1007/s11356-019-06615-8](https://doi.org/10.1007/s11356-019-06615-8)
- Üstünel, İ. (2001). Histolojik boyama teknikleri. Demir R. (Ed.) **Genel dokular için histolojik inceleme metodları** (1 ed. Vol. 2, pp. 51-95). Palme Yayıncılık: Ankara, Türkiye.
- Valenzuela, A. (1990). The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sciences*, 48(4), 301-309. doi: [10.1016/0024-3205\(91\)90550-u](https://doi.org/10.1016/0024-3205(91)90550-u)

- Waidyanatha, S., Black, S. R., Snyder, R. W., Yueh, Y. L., Sutherland, V., Patel, P. R., Watson, S. L., Fennell, T. R. (2018). Disposition and metabolism of the bisphenol analogue, bisphenol S, in Harlan Sprague Dawley rats and B6C3F1/N mice and *in vitro* in hepatocytes from rats, mice, and humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 351, 32-45. doi: 10.1016/j.taap.2018.05.008
- Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Noda, S., Takatsuki, M. (2002) Changes of serum alpha2u-globulin in the subacute oral toxicity study of ethynyl estradiol and bisphenol A based on the draft protocol for the 'enhanced OECD test guideline No. 407'. *Toxicology*, 176(1-2), 101–112. doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00160-9](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00160-9)
- Yarrington, J. T., Reindel, J. F. (1996). Chemically induced adrenocortical degenerative lesions. *Endocrine System*, 467-476.
- Yin, H., Xu, L., Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944-5972. doi: <https://doi.org/10.1021/cr200084z>





ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sevnur ÖZCAN

Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Fakülte : Eğitim Fakültesi

Bölüm : Biyoloji Öğretmenliği

Mezuniyet Yılı : 2020







VAN YÜHADYEK
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

AraştırmannınAdı	Bisfenol S'nin erkek ratlarda adrenal bez üzerindeki toksik etkilerinin araştırılması	
Research Title	Investigation of the toxic effects of bisphenol S on the adrenal gland in male rats	
Araştırmacı(lar)	Yürütücü / Chief investigator :	Prof. Dr. Burak KAPTANER
Investigator(s)	YardımcıAraştırmacı(lar) / Co-investigator(s):	Sevnur ÖZCAN (Yüksek lisans öğrencisi / MSc candidate)
AraştırmannınBaşlamaTarihi / Research Starting Date:28.09.2023		
AraştırmannınBitişTarihi / Research Completion Date:28.05.2024		
ProjeSüresi / Total Time ofProject:Dokuz ay / Nine months		
Proje No / Project Number:Yok / None		
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):Yok / None		
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding: Yok / None		
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30/05/2024 tarih ve 2024/05-21 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.		
Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 30/05/2024, (decision number 2024/05-21).		
BAŞKAN/CHAİR		
Prof. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN		
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Prof. Dr. Atilla DURMUŞ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	Prof. Dr. Semiha DEDE	Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN	Doç. Dr. Canser YILMAZ DEMİR	Dr. Öğr. Üyesi Dicle ALTINDAL
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN	Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 01/07/2024

Tez Başlığı: Bisfenol S'nin Erkek Ratlarda Adrenal Bez Üzerindeki Toksik Etkilerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 32 (otuziki) sayfalık kısmına ilişkin, 01/07/2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % 5 (yüzde beş) tir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Adı Soyadı: Sevnur ÖZCAN

Öğrenci No: 21910001093

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Tezli Yüksek Lisans

Statüsü: (×) Yüksek lisans () Doktora

01/07/2024

Sevnur ÖZCAN

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Prof. Dr. Burak KAPTANER

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR