

**ERKEK YENİ ZELANDA TAVŞANLARINDA SUBAKUT
BİSFENOL A TOKSİSİTESİ**

Hayrullah KARABULUT

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

**Tez No: 2019-006
2019-AFYONKARAHİSAR**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERKEK YENİ ZELANDA TAVŞANLARINDA
SUBAKUT BİSFENOL A TOKSİSİTESİ

Hayrullah KARABULUT

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Bu Tez TÜBİTAK tarafından 116O027 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2019–006

2019–AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

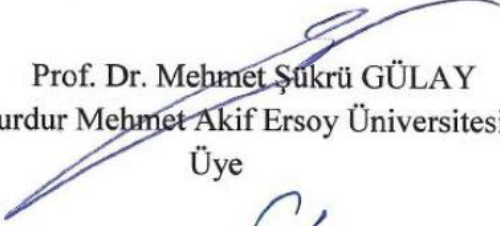
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi: 30/04/2019



Prof. Dr. Recep ASLAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı




Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Tahir KARAŞAHİN
Aksaray Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Zafar ÖZYILDIZ
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Üye



Dr. Öğr. Üyesi, Elmas ULUTAŞ
Yozgat Bozok Üniversitesi
Üye

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı öğrencisi Hayrullah KARABULUT'un "Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Subakut Bisfenol A Toksisitesi" başlıklı tezi günü saat’da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Son yıllarda, endokrin sistemimizin çevresel kirlilikteki artışa bağlı olarak kimyasal maddeler tarafından olumsuz etkilenmeye başlaması, toplumda sağlık ve üreme değişiklikleri ile ilgili olası kaygıları arttırmaktadır. Bu yüzden, çevresel endokrin bozucular dünya genelinde kayda değer oranda medyanın ilgi odağı haline gelerek, Avrupa ve ABD başta olmak üzere, birçok ülkenin devlet kurumları, sanayi ve akademileri, uzman grupları ve yönetim kurullarının gündemine oturmuştur.

Bisfenol A (BPA) östrojenik etkili endokrin bozucu kimyasallar grubunun bir üyesidir. Sanayi, tıp ve günlük yaşantımızda kullandığımız birçok malzemede yaygın kullanımı ve canlılar üzerindeki olası etkilerinden dolayı son 20 yıl içerisinde BPA'ya yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. BPA'nın metabolik hastalıklardan fertiliteye kadar olumsuz etkilerine dair çok sayıda yayın bulunsa da, tavşanlar üzerine etkilerini inceleyen çalışmalara rastlamak mümkün değildir. Çalışmamız endokrin bozucu bir kimyasal olan BPA'nın tavşanlarda spermatolojik parametreler başta olmak üzere hematolojik, biyokimyasal ve hormonal parametrelerin yanı sıra farklı dokularda malondialdehid (MDA) ve antioksidan enzim seviyelerini, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularındaki histopatolojik etkilerini içermektedir. Bu bağlamda, bu konudaki literatür boşluğunu doldurmaya yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

Doktora öğrenimim ve tez çalışmam boyunca çok fazla emeği bulunan, bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yol gösteren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY'a katkılarından ve desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dallarında bulunan değerli Öğretim Üyelerine Doktora öğrenimimdeki kazanımlarıma katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tezimin histopatolojik bulgular kısmındaki doku analizlerini yapan Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ'a, tavşanların bakım ve beslenmesinde yardımcı olan Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi personeline ve HPLC cihazı ile serum BPA seviyelerinin belirlenmesinde emeği olan Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkez Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ediyorum. Her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen eşim Seda KARABULUT ve kızım Fatma Hafsa KARABULUT başta olmak üzere bütün aileme ve zor günlerimde yanımda olan bütün arkadaşlarıma ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Hayrullah KARABULUT

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	x
Tablolar	xi
Grafikler	xiii
Resimler	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri ve Tarihçesi	3
2.2. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
2.3. Bisfenol A Üretimi ve Kullanım Alanları	7
2.3.1. Polikarbonatlar	8
2.3.2. Epoksi reçineler	10
2.3.3. Polisülfonlar	12
2.3.4. Poliakrilatlar	13
2.3.5. Polieterimid	13
2.3.6. Tetrabromobisfenol A	13
2.3.7. BPA Formaldehit Reçineleri	13
2.3.8. Benzoksazinler	14
2.3.9. Termal kağıt	14

2.4. Bisfenol A Maruziyeti	14
2.4.1. Bisfenol A'nın Gıda Maruziyeti	15
2.4.2. Hava ve Ev Tozu	16
2.4.3. Termal Kağıt	16
2.4.4. Tıbbi Cihazlar ve Sağlık Uygulamaları	17
2.4.5. Diş Ürünleri	17
2.5. Bisfenol A Metabolizması	18
2.6. Bisfenol A Toksikitesi	21
2.7. Bisfenol A'nın Östrojenik Aktivitesi	23
2.8. Bisfenol A'nın Sağlık Üzerine Etkileri	24
2.8.1. Bisfenol A'nın Üreme Üzerine Etkileri	24
2.8.2. Bisfenol A'nın Oksidatif Stres Üzerine Etkileri	25
2.8.3. Bisfenol A'nın Diğer Rahatsızlıklar Üzerine Etkileri	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	27
3.1.1. Kimyasal Maddeler	27
3.1.2. Cihazlar	28
3.1.3. Laboratuvar Malzemeleri	29
3.2. Hayvan Materyali	30
3.2.1. Deney Dizaynı ve Protokolü	30
3.2.2. Kan Alımı	31
3.2.3. Hormon ve Enzim Analizleri	33
3.2.4. Spermın Alınması	34
3.2.5. Spermın Muayenesi	36
3.2.5.1. Ejakulat pH'sı	36
3.2.5.2. Ejakulat Hacmi ve Ağırlığı	36

3.2.5.3. Spermatozoa Konsantrasyonu	36
3.2.5.4. Progresif Motilite	37
3.2.5.5. Seminal Plazma Proteini	37
3.2.6. Çalışmanın Sonlandırılması – Ötenazi ve Yaş Organ Ağırlıklarının Tayini .	37
3.2.7. Serum BPA Analizi	38
3.2.8. Histopatolojik Muayeneler	38
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR	40
4.1. Genel Sağlık Durumu	40
4.2. Serum BPA Seviyeleri	40
4.3. Yem Tüketimi ve Canlı Ağırlık	40
4.4. Organ Ağırlıklarındaki Değişiklikler	41
4.5. Eritrositler Üzerine Etkileri	46
4.6. Akyuvar ve Platelet Düzeyleri	46
4.7. Üre ve Kreatinin Düzeyleri	51
4.8. Serum AST, ALT ve ALP Düzeyleri	51
4.9. Serum Glukoz, Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri	51
4.10. Üreme Hormonları ve Spermatolojik Bulgular	54
4.11. Oksidan ve Antioksidan Parametreler	55
4.12. Histopatolojik Bulgular	65
5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ	85
ÖZET	87
SUMMARY	89
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	115

SİMGELER ve KISALTMALAR

ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
Bis-DMA	BPA Dimetakrilat
Bis-GMA	Bisfenol A Glisidil Metakrilat
BPA	Bisfenol A
BPA10	1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg BPA; 10 mg/kg BPA
BPA20	1 ml mısır yağı içerisinde 20 mg BPA; 20 mg/kg BPA
BPA100	1 ml mısır yağı içerisinde 100 mg BPA; 100 mg/kg BPA
BPAG	BPA Glukuronid
BPAS	BPA Sülfat
CAT	Katalaz
CAS	Kimyasal Kuramlar Servisi numarası – Chemical Abstracts Service
dl	Desilitre
E ₂	Östrodiol
EC	Avrupa Komisyon numarası – The European Community number
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasallar
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EKG	Elektrokardiyografi
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER α	Östrojen Reseptörü Alfa
ER β	Östrojen Reseptörü Beta
ERR γ	Östrojen İlişkili Reseptör Gamma
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü – Food and Agriculture Organization
Fasn	Fatty Acid Synthase
fl	Femtolitre
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon

g	Gram
GİS	Gastrointestinal Sistem
GLUT4	Glukoz Taşıyıcı 4
GPR30	G Proteini Bağlı Reseptör 30
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GUSB	β -glukuronidaz
HbA1c	Hemoglobin A1c
Hg	Civa
Hmgcr	3-Hidroksi-3-Metil Glutaril Koenzim A Redüktaz
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
İNHA	İnhibin Alfa
IU	Uluslararası Birim – International Unit
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
I.V.	İntravenöz
Kg	Kilogram
KONT	Kontrol Grubu
kPa	Kilopaskal
L	Litre
LOAEL	Olumsuz Etkinin Görüldüğü En Düşük Düzey
LD50	Öldürücü Doz 50; Deney Hayvanlarının Yarisını Öldüren Doz
LH	Lüteinleştirici Hormon
LPL	Lipoprotein Lipaz
MBP	4-metil-2,4-bis (4-hidroksifenil) pent-1-en
MDA	Malondialdehid
m ³	Metre Küp
mg	Miligram
mIU	Mili Uluslararası Birim
ml	Mililitre
mmol	Milimol

μm	Mikrometre
μg	Mikrogram
ng	Nanogram
NOAEL	Olumsuz Etkinin Görülmediği En Yüksek Düzey
NPY	Nöropeptid Y
OAH	Ortalama Alyuvar Hacmi
OAHb	Ortalama Alyuvar Hemoglobini
OAHbY	Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu
P Değeri	Olasılık – Probability
pg	Pikogram
pH	Hidrojen İyon Konsantrasyonu
POMC	Proopiomelanokortin
PPAR	Peroksizom Proliferator-Activated Receptor
ppm	Milyonda Bir Birim – Parts Per Million
PVC	Polivinilklorür
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Scd1	Stearoyl CoA Desaturase 1
SOD	Süperoksid Dismütaz
SP	Seminal Plazma
Sqle	Squalene Epoxidase
STS	Steroid Sülfataz
SULT	Sülfotransferaz
TBBPA	Tetrabromobisfenol A
UGT	Üridin Difosfat-Glukuronosiltransferaz
US EPA	ABD Çevre Koruma Ajansı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü – World Health Organization

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Fenol ve Asetondan Bisfenol A Sentezi	5
Şekil 2.2. Bisfenol A Metabolizması	19
Şekil 2.3. Karaciğerde Bisfenol A'nın Glukuronidasyonu ve Eliminasyon Yolu ...	20
Şekil 2.4. Kemirgenler ve Primatlardaki Bisfenol A Metabolizması	21

TABLOLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri	4
Tablo 2.2. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	6
Tablo 2.3. Bisfenol A'nın Yıllara Göre Dünyadaki Üretim Kapasitesi	8
Tablo 2.4. Polikarbonatların Uygulama Alanları	9
Tablo 2.5. Epoksi Reçinelerinin Uygulama Alanları	11
Tablo 4.1. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Canlı Ağırlık, Yem Tüketimi ve Organ Ağırlıkları Üzerine Etkisi	42
Tablo 4.2. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Canlı Ağırlık, Yem Tüketimi ve Organ Ağırlıkları Üzerine Etkisi	44
Tablo 4.3. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi	47
Tablo 4.4. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi	48
Tablo 4.5. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Kan Akyuvar Değerleri ile Platelet Seviyeleri Üzerine Etkisi	49
Tablo 4.6. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Kan Akyuvar Değerleri ile Platelet Seviyeleri Üzerine Etkisi	50
Tablo 4.7. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi	52

Tablo 4.8. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi	53
Tablo 4.9. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Testesteron, Östrojen, İnhibin, FSH ve LH Hormonları Üzerine Etkisi	56
Tablo 4.10. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Serum ve Seminal Plazma Testesteron ve Östrojen Hormonları Üzerine Etkisi ..	57
Tablo 4.11. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkisi	58
Tablo 4.12. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkisi	59
Tablo 4.13. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Serum MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi	61
Tablo 4.14. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Karaciğer Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi	62
Tablo 4.15. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Böbrek Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi	63
Tablo 4.16. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Testis Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi	64

GRAFİKLER**Sayfa**

Grafik 4.1. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkisi	43
Grafik 4.2. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi	43
Grafik 4.3. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi	45
Grafik 4.4. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Yem Tüketimi Üzerine Etkisi	45

RESİMLER

	<u>Sayfa</u>
Resim 2.1. Bisfenol A'nın Fiziksel Görünümü	5
Resim 3.1. Damarın Belirlenmesi Amacıyla Kulakların Temizlenmesi	32
Resim 3.2. Tavşan Sentral Kulak Arterinden I.V. Kanül ile Kan Alınması	32
Resim 3.3. Tavşanların Spermlerini Almada Kullanılan Suni Vajen	34
Resim 3.4. Erkek Tavşanlardan Sperm Numunelerinin Toplanması	35
Resim 3.5. Erkek Tavşanlardan Ejakülat Toplanması	35
Resim 3.6. Bisfenol A Analizleri için Kullanılan HPLC Cihazı	39
Resim 4.1. BPA Gruplarında Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a .	66
Resim 4.2. BPA Gruplarında Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b .	66
Resim 4.3. BPA Gruplarında Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a	68
Resim 4.4. BPA Gruplarında Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b	68
Resim 4.5. BPA Gruplarında Beyin Parietal Korteks Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a	69
Resim 4.6. BPA Gruplarında Beyin Parietal Korteks Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b	69
Resim 4.7. BPA Gruplarında Testis Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi	70

1. GİRİŞ

Hayatımızın her noktasında çeşitli kimyasallardan elde ettiğimiz yapay malzemelerin yoğun olarak kullanılmasına bağlı endokrin bozucu kimyasallar (EDC) ile karşı karşıya kalma riskimiz artırmıştır (Sharpe, 2010). Bu kimyasallar, insan ve hayvanların endokrin sistemi üzerinde olumsuz etki gösterdiklerinden dolayı EDC olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak, EDC'lerin hormonal sistem üzerindeki etkilerine bağlı fertilitte bozuklukları, genital malformasyonlar, kanser, obezite, insülin direncinde artış ve diyabet gibi çeşitli hastalıklar gözlenebilmektedir. EDC'lerden üretilen malzemelerin yoğun bir şekilde kullanılmasından dolayı insanlar bu maddelere çeşitli yollardan maruz kalabilmektedir. İlaçlarda, doğal ürünlerde, pestisitlerde, plastiklerde, parfümlerde, losyonlarda, boyalarda ve yiyeceklerde bulunabilen bu kimyasallar vücuda girdiğinde hormon gibi davranabilir veya hormon reseptörlerine bağlanıp doğal hormonların işleyişini engelleyebilirler (Rudel ve Perovich, 2009; Sharpe, 2010).

Özellikle son yüz yılda sanayileşmenin ve endüstrileşmenin hızlı bir şekilde artmasına paralel olarak çevre kirliliğinde de önemli bir ölçüde artış gözlenmiştir. Çevre kirliliğinin birden fazla nedeni olmasına rağmen, fabrika atıklarının kontrolsüz olarak doğaya bırakılması, toprak, su ve havanın kirlenmesinde en önemli sebeplerden birisi olmuştur. Bisfenol A (BPA) da bu kirlenmede rol oynayan EDC'ler arasında gösterilebilir. Her yıl yaklaşık olarak 100 ton BPA atmosfere salınmaktadır (Rubin, 2011; Michałowicz, 2014). Bunun yanı sıra yüzey sularında ve toprakta da kayda değer oranlarda BPA tespit edilmektedir. Su, toprak ve atmosferin kirlenmesine neden olan bu kontaminasyon, doğal çevreyi insanlar ve hayvanlar için BPA'ya maruz kalma kaynaklarından biri haline getirmiştir. Buna rağmen, insanlar için birincil BPA kaynağı gıdalardır (Kang ve ark., 2006; Vandenberg ve ark., 2007). BPA'ya oral alım, temas veya solunum yoluyla maruz kalınabilir (Hartmann, 2014).

Bu tez çalışması dünya üzerinde her geçen gün artan ve ülkemizde de son yılların popüler gündem maddesi olan BPA'nın, tavşanlar üzerindeki kan ve

spermatolojik parametreler, hormonal seviyeler ve farklı organlardaki oksidan-antioksidan enzimler üzerine etkisini ortaya koymak için yapılmıştır. Aynı zamanda BPA'nın tavşanlarda üreme parametreleri üzerine çalışılmamış olmasından dolayı yapılacak yeni çalışmalarda önemli bir kaynak olma niteliği de taşımaktadır. Ayrıca tavşanlarda daha önce belirlenmemiş olan NOAEL ve LOAEL değerlerinin bildirilmesinden dolayı literatürdeki eksik parçalardan birini de tamamlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri ve Tarihçesi

BPA'nın bulunması ve sentezlenmesinde iki bilim insanı önemli rol oynamıştır. 1891'de Saint Petersburg'daki Tıbbi Cerrahi Akademisinden Rus kimyacı Aleksandr Pavlovich Dianin, fenol ile aseton reaksiyonunda BPA sentezini ilk kez bildiren kişidir (Czub, 2011). Daha sonra, 2 fenol grubu ve 1 aseton molekülünden BPA sentezi 1905'te Marburg Üniversitesi'nden Alman kimyager Theodor Zincke tarafından da bildirilmiştir (Şekil 2.1; Zincke, 1905). Zincke, BPA ve BPA ile bağlantılı bazı bileşiklerin sentezinin yanı sıra BPA'nın temel özellikleri hakkında da (moleküler bileşimi, yaygın çözücülerde çözünürlüğü ve erime noktası gibi) önemli bilgileri literatüre kazandırmıştır (Zincke, 1905; Czub, 2011).

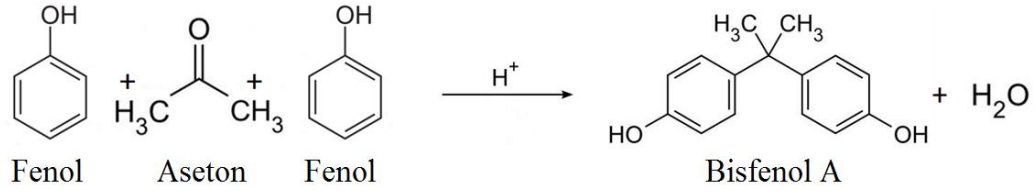
Bu bilgilerden sonra 1910'ların sonuna kadar, BPA kullanımı ve uygulanmasına dair başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. BPA'nın daha teknolojik bir yöntem ile sentezlenmesi ve bunun yapay zambak üretimi için kullanılmasına yönelik ilk patent ise 1917'de Wallace Appleton Beatty tarafından elde edilmiştir (Beatty, 1917). BPA'nın ilk endüstriyel uygulaması, 1923 yılında bir Alman şirketi tarafından Albertöl adı verilen sentetik gomalak (cila ve zambak yapımında kullanılan reçine) üretimidir (Czub, 2011). 1930'larda, Middlesex Hastanesi Tıp Fakültesi Biyokimya Enstitüsü'nden Edward Charles Dodds ve Wilfrid Lawson tarafından yapılan çalışmalar sonucunda sentetik bir östrojen olduğu anlaşıldı (Dodds ve Lawson, 1936).

Endüstrinin BPA'ya olan ilgisi özellikle fenolik reçine kullanımının (kaplama uygulamalarının yanı sıra kauçuk, plastik ve petrol ürünlerinde) ve üretiminin başlaması ile bağlantılı olarak 1930'ların sonlarında başladı. Ancak, BPA üretiminin en büyük gelişimi 1950'lerde plastik çağının başlamasıyla kendini gösterdi (Czub, 2011). Günümüzde 2000'li yıllara geldiğimizde ise BPA dünya üzerinde en yüksek üretim hacmine sahip kimyasallardan birisi haline gelmiştir (Vandenberg ve ark.,

2007). Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry; IUPAC) adlandırma sistemine göre 2,2-bis(4-hidroksifenil) propan olarak isimlendirilen BPA'nın genel özellikleri tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri (ECB, 2003; ECHA, 2017a).

IUPAC adı	2,2-bis(4-hidroksifenil) propan
CAS Numarası	80-05-7
EC Numarası	201-245-8
EC adı	4,4'-İsopropilidendifenol
Diğer adları	Dian (Ticari Marka); Parabis (Ticari Marka); 2,2-bis (p-hidroksi-fenil) propan; p,p'-İzopropiliden-bisfenol; p,p'-İzopropiliden-di-fenol; Fenol,4,4-İsopropiliden-di; Difenilol Propan; Bis (4-hidroksifenil) dimetil metan; Bis (4-hidroksifenil) propan; Dimetilmetilen-p,p'-Di-fenol; Dimetil Bis (p-hidroksifenil) metan; 4,4'-Dihidroksi-2,2'-difenil propan; 4,4'-Dihidroksidifenildimetil metan; 4,4'-Dihidroksidifenil propan; β -di-p-Hidroksifenil propan; p,p'-Dihidroksidifenildimetil metan; p,p'-Dihidroksi-difenil propan; 2,2'-(4,4'-Dihidroksidifenil) propan; 4,4'-dihidroksidifenil-2,2'-propan; 2,2'-di (4-hidroksifenil) propan; 2,2'-di (4-fenilol) propan; 4,4-İsopropiliden bisfenol; 4,4'-(1-metiletiliden) bisfenol



Şekil 2.1. Fenol ve Asetondan Bisfenol A Sentezi (Kosaka ve Sinclair, 1982).

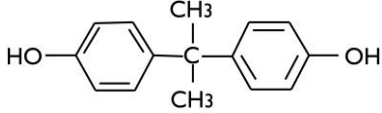
2.2. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

BPA hafif fenolik kokulu, beyaz renkli ve katı şekilde olup atmosfer sıcaklığında düşük buhar basıncına sahiptir fakat uçucu değildir (Resim 2.1). Organik çözücülerde iyi çözünürken suda düşük çözünürlüğe sahiptir (Danish EPA, 2012). Asetik asit, alkali solüsyon, alkol ve asetonunda iyi çözünürken karbon tetraklorürde az çözünür (Toxnet, 2013). Tablo 2.2'de BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri ayrıntılı olarak verilmiştir.



Resim 2.1. Bisfenol A'nın Fiziksel Görünümü

Tablo 2.2. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.

Özellik	Değer	Kaynak
Kimyasal yapısı		(Staples ve ark., 1998)
Moleküler formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	(Staples ve ark., 1998)
Moleküler ağırlığı	228,29 g/mol	(Staples ve ark., 1998)
Fiziksel durumu (20 °C ve 101,3 kPa=1 atm de)	Beyaz, katı, küçük parçalı ya da toz şekilde	(Danish EPA, 2012)
Erime/Donma noktası	155 – 157 °C	(Danish EPA, 2012)
Kaynama noktası	4 mm Hg 220 °C 4 mm Hg 360 °C	(Staples ve ark., 1998) (Danish EPA, 2012)
Alevlenme noktası	207°C	(Czub, 2011)
Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı	600°C	(Czub, 2011)
Buhar basıncı (25°C de)	5,3×10 ⁻⁹ kPa	(ECB, 2003)
Özgül ağırlığı (20 – 25°C de)	1,060 – 1,195 g/cm ³	(Staples ve ark., 1998)
Suda çözünürlüğü (mg/L)	120 – 300 mg/L, Pratikte çözünmez	(Czub, 2011)
İyi çözüldüğü maddeler	Metanol, etanol, aseton, dietil eter, anhidroz asetik asit ve alkali solüsyon	(Czub, 2011) (Toxnet, 2013)
Koku	Hafif fenolik koku	(Danish EPA, 2012)
Renk	Beyaz, açık kahverengi	(Czub, 2011)

2.3. Bisfenol A Üretimi ve Kullanım Alanları

BPA, sülfürik asit veya hidroklorik asit gibi bir asitle katalize edilen iki equvalan fenol ile bir equvalan asetonun (ismindeki A son ekiyle belirtildiği gibi) kondensasyonu ile hazırlanır (Czub, 2011). BPA'nın saflığı üreticiye bağlı olarak % 99-99,8 arasında değişmektedir. Genellikle geriye kalan % 0,2-1 saf olmama durumu fenol (<% 0,06), BPA'nın orto- ve para- izomerleri (<% 0,2) ve sudan (<% 0,2) kaynaklanmaktadır (ECB, 2003).

Esas olarak polikarbonat (%71) ve epoksi reçine (%25) üretimi için kullanılan (Hartmann, 2014) BPA'nın dünya pazarı son yıllarda ortalama %10'luk bir oranla büyümüştür (Czub, 2011). BPA'nın yıllara göre dünyadaki üretim kapasitesi 2002 yılında 2,9 milyon ton iken (Toxnet, 2013), bu miktar iki kattan daha fazla artarak, 2012 yılında 6 milyon tona (Pivnenko ve ark., 2018), 2013 yılına gelindiğinde ise 6,8 milyon tona ulaşmıştır (Maćczak ve ark., 2015; Tablo 2.3). 2023 yılının sonunda ise dünya üzerindeki BPA pazarının yaklaşık 7,3 milyon tona ulaşması beklenmektedir (Research and Markets, 2018).

BPA üretimi her geçen yıl artarak devam etmektedir. Bu artan üretim ile birlikte dünya üzerinde birçok firma BPA üretimi yapmaktadır. Bunlar arasında Atul, Bayer Material Science, Chang Chun Petrochemical, Dow Chemical, Hexion Specialty Chemicals, Idemitsu Kosan, Kazanorgsintez, Khuzestan Petrochemical, Kingboard Holdings, Kumho P&B Chemicals, LG Chemical, Mitsubishi Chemical, Mitsui Chemicals, Nan Ya Plastics, Nippon Steel Chemical, Novokuibyshevsk Petrochemical, PCC Synteza, RhodiaBrasil, SABIC Innovative Plastics, Shreyas Intermediates, Sunoco Chemicals, Taiwan Prosperity Chemical ve Ufaorgsintez JSC gibi mega firmalar bulunmaktadır (ICIS Chemical Business, 2008). Dünya genelinde farklı ülkelerde BPA üretimi yapılmaktadır. Özellikle Almanya, Hollanda, ABD ve Japonya gibi ülkeler yüksek miktarda BPA üretim kapasitesine sahiptir (Ballesteros-Gómez ve ark., 2009). 2010 yılının ortalarından itibaren BPA'nın dünyadaki en büyük üreticileri Bayer (Amerika, Avrupa ve Asya'da % 23 pay), Mitsui, Nan Ya

Plastics (Asya'da sırasıyla % 9 ve % 8), SABIC, Dow ve Hexion (Amerika ve Avrupa'da sırasıyla %16,2, %7,3 ve %5,6) şirketleridir (ECHA, 2015).

Tablo 2.3. Bisfenol A'nın Yıllara Göre Dünyadaki Üretim Kapasitesi.

Yıllar	Milyon ton	Kaynak
2002	2,9	(Toxnet, 2013)
2003	3,2	(Lin ve ark., 2009)
2004	3,7	(Toxnet, 2013)
2005	5,2	(Geueke, 2014)
2006	3,9	(Amin ve ark., 2019)
2007	4,7	(Huang ve ark., 2012)
2008	4,9	(Czub, 2011)
2009	3,8	(Danish EPA, 2012)
2010	5,0	(Zielińska ve ark., 2019).
2011	5,5	(Rochester, 2013)
2012	6,0	(Pivnenko ve ark., 2018)
2013	6,8	(Maćczak ve ark., 2015)
2023	7,3*	(Research and Markets, 2018)

*Tahmini değer

2.3.1. Polikarbonatlar

BPA esas olarak polikarbonat (%71) üretiminde kullanılır. Polikarbonatlar termoplastik polimerlerdir. Dijital ürünler, cep telefonları, bilgisayarlar, konteynerler, kimlik kartları, oyuncaklar, gıdyla temas eden malzemeler, tıbbi cihazlar, polikarbonat su depoları, çikolata kalıpları, su ısıtıcılar, mutfak eşyaları, su şişeleri, gözlük camları, tüketici elektroniği ve elektrikli teçhizat gibi birçok tüketici ürünlerinin üretimi için kullanılırlar. Ayrıca, otomotiv endüstrisinde ve su dağıtım şebekelerindeki borularda kullanılmaktadır (Hartmann, 2014). BPA içeren polikarbonatlar, GE Plastics (ABD) tarafından Lexan® ve Bayer (Almanya)

tarafından Makrolon® markası altında neredeyse eşzamanlı olarak ticarileştirilmiştir (Ruijten, 2018). Polikarbonatların uygulama alanları tablo 2.4’de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tablo 2.4. Polikarbonatların Uygulama Alanları (Czub, 2011; ECHA, 2017b).

Uygulama Alanları	Payı	Örnek Uygulamalar
Optik medya	32	Kompakt Diskler: CD ve DVD’ler, Blu-Ray diskler, dijital ve holografi diskleri, veri depolama teknolojisi (Bellek kartları ve USB diskleri)
Elektrik ve elektronik	23	Cep telefonları, alarm cihazları, SLR kameralar, elektrikli tıraş makineleri, saç kurutma makineleri, buharlı ütüler, mikserler, bilgisayarlar, monitörler, televizyonlar, fotokopi makineleri, yazıcılar, mikrodalgalar, kahve makineleri, elektrikli ocaklar için ön paneller, elektrikli ısıtıcılar, otomatlar için şeffaf ön paneller, tren ve uçaklar için iç aydınlatma panelleri, TV’ler için arka aydınlatma birimleri, anahtar modülleri için kasa, dağıtıcı kutuları, sigortalar, batarya güç istasyonları, elektrik sayaçları, anahtarlar, prizler, fişler, lamba tutucular, faks makineleri, çağrı cihazları, devre kesiciler, kablo soketleri, ekranlar, röleler, LED’ler, emniyet şalterleri, buzdolapları
Farklı karışımlar	15	Özellikle otomotiv endüstrisinde, elektrikli cihazlarda ve elektronik cihazlarda kullanılır
İnşaat	13	Çatı kaplamaları, mimari camlar, sera camları, güvenlik camları, çatı pencereleri, güneş panelleri için kapaklar, yollar ve tren yolları için gürültü azaltma setleri, otobüs bekleme durakları için camlar, yol işaretleri, stadyumlar için iç güvenlik kalkanları, halojen yıldırım sistemleri için muhafaza ve bağlantı elemanları, reklam afişleri için ön paneller, tabelalar, büyük reklam ekranları, sokak lambaları ve lambalar için su ve toz geçirmez aydınlatma küreleri, trafik lambaları için reflektörler

Tablo 2.4. Polikarbonatların Uygulama Alanları (Devam)

Uygulama Alanları	Payı	Örnek Uygulamalar
Otomotiv	9	Yan camlar, şeffaf tavan parçaları, arka camlar, şeffaf arka gövde parçaları, far lensleri, far, arka lamba, gösterge reflektörleri, sis farları, iç aydınlatma kapakları, fren lambaları, tamponlar, radyatör ve havalandırma ızgaraları, gösterge panoları, arka ışık reflektörleri, kaplamalar, sinyaller
Tıp ve sağlık	3	Kan oksijenatörleri, kardiyotomi rezervuarları, diyaliz cihazları, solunum cihazları, diş hekimlerinin operasyon lambaları, göğüs pompaları, i.v. konektörler, neşter kılıfları, laparoskop tutacakları, kontakt lens tutucular, şırınga başlıkları, medikal ambalaj filmi, ampuller, tek kullanımlık operasyon aletleri, gözlük camları
Paketleme ve şişeler	3	Yeniden kullanılabilir su ve süt şişeleri, çatal bıçak takımı, gıda kapları, sürahiler, su damacaneleri, saklama kapları, su soğutucu şişeler
Diğerleri	2	Güvenlik ve kayak gözlükleri, güneş gözlükleri, koruyucu maskeler, motosiklet ve bisiklet kaskları, polisler için güvenlik zırhları, oyuncaklardaki saydam bloklar

2.3.2. Epoksi reçineler

BPA bazlı epoksi reçineleri ilk olarak 1937'de, Dr. Sylvan Greenlee tarafından sentezlenmiştir (Ruijten, 2018). Epoksi reçineler (%25), polikarbonatlardan sonra BPA'nın en fazla kullanıldığı ikinci üründür. Gıda ile temas eden malzemelerdeki kaplamalarda (özellikle konserve yiyecek ve içeceklerde), diş dolgularında, elektronik ürünlerde, fiber takviyeli plastik malzemelerde, endüstriyel koruyucu kaplamalarda, zemin kaplamalarında ve yapıştırıcılarda kullanılır (Hartmann, 2014). Epoksi reçinelerinin uygulama alanları tablo 2.5'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tablo 2.5. Epoksi Reçinelerinin Uygulama Alanları (Czub, 2011; ECHA, 2017b).

Uygulama Alanları	Payı	Örnek Uygulamalar
Denizcilik ve koruyucu kaplamalar	20	Gemi ve yatların gövdeleri, su altı kaplamaları, açık deniz petrol sondaj platformları, destekli çelik yapılar, deniz konteynerleri, çelik köprüler, depolama tankları, elektrik motorları, motorlar, makineler, içme suyu dağıtım boruları, gaz boruları, korozyon önleyici kaplamalar
Toz boyalar ile kaplama	18	İnşaat panelleri (kaplama, metal çatı, tavan, garaj kapıları), radyatörler, inşaat demiri (beton takviye), bahçe aletleri ve ekipmanları, otomotiv parçaları, motor blokları, çelik mobilyalar, çelik raflar, ofis mobilyaları (etajerler, metal masalar, dosya dolapları), borular, vanalar ve bağlantı parçaları, alet takımları, petrol ve gaz endüstrisinde kullanılan çelik boruların ve bağlantı parçalarının korozyon koruması
Elektrik ve elektronik	16	Elektronik parçalar (transformatörler, indüktörler), motorlar, jeneratörler, anahtar mekanizmaları kaplaması
İnşaat mühendisliği	15	Döşeme, gıda endüstrisi, kimya tesisleri, ilaç endüstrisi, kiremit ve tuğla kaplamalar, dolgu ve onarım malzemeleri, masalar için kaymaz kaplamalar, taban suyu koruması
Teneke kutu ve bobin kaplamaları	11	Yiyecek ve içecek kutuları, yemek tepsileri, variller, kovalar, bükülebilir tüpler (diş macunu ve krem tüpleri gibi), gazoz şişesi kapakları, pişirme kapları, inşaat panelleri, ocaklar, karavanlar, havalandırma ve iklimlendirme ekipmanları, ofis mobilyaları, buzdolabı ve derin dondurucular, bulaşık makineleri, çamaşır makineleri, kurutucular, ev aletleri (örneğin elektrikli süpürgeler)
Otomotiv kaplamaları	9	Korozyon koruyucu kaplamalar ve araba, otobüs ve vagonlar için su bazlı astarlar

Tablo 2.5. Epoksi Reçinelerinin Uygulama Alanları (Devam)

Uygulama Alanları	Payı	Örnek Uygulamalar
Kompozitler - Alaşımlar	5	Hokey ve golf sopaları, kayak ve kayak sopaları, sörf tahtaları, snowboard, spor raketleri (tenis, badminton, squash), kasklar, borular, tanklar, konteynerler, gaz şişeleri, otomobil parçaları (gövde paneli, kabin, rüzgarlık, şaft), vagonlar, tekneler, yatlar, havacılık (uçak), askeri (helikopter)
Yapıştırıcılar	4	Otomobil, tekne ve uçaklar için yapıştırıcılar, inşaat ve binalar için yapısal yapıştırıcılar, tamir takımları, optikler, fiber optikler, optoelektronik
Diğerleri	2	Baskı mürekkepleri, ahşap kaplamalar, kağıt ve tahta vernikleri, plastikler ve astarlanmış metaller için kaplamalar

2.3.3. Polisülfonlar

BPA ve bis (4-klorofenil) sülfon'un kondensasyonu ile sentezlenen termoplastik bir polimerdir. Yüksek sıcaklıklarda dayanıklılığı ve kararlılığı için kullanılır. Polisülfon üreticileri, polisülfon'un polikarbonat polimerlerinden daha yüksek bir ısı direnci ve daha iyi hidrolitik kararlılık sunduğunu, buhar ve diğer sterilizasyon tekniklerine maruz kaldığında mekanik özelliklerini yüksek oranda koruduğunu iddia etmektedir. Polisülfonlar, ileri derece şeffaf, sterilize edilebilir, uzun süreli bulaşık makinesinde güvenle yıkanabilir ve darbelere karşı dayanıklı olma özelliklerinden dolayı polikarbonatlara alternatif olarak kullanılmaktadır (Geens ve ark., 2011).

2.3.4. Poliakrilatlar

Dental kompozit reçineler, monomerlerin bir karışımından oluşur ve bu monomerler içerisinde en yaygın olarak BPA glisidil metakrilat (Bis-GMA) kullanılmaktadır. Bis-GMA'ya ek olarak, bu reçineler BPA dimetakrilat (Bis-DMA) gibi BPA içeren başka monomerler de içerir. Dolgu macunları dış yapılarına uygulanır uygulanmaz, kimyasal bir kütleme veya fotoaktivasyon yoluyla polimerize edilirler (Geens ve ark., 2011).

2.3.5. Polieterimid

Polieterimid, sıra dışı mekanik, termal ve elektronik özelliklere sahip, polikarbonat ve polisülfondan daha yüksek sıcaklıklarda direnci ve sertliği artıran, yüksek performanslı bir plastiktir. Bu nedenle sağlık, elektrik-elektronik, otomotiv, uçak endüstrileri ve mikrodalgalarda kullanılır (Geens ve ark., 2011).

2.3.6. Tetrabromobisfenol A

Tetrabromobisfenol A (TBBPA) önemli bir alev geciktiricidir. Bir çözücü varlığında BPA'nın bromlaması ile üretilir (WHO, 1995). TBBPA, eser miktarda BPA (genellikle 3 ppm'den az) içerir (Geens ve ark., 2011).

2.3.7. BPA Formaldehit Reçineleri

BPA formaldehit reçineleri veya fenoplast reçineleri bir fenol ve formaldehitin reaksiyon ürünlerinden meydana gelir. Su ile seyreltikten sonra, kağıtların emdirilmesi ya da ahşap liflerin kaplanması için kullanılırlar. Bu fenoplast reçineleri, elektronik, havacılık ve radyo mühendisliği için elektrikli parçalarda kullanılabilir (Geens ve ark., 2011).

2.3.8. Benzoksazinler

Bisfenol A, benzoksazin monomerlerinin sentezinde prekürsör olarak kullanılır. Mekanik performans ve moleküler esnekliği ile birlikte fenoliklerin termal ve alev geciktirici özelliklerini sergileme yetenekleri nedeniyle ilgi görmüştür. Bu nedenle, kompozit, kaplama ve yapıştırıcı üretim endüstrisinde çeşitli uygulamalarda kullanılabilirler (Geens ve ark., 2011).

2.3.9. Termal kağıt

Termal kağıt, 1960'lı yılların sonlarında, ilk olarak kopyalama makinelerinde ve daha sonra faks makinelerinde kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ise termal kağıt yazar kasa ve alışveriş fişleri, biletler (otobüs, tren, uçak gibi ulaşım biletleri, sinema, tiyatro, spor etkinlikleri, eğlence parkları, oyun alanları, arenalar gibi eğlence biletleri, park biletleri ve piyango biletleri), etiketler (gıda ambalajı, reçeteler ve endüstriyel barkodlar), faks kağıtları, EKG kağıtları, broşürler, posta zarfları, gazeteler, kağıt havlular, tuvalet kağıtları ve gıda kartonlarında kullanılmakta ve termal kağıt üretiminde BPA'dan yararlanılmaktadır (Michałowicz, 2014; Danish EPA 2014).

2.4. Bisfenol A Maruziyeti

İnsanlar üzerinde doğrudan BPA çalışılmasındaki etik problemler nedeniyle, BPA'nın doğrudan insanlar üzerine etkilerini araştıran çalışmalar sınırlı sayıdadır (Völkel ve ark., 2002; Tsukioka ve ark., 2004; Völkel ve ark., 2005). İnsanlar genellikle ya yiyecek, içecek ve çevresel kontaminasyon yoluyla ya da mesleki sebeplerden dolayı (BPA üretimi yapan fabrikalarda çalışma gibi) BPA'ya maruz kalırlar (Hartmann, 2014; Ribeiro ve ark., 2017).

2.4.1. Bisfenol A'nın Gıda Maruziyeti

Yiyecek ve içecekler toplam BPA maruziyetinin yaklaşık olarak % 80-90'ını oluşturur (Hehn, 2016). BPA'nın konserve kutuların iç yüzeylerini kaplamada epoksi reçinelerinin kullanımı ya da polikarbonat üretiminde bir monomer olarak kullanımından dolayı, bu tür malzemelerle temas eden gıdalara sızması ve bu gıdalarda kontaminasyona yol açması mümkündür (Vandenberg ve ark., 2007). Bu sebeple, genel olarak gıdalar, özellikle de konserve gıdalar, BPA maruziyetinin ana kaynağı olarak kabul edilir.

Bazı araştırmalarda çeşitli koşullar altında BPA'nın yiyeceklere geçiş seviyeleri araştırılmış ve konserve kutulardan gıda maddelerine veya içeceklere BPA sızıntısı bildirilmiştir (Brotons ve ark.,1995; Takao ve ark., 2002; Kang ve ark., 2003; Goodson ve ark., 2004). Gıdaların BPA ile kontaminasyonu, genellikle epoksi reçineler ve polikarbonat içeren gıda ambalaj malzemeleri ile temastan kaynaklanır. Epoksi reçinelerin yanı sıra, PVC organosoller de metal kutunun iç yüzeyi ile yiyecek veya içecek arasında doğrudan teması önlemek ve metal kutuları paslanma ve korozyondan korumak için iç yüzey kaplamaları olarak kullanılır (Goodson ve ark., 2002; Cao ve ark., 2011). Ayrıca, bu tür kaplama malzemeleri cam kavanozların metal kapaklarında da bulunmaktadır (Cao ve ark., 2011).

BPA, polikarbonattan yapılan şişeler ve streç filmler gibi gıda maddeleri ile temas eden plastik malzemelerden de geçebilir (Hartmann, 2014). Polimerizasyon işleminin tam yapılmamasından dolayı, polikarbonat kaplar ve kaplamalarda BPA monomerinin kalıntıları, özellikle yüksek sıcaklıklarda depolama ve işleme sırasında gıdalara geçebilir (Geens ve ark., 2012). BPA geçişinin kağıt yoluyla da olabileceği bildirilmiştir. Çalışmalar, geri dönüştürülmüş kağıtlardan yapılan mutfak havlularının dikkate değer konsantrasyonlarda BPA içerebileceğini göstermiştir (Hartmann, 2014).

2.4.2. Hava ve Ev Tozu

BPA'nın üretimi veya BPA içeren eşya ve malzemelerin kullanımı sırasında bu kimyasal maddenin çevreye sızabileceği, hava ve ev tozunu kontamine edebileceği bildirilmiştir (Hartmann, 2014). Bu bakımdan, gıda yoluyla maruziyete ek olarak, iç ortam havası ve tozu insan maruziyetinin önemli bir kaynağı olabilir. Çocuk bakım merkezleri, evler, ofisler ve araştırma laboratuvarlarından alınan toz numunelerinde, her gramda birkaç mikrogram konsantrasyonda BPA bulunmuştur. İç ortam tozlarının yutulması insanlarda, özellikle de çocuklarda BPA'ya maruz kalma yolu olarak gösterilmiştir. Farklı çalışmalarda ev tozunda BPA seviyeleri araştırılmış (Rudel ve ark., 2003; Vandenberg ve ark., 2007; Geens ve ark., 2009) ve 2010 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization; FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization; WHO) uzmanlarının birlikte yaptıkları toplantıda, genel nüfus için toprak/toz ile BPA'nın alımı 0,0001-0,03 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak bildirilmiştir (Liao ve ark., 2012). Ayrıca Japonya'da yapılan bir çalışmada şehir havasındaki mevsimsel BPA değişimleri araştırılmış, sonbahar-kış mevsimleri arasında BPA konsantrasyonlarında artma, kış-ilkbahar mevsimleri arasında ise azalma olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada dış ortam havasındaki ortalama BPA değerleri ise 0,51 ng/m³ olarak bildirilmiştir (Matsumoto ve ark., 2005).

2.4.3. Termal Kağıt

Daha önce de belirtildiği gibi, termal kağıtlarda renk geliştirici olarak kullanılan bir katkı maddesi olan BPA, özellikle uçak, tren ve otobüs biletlerinde, makbuzlarda, alışveriş fişlerinde ve piyango biletlerinde kullanım alanı bulmuştur (Mielke ve ark., 2011). Bu yüzden birçok insan günlük yaşantısında termal kağıtlar ile temas eder. BPA içeren termal kağıtlarla temas sonucu dermal yolla BPA geçişi olabileceği gibi, bu tür materyale temas ettikten sonra ellerin yıkanmaması ve kontamine olmuş ellerle ağıza veya yiyeceklere temas edilmesi neticesinde de oral yolla BPA'ya maruz kalınabilir (Zalko ve ark., 2011). Bu sebeple, termal veya geri dönüştürülmüş

kağıtlar BPA kontaminasyonunun bir başka kaynağı olarak ön görülmektedir (Geens ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda BPA içeren termal kağıtlar ile sürekli temas halinde olan kasiyerlerin idrarında yüksek seviyelerde BPA bulunduğu bildirmiş (Braun ve ark., 2011) ve bu bağlamda, BPA kirliliğinde deri temasının da göz önünde bulundurulması gerektiği sonucuna varılmıştır (Mielke ve ark., 2011). Ayrıca, BPA'nın serbest bir monomer olarak bulunduğu kağıt paraların kullanılması da BPA kontaminasyonuna sebep olabilir. Bu nedenle, deri teması yoluyla BPA'nın emilimi, özellikle makbuz ve yaza kasar fişlerinin beraber bulunduğu cüzdanlarda bulunan kağıt paraların ellenmesinden dolayı da meydana gelebilir (Liao ve Kannan, 2011; Hartmann, 2014).

2.4.4. Tıbbi Cihazlar ve Sağlık Uygulamaları

Farklı tıbbi cihazların yapımında kullanıldığı için, küçük miktarlarda BPA'nın göz lensleri, tüp bağlantıları, solunum cihazı muhafazası, kan oksijenatörleri, yeni doğum inkübatörler, nebulizatörler ve nemlendiriciler gibi medikal cihazlardan ve sağlık uygulamalarında kullanılan polikarbonatlar ve polisülfonlardan sızabileceği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada tedavi için yoğun bakıma maruz kalan prematüre bebeklerdeki kan BPA seviyeleri, genel popülasyonda bulunan seviyelerden daha fazla bulunmuştur (Calafat ve ark., 2009). Ayrıca BPA, polikarbonatdan yapılan ya da epoksi ile kaplanan kaplarda paketlenmiş halde bulunan ilaçlara da geçebilir. BPA, tıbbi ürünlerin üretiminde kullanılan PVC malzemelerden de sızabilir (Geens ve ark., 2012).

2.4.5. Diş Ürünleri

Reçine bazlı monomerler diş hekimliğinde yapıştırıcılar, önleyici dolgular ve dolgu maddeleri olarak kullanılır. BPA'dan sentezlenen Bis-GMA, 1960'lardan beri birçok dental materyalde kullanılmıştır. Polimerize olmamış monomer parçalarının dişlere uygulandıktan hemen sonra diş materyallerinden sızabileceği ve tükürükte

çözünmediği gösterilmiştir. Bu nedenle, dış ürünleri insanlarda BPA maruziyetine yol açabildiği bildirilmiştir (Sasaki ve ark., 2005; Vandenberg ve ark., 2007; Rathee ve ark., 2012).

Özetlemek gerekirse, BPA kaynağı olarak ilk sırada yiyecek ve içecekler olsa da, günümüzde BPA'ya su, hava, toprak ve temas ettiğimiz birçok üründe rastlamak mümkündür. Günümüzde BPA'nın insanlar tarafından tahmini alımı 1 ila 5 µg/kg vücut ağırlığı/gün arasında değişmektedir (Murata ve Kang, 2018). Serbest BPA, insanlarda hızlı bir şekilde metabolize edilmesine rağmen, yetişkin ve çocukların idrarında (<0,1–822 ng/ml), hamile kadınların serumunda (<0,1–154 ng/ml), göbek kordonu serumunda (<0,05–52 ng/ml) ve göğüs sütünde (<0,04–11 ng/ml) rastlanmaktadır (Murata ve Kang, 2018).

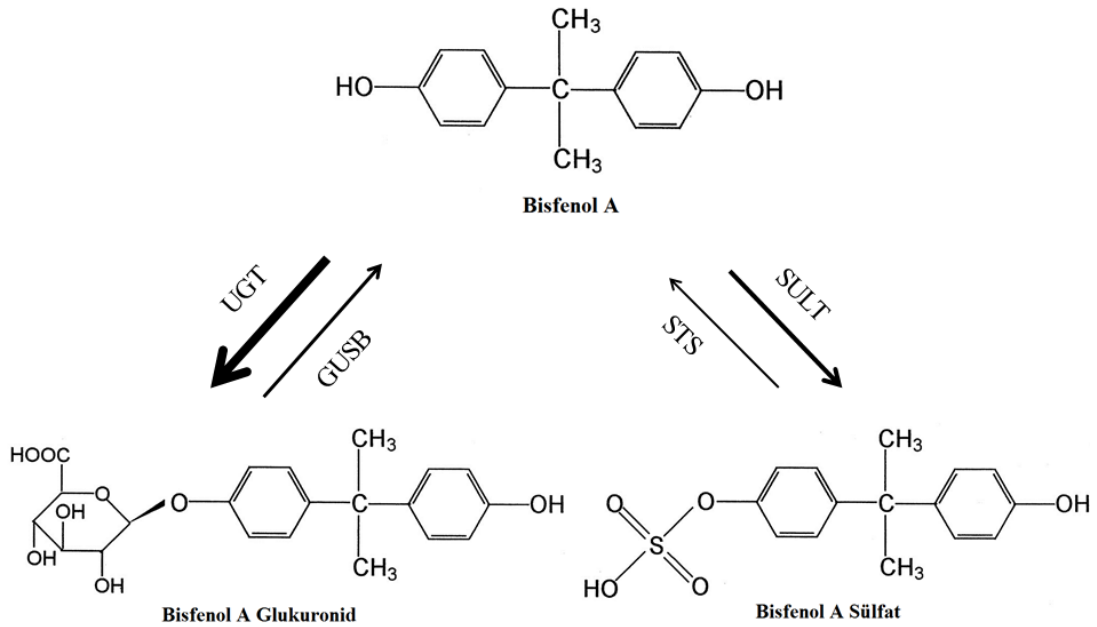
2.5. Bisfenol A Metabolizması

İnsanlarda BPA, oral alımından sonra gastrointestinal sistemden (GİS) hızla emilir. Daha sonra karaciğerde üridin difosfat-glukuronosiltransferaz (UGT) tarafından glukuronik asit ile konjuge edilerek, ana metaboliti olan BPA glukuronid'e (BPAG) ve daha az oranda sülfotransferaz ile BPA sülfata (BPAS) dönüştürülür (Hanioka ve ark., 2008; Quesnot ve ark., 2014; Nahar ve ark., 2015; Thayer ve ark., 2015; Yalcin ve ark., 2016). Eser miktarlarda meydana gelen diğer metabolitleri ise BPA'dan 10 kat daha az östrojenik özelliğe sahip olan 5-hidroksibisfenol A [2-(4,5-dihidroksifenil)-2-(4-hidroksifenil) propan] (Elsby ve ark., 2001) ve BPA'dan daha östrojenik olan MBP [4-metil-2,4-bis (4-hidroksifenil) pent-1-en]'dir. Bu son metabolit MBP, BPA'nın bildirilen östrojenik etkilerine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Yoshihara ve ark., 2004). Bu metabolitlerden BPAG ve BPAS, sırasıyla β-glukuronidaz (GUSB) (Ginsberg ve Rice, 2009) ve steroid sülfataz (STS) ile BPA'ya geri dönüştürülebilir (Şekil 2.2; Nahar ve ark., 2013; 2015).

Serbest BPA, esas olarak dışkı (% 56–82) ve idrar (% 13–28) yoluyla vücuttan atılır. Bu bağlamda BPA ve metabolitlerinin % 99'undan fazlası dışkı ve

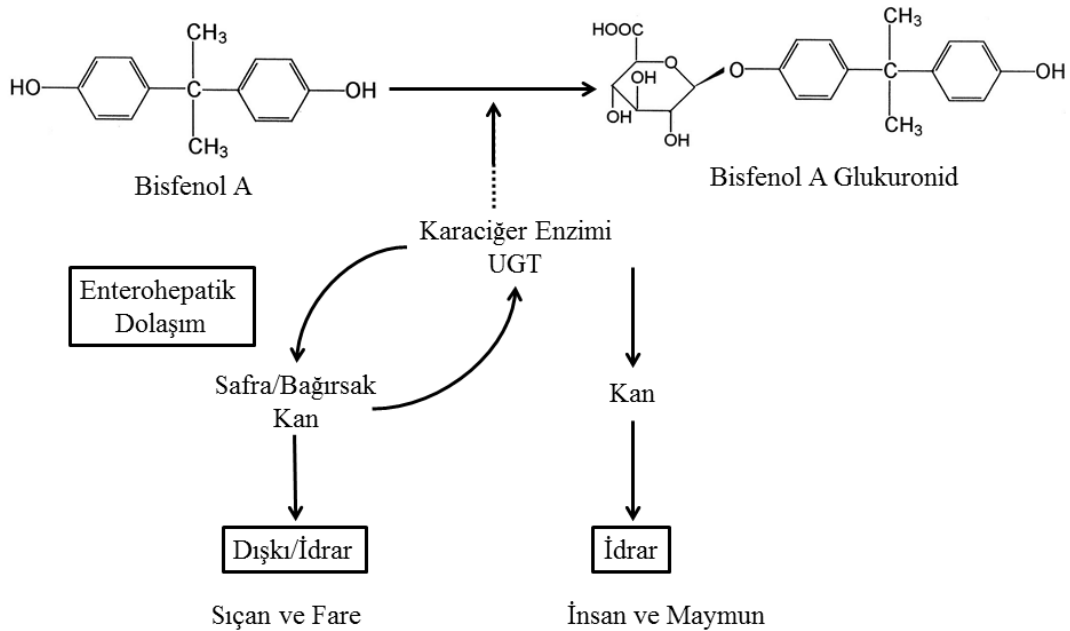
idrarla atıldığı anlaşılmaktadır. Toplam BPA'nın % 1'inden daha az miktarı dokularda tutulur (Kang ve ark., 2006).

Kemirgende BPA metabolizması, BPA'nın aktif ve inaktif formları arasındaki dönüşüm ile karakterize edilen enterohepatik dolaşım tarafından gerçekleştirilir. BPA gastrointestinal kanalda emilir, glukuronidasyon için karaciğere gider ve BPAG olarak safraya salınır (Nishikawa ve ark., 2010). BPA glukuronid safra kanalından ince bağırsağa ulaşır, β -glukuronidaz enzimi ile yeniden aktif hale getirilir ve aktif form dolaşım sistemine girer. Sekumdaki aktif BPA, kolon duvarından geri emilerek glukuronik asit ile yeniden bağlandığı ve deaktive edildiği yer olan karaciğere gelir (Sakamoto ve ark., 2002; Doerge ve ark., 2010). BPA dışkıyla atılmadan önce bu enterohepatik dolaşım birkaç kez oluşabilir (Şekil 2.3). Bu durum, kemirgenlerde BPA'nın daha uzun süreli bir yarı ömre sahip olmasına neden olur. Bundan dolayı aynı oral doz için kemirgenler, primatlardan daha uzun süre aktif BPA'ya maruz kalabilirler (Infosan, 2009).

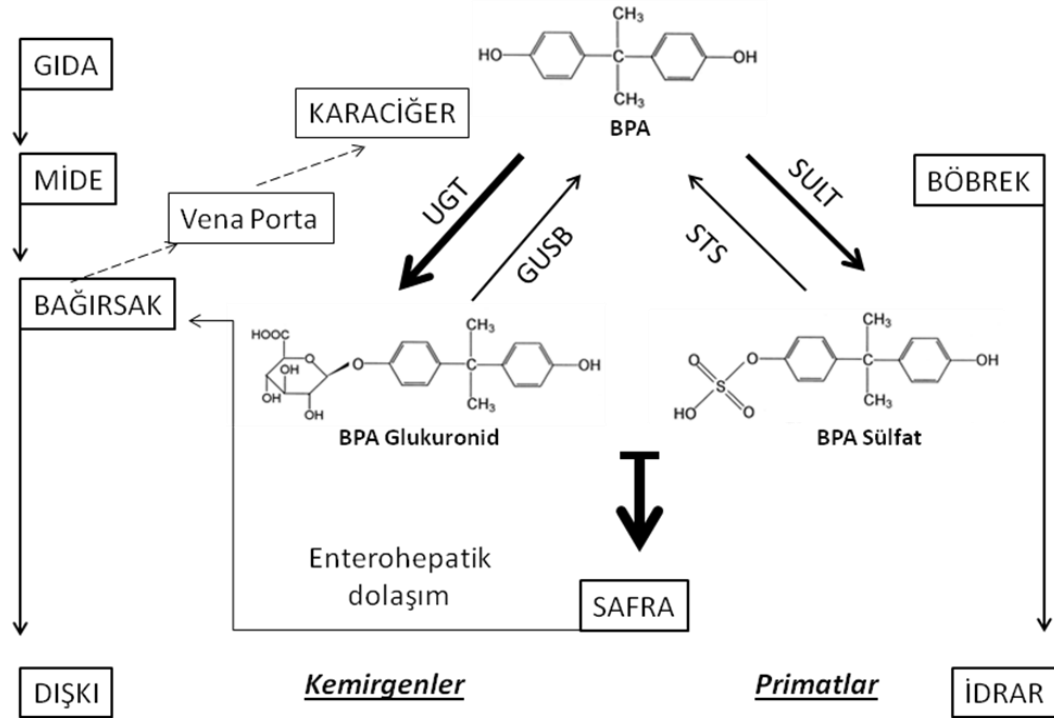


Şekil 2.2. Bisfenol A Metabolizması (Bucher ve ark., 2017'den uyarlanmıştır). UGT=Üridin disfosfat-glukuronosiltransferaz; SULT=Sülfotransferaz; GUSB= β -glukuronidaz; STS=Steroid sülfataz.

Völkel ve ark. (2002), tarafından BPA metabolizması ve toksikokinetiği üzerine yapılan bir çalışmada, sekiz gönüllüye oral olarak 5 mg d₁₆-BPA (54-90 µg/kg) uygulanmıştır. Araştırmada kullanılan doz, insanların tahmini maruz kalma düzeylerinden yaklaşık 10 kat daha yüksek olarak seçilmiştir. Araştırmacılar, d₁₆-BPAG'nin idrar yoluyla atılımı için 5.4 saat, kandan klerensi için ise 5.3 saatlik bir yarılanma ömrü bildirmiştir. Oral uygulamadan 24 ila 34 saat sonra kan ve idrar d₁₆-BPAG seviyeleri tespit edilebilir limitinin altında bulunmuştur. Bu bulgular, insanda BPA'nın GİS tarafından hızlı emilimini, karaciğerde glukuronik asit ile konjugasyonunu ve idrar yoluyla BPAG olarak hızlı bir şekilde atıldığını desteklemektedir. Bu sonuçlar BPA'nın kemirgenlerin aksine insanlarda enterohepatik dolaşımdan geçmediğini ortaya koymuştur (Völkel ve ark., 2002; Chapin ve ark., 2008). Kemirgenlerde BPAG'nin başlıca eliminasyon yolu safra iken (Inoue ve ark., 2001), insanlarda BPAG neredeyse tamamen idrar yoluyla atılır (Şekil 2.3 ve 2.4; Völkel ve ark., 2002).



Şekil 2.3. Karaciğerde Bisfenol A'nın Glukuronidasyonu ve Eliminasyon Yolu (Taylor ve ark., 2011). UGT=Üridin disfosfat-glukuronosiltransferaz.



Şekil 2.4. Kemirgenler ve Primatlardaki Bisfenol A Metabolizması (Nahar 2014).
 UGT=Üridin disfosfat-glukuronosiltransferaz; GUSB=β-Glukuronidaz;
 SULT=Sülfotransferaz; STS=Steroid sülfataz.

2.6. Bisfenol A Toksisitesi

Elde edilen verilerin ışığında BPA'nın kullanımı ve gıdayla teması için ilk güvenlik standartları, 1988 yılında ABD Çevre Koruma Ajansı (US EPA) tarafından getirilmiştir. US EPA, insan için BPA referans dozunu 50 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlemiştir (EPA, 1988; Kang ve ark., 2006; Vogel, 2009).

BPA'nın akut toksisitesi hakkındaki mevcut veriler, BPA'nın insan sağlığına ilişkin tüm maruziyet yollarının düşük akut toksisiteye yol açabileceğini göstermektedir (Bakker ve ark., 2014). Ratlarda ve farelerde, test edilen hayvanların yarısında ölüm meydana getiren oral doz değeri (LD50) olarak 2000 mg/kg vücut ağırlığı/gün üzerindeki dozlar rapor edilirken, tavşandaki dermal LD50 değeri olarak 2000 mg/kg vücut ağırlığı/gün bildirilmiştir. İnhalasyon için, 170 mg/m³'e (ulaşılabilir en yüksek konsantrasyon) altı saatlik bir maruziyet, ratlarda ölüm

meydana getirmeyen, üst solunum yollarında hafif ve geçici bir epitel hasar oluşmuştur. İnsanlarda akut, tek dozluk oral LD50 değerlerine ait bilgi bulunmamaktadır. Sağlıklı gönüllüler kullanılan bir çalışmada, 5 mg BPA'nın (54-90 µg/kg aralığında) insanlar tarafından iyi tolere edildiği ve akut toksisiteye yol açmadığı gözlenmiştir (Völkel ve ark., 2002; Bakker ve ark., 2014).

Farklı bir çalışmada, BPA'nın sıçanlardaki LD50 dozu oral, intraperitoneal ve intravenöz yolla sırasıyla 3250, 841 ve 35,26 mg/kg vücut ağırlığı olarak bildirilmiştir (Sigma-Aldrich, 2004; Pant ve Desphande, 2012). Farelerde LD50 dozu, oral ve intraperitoneal yolla sırasıyla 2400 ve 150 mg/kg olarak bulunmuştur (Sigma-Aldrich, 2004).

Tyl ve ark. (2002, 2008), tarafından BPA'nın kronik toksisitesinin ele alındığı çalışmalarda farelerde 1 µg/kg/gün ile 500 mg/kg/gün, ratlarda ise 3 µg/kg/gün ile 600 mg/kg/gün arasında değişen geniş aralıklarda oral yolla BPA uygulamaları yapılmıştır. Bu iki büyük multigenjenerasyon çalışmasında, BPA'nın karaciğer, böbrek ve vücut ağırlığı üzerine olumsuz kronik etkilerine ancak 50 mg/kg vücut ağırlığı/gün ve daha yüksek BPA dozlarında rastlanmıştır. Üç nesil boyunca devam eden bu çalışmalarda, rat karaciğerindeki kronik inflamasyona sebep olan en düşük doz 50 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak gözlenmesine rağmen, net bir doz-cevap ilişkisi ortaya konulmamıştır. Bu yüzden karaciğerdeki bu değişikliklerin BPA'dan ziyade ratların kalıtlarına dayalı farklılıklar sebebiyle olabileceği düşünülmüştür. Aynı çalışmada, dişilerde böbreklerin renal tübül dejenerasyonu ise ancak 500 mg/kg vücut ağırlığı/gün dozlarında gözlenirken, düşük dozlarda (≥ 50 mg/kg vücut ağırlığı/gün) belirli bir etkiye rastlanmamıştır. Bu nedenle, böbrekler için BPA'nın ratlarda olumsuz etkiye neden olmayacak doz olarak (NOAEL) 50 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak bulunurken, farelerde karaciğer üzerindeki etkiler için NOAEL dozu 5 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak rapor edilmiştir (Tyl ve ark., 2002 ve 2008).

2.7. Bisfenol A'nın Östrojenik Aktivitesi

BPA, östrojen reseptörleri alfa ($ER\alpha$) ve beta ($ER\beta$) 'ya bağlanma afinitesinin doğal hormon östrodiol'den (E_2) 1000 – 10000 kat daha düşük olduğu tahmin edildiği için zayıf bir östrojen olarak değerlendirilmiştir (Kuiper ve ark., 1998; Andersen ve ark., 1999; Fang ve ark., 2000). BPA, $ER\beta$ için daha yüksek bir afiniteye sahip olmasına rağmen, her iki reseptöre de ($ER\alpha$ ve $ER\beta$) bağlanabilir (Kuiper ve ark., 1997; Routledge ve ark., 2000; Matthews ve ark., 2001; Alonso-Magdalena ve ark., 2012). BPA, östrojen reseptörlerinin yanı sıra tiroid ve androjen hormon reseptörleri dahil olmak üzere birçok steroid hormon reseptörüne zayıf bir şekilde bağlanarak endokrin fonksiyonunu bozabilir (Gould ve ark., 1998; Kuiper ve ark., 1998; Moriyama ve ark., 2002; Welshons ve ark., 2003). Ek olarak BPA, transmembran ER, G proteini bağlı reseptör 30 (GPR30) ve orfan nükleer reseptör olarak tanımlanan östrojen ilişkili reseptör gamma ($ERR\gamma$) için güçlü bir bağlanma afinitesine sahiptir (Takayanagi ve ark., 2006; Thomas ve Dong, 2006).

Farelerde yapılan çalışmalar, BPA'nın prostat ağırlığının artmasına, beyin fonksiyonlarında gelişimsel değişimlere, üreme organlarının gelişiminin bozulmasına, testosteron salgılanmasında ve sperm üretiminde bozulmaya neden olduğunu göstermektedir (Michałowicz, 2014). Gelişimsel maruziyet üzerine yapılan çalışmalarda, insan güvenli doz seviyelerinde ya da altındaki seviyelerde kemirgenlerde olumsuz etkiler görülmüştür (Rubin, 2011). Bu etkiler arasında ergenlik zamanının değişmesi, östrus döngülerinde değişme, prostat değişiklikleri, meme bezi gelişiminde değişme, uterus ve ovaryumda değişiklikler, beyin seksüel dimorfizmlerinde değişiklikler, beyin steroid reseptör seviyelerinde değişiklikler, sosyoseksüel davranışlarda değişme, vücut ağırlığında değişme ve glukoz homeostazında değişmeler sayılabilir (Rubin, 2011). İnsanların idrarındaki BPA konsantrasyonları, östradiol: testosteron oranı ile ters ilişkilidir (Michałowicz, 2014). Ayrıca, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, tekrarlayan abort ve premature doğum sayısında artış, semen kalitesinin düşmesi ve sperm DNA hasarı gibi sağlık komplikasyonlarında artışa sebep olmuştur (Rubin, 2011; Björnsdotter ve ark., 2017).

Hayvanlarda doğum öncesi veya doğum sonrası düşük dozlarda BPA maruziyetlerinin farklı fizyolojik sistemler üzerinde olumsuz etkileri bulunabilir. Bu etkiler arasında erkek ve dişi üreme sistemleri (over kistlerinin artışı, endometriyumun hiperplazisi, erken ergenlik ve yetişkinlerde sperm üretiminin azalması), beyin (nörogenez ve sinaptogenez), lipit metabolizması, insüline duyarlılık, bağışıklık sistemi ve meme gelişimi (hiperplazi) üzerindeki olumsuz etkileri sayılabilir (Geens ve ark., 2012).

2.8. Bisfenol A'nın Sağlık Üzerine Etkileri

2.8.1. Bisfenol A'nın Üreme Üzerine Etkileri

Bazı epidemiyolojik çalışmalar, BPA'nın insanlarda üreme toksisitesine neden olabileceğinden ve üriner BPA seviyeleri ile sperm kalitesi arasındaki olumsuz ilişkiyi bahsetmektedir. BPA'ya mesleki olarak maruz kalan erkeklerde yapılan çalışmalar, idrar ya da serum BPA seviyelerindeki artışın sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, sperm canlılığı ve sperm motilitesi üzerine olumsuz etki yaptığını göstermektedir. Laboratuvar hayvanlarında yapılan deneysel çalışmalarda, BPA uygulamalarının sperm sayısını ve hareketliliğini azaltırken, seminifer tübüllerde apoptotik hücre sayısını artırdığı bildirilmiştir (Yin ve ark., 2017). Ayrıca farklı çalışmalar, BPA maruziyetinin, hormon ve steroidojenik enzim seviyelerinde değişiklikler, sperm sayısı ve sperm hareketliliğinde azalma ve sperm DNA hasarı dahil olmak üzere, spermatogenezisi olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (Peretz ve ark., 2014). Toplam 45 gün boyunca oral yoldan uygulanan 0,2, 2 ve 20 µg/kg/gün BPA dozlarının erkek Wistar sıçanların testis ve epididimis ağırlıklarında anlamlı düşüşe yol açtığı bildirilmiştir (Chitra ve ark., 2003). Yine 10 haftalık farelerde yapılan farklı bir çalışmada, BPA'nın subkutan enjeksiyonları (yaklaşık 15-20 mg/kg/gün), sperm hücrelerindeki morfolojik bozukluklar ile motil sperm oranlarında olumsuz etkiye sebep olmuştur (Aikawa ve ark., 2004). *In vitro* ve *in vivo* toksikolojik çalışmalar, BPA maruziyetinden kaynaklanan oosit matürasyonundaki bozulma, ovaryum östradiol sentezinde azalma ve erken gebelik

kaybı nedeniyle kadın fertilitesinde bir düşüş olduğunu bildirmiştir (Cantonwine ve ark., 2013).

2.8.2. Bisfenol A'nın Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Oksidatif stres, serbest radikal üretimi ile antioksidan kapasite arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanır (Betteridge, 2000). Suthar ve Verma, yapmış oldukları çalışmada BPA'nın antioksidan enzimlerin etkilerini azaltarak oksidatif stres oluşturduklarını ortaya koymuştur (Suthar ve Verma, 2014). BPA enjeksiyonunun, fare organlarında hidrojen peroksitin aşırı üretimine yol açtığı belirtilmiştir (Kabuto ve ark., 2003). BPA'nın neden olduğu reaktif oksijen türleri (ROS) üretimindeki artış, ROS üretimi ile hücresel antioksidan savunma kapasitesi arasında oluşturduğu dengesizlik nedeniyle, oksidatif strese sebep olmaktadır (Murphy, 2009; Anet ve ark., 2019). Dokularda Malondialdehid (MDA) seviyeleri ölçümü, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Yapılan bir çalışmada BPA ile doku MDA seviyeleri arasında pozitif bir ilişkiye rastlanmıştır (Samova ve ark., 2018a). BPA'ya bağlı olarak dokularda gözlenen MDA düzeyindeki anlamlı yükselme, ROS'un aşırı üretilmesinden ve antioksidan enzimlerin baskılanmasından kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Samova ve ark., 2018a).

2.8.3. Bisfenol A'nın Diğer Rahatsızlıklar Üzerine Etkileri

BPA'ya maruz kalma ile kanser, obezite, diyabet, nöroendokrin ve bağışıklık sistemlerinin bozuklukları gibi hastalıklar arasında potansiyel bağlantılar olduğuna dair çalışmalara rastlamak mümkündür (Gao ve Wang, 2014). BPA'nın karaciğer hasarı, bozulmuş pankreas β -hücre fonksiyonu, düzensiz tiroid hormon sekresyonu ve obezite riskinde artış gibi etkilere sahip olduğu belgelenmiştir (Melzer ve ark., 2010). Ayrıca, BPA'nın göğüs ve prostat kanserinin gelişimini uyardığı da tespit edilmiştir (Kandaraki ve ark., 2011; Deb ve ark., 2016). Bazı epidemiyolojik çalışmalar, yetişkin popülasyonlardaki BPA maruziyetinin, koroner arter kalp

hastalığı, kalp krizi, hipertansiyon ve periferik arter hastalığı dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların görülme riskinde artışa yol açabileceğini göstermektedir (Gao ve Wang, 2014).

Bu çalışmanın amacı farklı dozlarda BPA'ya maruz kalan erkek Yeni Zelanda tavşanlarında, BPA'nın kan ve biyokimyasal parametrelerdeki değişikliklerine, dokulardaki olası etkilerine, yem tüketimi ve canlı ağırlık üzerine etkilerine bakılmasıdır. Serum, karaciğer, böbrek ve testis dokularında MDA, SOD, CAT ve GPx düzeylerinin belirlenmesi ve bu dokuların histopatolojik açıdan incelenmesidir. Ayrıca BPA'nın üreme hormonları ve spermatolojik parametreler üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmada Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde bulunan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve kimyasal maddeler kullanılmıştır. Kullanılan kimyasal maddeler, cihazlar ve laboratuvar malzemeleri alt başlıklarda belirtilmiştir.

3.1.1. Kimyasal Maddeler

- Bisfenol A (%99 saflık, Lot:MKBQ5209V, CAS 80-05-7, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO)
- Rabbit Testosteron (CSB-E06927Rb, Cusabio Biotech CO., LTD Wuhan, Hubei, China)
- Rabbit Östradiol (CSB-E06915Rb, Cusabio Biotech Co., LTD Wuhan, Hubei, China)
- Rabbit Lutinizasyon Hormonu – LH (Cat No: SG-0004Rb, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Rabbit Follicle Stimulating Hormone – FSH (Cat No: SG-0001Rb, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Rabbit İnhibin alfa – INHA (Cat No: SG-0015Rb, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)

- Malondialdehid – MDA (Cat No: SG-50252, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Süperoksid Dismütaz – SOD (Cat No: SG-0061Rb, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Katalaz – CAT (Cat No: SG-50185, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Glutatyon Peroksidaz – GPx (Cat No: SG-0120Rb, SinoGeneClon Biotech Co.,Ltd., China)
- Mısır yağı

3.1.2. Cihazlar

- ELISA (Mindray MR-96A)
- Vorteks (IKA[®] MS1Minishaker)
- Hassas terazi (Shimadzu BL-220H)
- Buzdolabı (+4) (Vestel White FR 430 No Frost)
- Derin dondurucu (-20) (Bosch GSD30410NE)
- Dondurucu (-80) (Haier, Çin)
- Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (IKAMAG[®] RH)
- Dijital pH metre (Metrohm 744 ph meter)
- Distile su cihazı (Tuğrul Mühendislik)
- Homojenizatör (IKA[®] Yellow line DI 18 basic)
- HPLC (Shimadzu Prominence)
- Refraktometre (Atago, SPR-N, Japan)

- Hematoloji analizörü (Abacus Junior Vet SN-100702)
- Otoanalizör (Gesam Chem 200)
- Mikroskop (Nikon Eclipse E200)
- Otomatik doku takip cihazı (Leica)
- Mikrotom (Leica RM 2155)
- Etüv (Mettler BE 500)

3.1.3. Laboratuvar Malzemeleri

- Antikoagülanlı tüp
- Antikoagülansız tüp
- Jelli tüp
- Suni vajen
- Pipet
- Ependorf tüp
- İ.V. kanül
- Penröz dren 5/8
- Termometre
- Otomatik pipet
- Farklı boyutlarda balan joje, beher glass ve deney tüpleri

3.2. Hayvan Materyali

TÜBİTAK tarafından 116O027 numaralı proje ile desteklenen bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (25.11.2015/159) ve bütün çalışmalar Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmada yaşları 8–10 ay ve ağırlıkları 2,7–3,7 kg arasında değişen 24 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar galvanize kafeslerde bireysel olarak tutuldular ve çalışmaya başlamadan önce 14 gün boyunca laboratuvar şartlarına (%50–55 nem, 22±2 °C sıcaklık ve 14:10 saatlik aydınlık:karanlık döngüsünde) ve suni vajen ile sperm vermeye alıştırdılar. Çalışma süresince tavşanların ağırlıkları ve yem tüketimleri haftalık olarak ölçüldü ve ağırlıklarına göre çalışmada kullanılan kimyasalların doz ayarlamaları yapıldı.

Su ve yem *ad libitum* olarak verildi. Tavşanlar standart ticari tavşan yemi (Korkuteli Yem Gıda San.-Antalya); %6,93 ham kül, %17,0 ham protein, %12,68 ham selüloz, %3,67 ham yağ, %0,49 kalsiyum, %0,46 fosfor) ile beslendiler. Ayrıca spermatolojik verileri standardize edebilmek için ejakülatta 100 milyon/ml'den az sperm olan tavşanlar çalışılmaya alınmadı.

3.2.1. Deney Dizaynı ve Protokolü

Çalışmada kullanılan Yeni Zelanda tavşanları 14 günlük alışma periyodunun ardından her grupta 6 tavşan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldılar. Kontrol grubuna 9 hafta boyunca ağız yolundan sonda ile mısır yağı verildi (KONT). BPA10 grubuna mısır yağı içerisinde 10 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA, BPA20 grubuna mısır yağı içerisinde 20 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA ve BPA100 grubuna mısır yağı içerisinde 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA oral gavaj ile günlük olarak verildi. Oral gavaj uygulamaları her gün sabah yemlemesinden önce saat 08:00 ile 09:30 arası yapıldı.

Deney süresi boyunca gruplara uygulanan protokol aşağıda belirtilmiştir.

- KONT: Kontrol grubu: günlük mısır yağı oral (her 1 kg canlı ağırlık için 1 ml mısır yağı);
- BPA10: 10 mg/kg BPA grubu: günlük BPA (10 mg/kg canlı ağırlık) mısır yağı içerisinde (1 ml mısır yağı 10 mg BPA içeriyordu);
- BPA20: 20 mg/kg BPA grubu: günlük BPA (20 mg/kg canlı ağırlık) mısır yağı içerisinde (1 ml mısır yağı 20 mg BPA içeriyordu);
- BPA100: 100 mg/kg BPA grubu: günlük BPA (100 mg/kg canlı ağırlık) mısır yağı içerisinde (1 ml mısır yağı 100 mg BPA içeriyordu).

Bu çalışmanın sonunda her gruptan rastgele 3 tavşan ötenazi yapılırken, diğer tavşanlar 9 hafta daha herhangi bir oral gavaj uygulaması yapılmadan aynı laboratuvar ortamlarında tutularak bu sürenin sonunda ötenazi edildiler.

3.2.2. Kan Alımı

BPA uygulamalarının sonunda (9. hafta) tavşanlar 12 saat aç bırakıldılar. Kan alımı için bir tutucuya (holder) yerleştirilen tavşanların damarlarının belirlenmesine yardımcı olması için kulak kılları tıraş edildi (Resim 3.1). Kulak derisi % 95'lik alkol kullanılarak temizlendi. Bütün tavşanların merkezi kulak arterinden intravenöz kanül yardımıyla (24G I.V. Kanül – Wellmed) 25 ml civarında kan toplandı (Resim 3.2). Kan toplama işleminden sonra temiz steril pamuk toplama yerinde tutuldu ve kanamayı durdurmak için parmak basıncı uygulandı.



Resim 3.1. Damarnın Belirlenmesi Amacıyla Kulakların Temizlenmesi



Resim 3.2. Tavşan Sentral Kulak Arterinden I.V. Kanül ile Kan Alınması

Tam kan analizleri ve plazma elde etmek için EDTA'lı tüpler kullanıldı. Antikoagulansız tüpler ise biyokimyasal analizler ve serum elde etmek için kullanıldı. Soğuk zincir içerisinde muhafazası sağlanan kanlar 30 dakika içerisinde 2000 devirde 20 dakika santrifüj edildikten sonra serum ve plazma kısmı alındı. Serum örnekleri BPA, testosteron, östrojen, FSH, LH ve inhibin analizleri için -20 °C'de, oksidan-antioksidan parametreler için ise -80 °C'de saklandı. Hematoloji analizörü (Abacus Junior Vet SN-100702) kullanılarak tam kan değerleri (Hematokrit, hemoglobin, toplam eritrosit, platelet, lökosit ve % lökosit) ve otoanalizör (Gesam Chem 200) kullanılarak biyokimyasal parametre değerleri [serum glukoz, kolesterol, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), üre, kreatinin değerleri] taze kan ve serumdan aynı gün analiz edildi.

3.2.3. Hormon ve Enzim Analizleri

Hormon ve enzim analizlerinde kullanılan kitler, üretici firmaların talimatlarına göre yapılmıştır. Serum ve seminal plazma testosteron (Rabbit Testosterone ELISA Kit, Cat No CSB-E06927Rb, Cusabio Biotech Co., LTD.) ve östradiol hormon (Rabbit Estradiol ELISA Kit, Cat No CSB-E06915Rb, Cusabio Biotech Co., LTD.) seviyelerinin tayini için tavşanlara özel ELİSA kitleri kullanıldı.

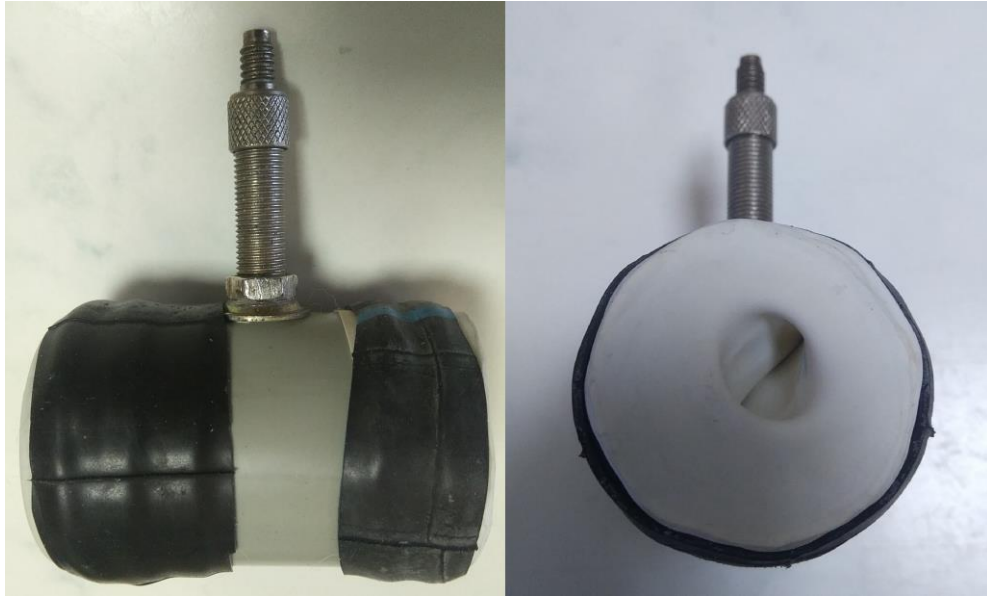
Rabbit Lutinizasyon Hormonu (LH), Rabbit Follicle Stimulating Hormone (FSH), Rabbit İnhibin alfa (INH α), Malondialdehid (MDA), Süperoksit Dismütaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) gibi hormonlar ve antioksidan enzimlerin analizleri SinoGeneClon Biotech Co., Ltd. tarafından tavşanlar için özel üretilen ELİSA kitleri kullanılarak yapıldı.

Karaciğer, böbrek ve testis doku örneklerinden (-80 °C'de saklanan) 0,4 gram ağırlığında küçük bir parça kesildi. Kesilen doku örneklerinin üzerine 7,4 pH'ya sahip 5 °C'lik PBS'den 2 ml konularak doku homojenizatörü ile parçalandı. Dokuların homojenizasyonu sağlandı. Homojenize örnekler, 5 °C'lik sıcaklıkta 3000

devirde 20 dakika boyunca santirfuj edildi. Süpernatantlar toplandı. ELISA kitlerinde doku süpernatantları ve serum kullanılarak ELISA cihazında analiz yapıldı.

3.2.4. Spermanın Alınması

Tavşanlar çalışma öncesinde uygulanan 14 günlük adaptasyon dönemi boyunca suni vajen ile sperma vermeye alıştırdılar. Sperm alım işlemi için öncelikle Bredderman ve ark. (1964), tarifine göre suni vajen yapıldı (Resim 3.3). Tavşanlardan sperm alımında uygun sıcaklık gerektiği için suni vajenin içerisine sibop kismından hava ve ılık su (yaklaşık 45 °C) dolumu sağlandı (Boiti ve ark., 2005). Böylece suni vajenin ejakülasyon anında 39 °C'de normal bir dişi tavşanın vajina sıcaklığına ulaşması sağlandı (Lebas ve ark., 1997). Sperm alımına hazır hale gelen suni vajenin penröz dren kısmı vazelin kullanılarak kayganlık sağlandı. Dişi tavşan, erkek tavşanın kafesine konularak erkeğin libido seviyesi artırıldı. Erkek tavşan çiftleşme için dişiye yaklaşınca suni vajenin içine ejakülasyon sağlandı (Resim 3.4). Ejakulat ılık sperma toplama kadehine toplandı. Çalışma süresince, sperm kalitesinde bir düşüşe sebep olmamak için haftada 1 kez ejakulatlar alındı (Resim 3.5). Dokuzuncu hafta sonunda toplanan örnekler ise spermatolojik parametrelerin hesaplanmasında kullanıldı.



Resim 3.3. Tavşanların Spermlerini Almada Kullanılan Suni Vajen



Resim 3.4. Erkek Tavşanlardan Sperm Numunelerinin Toplanması



Resim 3.5. Erkek Tavşanlardan Ejakülat Toplanması

3.2.5. Spermanın Muayenesi

Ejakulat elde edilir edilmez, semen hacmi ve ağırlığı, spermanın spermatozoa sayısı, motilitesi ve pH'sı tespit edildi (Davies Morel, 1999; Ax ve ark. 2000). Normal bir sperm numunesinin homojen beyaz opal bir görünümü vardı. Sperm içerisinde eritrosit (kırmızımsı) veya idrar (sarı) bulunan numuneler tespit edildi. Koyu, sarı veya diğer anormal semen örnekleri analizler için kullanılmadı.

3.2.5.1. Ejakulat pH'sı

Sperma örneklerinin başlangıç hidrojen iyon konsantrasyonu (pH) sperma elde edilir edilmez 5,5–9,0 sınırlarında 0,5 derece aralıklı pH kağıdında ölçüldü (pH-Indikatorpapier Neutralit pH 5,5–9,0 Merck, Merck KgVit C, 64271 Darmstadt, Germany).

3.2.5.2. Ejakulat Hacmi ve Ağırlığı

Ejakulat alınmadan önce dereceli sperm toplama kadehi tartılarak darası alındı. Ejakulat elde edilir edilmez, eğer jel mevcut ise, ejaküattan ayrıldı. Sperm toplamak için kullanılan kadeh tartılarak ejakülatın ağırlığı (mg) tespit edildi ve hacmi dereceli tüpte (ml) okunarak kaydedildi.

3.2.5.3. Spermatozoa Konsantrasyonu

Her bir ejakülatın spermatozoa konsantrasyonunu tespit etmek için iki bölümlü hemositometre lamına (Thoma lamı) aktarıldı. Spermatozoa sayımı 0,1 ml formalin tuzlu su solüsyonu içinde 40x10 büyütmede eritrosit sayımında kullanılan Thoma lamında yapıldı (Davies Morel, 1999).

3.2.5.4. Progresif Motilite

Motilite tahmini (yüzde olarak) orta büyütmede (40x10) ısıtma tablalı faz kontrast mikroskobu kullanılarak göz muayenesi ile yapıldı. Sperma örnekleri PBS solüsyonu ile 37,8 °C de 10 kat sulandırıldı. Lam, faz kontrast mikroskobuna yerleştirildi. 37,8°C ye ısınması beklendikten sonra, küçük bir damla sulandırılmış sperma lam üzerine konarak 400x büyütmede yüzde olarak motilite tahmin edildi (Ax ve ark., 2000). Motilitenin belirlenmesine yönelik olarak, en az üç mikroskop alanında değerlendirme yapıldı ve bir yönde düzgün doğrusal hareket eden spermatozoonların aynı alandaki tüm spermatozoonlara yüzde (%) oranı şeklinde motilite tespit edilerek, üç farklı alanın ortalama değeri kaydedildi. Bu değer progresif motilite değeri olarak kullanıldı.

3.2.5.5. Seminal Plazma Proteini

Semen örnekleri 3000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Seminal plazma ve sperm hücreleri ayrıldı. Refraktometreye (Atago, SPR-N, Japonya) 10 µl seminal plazma yerleştirildi ve seminal plazma protein değeri ölçüldü.

3.2.6. Çalışmanın Sonlandırılması – Ötenazi ve Yaş Organ Ağırlıklarının Tayini

Erkek Yeni Zelanda tavşanlarından kan alınmasını takiben, isoflurane ile genel anestezisi altında ötenazi yapıldı. Tavşanlara uygulanan ötenazi işleminden sonra eksenterasyon yöntemi ile laparotomi yapıldı. Önce kavum abdominis açılarak karın organlarının dış görünüşleri not edildi. Daha sonra costatom yardımıyla costa'lar caput'larına yakın yerlerden kesildi ve diyafram uzaklaştırılarak göğüs organları incelendi. Daha sonra bütün tavşanlarda kullanılan etken maddelerin etkilerinin incelenmesi için karaciğer, böbrekler, testis, epididimis ve beyin gibi organlar PBS ile yıkandıktan sonra tartıldı ve dış görünüşleri not edildi.

Uygun nekropsi yöntemleriyle alınan karaciğer sol lobu, sol böbrek, sol testis, sol epididimis ve sol beyin hemisferi histopatolojik muayene için ayrıldı. Alınan karaciğer kaudal lobu, sağ böbrek ve sağ testis ortadan ikiye bölünerek oksidan-antioksidan parametrelerin tespiti için -80 °C’de bekletildi.

3.2.7. Serum BPA Analizi

HPLC analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkez Laboratuvarında yapıldı (Resim 3.6). İki pompa (LC-20AT, Shimadzu, Kyoto, Japonya), bir Shimadzu RF-20A floresan detektör, 5 ml’lik döngülü bir 7125 enjektör (Rheodyne, Cotati, CA), 200 ml’lik bir döngüye sahip SPV-N-6 kolon anahtar valfi (GL Sciences, Tokyo, Japonya) ve bir Tosoh FBR-1 kaydedicisinden (Tokyo, Japonya) oluşan bir HPLC sistemi kullanıldı. Sistem 2 mobil fazdan oluşmaktaydı: mobil faz 1: pompa 1 için asetonitril–H₂O–metanol (72:13:15, v/v) ve mobil faz 2: pompa 2 için asetonitril–0,1 M asetat buffer (pH 5,5)–metanol (55:12:33, v/v). Mobil faz 1, 0.10 ve mobil faz 2, 0.30 ml/dk akış hızlarında iletilmekteydi. Her iki kolon için sıcaklık, kolon fırınında (Omron E5C3, Tokyo) 35 °C’de muhafaza edildi. Numune, kolon 1 (prekolon, Wakosil-II 5C18, 150/1.0 mm, Wako) üzerine enjekte edildi ve kolon döndürme valf döngüsünden geçmek için mobil faz 1 ile temizlendi. 10.75 dakikalık bir enjeksiyon süresinden sonra, valf döndürüldü ve daha sonra analiz edilen madde kolon 2 üzerine (ayırma kolonu, separation column, Protein & Peptide C18, 150 x 4.6 mm i.d., Vydac, Hesperia, CA) yüklendi ve floresans detektörüne mobil faz 2 ile ayrıştırıldı. Bu valf pozisyonu analiz sonlandırılıncaya kadar tutuldu. Floresan yoğunluğu, 350 nm’lik bir uyarma ile 475 nm’de izlendi.

3.2.8. Histopatolojik Muayeneler

Alınan doku örnekleri % 10’luk tamponlu formaldehit içerisinde bir gün tespit edildi ve daha sonra trimleri yapıldı. Trim işlemi uygulanan dokular kasetlere alınarak

%10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde 24 saat boyunca tespiti bırakıldı. Tespit aşamasından sonra dokular otomatik doku takip cihazına (Leica, Wetzlar, Almanya) konularak dereceli alkollerden (%50, %70, %80 %96 %100) ve ksilolden geçirilerek parafine gömüldü. Bloklanan dokular RM 2155 model mikrotomda (Leica, Wetzlar, Almanya) 3-5 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen-eozin boyası (Merck Millipore) ile boyandı. Işık mikroskopunda incelendi.



Resim 3.6. Bisfenol A Analizleri için Kullanılan HPLC Cihazı

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Bütün değerler ortalama değerler olarak verilmiştir. İstatistiksel değerlendirme için SAS (PROC ANOVA prosedürü) istatistik programından faydalandı. İstatistiksel fark bulunan sonuçlar Tukey testi ile karşılaştırıldı. Yem ve vücut ağırlıklarındaki haftalık değişiklikler için PROC MIX prosedürü kullanıldı. Haftalık bazda gruplar arasındaki farkların bulunması için Lsmean testi yapıldı. Tüm istatistik uygulamalarında gruplar arası farklılık, $P < 0,05$ olduğunda önemli olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Sağlık Durumu

Araştırmada kullanılan tavşanlarda, çalışma süresi boyunca, klinik açıdan herhangi bir olumsuz belirti gözlenmedi. Genel olarak tavşanların postürü, denge ve koordinasyonu, burun mukozasının kuruluğu, diş etlerinin rengi, çevreye dikkati, kürkün görünümü, derinin esnekliği, defekasyon, gözlerin canlılığı ve solunumun düzgünlüğü gibi parametrelerde BPA'ya bağlı bir değişikliğe rastlanmadı.

4.2. Serum BPA Seviyeleri

Gruplar arasındaki serum BPA seviyeleri, BPA dozuna bağlı olarak, istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık gösterdi ($P < 0,0001$). KONT grubuna ait serum örneklerinde ölçülebilir düzeyde BPA'ya rastlanmazken ($0,00 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$), günlük oral dozdaki artışa paralel olarak, BPA uygulanan gruplarda serum BPA seviyelerinin arttığı gözlemlendi (BPA10= $0,24 \pm 0,02$; BPA20= $0,58 \pm 0,09$; BPA100= $0,89 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$).

Çalışma sonunda her gruptan 3 tavşan ile devam edilen 9 haftalık dinlenme döneminde hiçbir gruba ait serum örneklerinde ölçülebilir seviyede BPA'ya rastlanmadı.

4.3. Yem Tüketimi ve Canlı Ağırlık

Çalışma süresince haftalık olarak elde edilen canlı ağırlık ve yem tüketimi verileri bakımından gruplar arasında farklılık görülmedi (Tablo 4.1). Çalışma süresince gruplardaki ortalama canlı ağırlık $3,40 \pm 0,46$ ile $3,52 \pm 0,57$ kg arasında değişirken ($P=0,517$), ortalama yem tüketimi ise $151,3 \pm 37,1$ ile $168,5 \pm 29,1$ g/gün civarlarındaydı ($P=0,559$).

Genel olarak bütün gruplarda, çalışma süresince yem tüketiminde önemli bir dalgalanma gözlenmezken, 8. haftada BPA100 grubunda ani bir azalma meydana geldi (Grafik 4.1). Gruplar arasındaki canlı ağırlık değişimleri göz önünde bulundurulduğunda, bütün gruplarda canlı ağırlıkların bir önceki haftaya göre rakamsal olarak pozitif bir şekilde değiştiği görüldü (Grafik 4.2). BPA100 grubuna 8. haftada gözlenen ani yem tüketimindeki düşüşün, canlı ağırlık üzerine istatistiki olarak bir etkisinin olmadığı gözlemlendi (Grafik 4.2).

Çalışma sonunda her gruptan 3 tavşan ile devam edilen 9 haftalık ek dönemde de gruplar arasında canlı ağırlık ve yem tüketimi verileri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 4.2, Grafik 4.3 ve 4.4).

4.4. Organ Ağırlıklarındaki Değişiklikler

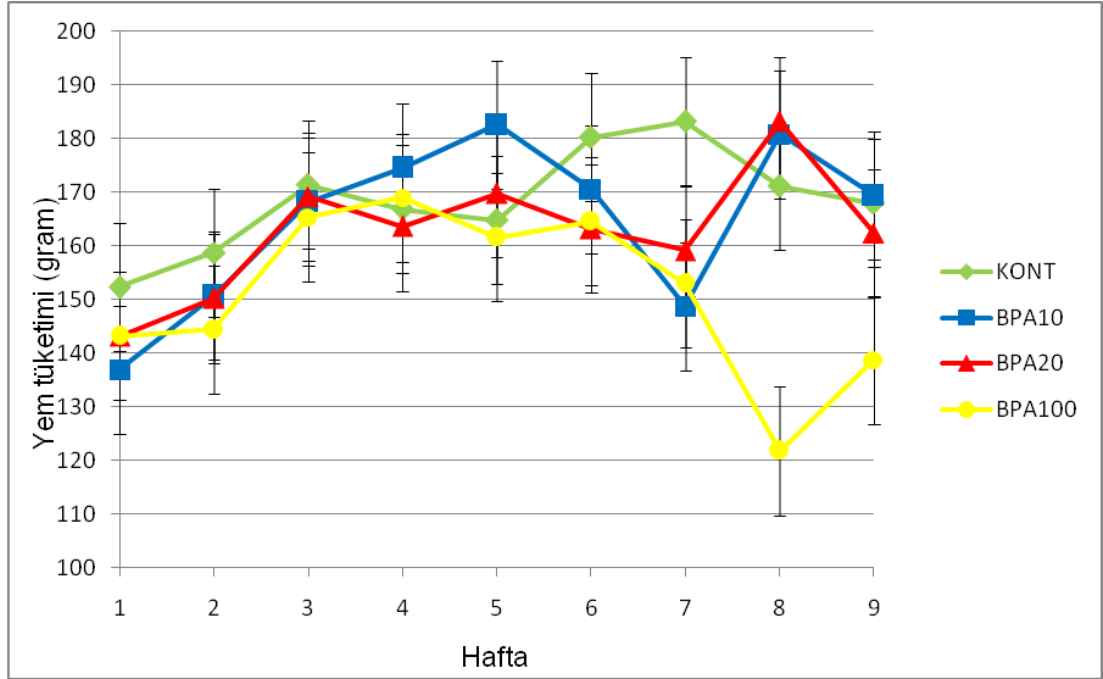
BPA çalışmasının ilk 9 haftalık kısmında, her grup için 3 tavşana ait organ ağırlıklarına ait veriler Tablo 4.1’de verilmiştir. Çeşitli organlara ait ağırlıklar göz önüne alındığında gruplar arasında istatistiki açıdan herhangi bir farklılık tespit edilmedi ve BPA uygulamalarının çalışmada bakılan organların yaş ağırlıkları üzerine bir etkisine rastlanmadı.

Çalışmanın son aşaması olan 9 haftalık ek süre zarfı sonunda ötenazi edilen tavşanlara ait yaş organ ağırlıkları Tablo 4.2’de verilmiştir. Gruplar arasındaki yaş organ ağırlıkları incelendiğinde herhangi bir BPA uygulamasının olmadığı bu ek süre sonunda da istatistiki olarak bir farklılığa rastlanmadı.

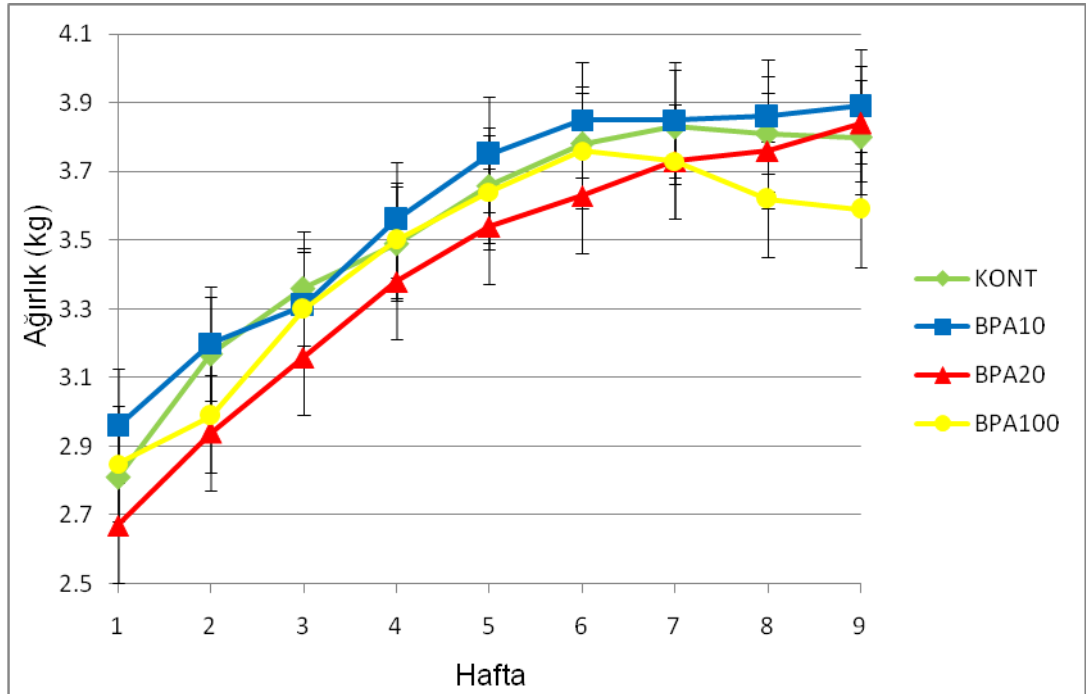
Tablo 4.1. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Canlı Ağırlık, Yem Tüketimi ve Organ Ağırlıkları Üzerine Etkisi.

	KONT			P=
	BPA10	BPA20	BPA100	
Canlı Ağırlık (kg)	3,52 ± 0,57	3,58 ± 0,50	3,44 ± 0,46	0,517
Yem Tüketimi (g)	168,5 ± 29,1	164,7 ± 40,5	151,3 ± 30,7	0,559
Akciğer (g)	14,6 ± 2,24	17,6 ± 3,20	18,6 ± 4,44	0,120
Karaciğer (g)	111,1 ± 21,8	124,0 ± 18,9	157,2 ± 26,1	0,244
Sağ Böbrek (g)	8,74 ± 1,05	10,0 ± 1,32	13,6 ± 3,59	0,101
Sol Böbrek (g)	8,58 ± 1,29	11,0 ± 1,55	14,0 ± 3,92	0,090
Dalak (g)	0,90 ± 0,29	1,41 ± 0,53	1,32 ± 0,15	0,488
Beyin (g)	5,93 ± 0,89	7,05 ± 1,22	6,12 ± 1,28	0,534
Kalp (g)	9,15 ± 0,55	9,93 ± 1,53	10,9 ± 1,69	0,617
Sağ testis (g)	2,97 ± 0,27	3,56 ± 1,15	3,46 ± 0,62	0,481
Sağ epididymis (g)	0,73 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,75 ± 0,02	0,896
Sol testis (g)	2,95 ± 0,29	3,44 ± 1,08	3,48 ± 0,66	0,460
Sol epididymis(g)	0,75 ± 0,03	0,74 ± 0,02	0,77 ± 0,03	0,573

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. Canlı ağırlık ve yem tüketimi için n=6, organ ağırlıkları için n=3. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 4.1. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Yem Tüketimi Üzerine Etkisi (n=6). KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.

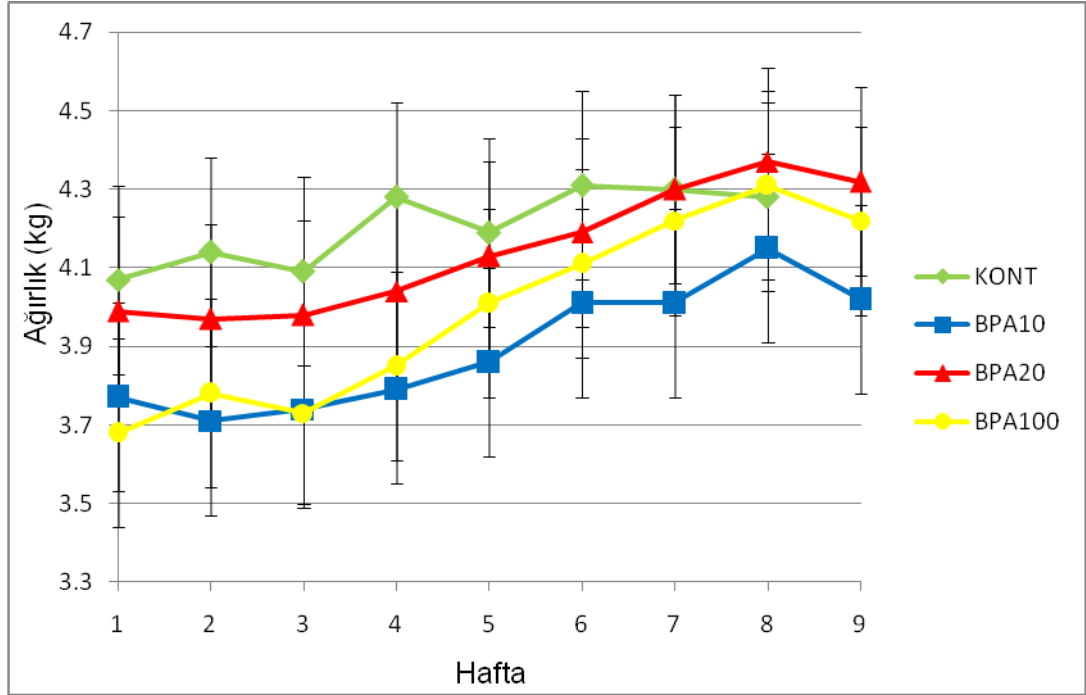


Grafik 4.2. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi (n=6). KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.

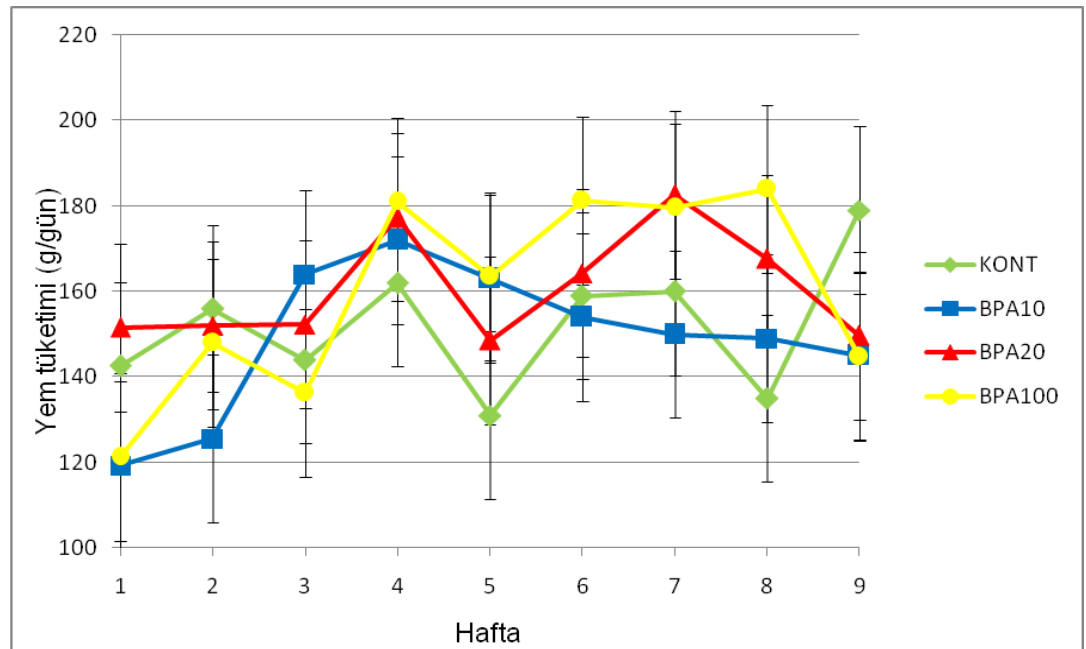
Tablo 4.2. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Canlı Ağırlık, Yem Tüketimi ve Organ Ağırlıkları Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Canlı Ağırlık (kg)	4,23 ± 0,50	3,90 ± 0,37	4,14 ± 0,35	3,99 ± 0,32	0,756
Yem Tüketimi (g)	152,5 ± 31,4	149,3 ± 40,3	160,7 ± 22,0	160,0 ± 33,5	0,917
Akciğer (g)	17,0 ± 1,15	18,3 ± 3,00	14,3 ± 1,35	14,4 ± 0,91	0,250
Karaciğer (g)	98,3 ± 22,0	104,2 ± 27,0	95,9 ± 18,4	102,8 ± 17,7	0,938
Sağ Böbrek (g)	10,0 ± 1,23	9,10 ± 1,73	9,35 ± 1,68	9,43 ± 1,04	0,815
Sol Böbrek (g)	10,0 ± 1,08	9,40 ± 1,78	9,27 ± 1,53	9,37 ± 0,99	0,851
Dalak (g)	1,38 ± 0,07	1,00 ± 0,19	1,10 ± 0,27	1,32 ± 0,32	0,252
Beyin (g)	7,16 ± 0,65	6,51 ± 0,46	7,16 ± 0,89	7,16 ± 0,17	0,223
Kalp (g)	10,7 ± 2,61	10,6 ± 1,62	9,43 ± 0,95	9,40 ± 0,79	0,673
Sağ testis (g)	3,32 ± 0,66	2,87 ± 0,35	3,51 ± 0,73	3,34 ± 0,34	0,532
Sağ epididymis (g)	0,83 ± 0,11	0,75 ± 0,14	0,79 ± 0,07	0,64 ± 0,10	0,455
Sol testis (g)	3,33 ± 0,66	2,94 ± 0,32	3,63 ± 0,68	3,57 ± 0,33	0,465
Sol epididymis(g)	0,80 ± 0,11	0,76 ± 0,12	0,74 ± 0,07	0,65 ± 0,10	0,601

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 4.3. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Canlı Ağırlık Üzerine Etkisi (n=3). KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.



Grafik 4.4. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Yem Tüketimi Üzerine Etkisi (n=3). KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.

4.5. Eritrositler Üzerine Etkileri

Çalışma sonunda elde edilen kanlarda, oral yolla BPA uygulamasının hematokrit, ortalama alyuvar hacmi (OAH) ve ortalama alyuvar hemoglobini (OAHb) değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür (Tablo 4.3). Yine Tablo 4.3'te görüldüğü gibi, çalışma döneminin sonunda bakılan hematolojik parametreler arasında alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı ve ortalama alyuvar hemoglobin yoğunluğu (OAHbY) değerlerinde ise gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmiştir. Özellikle oral yolla 20 ve 100 mg/kg/gün BPA uygulamalarının erkek tavşanlarda alyuvar sayılarında ve hemoglobin miktarlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir düşüşe sebep olduğu anlaşılmaktadır ($P<0,05$ ve $P<0,03$). Bununla birlikte OAHbY sadece en yüksek BPA doz uygulamasında KONT grubu tavşanlarına göre anlamlı bir şekilde düşmüştür ($P<0,05$).

BPA'nın alyuvar, hemoglobin ve OAHbY üzerine olumsuz etkisinin iyileşme döneminde devam etmediği gözlemlendi (Tablo 4.4). Toplam 3 tavşandan elde edilen verilere göre 9 haftalık iyileşme dönemi sonunda gruplar arasında kan parametrelerinin herhangi birinde istatistiki açıdan bir farka rastlanmadı.

4.6. Akyuvar ve Platelet Düzeyleri

Çalışma sonunda grupların toplam akyuvar düzeylerine göre değerlendirilmesinde akyuvar sayısının gruplar arasında istatistiki açıdan değişmediği görülmüştür (Tablo 4.5). Ayrıca, oral BPA uygulaması, lenfosit, monosit ve granülosit sayılarında da bir farklılığa yol açmamıştır. Bu sonuçlara paralel olarak, lenfosit, monosit ve granülosit yüzdeleri arasında da gruplar arasında istatistiki bir farklılık görülmemiştir (Tablo 4.5). Benzer bir şekilde Tablo 4.5'te görüldüğü gibi BPA uygulamalarının platelet seviyelerinde de herhangi bir olumsuz etkisine rastlanmamıştır ($P>0,05$). 9 hafta süren iyileşme dönemi sonunda da akyuvar ve plateletler ile ilgili parametrelerde gruplar arasında herhangi bir farklılığa rastlanmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.3. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Alyuvar ($\times 10^{12}/L$)	6,93 ^a ± 0,34	6,60 ^{ab} ± 0,85	5,90 ^b ± 0,40	5,95 ^b ± 0,75	0,049
Hemoglobin (g/dl)	13,6 ^a ± 0,71	12,7 ^{ab} ± 0,86	11,9 ^b ± 1,38	11,8 ^b ± 0,83	0,021
Hematokrit (%)	44,9 ± 1,80	45,5 ± 1,60	45,5 ± 2,89	47,4 ± 3,69	0,484
OAH (fl)	65,0 ± 5,00	69,7 ± 8,20	75,0 ± 5,70	77,9 ± 11,5	0,106
OAHb (pg)	19,7 ± 1,59	19,4 ± 1,75	20,1 ± 1,58	19,9 ± 1,36	0,923
OAHbY (g/dl)	30,4 ^a ± 2,37	27,9 ^{ab} ± 1,92	26,7 ^{ab} ± 3,40	25,2 ^b ± 2,46	0,035

OAH=Ortalama alyuvar hacmi; OAHb=Ortalama Alyuvar Hemoglobini; OAHbY= Ortalama Alyuvar Hemoglobinin Yoğunluğu. KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün BPA; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.4. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Alyuvar ($\times 10^{12}/L$)	6,66 \pm 0,15	6,67 \pm 0,16	6,25 \pm 0,49	6,19 \pm 0,42	0,246
Hemoglobin (g/dl)	12,8 \pm 0,65	12,7 \pm 0,70	12,4 \pm 0,66	12,3 \pm 0,45	0,767
Hematokrit (%)	43,5 \pm 1,88	46,2 \pm 1,17	43,5 \pm 2,14	44,0 \pm 3,01	0,409
OAH (fl)	65,3 \pm 1,54	69,3 \pm 3,01	69,8 \pm 6,56	71,1 \pm 0,60	0,324
OAHb (pg)	19,1 \pm 0,84	19,0 \pm 1,15	19,8 \pm 1,28	19,9 \pm 1,26	0,697
OAHbY (g/dl)	29,3 \pm 1,79	27,5 \pm 0,95	28,5 \pm 2,76	28,0 \pm 1,64	0,678

OAH=Ortalama alyuvar hacmi; OAHb=Ortalama Alyuvar Hemoglobini; OAHbY= Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu.
KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama \pm Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.5. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Kan Akyuvar Değerleri ile Platelet Seviyeleri Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Akyuvar (x10 ⁹ /L)	7,61 ± 1,15	7,89 ± 1,59	8,12 ± 2,07	7,30 ± 1,45	0,861
Lenfosit (x10 ⁹ /L)	3,59 ± 1,95	2,91 ± 1,87	3,90 ± 1,97	3,15 ± 1,98	0,780
Monosit (x10 ⁹ /L)	0,49 ± 0,33	0,32 ± 0,15	0,45 ± 0,27	0,30 ± 0,21	0,576
Granülosit (x10 ⁹ /L)	3,17 ± 0,97	4,65 ± 1,68	3,83 ± 2,11	3,84 ± 0,85	0,489
Lenfosit (%)	50,0 ± 18,3	36,0 ± 19,3	47,4 ± 23,4	40,6 ± 20,4	0,697
Monosit (%)	6,50 ± 4,30	4,40 ± 2,60	6,40 ± 4,55	4,20 ± 2,46	0,628
Granülosit (%)	43,5 ± 18,2	59,6 ± 17,4	46,2 ± 29,7	55,2 ± 20,1	0,612
Platelet (x10 ⁹ /L)	352 ± 121	413 ± 144	430 ± 133	432 ± 109	0,737

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.6. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Kan Akyuvar Değerleri ile Platelet Seviyeleri Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Akyuvar (x10 ⁹ /L)	8,22 ± 1,86	8,50 ± 2,10	7,94 ± 2,11	7,35 ± 0,99	0,883
Lenfosit (x10 ⁹ /L)	2,45 ± 1,63	2,10 ± 1,75	3,04 ± 1,01	3,95 ± 1,08	0,448
Monosit (x10 ⁹ /L)	0,54 ± 0,27	0,56 ± 0,47	0,74 ± 0,13	0,84 ± 0,12	0,547
Granülosit (x10 ⁹ /L)	5,22 ± 3,03	5,83 ± 3,63	4,15 ± 3,00	2,56 ± 1,44	0,536
Lenfosit (%)	32,3 ± 21,8	29,0 ± 25,8	42,2 ± 22,2	53,3 ± 18,9	0,513
Monosit (%)	6,50 ± 2,92	6,30 ± 3,50	9,50 ± 1,04	11,6 ± 2,19	0,228
Granülosit (%)	61,2 ± 23,0	64,7 ± 24,3	48,3 ± 23,2	35,1 ± 6,75	0,346
Platelet (x10 ⁹ /L)	354 ± 129	439 ± 147	410 ± 190	354 ± 167	0,842

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

4.7. Üre ve Kreatinin Düzeyleri

Çalışma gruplarından elde edilen serum üre ve kreatinin değerleri Tablo 4.7’de verilmiştir. Oral yolla verilen BPA uygulaması serum üre ve kreatinin düzeylerini özellikle BPA20 ve BPA100 gruplarında KONT grubuna göre istatistiksel olarak yükseltmiştir (Tablo 4.7). Üre ve kreatinin seviyelerindeki bu artışın iyileşme dönemi sonunda kontrol seviyelerine döndüğü gözlenmiştir (Tablo 4.8).

4.8. Serum AST, ALT ve ALP Düzeyleri

Çalışma sonunda elde edilen aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve alkalin fosfataz (ALP) değerleri Tablo 4.7’te verilmiştir. Serum AST, ALT ve ALP düzeyleri arasında KONT ve BPA10 grupları arasında istatistiki olarak bir fark gözlenmezken, bu enzimlerin serum seviyelerinde BPA20 ve BPA100 gruplarında KONT grubuna göre yükselme olduğu görülmüştür (Tablo 4.7).

BPA uygulamalarının devam etmediği 9 haftalık iyileşme dönemi sonunda serum AST, ALT ve ALP düzeylerindeki farklılığın devam etmediği gözlendi (Tablo 4.8). Toplam 3 tavşandan elde edilen verilere göre gruplar arasında test edilen karaciğer enzimlerinin herhangi birinde istatistiki açıdan fark gözlenmedi.

4.9. Serum Glukoz, Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri

Çalışma dönemi sonunda kandaki glukoz, kolesterol ve trigliserid seviyeleri Tablo 4.7’te gösterilmiştir. Dokuz haftalık çalışma döneminin sonunda serum glukoz değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Tablo 4.7). Benzer bir şekilde, BPA uygulamalarının sonunda serum kolesterol ve trigliserid değerleri için anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$; Tablo 4.7). Çalışma dönemi sonunda, iyileşme dönemi boyunca takip edilen tavşanlarda da gruplar arasında serum glukoz, kolesterol ve trigliserid seviyelerinin anlamlı olarak değişmediği görülmüştür (Tablo 4.8).

Tablo 4.7. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Üre (mmol/L)	27,0 ^a ± 9,30	32,8 ^{ab} ± 5,89	41,0 ^b ± 4,47	40,5 ^b ± 9,22	0,025
Kreatinin (mg/dl)	0,73 ^a ± 0,09	0,81 ^{ab} ± 0,10	0,96 ^b ± 0,06	0,98 ^b ± 0,12	0,034
AST (IU/L)	23,7 ^a ± 6,63	31,8 ^{ab} ± 10,9	37,3 ^b ± 8,26	40,5 ^b ± 8,98	0,017
ALT (IU/L)	67,4 ^a ± 14,9	73,6 ^a ± 7,09	99,4 ^b ± 14,2	99,3 ^b ± 20,3	0,004
ALP (IU/L)	81,6 ^a ± 16,2	102,2 ^{ab} ± 15,7	117,4 ^b ± 16,2	113,2 ^b ± 16,8	0,012
Glukoz (mg/dl)	92,2 ± 11,0	94,4 ± 8,84	93,6 ± 7,76	95,8 ± 9,47	0,932
Kolesterol (mg/dl)	30,0 ± 5,38	41,8 ± 12,8	35,2 ± 4,14	33,0 ± 8,53	0,188
Trigliserid (mg/dl)	127,2 ± 25,5	129,8 ± 22,7	125,8 ± 24,3	127,0 ± 37,6	0,997

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. ALP=Alkalen Fosfat; ALT=Alanin Aminotransferaz; AST=Aspartat Aminotransferaz. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.8. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Üre (mmol/L)	31,7 ± 3,78	30,7 ± 6,11	29,7 ± 6,02	31,0 ± 4,58	0,971
Kreatinin (mg/dl)	0,76 ± 0,11	0,69 ± 0,06	0,68 ± 0,07	0,77 ± 0,06	0,451
AST (IU/L)	26,8 ± 7,60	19,8 ± 6,50	18,9 ± 5,61	23,2 ± 8,48	0,782
ALT (IU/L)	63,7 ± 10,6	65,7 ± 11,5	65,0 ± 6,12	66,0 ± 10,1	0,991
ALP (IU/L)	72,0 ± 14,0	78,0 ± 13,1	81,0 ± 10,1	85,3 ± 10,2	0,601
Glukoz (mg/dl)	120,7 ± 7,50	120,3 ± 12,4	119,0 ± 16,4	117,7 ± 14,5	0,996
Kolesterol (mg/dl)	30,0 ± 12,1	30,7 ± 8,51	25,0 ± 7,54	34,3 ± 7,63	0,676
Trigliserid (mg/dl)	126,7 ± 20,1	131,0 ± 27,8	121,7 ± 23,6	112,0 ± 9,84	0,857

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. ALP=Alkalen Fosfataz; ALT=Alanin Aminotransferaz; AST=Aspartat Aminotransferaz. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

4.10. Üreme Hormonları ve Spermatolojik Bulgular

Dokuz haftalık BPA uygulamaları sonunda elde edilen serum ve seminal plazmadaki testosteron ve östrojen hormonları ve serum inhibin, LH ve FSH değerleri Tablo 4.9'da verilmiştir. Tavşanlardaki serum testosteron (KONT=4,81±0,54; BPA10=3,58±0,25; BPA20=3,56±0,46 ve BPA100=3,39±0,15 ng/ml; P<0,04) ve seminal plazma testosteron seviyeleri (KONT=10,7±0,46; BPA10=10,2±0,26; BPA20=10,1±0,38 ve BPA100=9,86±0,36 ng/ml; P<0,02) BPA'ya bağlı olarak azalırken, serum ve seminal plazmada östradiol hormon seviyelerinde gruplar arasında istatistiki olarak herhangi bir anlamlı farkın olmadığı gözlemlendi (P>0,1; Tablo 4.9). Benzer bir şekilde serum inhibin, FSH ve LH değerlerinin de BPA uygulamalarından etkilenmediği görüldü. Bütün gruplar arasında inhibin, LH ve FSH seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (P>0,1; Tablo 4.9).

BPA uygulamalarının devam etmediği 9 haftalık iyileşme dönemi sonunda elde edilen serum ve seminal plazmadaki testosteron ve östrojen değerleri Tablo 4.10'da verilmiştir. Tavşanlardaki serum ve seminal plazma testosteron ve östradiol hormon seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlendi (P>0,1; Tablo 4.10).

Çalışma sonunda gruplardan elde edilen ejakulat hacmi, ejakulat ağırlığı, seminal plazma proteini, progresif motilite, pH ve spermatozoa konsantrasyonuna ait değerler Tablo 4.11'de sunulmuştur. BPA uygulamasının ejakulat hacmi, ejakulat ağırlığı, seminal plazma proteini ve pH üzerine etkisinin olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte, serum testosteron seviyelerindeki değişime paralel olarak, BPA uygulamalarının progresif motilite ve spermatozoa konsantrasyonu üzerine etkili olduğu görüldü. KONT grubundaki erkek tavşanlar en yüksek progresif motiliteye sahipken, BPA uygulanan bütün gruplarda progresif motilitede KONT grubuna göre azalma meydana geldi (P<0,001). BPA10 grubu, BPA20 ve BPA100 grupları ile karşılaştırıldığında daha yüksek progresif motiliteye sahip olduğu görülürken, BPA20 ve BPA100 grupları arasında anlamlı bir farklılığa rastlanmadı. Spermatozoa konsantrasyon değerleri incelendiğinde KONT grubu değerlerinin BPA gruplarından

daha yüksek seviyelerde olduğu görülürken ($P<0,02$), BPA grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, istatistiki açıdan herhangi bir farklılık görülmedi (Tablo 4.11).

BPA uygulamasının progresif motilite üzerine olumsuz etkisi son dönem olan 9 haftalık iyileşme döneminde de devam ettiği görüldü. Bu olumsuz etki KONT grubu ile kıyaslandığında BPA20 ve BPA100 gruplarında istatistiki açıdan anlamlı şekilde düşüş meydana getirdi ($P<0,02$). Ancak, spermatozoa konsantrasyonunda gözlenen düşüşün iyileşme döneminde düzeldiği ve gruplar arasındaki farkın ortadan kalktığı gözlemlendi (Tablo 4.12). Dinlenme dönemi sonunda spermatozoa konsantrasyonu kontrol değerlerine döndü.

4.11. Oksidan ve Antioksidan Parametreler

Gruplardan elde edilen serum MDA, SOD, CAT ve GPx değerleri Tablo 4.13’de verilmiştir. BPA uygulaması serum MDA seviyelerini anlamlı olarak yükseltirken, SOD seviyelerinde ise düşüşe sebep oldu. Serum CAT seviyeleri istatistiki olarak en yüksek KONT grubunda bulundu. BPA uygulanan bütün gruplar, KONT grubuna göre daha düşük serum CAT seviyelerine sahipken, BPA grupları arasında da istatistiksel farka rastlandı. BPA100 grubundaki serum CAT düzeyleri, BPA10 grubuna göre daha düşük bulundu. Serum GPx düzeyleri KONT ve BPA10 grupları arasında istatistiki bir fark bulunmazken, BPA20 ve BPA100 grupları KONT grubuna göre istatistiksel olarak bir düşüş gösterdi.

Karaciğer dokusuna ait oksidan-antioksidan parametreler Tablo 4.14’de sunulmuştur. Karaciğer MDA seviyeleri BPA uygulanan gruplarda KONT grubuna göre yükseldi. Karaciğer SOD ve CAT düzeyleri BPA uygulamalarını takiben bütün BPA gruplarında KONT grubuna göre düşerken, GPx düzeyleri BPA20 ve BPA100 gruplarında KONT grubuna göre azaldı.

Tablo 4.9. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Testosteron, Östrojen, İnhibin, FSH ve LH Hormonları Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Serum Testosteron (ng/ml)	4,81 ^a ± 0,54	3,58 ^b ± 0,25	3,56 ^b ± 0,46	3,39 ^b ± 0,15	0,038
Serum Östrojen (pg/ml)	559,1 ± 32,1	544,1 ± 65,3	574,1 ± 73,6	521,2 ± 38,4	0,495
SP Testosteron (ng/ml)	10,7 ^a ± 0,46	10,2 ^b ± 0,26	10,1 ^b ± 0,38	9,86 ^b ± 0,36	0,015
SP Östrojen (pg/ml)	1065 ± 151	1133 ± 151	1179 ± 137	1168 ± 188	0,672
Serum İnhibin (pg/ml)	95,7 ± 1,12	95,1 ± 3,93	96,3 ± 3,71	99,2 ± 8,04	0,712
Serum FSH (mIU/ml)	9,87 ± 1,12	11,1 ± 1,32	10,1 ± 2,23	9,84 ± 1,25	0,568
Serum LH (mIU/ml)	9,34 ± 0,25	9,50 ± 0,21	9,29 ± 0,23	9,35 ± 0,13	0,461

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. FSH= Follicle-Stimulating Hormon; LH= Luteinizing Hormon; SP=Seminal Plazma. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.10. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Serum ve Seminal Plazma Testosteron ve Östrojen Hormonları Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Serum Testosteron (ng/ml)	4,54 ± 0,31	4,06 ± 0,60	4,22 ± 0,34	3,98 ± 0,52	0,478
Serum Östrojen (pg/ml)	510,2 ± 296	597,9 ± 248	530,3 ± 133	697,4 ± 70,1	0,696
SP Testosteron (ng/ml)	10,8 ± 1,58	10,7 ± 0,80	10,5 ± 1,14	10,5 ± 0,90	0,978
SP Östrojen (pg/ml)	1139 ± 53,8	1108 ± 92,2	1148 ± 110	1180 ± 31,9	0,732

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa. SP=Seminal Plazma. Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.11. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Spermatojenik Parametreler Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Ejakülât Hacmi (ml)	0,88 ± 0,16	0,68 ± 0,14	0,68 ± 0,26	0,62 ± 0,15	0,166
Ejakülât Ağırlığı (mg)	0,94 ± 0,18	0,74 ± 0,15	0,73 ± 0,27	0,70 ± 0,18	0,274
Progresif Motilite (%)	76,0 ^a ± 4,18	52,0 ^b ± 5,70	43,0 ^c ± 6,70	38,0 ^c ± 2,74	0,001
Ejakülât pH'sı	7,08 ± 0,08	7,08 ± 0,09	7,06 ± 0,09	7,06 ± 0,11	0,972
Konsantrasyon (x10 ⁶ /ml)	314,4 ^a ± 63,8	227,6 ^b ± 46,6	188,6 ^b ± 34,0	186,6 ^b ± 88,8	0,016
Seminal Plazma Proteini (g/dl)	3,44 ± 0,33	3,36 ± 0,21	3,32 ± 0,11	3,28 ± 0,78	0,947

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.12. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasını Takiben 9 Haftalık Dinlenme Süresinin Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
Ejakülat Hacmi (ml)	0,93 ± 0,15	0,93 ± 0,12	0,78 ± 0,25	0,76 ± 0,15	0,527
Ejakülat Ağırlığı (mg)	1,02 ± 0,16	0,98 ± 0,15	0,89 ± 0,26	0,85 ± 0,16	0,669
Progresif Motilite (%)	71,7 ^a ± 5,77	65,0 ^{ab} ± 5,00	61,7 ^b ± 2,88	56,7 ^b ± 2,88	0,017
Ejakülat pH'sı	7,13 ± 0,06	7,13 ± 0,11	7,10 ± 0,10	7,03 ± 0,15	0,672
Konsantrasyon (x10 ⁶ /ml)	280,0 ± 22,9	250,7 ± 20,2	239,0 ± 30,2	233,0 ± 29,4	0,203
Seminal Plazma Proteini (g/dl)	3,27 ± 0,64	2,93 ± 0,11	3,70 ± 0,46	3,20 ± 0,20	0,226

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Böbrek MDA seviyeleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında KONT grubunun en düşük MDA değerine sahip olduğu, BPA uygulanan gruplarda ise MDA değerleri arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmadığı görülmektedir (Tablo 4.15). Böbrek SOD değerleri KONT ve BPA10 grupları arasında farklılık göstermezken, BPA20 ve BPA100 gruplarında KONT grubuna göre azaldığı anlaşılmaktadır. Böbrek CAT değerlerine bakıldığında, en yüksek CAT seviyesinin KONT grubunda, en düşük CAT seviyesinin ise BPA100 grubunda olduğu, BPA10 ve BPA20 grupları arasında ise istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı görülmektedir. Bütün BPA gruplarında böbrek GPx değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalma gösterirken, BPA grupları arasında anlamlı bir farklılığa rastlanmadı.

Testis dokusuna ait oksidan-antioksidan parametreler Tablo 4.16'da verilmiştir. Testisdeki MDA seviyesinin BPA uygulanan gruplarda KONT grubuna göre yükseldiği gözlemlendi ($P < 0,005$; Tablo 4.16). Rakamsal olarak en düşük testis SOD seviyesi BPA100 grubunda görülürken, BPA10 ve BPA20 grupları ile arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Rakamsal olarak en yüksek testis SOD seviyesine ise KONT grubunda rastlanmasına rağmen, istatistiki olarak fark sadece BPA20 ve 100 grupları ile gözlemlendi ($P < 0,01$; Tablo 4.16). KONT grubuna ait testis CAT seviyesi BPA grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu. BPA grupları arasında testis CAT seviyesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü ($P < 0,003$; Tablo 4.16). Testis GPx enzim seviyesinde de CAT enziminde olduğu gibi en yüksek değer KONT grubunda bulundu. En düşük testis GPx enzim seviyesine BPA20 grubunda rastlanmasına rağmen BPA grupları arasında istatistiksel bir farklılığa rastlanamadı ($P < 0,018$; Tablo 4.16).

Tablo 4.13. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Serum MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi (n=6).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
MDA (ng/ml)	30,3 ^a ± 3,61	46,4 ^b ± 2,94	49,2 ^b ± 13,8	49,3 ^b ± 10,7	0,016
SOD (pg/ml)	9,86 ^a ± 3,28	4,05 ^b ± 2,05	3,73 ^b ± 1,51	2,98 ^b ± 1,73	0,004
CAT (pg/ml)	28,7 ^a ± 8,82	20,2 ^b ± 2,28	14,3 ^{bc} ± 5,38	11,7 ^c ± 3,05	0,002
GPx (pg/ml)	383,9 ^a ± 23,4	338,2 ^{ab} ± 23,6	318,4 ^b ± 53,4	306,8 ^b ± 61,2	0,071

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
MDA=Malondialdehit; SOD=Süperoksitdismütaz; CAT=Katalaz; GPx=Glutasyon peroksidaz (GPx). Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.14. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Karaciğer Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
MDA (ng/ml)	28,8 ^a ± 3,25	38,3 ^b ± 5,44	42,7 ^b ± 5,23	47,2 ^b ± 5,81	0,012
SOD (pg/ml)	7,14 ^a ± 1,45	4,43 ^b ± 0,96	3,93 ^b ± 1,69	2,30 ^b ± 1,23	0,066
CAT (pg/ml)	14,1 ^a ± 2,46	9,99 ^b ± 1,94	7,95 ^{bc} ± 1,56	5,43 ^c ± 2,14	0,005
GPx (pg/ml)	286,0 ^a ± 39,6	242,7 ^{ab} ± 43,2	217,0 ^b ± 15,9	209,7 ^b ± 20,6	0,070

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.
MDA=Malondialdehit; SOD=Süperoksitdismütaz; CAT=Katalaz; GPx=Glutasyon peroksidaz (GPx). Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.15. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Böbrek Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
MDA (ng/ml)	32,5 ^a ± 2,33	45,5 ^b ± 1,58	51,6 ^b ± 8,93	54,6 ^b ± 10,2	0,018
SOD (pg/ml)	9,07 ^a ± 3,85	5,83 ^{ab} ± 1,66	3,33 ^b ± 1,14	2,51 ^b ± 0,51	0,025
CAT (pg/ml)	20,7 ^a ± 3,77	13,9 ^b ± 3,33	12,4 ^b ± 5,19	4,83 ^c ± 1,73	0,005
GPx (pg/ml)	296,0 ^a ± 9,16	219,3 ^b ± 22,7	210,3 ^b ± 41,4	236,4 ^b ± 26,7	0,024

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.

MDA=Malondialdehit; SOD=Süperoksitdismütaz; CAT=Katalaz; GPx=Glutasyon peroksidaz (GPx). Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.16. Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Ağız Yolundan BPA Uygulamasının Testis Dokusunda MDA ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi (n=3).

	KONT	BPA10	BPA20	BPA100	P=
MDA (ng/ml)	25,6 ^a ± 6,61	43,2 ^b ± 3,81	44,6 ^b ± 11,4	56,4 ^b ± 5,46	0,005
SOD (pg/ml)	8,37 ^a ± 2,03	5,27 ^{ab} ± 1,60	3,20 ^b ± 1,44	2,49 ^b ± 1,60	0,010
CAT (pg/ml)	18,2 ^a ± 3,03	11,3 ^b ± 1,86	10,1 ^b ± 2,48	6,63 ^b ± 2,37	0,003
GPx (pg/ml)	316,4 ^a ± 65,9	205,7 ^b ± 12,9	197,0 ^b ± 36,0	205,3 ^b ± 20,8	0,018

KONT=Kontrol; BPA10=10 mg/kg/gün bpa; BPA20=20 mg/kg/gün bpa; BPA100=100 mg/kg/gün bpa.

MDA=Malondialdehit; SOD=Süperoksitdismutaz; CAT=Katalaz; GPx=Glutatyon peroksidaz (GPx). Değerler Ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir.

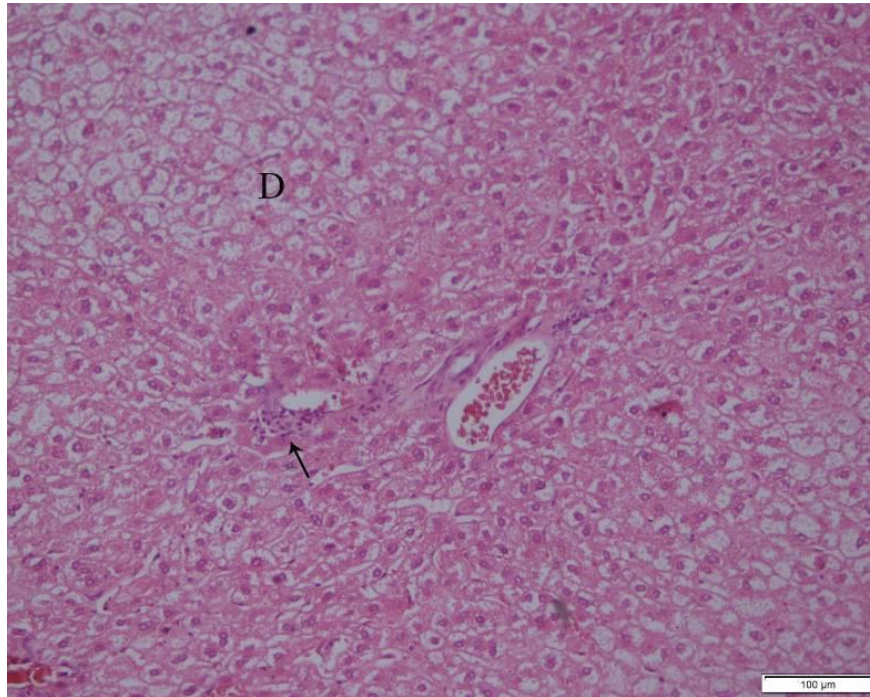
4.12. Histopatolojik Bulgular

Makroskobik olarak KONT grubu nekropsilerinde karaciğerde hafif renk açılması gözlemlendi. Bu tip değişiklikler gösteren karaciğerlerin kenarları kütleleşmişti. BPA gruplarına ait nekropsilerde karaciğerde solgunluk, kenarlarında kütleleşme ve gevrek kıvam hakimdi. Karaciğerlerde renk açılması, yer yer beyazımsı renkli nekrotik odaklar dikkati çekti. İç organlarda kanamalara rastlandı. Böbrekler şişkin ve soluk renkli görünümdeydi. Midede, ince ve kalın bağırsaklarda kanama dikkati çekti. Beyin ödemli bir görünümdeydi. Beyin dokusunda meningeal damarların dolgun olduğu dikkati çekti. Testis dokusu şişkin ve gevşek bir kıvama sahipti. Genel olarak dalak dokusunda hiçbir grupta spesifik bir lezyona rastlanmadı.

Karaciğer dokularının değerlendirmesinde Ahmed ve ark. (2015), değerlendirme kriterleri örnek alındı. Karaciğer dokuları incelenirken karaciğerde remark kordonlarında dissosiasyon ve safra kanallarında hiperplazi, karaciğer epitel hücrelerinde dejenerasyon, yangı hücresi infiltrasyonları ve fibrozis bulguları göz önünde bulunduruldu. BPA grubundaki karaciğer dokularında vena sentralis, vena porta ve sinuzoidlerin dilate durumda ve içlerinin eritrositlerle dolu olduğu gözlemlendi. Remark kordonlarında dissosiasyon belirgindi. Karaciğer epitel hücrelerinde özellikle periportal ve sentriasiner yerleşimli bulanık şişkinlikten hidropiye varan şiddetli dejeneratif değişikliklere rastlandı. Bazı alanlarda piknotik hiperkromatik çekirdekli hepatositler fark edildi. Parenkim içerisinde çoğunlukla midzonal, zaman zaman sentriasiner yerleşimli hafif şiddette fokal mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi. Kuppferin yıldız hücreleri belirginleşmişti. Bazı alanlarda portal ven çevresinde ödem ve hyalinizasyonlar mevcuttu (Resim 4.1 ve 4.2).



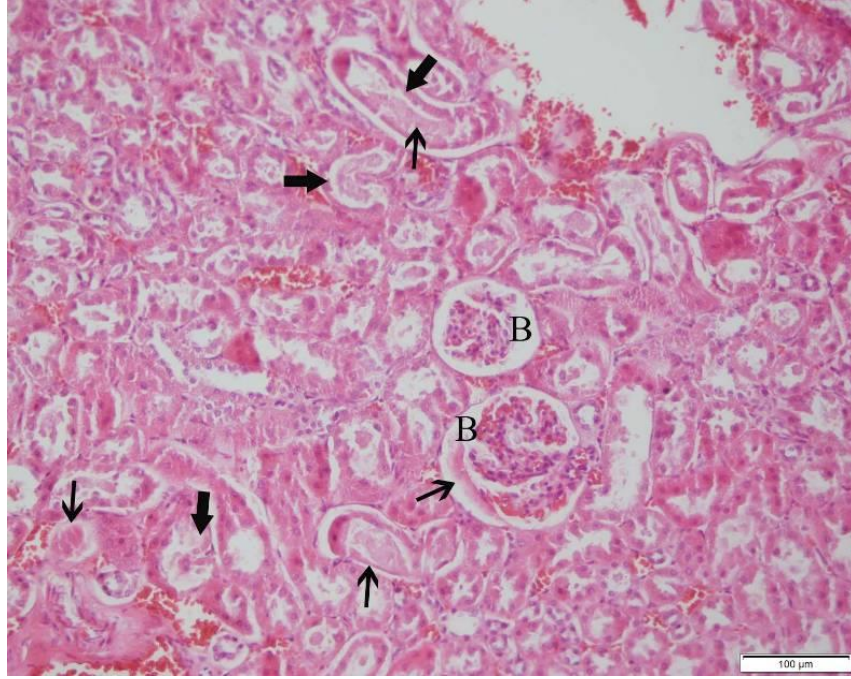
Resim 4.1. BPA Gruplarında Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a; Karaciğerde şiddetli dejenerasyon (D), Piknotik çekirdekli hepatositler (İnce ok), Portal bölgede perivasküler ödem (Ö), Dilate portal ven (Kalın ok), HE, X100.



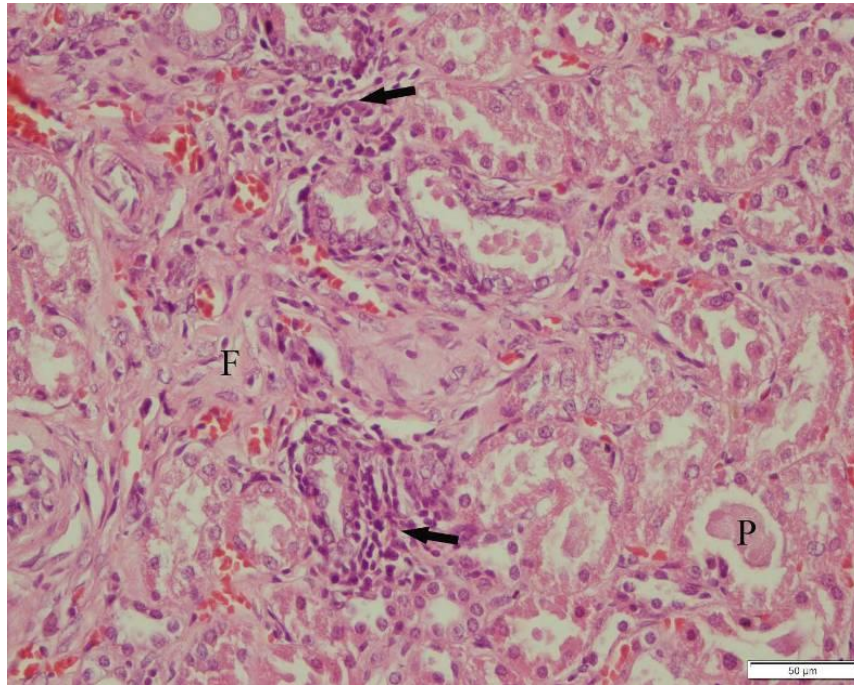
Resim 4.2. BPA Gruplarında Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b; Hepatositlerde şiddetli dejeneratif değişiklikler (D) ve fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (İnce ok), HE, X200.

Böbrek dokusu incelenirken Ahmed ve ark. (2015), yaptıkları böbrek toksik hasarının incelendiği bir çalışmanın kriterleri göz önüne alındı. Glomeruluslarda hücresellik artışı, bowman boşluğunun genişliği, glomerular atrofi, tubul epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, intersitisyumda kanama, ödem mononükleer hücre ve bağ doku proliferasyonları yönünden değerlendirildi. BPA grubundaki böbrek dokularında korteks ve özellikle kortiko-medullar bölgedeki birçok glomerulusta mezengial hücre proliferasyonuna bağlı hücresellik artışı gözlemlendi. Bazı alanlarda bowman boşluklarının genişlediği ve içlerinde pembe homojen renkte proteinöz kitlelerin varlığı tespit edildi. Bu glomeruluslarla ilişkili proksimal konvolut tubulus epitellerinin sitoplazmalarının granüler görünümde olduğu, şiddetli olgularda bu tubul epitel hücrelerinin çekirdeklerinin piknotikleştiği ya da tamamen gözden silindiği gözlemlendi. Çoğunluğu proksimal konvolut tubuluslar olmak üzere bazı alanlarda distal tubulus lümenlerinde proteinöz kitlelere rastlandı (Resim 4.3). İntersitisyumda bazı alanlarda ödem ve kanamalar ile yer yer fokal mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi. Ayrıca intersitisyumda fibrotik değişiklikler (Resim 4.4) ile atrofik glomeruluslara rastlandı.

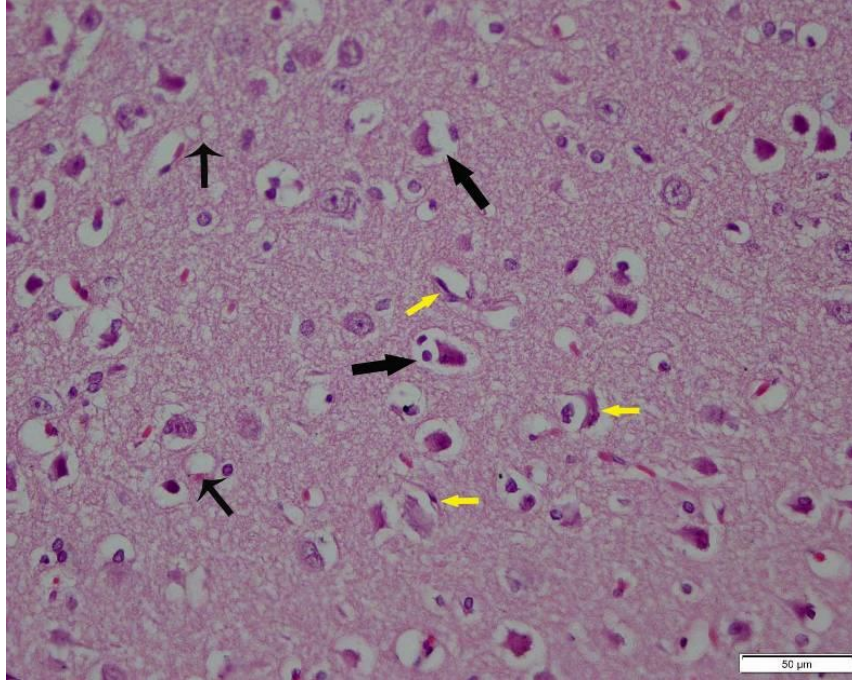
Beyin dokusu incelenirken Aydoğan ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada değerlendirdikleri kriterler yönünden beyin parietal korteksinde vakuolizasyon ve hasarlı dokuları fagosite ettikleri bilinen çekirdekleri iğ şeklinde ve sitoplazmanın bir köşesine eksantrik yerleşimli taşlı yüzük görünümündeki gitter hücreleri (köpük hücreleri) yönünden incelendi. BPA grubundaki beyin dokularında nöropil içerisinde ve bazı alanlarda nöron sitoplazmalarında vakuolizasyonlar gözlemlendi. Birçok alanda ve özellikle vakuolizasyonların çevresinde taşlı yüzük görünümündeki gitter hücrelerine rastlandı. Bazı olgularda çekirdeklerini kaybetmiş, pembe homojen kitleler halinde (Red neuron) dejenere nöronlar ve bunların çevrelerinde glia hücrelerine rastlandı (Resim 4.5 ve 4.6).



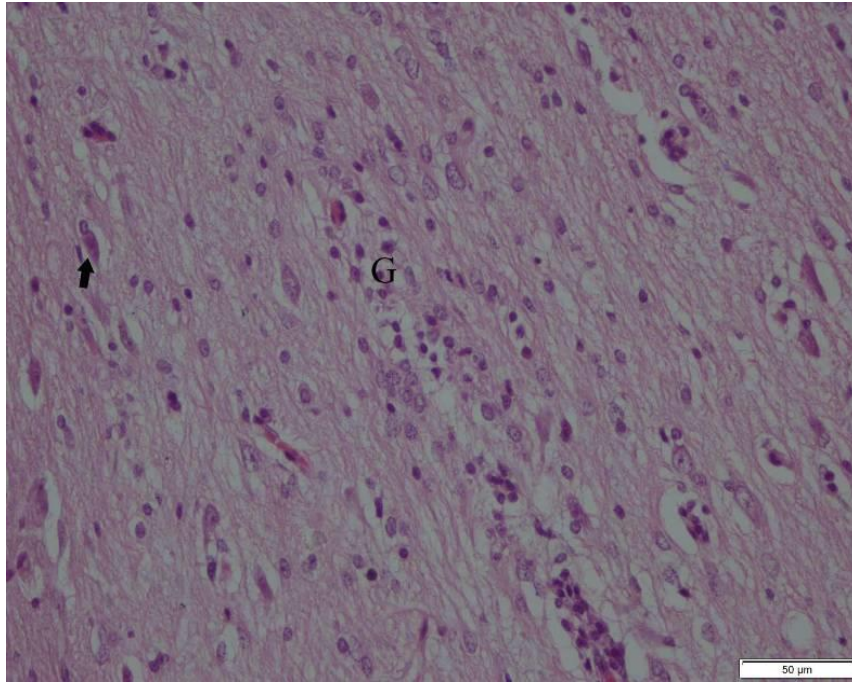
Resim 4.3. BPA Gruplarında Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a; Proksimal ve distal tubullerde dilatasyon, şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler (Kalın oklar), Bowman boşluğunda genişleme (B), Bowman boşluğu ve tubul lümenlerinde proteinöz kitleler (Hyalin kast), (İnce oklar). HE, X200.



Resim 4.4. BPA Gruplarında Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b; Dejenere tubul lümenlerinde proteinöz kitleler (P), intersitisyumda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları (Oklar) ve fibrozis (F). HE, X400.

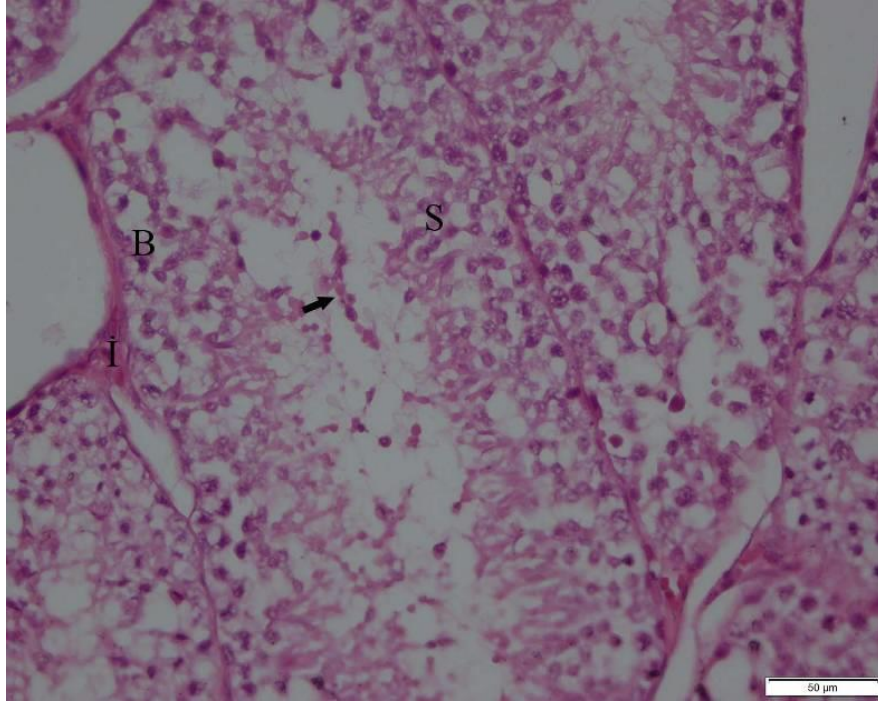


Resim 4.5. BPA Gruplarında Beyin Parietal Korteks Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi a; Nöron dejenerasyonu (red nöron) ve nöronofaji (Kalın oklar), nöropilde vakuolleşmeler (İnce oklar) ve gitter hücreleri (Sarı oklar). HE, X400.



Resim 4.6. BPA Gruplarında Beyin Parietal Korteks Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi b; Nöron dejenerasyonu (red nöron) ve nöronofaji (Kalın ok) ve gliosis (G). HE, X400.

Testis dokusu incelenirken Jahan ve ark. (2016), kriterleri göz önünde bulunduruldu. Buna göre sertoli hücrelerindeki dejenerasyon, germ hücrelerindeki dökülme, lümendeki spermatid miktarı ve intersitisyumun genişliği değerlendirildi. BPA gruplarındaki testis dokularında sertoli hücrelerinin büyük bir kısmının dejenere olup lümeneye döküldüğü fark edildi. Bazal hücrelerin büyük bir kısmı gözden kaybolmuştu. Spermatid sayısında azalma ve intersitisyumda daralma mevcuttu (Resim 4.7).



Resim 4.7. BPA Gruplarında Testis Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi; Seminifer tubullarda dejenerasyon, tubul lümenlerinde dökülmüş sertoli ve germ hücre toplulukları ile azalan sperm üretimi (Ok), Bazal hücrelerde azalma (B), Sertoli hücrelerinde disorganizasyon (S). HE, X400.

5. TARTIŞMA

Günümüzde yaygın olarak polikarbonat ve çeşitli plastik ürünlerinin üretiminde kullanılan endüstriyel bir kimyasal olması sebebiyle BPA'nın besin zincirimiz içerisine girmiş olması kaçınılmazdır. Endüstriyel alanda kullanımının giderek artması yanında biberonlarda, konserve kutularının iç kaplamalarında, içecek kutularında, diş ürünlerinde, teknolojik ürünlerde ve hastanelerde kullanılan malzemelerde katkı maddesi olarak çok yoğun bir şekilde kullanılması BPA'yı önemli bir çevre kirleticisi haline getirmiştir (Vom Saal ve Hughes, 2005; Calafat ve ark., 2008). Bundan dolayı çalışmamızda, sentetik bir östrojen olarak geliştirilen BPA'nın farklı dozlarda oral uygulamalarının erkek Yeni Zelanda tavşanlarındaki etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamız süresince KONT ve deneme grupları için kullandığımız tavşanların kanlarından almış olduğumuz örneklerdeki BPA seviyeleri gruplar arasında farklılık gösterdi. Çalışma boyunca tavşanlar BPA kontaminasyonuna sebep olabilecek kaynaklardan uzak tutulmaya çalışıldı. Tavşanlar galvanize çelik kafeslerde tutuldular. Yemlik ve suluklarda sırasıyla galvanize ve cam materyal kullanıldı. Bu durumla örtüşecek şekilde KONT grubundaki tavşanların serumlarında BPA'ya rastlanmadı. Diğer gruplarda ise uygulanan BPA dozuna paralel olarak, tavşanların serum BPA seviyelerinde istatistiki açıdan bir artış gözlemlendi. Üreme ile ilgili parametrelerde BPA'nın LOAEL dozu 10 mg/kg/gün, diğer parametrelerde ise 20 mg/kg/gün olarak tespit edildi. Bu dozlar sırasıyla serum BPA seviyelerini $0,24 \pm 0,02$ ve $0,58 \pm 0,09$ µg/ml düzeylerine yükseltti. Kemirgenlerde daha önce yapılan çalışmalar, farklı yollarla verilen BPA'nın sadece doza bağlı etkilerine bakarken, hangi serum seviyelerine ulaştığında bu etkilerin oluşmaya başladığını araştırmamıştır. Çalışmamız, BPA'nın olumsuz etkilerinin yukarıda açıklanan serum seviyelerinde gözlenmeye başladığını belirtmesi sebebiyle de önem göstermektedir.

Araştırmamızda kullanmış olduğumuz BPA dozları erkek tavşanlarda canlı ağırlık artışı ve günlük yem tüketimi üzerine etkili olmadı. Bulgularımızdan farklı

olarak BPA'nın kemirgenlerde canlı ağırlık üzerine etkileri ile ilgili farklı sonuçlar mevcuttur (Liu ve ark., 2013a). Perinatal ve puberte öncesi dönemlerde, sentetik bir östrojen olan BPA'nın vücut ağırlığını artırabileceği anlaşılmaktadır (Markey ve ark., 2001; Nikaido ve ark., 2004; Akingbemi ve ark., 2004; Miyawaki ve ark., 2007; Newbold ve ark., 2007). Moghaddam ve ark. (2015), tarafından farelerde yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca 0,5 ve 2 mg/kg/gün dozunda BPA'ya maruz kalan yetişkin erkek farelerde canlı ağırlıkta bir artışa sebep olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde, Marmugi ve ark. (2012), erişkin farelerde 5, 50 ve 500 µg/kg/gün BPA'nın vücut ağırlığını arttırdığını göstermiştir. İnsan ve kemirgenlerde kandaki BPA seviyelerinin artışı ile obezite arasında bir ilişki olabileceği, yüksek BPA'nın oksidatif strese bağlı olarak yağ depolanmasını hızlandırarak canlı ağırlıkta bir artışa yol açabileceği bildirilmektedir (Moghaddam ve ark., 2015). Sıçanlarda 70 µg/kg/gün dozundaki BPA'nın abdominal adipositlerde bulunan PPAR, C/EBP, LPL, GLUT4, Cyp19, GPAT ve DGAT gibi genleri upregüle ettiği (Somm ve ark., 2009), farede lipoprotein lipaz aktivitesini artırıp triasilgliserol yığılmasını artırdığı ve yağ dokusundaki adipositlerde hipertrofiye sebep olduğu bildirilmiştir (Masuno ve ark., 2002). Düşük seviyelerdeki BPA'nın HepG2 hücrelerinde ROS üretimini artırdığı ve buna bağlı olarak hücre içi yağ birikimini uyardığı da gösterilmiştir (Huc ve ark., 2012). Başka bir çalışmada, insan dokularındakinden çok daha yüksek yoğunluklarda BPA kullanıldığında adipositlerin içerisine glukoz girişinin GLUT4'ler tarafından hızlandırıldığı da anlaşılmaktadır (Deems ve ark., 1994).

Farklı dozlardaki BPA'nın vücut ağırlığını artırdığına dair birçok çalışma bulunsa da, bu durumun tersini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Fare (Honma ve ark., 2002) ve sıçanlarda (Talsness ve ark., 2000) BPA'nın vücut ağırlığında bir azalmaya sebep olabileceği gözlenmiştir. Bununla birlikte, çalışmamızla paralel olarak, BPA'nın yetişkin hayvanlarda vücut ağırlığına etkisi olmadığını gösteren farklı araştırmalar da mevcuttur. Avcı ve ark. (2016), 25 mg/kg/gün dozunda uygulanan BPA'nın sıçanlarda vücut ağırlığı üzerine etkisinin olmadığını belirtmiştir. Ahmed ve ark. (2015), tarafından ratlarda yapılan başka bir çalışmada 70 gün boyunca 150 mg/kg/gün BPA'nın oral uygulamalarının vücut ağırlığı üzerine bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Marmugi ve ark. (2014), BPA'ya 31 hafta

boyunca maruz kalan 6 haftalık farelerde vücut ağırlığında bir değişikliğin olmadığı söylenebilir. Bu bulgularla paralel olarak BPA'nın vücut ağırlığında herhangi bir farklılığa sebep olmadığına dair farklı araştırmalara rastlamak mümkündür (Ishido ve ark., 2004; Kabuto ve ark., 2004; Ryan ve Vandenberg, 2006; Marmugi ve ark., 2012). Literatürdeki bu farklılık BPA'nın uygulanma süresi ve dozu, hayvanların cinsiyeti, yaşları ve türlerin değişik olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda, vücut ağırlığı verilerine benzer bir şekilde, gruplar arasında günlük yem tüketiminde de BPA'ya bağlı bir değişim gözlenmedi. Furukawa ve ark. (1994), yaptıkları bir çalışmada farelerin diyetlerine 13 hafta boyunca %0 ile %4 arasında farklı dozlarda BPA ilave etmelerin sonucunda %4 BPA içeren diyet gruplarda yem tüketiminin arttığını rapor etmişlerdir. Fakat, Kobroob ve ark. (2018), 5 hafta boyunca 50, 100 ve 150 mg/kg/gün BPA dozlarını intraperitonel olarak enjekte ettikten sonra gruplar arasında yem tüketiminde farklılık olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Günlük enerji alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesi hipotalamusun kontrolünde olan homeostatik bir sistemdir (Broberger, 2005). Östrojen ve dolayısı ile östrojenik etkileri olan endokrin sistem bozucular hipotalamus üzerinden bu yapıya etki ederek iştah ve enerji dengesi üzerine rol oynayabilir. Arkuat nükleusta bulunan 2 farklı hipotalamik nöron grubu metabolik bilgilerin entegrasyonu için kritik öneme sahiptir. İlk grup yüksek oreksijenik etkiye sahip nöropeptid Y (NPY)'dir. NPY; insülin, leptin ve grelin gibi birçok hormon için bağlanma bölgesi içerir. NPY salınımındaki bir artış, gıda alımında artışa ve enerji tüketiminde ise azalmaya neden olur. Arkuat nükleusta bulunan diğer bir nöron grubu ise proopiomelanokortin (POMC) salgılar. POMC salgısı yem tüketimini azaltırken enerji tüketimini artırır. Dolayısı ile bu iki farklı nöron grubu zıt etkilere sahiptir. Şu anki hipoteze göre adipoz dokunun artışı, POMC ile birlikte insülin ve leptin seviyesini yükseltirken, NPY sentezini-aktivitesini baskılayarak, yem tüketimini azaltmaktadır. Tam tersine, NPY sentezi ve salınımının artarken POMC seviyelerinin düşmesi ise yem tüketimini artırmaktadır (Inui, 2000; Eva ve ark., 2006; Bertocchi ve ark., 2011). İnsanlarda NPY sisteminin düzgün çalışmaması ile obezite ve tip-2 diyabet arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (Ding ve ark., 2005; Ukkola ve Kesäniemi, 2007). Fötal dönemde BPA'ya maruz kalmanın, bu kimyasalın östrojenik etkileri yüzünden, NPY

sistemi üzerine etkili olabileceği ve yem tüketimini artırabileceği düşünülse de, yetişkinlerde neden yem tüketimini azalttığı veya etkilemediği tam olarak ortaya konulmamıştır. Çalışmamızda da BPA'nın yetişkin tavşanlarda yem tüketimi üzerine etkisine rastlanmamıştır.

Bulgularımız, erkek Yeni Zelanda tavşanlarında 9 hafta boyunca uygulanan BPA'nın kan glukoz seviyelerini istatistiki açıdan değiştirmedeğini göstermektedir. BPA ile tip-2 diyabet ilişkisini inceleyen literatür bilgileri, bu bağlantının yaş, cinsiyet, maruz kalma süresi ve farklı hastalıkların varlığına göre değişebileceğini göstermektedir.

BPA ile tip-2 diyabet gibi metabolik hastalıklar arasında bir bağlantı olabileceğine dair literatür bilgisine rastlamak mümkündür. Kuzey Amerika'da 2002-2003 yılları arasında gerçekleştirilen geniş çaplı bir tarama çalışmasında, 18-74 yaşları arasında değişen deneklerde üriner BPA'daki artışa paralel bir şekilde tip-2 diyabet görülme riskinde de bir yükselme belirlenmiştir (Lang ve ark., 2008). Aynı popülasyondan alınan örneklerde BPA ve kan glukoz seviyeleri arasında bir bağlantıya ise rastlanmamıştır. Aynı çalışmanın 2005-2006 yılları arasında taranan deneklerde üriner BPA seviyelerinin genel olarak düşük olmasına bağlı BPA ve tip-2 diyabet arasındaki ilişki daha zayıf olarak tespit edilmiştir (Lang ve ark., 2008). Bu iki dönem birleştirilerek analizler yapıldığında ise BPA/tip-2 diyabet bağının yine kuvvetli olduğu sonucuna varılmıştır. Silver ve ark. (2011), aynı çalışmanın 2003-2008 yılları arasını kapsayan 5 yıllık dönemdeki verileri kullanarak yaptıkları farklı bir analizde ise üriner BPA ile hemoglobin A1c (HbA1c) arasındaki ilişkiyi gözlemlemiş ve üriner BPA'nın yükselmesi ile hem tip-2 diyabet insidansının hem de kandaki HbA1c seviyelerinin artması arasında önemli ölçüde ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak HbA1c ve BPA arasındaki bağlantı sadece 2003-2004 yılları arasındaki dönemde belirgin olarak bulunmuş, diğer dönemlerde aynı kuvvetli bağlantıya rastlanmamıştır.

Çin'de yetişkinlerin kullanıldığı bir çalışmada tip-2 diyabet belirteci olarak kan glukoz seviyelerine bakılmış, yüksek üriner BPA ile kan glukozu arasında bir

ilişkiye rastlanmamıştır (Ning ve ark., 2011). Güney Kore’de yapılan başka bir çalışmada BPA ile tip-2 diyabet arasında bir bağlantı bulunamazken (Kim ve Park., 2013), Kore ve Çin popülasyonlarından deneklerin kullanıldığı iki farklı Asya ülkesi çalışmasında ise BPA ile insülin direnci arasında kuvvetli bir bağlantı olduğu rapor edilmiştir (Hong ve ark., 2009; Wang ve ark., 2012). Tarantino ve ark. (2013), ise BPA/tip-2 diyabet ilişkisinde erkek-kadın farklılığının olabileceğini, kadınlarda polisistik ovarı sendromu olanların olmayanlara göre daha yüksek risk grubunda olduğunu ve polisistik ovarı sendromu bulunan kadınlarda yüksek BPA ile tip-2 diyabet arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Verilerimiz BPA ile kan yağları arasında genel olarak olumsuz bir ilişkiyi ortaya koyamamıştır. BPA ve kan yağları arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar sınırlıdır. Ratlara kısa süreli (4 gün) 0,1, 1 ve 10 mg/kg dozlarında oral BPA uygulamalarının serum kolesterol seviyeleri üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Dodge ve ark., 1996). Üç ay boyunca düşük dozlarda BPA (0,033 ve 0,333 mg/kg) verilen ratların serum kolesterol düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiki olarak farklılık göstermemiştir (Seidlová-Wuttke ve ark., 2005). Bununla birlikte, BPA’nın yağ metabolizması üzerine olumsuz etkisini gösteren farklı çalışmalar mevcuttur. 70 yaşındaki bireylerde yapılan bir çalışmada yüksek serum BPA seviyeleri ile kolesterol seviyeleri arasında pozitif bir ilişki bulunduğu fakat BPA’nın trigliserid seviyelerini etkilemediği bildirilmiştir (Olsén ve ark., 2012). Amraoui ve ark. (2018), yaptığı bir çalışmada BPA uygulamalarının sıçanlarda kolesterol ve trigliserid seviyelerini yükselttiği bildirilmiştir. Toplam 10 ay boyunca BPA verilen farelerde glukoz intolerans, dislipidemi, karaciğerde kolesterol ve trigliserid birikiminde artış gibi metabolik problemlere rastlanmıştır (Ke ve ark., 2016). Ayrıca, aynı çalışmada BPA’ya maruz kalmanın karaciğerde yağ asidi ve kolesterol sentezini uyaran anahtar enzimlerin ekspresyonunu artırdığı gözlenmiştir.

Yapılan bir araştırmada, uzun süreli BPA uygulamaları Fasn ekspresyonunu KONT grubuna göre 2 kat, Scd1, Hmgcr ve Sqle ekspresyonunu ise 4 kata kadar artırdığını göstermektedir (Ke ve ark., 2016). Bu veriler BPA’nın yağ asidi ve kolesterol yapımını artırdığını ve buna bağlı olarak yağ metabolizması üzerine

olumsuz bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Bu bağlamda BPA'ya bağlı metabolik problemlerin ortaya çıkabilmesi için uzun süreli bir maruziyet gerekebilir. Sonuç olarak uzun süreli BPA maruziyeti hepatik lipit metabolizmasını etkileyerek ilerleyen yaşlarda farklı metabolik hastalıklara yatkınlığı artırabilir.

Alyuvarlar kanda en çok bulunan hücre tipi olup, kanımızda oksijenin taşınması gibi çok önemli fizyolojik görevleri bulunur. Bir çok zenobiyotik kanımız tarafından taşınır ve bu yüzden alyuvarların bu zenobiyotiklerden etkilenmesi mümkündür (Stasiuk ve ark., 2009). Bu çalışmada özellikle yüksek dozlarda oral yolla verilen BPA'nın eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hemoglobin konsantrasyonu üzerine olumsuz etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer bir şekilde Maćczak ve ark. (2015), BPA'nın alyuvar seviyelerini etkileyebileceğini ve hemolize sebep olabileceğini bildirmiştir. Farklı çalışmalarda BPA'nın alyuvar zarında serbest radikal oluşumunu tetikleyebileceğinden bahsedilmektedir (Suthar ve ark., 2014). BPA'nın lipofilik özelliği sayesinde alyuvarlar için sitotoksik olduğu bildirilmiştir. Ayrıca BPA'nın hemoglobinde bulunan demire bağlanıp, demirin hemoglobinden ayrışmasına sebep olabileceği, serbest demirin alyuvar sitoplazmasına geçip lipit peroksidasyonuna yol açabileceği de belirtilmiştir. Serbest radikal oluşumu ve peroksidasyon, alyuvarlarda hasar meydana getirerek ömürlerini kısaltmakta ve erken hemolize sebep olmaktadır (Maćczak ve ark., 2015). Literatür bilgileri, BPA gibi fenolik bileşiklerin süperoksit radikal oluşumuna ve dolayısı ile hem molekülünde bulunan demirin oksidasyonuna sebep olarak methemoglobin dönüşümüne yol açtığını ortaya çıkarmaktadır (Bukowska ve Kowalska, 2004). Methemoglobin içeren alyuvarlar ise hızlı bir şekilde dolaşımdan uzaklaştırılmaktadır (Giardina ve ark., 1995).

Ahmed ve ark. (2015), tarafından ratlarda yapılan bir çalışmada 70 gün boyunca 150 mg/kg/gün BPA'nın oral olarak verilmesi sonucunda eritrosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu, hematokrit değeri önemli derecede azalttığı ve ortalama alyuvar hacminde ve ortalama alyuvar hemoglobin konsantrasyonunda bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Ratlar ile yapılan bir başka çalışmada 4 hafta boyunca oral olarak verilen 125 mg/kg/gün BPA dozu eritrosit sayısında ve hematokrit oranında

önemli derecede bir düşüş bildirilmesine rağmen hemoglobin konsantrasyonunda ve ortalama alyuvar hacminde bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir (Ulutaş ve ark., 2011). Eritrosit sayısındaki azalma, eritropoezisin bozulmasına ve/veya kırmızı kan hücrelerinin tahrip edilmesindeki artışa bağlı olabileceği gösterilmiştir (Schaer ve ark., 2013). *In vitro* olarak yapılan bir çalışmada 150 µg/ml BPA dozunun insan eritrositleri üzerine % 96,20 oranında hemolize neden olduğu rapor edilmiştir (Samova ve ark., 2018b). Ayrıca BPA'nın kemik iliğinde oksidatif hasara yol açtığı da bildirilmiştir (Tiwari ve Vanage, 2017). Çalışmamızda, eritropoezisin bozulması ve/veya hemoliz sonucunda alyuvar hücrelerinin tahrip olması eritrosit sayısının ve hemoglobin konsantrasyonunun düşmesini açıklamaktadır.

Vücudumuzun savunma sisteminin temel taşlarından olan beyaz kan hücreleri aynı zamanda enflamasyon belirteçleri arasında sayılırlar (Song ve ark., 2017). Farklı çalışmalar BPA'nın bu belirteçleri yetişkin insanlarda yükseltebileceğini göstermiştir (Erden ve ark., 2014; Choi ve ark., 2017). Bununla birlikte BPA'ya maruz kalma ile kandaki lökosit sayısı arasında doğrudan bir bağlantının araştırıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. İnsanlarda yapılan 2 farklı çalışmada üriner BPA seviyeleri ile akyuvar sayıları arasında bir bağlantıya rastlanmamıştır (Yang ve ark., 2009; Maserejian ve ark., 2014). Buna rağmen, yine insanlarda yapılan başka bir çalışmada ise üriner BPA ile akyuvar sayısı arasında pozitif bir bağlantı bildirilmiştir (Song ve ark., 2017). Çalışmamızın sonunda ise akyuvar, lenfosit, monosit ve granülosit sayılarında ve yüzdelerinde gruplar arasında istatistiki açıdan bir farklılık görülmemiştir. Benzer bir şekilde ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada akyuvar, lenfosit, monosit ve nötrofil sayılarında istatistiksel olarak herhangi bir değişikliğe rastlanmadığı rapor edilmiştir (Ahmed ve ark., 2015). Ulutaş ve ark. (2011), ratlar ile yaptıkları çalışmada kullandıkları 125 ve 250 mg/kg/gün BPA dozunun akyuvar, lenfosit, monosit, granülosit yüzdelerinde ve platelet seviyelerinde bir değişikliğin meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Abid ve Hassan (2017) dişi ratlarda yaptıkları çalışmada 30 gün boyunca 250 mg/kg/gün BPA'yı oral gavaj yoluyla uygulayarak akyuvar sayısında ve nötrofil yüzdesinde bir artış belirlerken lenfosit yüzdesinin düştüğünü ancak monosit, eozinofil ve bazofil yüzdesinde bir değişiklik ile karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir. Bütün bu farklılıklar uygulanan dozun süresi ve miktarı, çalışmada

kullanılan hayvan türlerinin ve cinsiyetlerinin farklılığından kaynaklanmış olabilir. İnsan çalışmalarında ise cinsiyetin yanında, yaş, hormonal durum (menapoz öncesi-menapoz sonrası) ve kişilerde kronik rahatsızlıkların olup olmaması gibi durumlar sonuçlar arasında farklılıkları açıklayabilir.

Serum üre ve kreatinin seviyelerindeki artış genel anlamda böbreklerde meydana gelen bir hasarın belirteçleri olarak algılanır (Edelstein, 2008). Serum üre ve kreatinin seviyeleri yaptığımız çalışmada en yüksek iki BPA dozunda artış meydana getirmiştir. Bu artış BPA'ya bağlı bir böbrek hasarını düşündürmektedir. Benzer bir şekilde, 15 gün boyunca ratlara intraperitoneal olarak verilen 100 µg/kg/gün BPA, serum üre ve kreatinin seviyelerinde önemli bir artışa neden olmuştur (Rahimi ve ark., 2015). Wahby ve ark. (2017), ratlara 70 gün oral yolla BPA (40 mg/kg/gün) verdikleri bir çalışmada plazma üre ve kreatinin seviyelerinin önemli derecede artış gösterdiğini saptamışlardır. Ahmed ve ark. (2015), serum üre ve kreatinin seviyelerinin arttığını belgelemişlerdir. Peerapanyasut ve ark. (2019), 5 ve 50 mg/kg/gün BPA'nın serum üre ve kreatinin seviyelerinde bir değişiklik oluşturmadığını bildirseler de, Ola-Davies ve Olukole, (2018) sıçanlarda günlük 10 mg/kg BPA dozunun üre ve kreatinin düzeylerini olumsuz etkilediğini belirtmiştir. Genel olarak BPA'nın karaciğerde konjuge olmasından sonra böbreklerden atılması sırasında meydana gelebilecek oksidatif stres, böbreklerde bir probleme sebep olabilir. Zaten çalışmamızdan elde edilen veriler, BPA'ya bağlı toksik bir hasarın varlığını histopatolojik olarak da ortaya koymaktadır. BPA grubundaki tavşanların böbrek dokularında gözlenen mezengial hücre proliferasyonu, bowman boşluklarında pembe homojen renkte proteinöz kitlelerin varlığı, tubul epitel hücrelerinin çekirdeklerinde piknotikleşme ve bazı alanlarda ödem ve kanamalar böbrek hasarını düşündürmektedir. Böbrek dokusundaki bu hasar serum üre-kreatinin seviyelerindeki artışın başlıca sebebi olabilir. Ayrıca, çalışmamız sonucunda gözlediğimiz BPA'ya bağlı serum kreatinin seviyelerindeki yükselmeler, böbreklerin toksik metabolitleri vücuttan atmada yeteri kadar etkili olmadığını bir göstergesi olarak düşünülebilir.

Serum ALT ve AST gibi enzimlerin seviyeleri karaciğer fonksiyonları hakkında bilgi veren önemli enzimlerdir (Panteghini ve Bais, 2015). Karaciğer

dokusunda bir dejenerasyon olduğunda bu enzimlerin serum seviyelerinde bir artış gözlenmektedir (Panteghini ve Bais, 2015). Yüksek üriner BPA seviyelerinin karaciğer fonksiyonlarında olumsuz değişikliklere yol açabileceği bildirilmiştir (Lang ve ark., 2008; Melzer ve ark., 2010). Bulgularımıza göre, BPA'nın en yüksek iki dozunun erkek tavşanlarda bakmış olduğumuz karaciğer enzimlerinin serum seviyelerini artırdığı sonucuna varılmıştır. Karaciğer dokusundaki hasar da bu bulguları desteklemektedir. Karaciğer dokusunun histopatolojik bulguları BPA'ya bağlı şiddetli dejeneratif değişiklikler olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda incelenen karaciğer dokularının bazı alanlarında piknotik hiperkromatik çekirdekli hepatositler, fokal mononükleer hücre infiltrasyonları ile birlikte portal ven çevresinde ödem ve hyalinizasyonlara rastlanmıştır. İnsanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, üriner BPA ile ALT ve AST gibi karaciğer enzimleri arasında pozitif bir ilişkiyi ortaya koymaktadır (Erden ve ark., 2014). Ayrıca karaciğer enzimlerindeki artış genel bir yangı olgusunun bir belirteci olarak algılanabilir (Song ve ark., 2017). Çocuklarda yapılan başka bir çalışmada da serum AST seviyelerinin, üriner BPA artışına bağlı yükseldiğini göstermektedir (Khalil ve ark., 2014). Laboratuvar hayvanlarında yapılan deneysel çalışmalardan da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sıçanlarda yapılan deneylerde BPA'nın karaciğer enzimlerini yükselttiği belirtilmiştir (Korkmaz ve ark., 2010; Avcı ve ark., 2016). Benzer bir şekilde, Poormosavi ve ark. (2018) ile Ahmed ve ark. (2015)'nin sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda serum ALT, AST ve ALP seviyelerinin arttığı ve karaciğer hasarına yol açtığı rapor edilmiştir. Bu enzimlerin yükselme derecesi hepatoselüler fonksiyon kaybı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. BPA'nın oksidatif stresi artırdığı ve organlarda toksisiteye sebep olabileceği konusunda çalışmalar mevcuttur (Daidoji ve ark., 2003; Korkmaz ve ark., 2010). Bu durumun ROS ve serbest radikal seviyelerinde artışa sebep olarak prooksidan/antioksidan dengesini bozduğu ve karaciğer dokusunda harabiyete sebep olma riskini artırması sebebiyle meydana geldiği düşünülmektedir (Videla, 2009).

Çalışmamızda, böbrek ve karaciğer dokularındaki histopatolojik değişiklikler ve bu dokulardaki hasarın belirtisi olarak kabul edilen enzimlerdeki yükselmelere paralel olarak, böbrek ve karaciğerdeki oksidan ve antioksidan parametrelerde de

BPA uygulamasına bağlı değişiklikler gözlenmiştir. Bu dokularda MDA seviyelerinin yükseldiği, SOD, CAT ve GPx enzim seviyelerinin ise azaldığı anlaşılmaktadır. Genel olarak oksidatif stres, serbest radikallerin ve/veya ROS üretimi ile antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılabilmek durumu arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak meydana geldiği kabul edilmekte ve bu durumun dokularda hasarının başlatılmasına ve ilerlemesine katkıda bulunan patolojik bir mekanizma olduğu düşünölmektedir. Lipit peroksidasyonunun yaygın olarak kullanılan bir göstergesi olan MDA, oksidatif stres için potansiyel bir biyomarker olarak kabul edilir (De Zwart ve ark., 1999). SOD, süperoksit radikalının hidrojen peroksida dönüşmesini katalize ederken, CAT ve GPx ise hidrojen peroksiti hidrojen oksit haline getiren enzimlerdir. Dokularda MDA'nın BPA'ya bağlı artışı, bu dokularda lipit peroksidasyonunun artmasının bir işaretidir (Samova ve ark., 2018a). Bu nedenle, çalışmamızda gözlemlediğimiz BPA ve MDA arasındaki bu pozitif ilişki, BPA'nın karaciğer ve böbreklerde lipit peroksidasyonunu artırabileceğinin göstergesidir. Ayrıca BPA'ya bağlı karaciğer ve böbrek dokusunda meydana gelen SOD, CAT ve GPx seviyelerinde azalma bu dokulardaki oksidatif stresin arttığını gösteren belirteçlerdir. Bu bulgular, BPA'ya bağlı dokularda oksidatif stresin arttığını belirten başka literatürler ile örtüşmektedir (Carlisle ve ark., 2009; Preethi ve ark., 2014; Chung ve ark., 2017; Ola-Davies ve Olukole, 2018). Bu çalışmalar, BPA'nın SOD, CAT ve GPx aktivitelerini azaltarak antioksidan savunma sisteminin tükenmesini ve dokularda oksidatif strese neden olduğunu bildirmektedir. Mahmoudi ve ark. (2015), 5 mg/kg dozundaki BPA'nın karaciğerde oksidatif stresi uyardığını, hücre zarı hasarına yol açarak hepatotoksisite ve mitokondriyal disfonksiyon ile ilgili işaretleiyici enzimlerin serbest bırakılmasından sorumlu olduğunu göstermiştir.

Oksidatif stres, hepatik hücrelerde lipit birikimine ve hepatite katkıda bulunabilir (Zhang ve ark., 2018). Günlük 10 mg/kg BPA, lipit peroksidasyonunun artmasına, CAT ve SOD gibi antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etki ederek toplam antioksidan kapasitede bir azalmaya neden olmaktadır (Mahmoudi ve ark., 2018). BPA'nın kalp dokusunda da benzer bir şekilde antioksidan seviyesini tükettiği ve CAT aktivitesini düşürdüğü gözlenmiştir (Aboul Ezz ve ark., 2015). BPA doğrudan bir toksin gibi hareket ederek dokuların antioksidan seviyesinin azaltılması

sonucu oksidatif stres oluşturabilir (Aboul Ezz ve ark., 2015). BPA'ya bağlı renal ve hepatik hasar hidrojen peroksit seviyesinin yükselmesi, artmış lipid peoksidasyonu ve buna bağlı ROS oluşumunda artışla paralellik gösterebilir (Ola-Davies ve Olukole, 2018).

Üremede sperm sayısında azalma ve progresif motil spermatozoa yüzdesindeki düşüş sperm kalitesi yönünden önem taşımaktadır. Döllenmenin olabilmesi için ejakülatta belli sayıda spermin olması şarttır (WHO, 2010). Mevcut çalışmanın sonuçları, uygulanan en düşük oral BPA dozlarında bile yetişkin erkek tavşanlarda spermatozoa konsantrasyonunu yaklaşık %24 oranında azalttığını gösterdi. Progresif motilitedeki azalma, BPA10 grubuna göre, BPA20 ve 100 gruplarında istatistiki olarak daha da yüksek bulundu. Ayrıca, progresif motilite, KONT grubu ile kıyaslandığında, BPA ile tedavi edilen gruplarda doza bağımlı bir şekilde %23'ten %50'ye kadar geriledi. Bulgularımız, daha önceki çalışmalar ile de paralellik göstermektedir. Sıçanlarda BPA'ya bağlı semen kalitesinde benzer doz bağımlı bir azalma gözlenmiştir (Chitra ve ark., 2003). Fare (Vom Saal ve ark., 1998) ve sıçanlarda (Richter ve ark., 2007; Salian ve ark., 2011; Liu ve ark., 2013b; Wisniewski ve ark., 2015) yapılan farklı deneysel çalışmalarda da BPA'ya bağlı semen kalitesinde bir düşüş bildirilmiştir. Li ve ark. (2010)'nın BPA üretimi yapan fabrikalarda çalışan işçilerle yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada üriner BPA'nın artışı ile sperm kalitesi arasında olumsuz ilişki olduğu gözlemlendi. BPA'ya maruz kalmanın yetişkinlerde anormal testiküler fonksiyonlara yol açtığı (Tinwell ve ark., 2002), günlük sperm yapımında azalmaya sebep olduğu (Rochester, 2013), testiküler steroidogenezi baskıladığı (Akingbemi ve ark., 2004) ve spermatogenezi bozduğu (Salian ve ark., 2011) bildirilmektedir. BPA ile infertilite arasında bir ilişki olduğu da rapor edilmiştir (Oehlmann ve ark., 2009). Ayrıca, erkeklerde serum BPA düzeylerinin yükselmesine paralel olarak embriyo kalitesinin düştüğüne ve BPA'nın sperm kalitesini olumsuz etkileyebileceğine dair verilere ulaşmak da mümkündür (Bloom ve ark., 2011). Nadir olarak BPA maruziyeti ve sperm kalitesi arasında bağlantıya rastlamayan çalışmalar olmasına rağmen (Ashby ve ark., 2003), literatürün çoğunluğu olumsuz bir etkiyi desteklemektedir.

BPA'nın sperm kalitesi üzerindeki olası olumsuz etkisi doğrudan spermatogenezis üzerine olabilir (Toyama ve ark., 2004). Spermatogenezis, folikül stimulan hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) tarafından uyarılan Leydig hücrelerinde yapılan testosteron hormonu tarafından kontrol edilir. Yetişkin memelilerde androjenler sertoli hücrelerini uyararak erkek sperm gelişimini sağlar. FSH, spermatogonya miktarını ve bu hücrelerin miyoz bölünme evresine geçişini uyararak, spermatogenezisi uyarır (Al-Hiyasat ve ark., 2002; O'Shaughnessy ve ark., 2010). Testosteron ise miyoz bölünme ve spermiyogenezis için gereklidir. Böylece FSH ve/veya testosteron hormonlarındaki azalma spermatogenezis üzerine olumsuz etki gösterecektir (Chowdhury, 1979). Mevcut çalışmada, serum LH, FSH ve inhibin düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmamasına rağmen, BPA maruziyeti nedeniyle testosteron seviyeleri azalmıştır. Literatürde dolaşımdaki testosteron seviyeleri ile BPA arasındaki ilişki ile ilgili farklı sonuçlar bulmak mümkündür. Bazı çalışmalar, BPA'nın testosteron seviyesini arttırdığına dair bulgular sunmaktadır. Hanaoka ve ark. (2002), BPA'ya maruz kalan işçilerde, BPA'nın testosteron seviyelerini yükselttiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, yetişkinlerde (Galloway ve ark., 2010) ve yeni doğanlarda (Fénichel ve ark., 2012) BPA ile androjenler arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise BPA'nın erkek sıçanlarda serum testosteron düzeylerini değiştirmedeği bildirilmiştir (Gámez ve ark., 2014). Bununla birlikte, BPA'nın plazma testosteron düzeylerini baskılayabileceğini ve spermatogenezis üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğini gösteren çalışmalar da vardır (Tohei ve ark., 2001; Mendiola ve ark. 2010; Jin ve ark., 2013). Buna ek olarak, BPA'nın yetişkin insan testis dokularında anti-androjenik özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir (Desdoits-Lethimonier ve ark, 2017).

Nonilfenollerin, Leydig hücresinde testosteron sentezi için gerekli olan p450c17 enzimi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Laurenzana ve ark., 2002; Han ve ark., 2004). Dolayısı ile BPA gruplarındaki testosteron konsantrasyonlarının azalması, BPA'nın p450c17 enzimini baskılaması sebebiyle gerçekleşmiş olabilir. Leydig hücreleri tarafından testosteronun yerel üretimi, spermatogenezin sürekliliği için çok önemlidir (O'shaughnessy, 2014) ve yapılan mevcut çalışmada BPA uygulaması sperm üretiminin adımları için gerekli olan kritik

hormonal dengeleri bozmuş olabilir. Çalışmamızda BPA'ya bağlı FSH ve LH düzeylerinde herhangi bir değişikliğin olmaması, bu fenol bileşiğinin Leydig hücrelerinin işlevleri üzerine doğrudan etkili olabileceğini ve bu hücrelerin üzerinden testosteron üretimini baskılayabileceğini düşündürmektedir (Akingbemi ve ark., 2004).

BPA maruziyeti sonucunda oluşabilecek oksidatif stres testis dokusundaki seviyelerinin azalması, semen kalitesini olumsuz etkileyebilecek başka bir faktör olarak düşünülebilir (Chitra ve ark., 2003). SOD ve CAT gibi enzimler, hidrojen peroksit gibi ROS'un temizlenmesinden sorumlu hücre içi enzimatik antioksidanlardır. Buna ek olarak, SOD hücrelerdeki ROS'a karşı ilk savunma hattını oluşturur (Sen ve ark., 2010). Mevcut çalışmamızda, oral BPA'ya maruz kalan tavşanların testis dokularındaki SOD, CAT ve GPx seviyeleri KONT grubundaki doku seviyelerine göre daha düşüktü. Ayrıca, BPA testis dokularında MDA üretimini uyarmaktadır (Aydoğan ve ark., 2010). Benzer bir şekilde, çalışmamızdaki BPA uygulamaları sonucunda testis MDA konsantrasyonları da yükselmiştir. BPA'ya bağlı olarak testis dokusunda MDA seviyelerindeki artış, normalden daha fazla ROS üretimini takiben artan oksidatif strese bağlı meydana gelmiş olabilir (Yonar ve ark., 2014). Böylece, BPA erkek Yeni Zelanda tavşanlarında serbest radikal oluşumunu uyararak ROS üretimini artırabilir ve testis dokusundaki oksidatif stresi uyarabilir (Chitra ve ark., 2003). BPA maruziyeti ile uyarılan oksidatif stresin artması enzimatik antioksidan savunmalarını olumsuz yönde etkileyebilir, testis dokusunda ve/veya sperm hücrelerinde oksidatif hasarı artırabilir ve böylece sperm gelişimini ve/veya hayatta kalmasını olumsuz olarak değiştirebilir.

Bulgularımız, oksidatif stresteki artışa paralel olarak, BPA maruziyetinin testis dokusunda histopatolojik değişikliklere sebep olduğunu göstermektedir. Histopatolojik değişiklikler, semen kalitesinde gözlemlediğimiz olumsuz değişiklikleri etkileyen bir başka faktör olabilir. Önceki çalışmalar BPA'nın testis dokusunda nekroza, seminifer tübül dejenerasyonuna ve dev hücre oluşumuna sebep olabileceğini göstermiştir (Fawzy ve ark., 2018). BPA, seminifer tübüllerde apoptotik hücrelerin sayısını arttırmaktadır (Yin ve ark., 2017). BPA'nın seminifer

tübüllerin yüzey alanını azalttığına dair bulgular da mevcuttur (Kazemi ve ark., 2016). Çalışmamızda, seminifer tübüllerde dejenerasyon, sertoli ve germ hücre bozulması, sperm üretiminde azalma, bazal hücrelerde azalma ve BPA maruziyeti nedeniyle düzensiz sertoli hücreleri gibi daha önceki çalışmalarla uyumlu histopatolojik bulgular spermatogenezisin olumsuz etkilendiğini doğrulamaktadır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda oral yolla uygulanan BPA'nın bütün dozlarda serum BPA seviyelerinde artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Serum örneklerindeki BPA'nın 9 haftalık dinlenme dönemin sonunda ise tamamen metabolize olarak vücuttan uzaklaştırıldığı anlaşılmaktadır.

Çalışma süresince haftalık olarak elde edilen canlı ağırlık ve yem tüketimi ile nekropsi sırasındaki tartımlardan elde edilen organların yaş ağırlık verileri bakımından değerlendirildiğinde BPA'nın canlı ağırlık, yem tüketimi ve yaş organ ağırlıkları üzerine bir etkisinin olmadığı kanısına varılmıştır.

Çalışma sırasında değerlendirilen hematolojik parametreler incelendiğinde BPA20 ve BPA100 gruplarından elde edilen alyuvar sayısı ve hemoglobin miktarı ile BPA100 grubundaki OAHbY değerlerinde KONT grubu ile kıyaslandığında bir düşüş olduğu görülmektedir. Hematokrit, OAH, OAHb, akyuvar sayısı, lenfosit, monosit, granülosit ve platelet sayıları gibi diğer kan parametrelerinde ise deney grupları arasında bir farklılığa rastlanmamış ve BPA uygulamalarının bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Biyokimyasal parametrelerden serum üre, kreatinin, AST, ALT ve ALP değerleri BPA20 ve BPA100 gruplarında KONT grubuna göre istatistiksel olarak yükselmiştir. Fakat aynı dönemde serum glukoz, kolesterol ve trigliserid seviyeleri BPA uygulamalarından etkilenmemiştir.

Tavşanlardaki serum ve seminal plazma testosteron seviyeleri BPA uygulamalarına bağlı olarak azalırken, serum ve seminal plazma östradiol seviyeleri ile serum inhibin, FSH ve LH değerleri BPA uygulamalarından etkilenmemiştir. Ayrıca, serum ve seminal plazma testosteron seviyelerindeki düşüşe paralel olarak, erkek tavşanların ejakülatlarından elde edilen verilere göre BPA'nın progresif motilite ve spermatozoa konsantrasyonu değerlerini olumsuz olarak etkilediği

gözlenmiştir. Ejakulat hacmi, ejakulat ağırlığı, pH ve seminal plazma protein miktarları ise BPA uygulamalarından etkilenmemiştir.

Oksidatif stresin göstergelerinden biri olan MDA seviyeleri serum, karaciğer, böbrek ve testiste BPA ile ilişkili olarak artarken, aynı dokulardaki SOD, CAT ve GPx seviyelerinde düşüş görülmüştür. Antioksidan enzim seviyelerinin düşmesi ve MDA'nın yükselmesi BPA'nın oksidatif strese neden olduğu sonucunu desteklemektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda BPA'nın erkek Yeni Zellanda tavşanlarında bazı kan parametreleri ve biyokimyasal parametreler üzerine olumsuz etkisinin olduğu gözlemlendi. Bu parametreler bakımından olumsuz etkinin gözlenmediği en yüksek BPA seviyesi (NOAEL) 10 mg/kg/gün dozu olurken olumsuz etkinin görülmeye başladığı en düşük BPA dozu (LOAEL) ise 20 mg/kg/gün olarak bulundu. Bulgularımıza göre $0,58 \pm 0,09$ µg/ml serum seviyelerindeki BPA'nın erkek tavşanlarda olumsuz bir etkiye yol açtığı gözlenmektedir. 100 mg/kg/gün dozu seviyesine kadar BPA ise klinik açıdan herhangi bir probleme yol açmazken canlı ağırlık artışında da olumsuz bir etkiye sebep olmadı. Spermatolojik parametrelerden motilite ve spermatozoa konsantrasyonu için ise BPA'nın LOAEL dozu 10 mg/kg/gün olarak tespit edildi.

Ötenazi yapılmayan erkek tavşanlarda 9 haftalık dinlenme periyodunu takiben kan ve biyokimyasal parametrelerin normal seviyelerine döndüğü ve BPA'nın bu parametreler üzerine etkilerinin kalıcı olmadığı gözlemlendi. Tavşanlar için yaklaşık 1 spermatogenez süresi olan 9 haftalık dinlenme periyodu sonunda BPA kullanılan erkek tavşanlarda spermatozoa konsantrasyonu kontrol tavşanları seviyesine yükselirken, sperm motilitesi özellikle 20 ve 100 mg/kg/gün dozlarında hala kontrol tavşanlarına göre düşüktü. Çalışmamızın sonucuna göre yüksek dozlardaki BPA'nın motilite üzerine etkisinin ortadan kalkabilmesi için daha uzun bir süreye ihtiyaç duyulabileceği kanaatine varıldı.

ÖZET

Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Subakut Bisfenol A Toksikitesi

Özellikle son 50 yıllık dönem içerisinde plastik ve plastik malzemeden yapılan ürünlerin kullanımında önemli derecede bir artış gözlemlendi. Bu artış, plastik ürünlerin ana malzemelerinden biri olan bisfenol A (BPA)'nın da hayatımızın bir parçası haline gelmesine sebep oldu. BPA kullanımındaki yoğun artışa paralel olarak bu kimyasal ile ilgili soru işaretlerinin oluşması da kaçınılmazdı. Erkek tavşanlarında yapmış olduğumuz bu çalışmada farklı dozlarda uygulanan oral BPA'nın kan, testis, böbrek ve karaciğer dokularındaki etkileriyle bazı üreme hormonları ve spermatolojik parametreler üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmamızda 24 adet "Yeni Zelanda" cinsi yetişkin erkek tavşan kullanılmıştır. Toplam 14 günlük alıştırma periyodunun sonunda tavşanlar rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubuna (KONT) 1 mg/kg dozunda mısır yağı, BPA10 grubuna mısır yağı içerisinde 10 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA, BPA20 grubuna mısır yağı içerisinde 20 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA ve son olarak BPA100 grubuna mısır yağı içerisinde 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda BPA oral gavaj yardımı ile 9 hafta boyunca günlük olarak verildi. Çalışma süresince yem alımları ve vücut ağırlıkları haftalık olarak tayin edildi. Çalışma sonunda alınan kanlardan kan ve biyokimyasal parametreler, üreme hormonlarındaki değişiklikler ve oksidan-antioksidan durum incelendi. Çalışma sonunda elde edilen ejakülatlardan spermatolojik parametrelere bakıldı. 9 haftalık sürenin bitiminde her gruptan 3 tavşan rastgele seçilerek ötenazi uygulandı. Elde edilen doku örneklerinden MDA ve bazı antioksidan enzim seviyeleri ile histopatolojik incelemeler yapıldı. Ötenazi yapılmayan diğer tavşanlar 9 hafta boyunca aynı koşullarda tutularak, BPA'nın olası etkilerinin sürekliliği araştırıldı.

Çalışmamızda BPA uygulamalarının serum BPA seviyelerini doza bağlı bir şekilde artırdığı gözlemlendi. Uygulamalar sırasında tavşanlarda herhangi bir klinik semptom görülmedi. Günlük yem tüketimi, canlı ağırlık ve yaş organ ağırlıkları da BPA uygulamalarından etkilenmedi. BPA, bakmış olduğumuz tüm dokularda oksidatif stresin artmasına yol açarken, eritrosit, hemoglobin, üre, kreatinin, ALT, ALP ve AST düzeylerini de olumsuz etkiledi.

Yapmış olduğumuz çalışmada testis dokusunun BPA'dan olumsuz etkilendiği de gözlemlendi. Buna paralel olarak spermatolojik parametrelerden sperm konsantrasyonu ve progresif motilitede BPA'ya bağlı olarak düşüş gözlemlendi. Serum FSH, LH, inhibin ve östrojen seviyeleri farklı BPA dozlarından etkilenmezken, serum testosteron seviyelerinin düştüğü gözlemlendi.

Çalışmamızın son aşamasında ise ötenazi yapılmadan bekletilen tavşanlarda BPA'ya bağlı değişen parametrelerin kontrol seviyelerine döndüğü ve BPA'nın

uyguladığımız doz ve sürelerinin tavşanlarda kalıcı bir hasara yol açmadığı belirlendi.

Sonuç olarak, BPA'ya maruz kalan tavşanlarda bakılan bütün dokularda oksidatif bir hasarın varlığı belirlendi. Bu hasara paralel olarak çeşitli enzimatik parametreler bozulurken, spermatolojik parametrelerde de düşüş meydana geldi. Çalışmamızda spermatolojik parametreler için BPA'nın LOAEL dozu 10 mg/kg/gün olarak bulunurken, hematolojik ve biyokimyasal parametreler için bu doz 20 mg/kg/gün olarak tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Biyokimyasal parametreler, Hematolojik parametreler, Histopatoloji, Oksidatif stres, Spermatolojik parametreler

SUMMARY

Subacute Bisphenol A Toxicity in Male New Zealand Rabbits

Especially in the last 50 years, the use of plastics and plastic products were increased in great significance. This increase made bisphenol A (BPA), one of the main materials for plastic products, as a part of our lives. It was inevitable that the number of BPA related question paralleled with the increase in the use of BPA. The aim of this study was to investigate the possible effects of oral BPA on blood, testis, kidney and liver tissues, and some reproductive hormones and spermatological parameters in male rabbits.

In the current study, a total of 24 adult male New Zealand White rabbits was used. Following the 14 days adaptation period, the rabbits were randomly divided into 4 treatment groups. The control group (KONT) received daily 1 mg/kg corn oil, whereas, BPA10, BPA20, and BPA100 groups received 10 mg/kg, 20 mg/kg and 100 mg/kg body weights of BPA in corn oil, respectively for 9 weeks. During the experiment, feed intake and body weights were determined weekly. Blood and biochemical parameters, changes in reproductive hormones and oxidant-antioxidant status were determined from the blood samples taken at the end of the study. At the end of the experimental period, 3 rabbits from each group were randomly selected and euthanized. MDA and some antioxidant enzyme levels and histopathological examinations were performed from the tissue samples taken from the euthanized rabbits. Remaining 3 rabbits from each group kept under the same laboratory conditions for another 9 weeks to investigate whether BPA effects remained through the recovery period.

Our study indicated that BPA treatments increased serum BPA levels in a dose-dependent manner. No clinical symptoms were observed in rabbits during treatments. Daily feed consumption, live body weights, and fresh organ weights were not affected due to BPA exposures. BPA resulted in increased oxidative stress in all tissues examined. Moreover, erythrocyte, hemoglobin, urea, creatinine, ALT, ALP and AST levels were affected negatively due to BPA treatments.

In the present study, the testicular tissue was negatively affected by oral BPA treatments. Spermatological parameters such as sperm concentration and progressive motility were also decreased because of BPA exposure. While serum FSH, LH, inhibin and estrogen concentrations were not altered due to BPA, serum testosterone levels were decreased significantly in BPA treated groups.

Results from the rabbits from the recovery period indicated that most of the negative effects of BPA seen during the treatment period were transient and did not cause permanent damage in male rabbits.

As a result, BPA stimulated the oxidative damage in all of the tissues examined. Paralleled with these damages, various enzymatic parameters were changed negatively. Moreover, spermatological parameters were also affected negatively. In our study, the LOAEL doses of BPA for spermatological and hematological-biochemical parameters were 10 mg/kg/day and 20 mg/kg/day, respectively.

Key words: Biochemical parameters, Hematological parameters, Histopathology, Oxidative stress, Spermatological parameters

KAYNAKLAR

- ABID, Q.H., HASSAN, A.H. (2017). Effect of bisphenol-A- on some biochemical and hematological parameters of female rats (*rattus norvegicus*). *Albahir journal*, **6(11)**: 33–40.
- 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(1)**: 145–155.
- AHMED, W.M.S., MOSELHY, W.A., NABIL, T.M. (2015). Bisphenol A toxicity in adult male rats: Haematological, biochemical and histopathological approach. *Global Veterinaria*, **14(2)**: 228–238.
- AIKAWA, H., KOYAMA, S., MATSUDA, M., NAKAHASHI, K., AKAZOME, Y., MORI, T. (2004). Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed sperm in mice exposed neonatally to bisphenol A. *Cell and Tissue Research*, **315(1)**: 119–124.
- AKINGBEMI, B.T., SOTTAS, C.M., KOULOVA, A.I., KLINEFELTER, G.R., HARDY, M.P. (2004). Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat leydig cells. *Endocrinology*, **145(2)**: 592–603.
- AL-HIYASAT, A.S., DARMANI, H., ELBETIEHA, A.M. (2002). Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *European Journal of Oral Sciences*, **110(2)**: 163–167.
- ALONSO-MAGDALENA, P., ROPERO, A.B., SORIANO, S., GARCÍA-ARÉVALO, M., RIPOLL, C., FUENTES, E., QUESADA, I., NADAL, Á. (2012). Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **355(2)**: 201–207.
- AMIN, M.M., EBRAHIM, K., HASHEMI, M., SHOSHTARI-YEGANEH, B., RAFIEI, N., MANSOURIAN, M., KELISHADI, R. (2019). Association of exposure to bisphenol A with obesity and cardiometabolic risk factors in children and adolescents. *International Journal of Environmental Health Research*, **29(1)**: 94–106.
- AMRAOUI, W., ADJABI, N., BOUOUZA, F., BOUMENDJEL, M., TAIBI, F., BOUMENDJEL, A., ABDENNOUR, C., MESSARAH, M. (2018). Modulatory role of selenium and vitamin E, natural antioxidants, against bisphenol A-induced oxidative stress in wistar albinos rats. *Toxicological Research*, **34(3)**: 231–239.

- ANDERSEN, H.R., ANDERSSON, A.M., ARNOLD, S.F., AUTRUP, H., BARFOED, M., BERESFORD, N.A., BJERREGAARD, P., CHRISTIANSEN, L.B., GISSEL, B., HUMMEL, R., JORGENSEN, E.B., KORSGAARD, B., LE GUEVEL, R., LEFFERS, H., MCLACHLAN, J., MOLLER, A., NIELSEN, J.B., OLEA, N., OLES-KARASKO, A., PAKDEL, F., PEDERSEN, K.L., PEREZ, P., SKAKKEBOEK, N.E., SONNENSCHNEIN, C., SOTO, A.M., SUMPTER, J.P., THORPE, S.M., GRANDJEAN, P. (1999). Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environmental Health Perspectives*, **107(Suppl 1)**: 89–108.
- ANET, A., OLAKKARAN, S., KIZHAKKE PURAYIL, A., HUNASANAHALLY PUTTASWAMYGOWDA, G. (2019). Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Hazardous Materials*, **370**: 42–53.
- ASHBY, J., TINWELL, H., LEFEVRE, P.A., JOINER, R., HASEMAN, J. (2003). The effect on sperm production in adult sprague-dawley rats exposed by gavage to bisphenol A between postnatal days 91-97. *Toxicological Sciences*, **74(1)**: 129–138.
- AVCI, B., BAHADIR, 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.
- AX, R.L., DALLY, M., DIDION, B.A., LENZ, R.W., LOVE, C.C., VARNER, D.D., HAFEZ, B., BELLIN, M.E. (2000). Semen Evaluation. *Reproduction in Farm Animals*. Ed.: Hafez, E.S.E., Hafez, B. 7th Ed. Philadelphia, PE, USA: Lea and Febiger Press. Chapter 25.
- AYDOĞAN, 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.
- AYDOĞAN, M., KORKMAZ, A., BARLAS, N., KOLANKAYA, D. (2010). Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats. *Drug and Chemical Toxicology*, **33(2)**: 193–203.
- BAKKER, J., TE BIESENBECK, J.D., BOON, P.E., BOS, P., VAN BROEKHUIZEN, F.A., GEERTSMA, R., GERAETS, L., DE JONG, W., MENNES, W., PALMEN, N.G.M., PIERSMA, A., SCHUUR, G., SIJM, D., VAN DER VEN, L., VERBIST, K., WOUTERS, M., ZEILMAKER, M. (2014). Bisphenol A: Part 1. Facts and figures on human and environmental health issues and regulatory perspectives. RIVM Report 601351001.

- BALLESTEROS-GÓMEZ, A., RUBIO, S., PÉREZ-BENDITO, D. (2009). Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *Journal of Chromatography A*, **1216(3)**: 449–469.
- BEATTY, W.A. (1917). Artificial gum and process of producing the same. *United States Patent and Trademark Office*, US Patent 1225750.
- BERTOCCHI, I., OBERTO, A., LONGO, A., MELE, P., SABETTA, M., BARTOLOMUCCI, A., PALANZA, P., SPRENGEL, R., EVA, C. (2011). Regulatory functions of limbic Y1 receptors in body weight and anxiety uncovered by conditional knockout and maternal care. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108(48)**: 19395–19400.
- BETTERIDGE, D.J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, **49(2 Suppl 1)**: 3–8.
- BJÖRNSDOTTER, M.K., DE BOER, J., BALLESTEROS-GÓMEZ, A. (2017). Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*, **182**: 691–706.
- BLOOM, M.S., VOM SAAL, F.S., KIM, D., TAYLOR, J.A., LAMB, J.D., FUJIMOTO, V.Y. (2011). Serum unconjugated bisphenol A concentrations in men may influence embryo quality indicators during in vitro fertilization. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **32(2)**: 319–323.
- BOITI, C., CASTELLINI, C., THEAU-CLÉMENT, M., BESENFELDER, U., LIGUORI, L., RENIERI, T., PIZZI F. (2005). Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Science*, **13(2)**: 71–91.
- BRAUN, J.M., KALKBRENNER, A. E., CALAFAT, A.M., BERNERT, J.T., YE, X., SILVA, M.J., BARR, D.B., SATHYANARAYANA, S., LANPHEAR, B.P. (2011). Variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*, **119(1)**: 131–137.
- BREDDERMAN, P.J., FOOTE, R.H., YASSEN, A.M. (1964). An improved artificial vagina for collecting rabbit semen. *Reproduction*, **7(3)**: 401–403.
- BROBERGER, C. (2005). Brain regulation of food intake and appetite: Molecules and networks. *Journal of Internal Medicine*, **258(4)**: 301–327.
- BROTONS, J.A., OLEA-SERRANO, M.F., VILLALOBOS, M., PEDRAZA, V., OLEA, N. (1995). Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environmental Health Perspectives*, **103(6)**: 608–612.

- BUCHER, S., JALILI, P., LE GUILLOU, D., BEGRICHE, K., RONDEL, K., MARTINAIS, S., ZALCO, D., CORLU, A., ROBIN, M.-A., FROMENTY, B. (2017). Bisphenol a induces steatosis in HepaRG cells using a model of perinatal exposure. *Environmental Toxicology*, **32(3)**: 1024–1036.
- BUKOWSKA, B., KOWALSKA, S. (2004). Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicology Letters*, **152(1)**: 73–84.
- CALAFAT, A.M., YE, X., WONG, L.-Y., REIDY, J.A., NEEDHAM, L.L. (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003–2004. *Environmental Health Perspectives*, **116(1)**: 39–44.
- CALAFAT, A.M., WEUVE, J., YE, X., JIA, L.T., HU, H., RINGER, S., HUTTNER, K., HAUSER, R. (2009). Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environmental Health Perspectives*, **117(4)**: 639–644.
- CANTONWINE, D.E., HAUSER, R., MEEKER, J.D. (2013). Bisphenol A and human reproductive health. *Expert Review of Obstetrics & Gynecology*, **8(4)**: 329–335.
- CAO, X.-L., PEREZ-LOCAS, C., DUFRESNE, G., CLEMENT, G., POPOVIC, S., BERARDIN, F., DABEKA, R.W., FEELEY, M. (2011). Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **28(6)**: 791–798.
- CARLISLE, J., CHAN, D., GOLUB, M., HENKEL, S. PAINTER, P., WU, K.L. (2009). Toxicological Profile for Bisphenol A. *Integrated Risk Assessment Branch Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency*, 1–66.
- CHAPIN, R.E., ADAMS, J., BOEKELHEIDE, K., GRAY JR., L.E., HAYWARD, S.W., LEES, P.S.J., MCINTYRE, B.S., PORTIER, K.M., SCHNORR, T.M., SELEVAN, S.G., VANDENBERGH, J.G., WOSKIE, S.R. (2008). NTP-CERHR Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Bisphenol A. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, **83(3)**: 157–395.
- CHITRA, K.C., LATCHOUMYCANDANE, C., MATHUR, P.P. (2003). Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology*, **185(1–2)**: 119–127.

- CHOI, Y.J., HA, K.H., KIM, D.J. (2017). Exposure to bisphenol A is directly associated with inflammation in healthy Korean adults. *Environmental Science and Pollution Research*, **24(1)**: 284–290.
- CHOWDHURY, A.K. (1979). Dependence of testicular germ cells on hormones: A quantitative study in hypophysectomized testosterone-treated rats. *Journal of Endocrinology*, **82(3)**: 331–340.
- CHUNG, Y.H., HAN, J.H., LEE, S.B., LEE, Y.H. (2017). Inhalation toxicity of bisphenol A and its effect on estrous cycle, spatial learning, and memory in rats upon whole-body exposure. *Toxicological Research*, **33(2)**: 165–171.
- CZUB, P. (2011). Bisphenol-A. *Handbook of Engineering and Specialty Thermoplastics, Volume 3: Polyethers and Polyesters*. Ed.: Thomas, S., Visakh, P.M. Chapter 7.
- DAIDOJI, T., INOUE, H., KAT, S., YOKOTA, H. (2003). Glucuronidation and excretion of nonylphenol in perfused rat liver. *Drug Metabolism and Disposition*, **31(8)**: 993–998.
- DANISH EPA (Danish Environmental Protection Agency). (2012). Survey of bisphenol A and bisphenol-A-diglycidylether polymer. *The Danish Environmental Protection Agency Strandgade 29, 1401 Copenhagen K, Denmark*.
- DANISH EPA (Danish Environmental Protection Agency). (2014). Alternative technologies and substances to bisphenol A (BPA) in thermal paper receipts. *The Danish Environmental Protection Agency Strandgade 29, 1401 Copenhagen K, Denmark*.
- DAVIES MOREL, M.C.G. (1999). *Equine Artificial Insemination*. 1st Ed. New York, NY, USA: CAB International.
- DE ZWART, L.L., MEERMAN, J.H., COMMANDEUR, J.N., VERMEULEN, N.P. (1999). Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, **26(1–2)**: 202–226.
- DEB, P., BHAN, A., HUSSAIN, I., ANSARI, K.I., BOBZEAN, S.A., PANDITA, T.K., PERROTTI, L.I., MANDAL, S.S. (2016). Endocrine disrupting chemical, bisphenol-A, induces breast cancer associated gene HOXB9 expression in vitro and in vivo. *Gene*, **590(2)**: 234–243.
- DEEMS, R.O., EVANS, J.L., DEACON, R.W., HONER, C.M., CHU, D.T., BURKI, K., FILLERS, W.S., COHEN, D.K., YOUNG, D.A. (1994). Expression of

human GLUT4 in mice results in increased insulin action. *Diabetologia*, **37(11)**: 1097–1104.

DESDOITS-LETHIMONIER, C., LESNÉ, L., GAUDRIAULT, P., ZALKO, D., ANTIGNAC, J.P., DECEUNINCK, Y., PLATEL, C., DEJUCQ-RAINSFORD, N., MAZAUD-GUITTOT, S., JÉGOU, B. (2017). Parallel assessment of the effects of bisphenol A and several of its analogs on the adult human testis. *Human Reproduction*, **32(7)**: 1465–1473.

DING, B., KULL, B., LIU, Z., MOTTAGUI-TABAR, S., THONBERG, H., GU, H.F., BROOKES, A.J., GRUNDEMAR, L., KARLSSON, C., HAMSTEN, A., ARNER, P., OSTENSON, C.G., EFENDIC, S., MONNÉ, M., VON HEIJNE, G., ERIKSSON, P., WAHLESTEDT, C. (2005). Human neuropeptide Y signal peptide gain-of-function polymorphism is associated with increased body mass index: Possible mode of function. *Regulatory Peptides*, **127(1–3)**: 45–53.

DODDS, E.C., LAWSON, W. (1936). Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, **137**: 996–996.

DODGE, J.A., GLASEBROOK, A.L., MAGEE, D.E., PHILLIPS, D.L., SATO, M., SHORT, L.L., BRYANT, H.U. (1996). Environmental estrogens: Effects on cholesterol lowering and bone in the ovariectomized rat. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **59(2)**: 155–161.

DOERGE, D.R., TWADDLE, N.C., VANLANDINGHAM, M., FISHER, J.W. (2010). Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult sprague-dawley rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **247(2)**: 158–165.

ECB (European Chemicals Bureau). (2003). European Union Risk Assessment Report 4,4'-Isopropylidenediphenol (Bisphenol-A). Eines No: 201-245-8. Erişim:[<https://oehha.ca.gov/media/downloads/crn/eubisphenolareport325.pdf>]. Erişim Tarihi: 28.08.2018.

ECHA (European Chemicals Agency). (2015). Background document to the Opinion on the Annex XV dossier proposing restriction on 4,4'-isopropylidenediphenol (Bisphenol A; BPA). (4 Aralık 2015). Erişim: [<https://echa.europa.eu/documents/10162/d52d2c6b-2f1c-4ddf-bb44-4e3e42ea1820>]. Erişim Tarihi: 29.08.2018.

ECHA (European Chemicals Agency). (2017a). Substance Name: 4,4'-isopropylidenediphenol (Bisphenol A; BPA). (14 Aralık 2017).

ECHA (European Chemicals Agency). (2017b). Substance Evaluation Conclusion as Required by Reach Article 48 and Evaluation Report for 4,4'-Isopropylidenediphenol. (5 Mayıs 2017).

- EDELSTEIN, C.L. (2008). Biomarkers of acute kidney injury. *Advances in Chronic Kidney Disease*, **15(3)**: 222–234.
- ELSBY, R., MAGGS, J.L., ASHBY, J., PATON, D., SUMPTER, J.P., PARK, B.K. (2001). Assessment of the effects of metabolism on the estrogenic activity of xenoestrogens: a two-stage approach coupling human liver microsomes and a yeast estrogenicity assay. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **296(2)**: 329–337.
- EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1988). Bisphenol A Reference Dose for Chronic Oral Exposure (RfD) in Integrated Risk Information System (IRIS), A Toxicology Data File on the National Library of Medicine's (NLM) TOXNET System.
- ERDEN, E.S., MOTOR, S., USTUN, I., DEMIRKOSE, M., YUKSEL, R., OKUR, R., OKTAR, S., YAKAR, Y., SUNGUR, S., GOKCE, C. (2014). Investigation of Bisphenol A as an endocrine disruptor, total thiol, malondialdehyde, and C-reactive protein levels in chronic obstructive pulmonary disease. *European review for medical and pharmacological sciences*, **18(22)**: 3477–3483.
- EVA, C., SERRA, M., MELE, P., PANZICA, G., OBERTO, A. (2006). Physiology and gene regulation of the brain NPY Y1 receptor. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **27(3)**: 308–339.
- FANG, H., TONG, W., PERKINS, R., SOTO, A.M., PRECHTL, N.V., SHEEHAN, D.M. (2000). Quantitative comparisons of in vitro assays for estrogenic activities. *Environmental Health Perspectives*, **108(8)**: 723–729.
- FAWZY, E.I., EL MAKAWY, A.I., EL-BAMBY, M.M., ELHAMALAWY, H.O. (2018). Improved effect of pumpkin seed oil against the bisphenol-A adverse effects in male mice. *Toxicology Reports*, **5**: 857–863.
- FÉNÏCHEL, P., DÉCHAUX, H., HARTHE, C., GAL, J., FERRARI, P., PACINI, P., WAGNER-MAHLER, K., PUGEAT, M., BRUCKER-DAVIS, F. (2012). Unconjugated bisphenol A cord blood levels in boys with descended or undescended testes. *Human Reproduction*, **27(4)**: 983–990.
- FURUKAWA, F., NISHIKAWA, A., MITSUI, M., SATO, M., SUZUKI, J., IMAZAWA, T., TAKAHASHI, M. (1994). A 13-week subchronic toxicity study of bisphenol A in B6C3F1 mice. *Eisei Shikenjo Hokoku*, **112**: 89–96.
- GALLOWAY, T., CIPELLI, R., GURALNIK, J., FERRUCCI, L., BANDINELLI, S., CORSI, A.M., MONEY, C., MCCORMACK, P., MELZER, D. (2010). Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations:

Results from the InCHIANTI adult population study. *Environmental Health Perspectives*, **118(11)**: 1603–1608.

- GÁMEZ, J.M., PENALBA, R., CARDOSO, N., PONZO, O., CARBONE, S., PANDOLFI, M., SCACCHI, S., REYNOSO, R. (2014). Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepuberal male rats. *Journal of physiology and biochemistry*, **70(1)**: 239–246.
- GAO, X., WANG, H.-S. (2014). Impact of bisphenol A on the cardiovascular system — epidemiological and experimental evidence and molecular mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **11(8)**: 8399–8413.
- GEENS, T., ROOSENS, L., NEELS, H., COVACI, A. (2009). Assessment of human exposure to bisphenol-A, triclosan and tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere*, **76(6)**: 755–760.
- GEENS, T., GOEYENS, L., COVACI, A. (2011). Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **214(5)**: 339–347.
- GEENS, T., AERTS, D., BERTHOT, C., BOURGUIGNON, J.P., GOEYENS, L., LECOMTE, P., MAGHUIN-ROGISTER, G., PIRONNET, A.M., PUSSEMIER, L., SCIPPO, M.L., LOCO, J.V., COVACI, A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology*, **50(10)**: 3725–3740.
- GEUEKE, B. (Şubat 2014). FPF Dossier: Bisphenol A. Erişim: [https://www.foodpackagingforum.org/fpf-2016/wp-content/uploads/2015/11/FPF_Dossier01_BPA.pdf]. Erişim Tarihi: 01.06.2018.
- GIARDINA, B., MESSANA, I., SCATENA, R., CASTAGNOLA, M. (1995). The multiple functions of hemoglobin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **30(3)**: 165–196.
- GINSBERG, G., RICE, D.C. (2009). Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A? *Environmental Health Perspectives*, **117(11)**: 1639–1643.
- GOODSON, A., SUMMERFIELD, W., COOPER, I. (2002). Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Additives and Contaminants*, **19(8)**: 796–802.

- GOODSON, A., ROBIN, H., SUMMERFIELD, W., COOPER, I. (2004). Migration of bisphenol A from can coatings—effects of damage, storage conditions and heating. *Food Additives and Contaminants*, **21(10)**: 1015–1026.
- GOULD, J.C., LEONARD, L.S., MANESS, S.C., WAGNER, B.L., CONNER, K., ZACHAREWSKI, T., SAFE, S., MCDONNELL, D.P., GAIDO, K.W. (1998). Bisphenol A interacts with the estrogen receptor alpha in a distinct manner from estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **142(1–2)**: 203–214.
- HAN, X.D., TU, Z.G., GONG, Y., SHEN, S.N., WANG, X.Y., KANG, L.N., HOU, Y.Y., CHEN, J.X. (2004). The toxic effects of nonylphenol on the reproductive system of male rats. *Reproductive Toxicology*, **19(2)**: 215–221.
- HANAOKA, T., KAWAMURA, N., HARA, K., TSUGANE, S. (2002). Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidylether and mixed organic solvents. *Occupational and Environmental Medicine*, **59(9)**: 625–628.
- HANIOKA, N., NAITO, T., NARIMATSU, S. (2008). Human UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in bisphenol A glucuronidation. *Chemosphere*, **74(1)**: 33–36.
- HARTMANN, C. (2014). Human Biomonitoring of Phthalates and Bisphenol A Exposure in Austria. Doctoral thesis. Institute of Nutritional Sciences, University of Vienna, Austria.
- HEHN, R.S. (2016). NHANES data support link between handling of thermal paper receipts and increased urinary bisphenol A excretion. *Environmental Science & Technology*, **50(1)**: 397–404.
- HONG, Y.C., PARK, E.Y., PARK, M.S., KO, J.A., OH, S.Y., KIM, H., LEE, K.H., LEEM, J.H., HA, E.H. (2009). Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicology Letters*, **184(2)**: 139–144.
- HONMA, S., SUZUKI, A., BUCHANAN, D.L., KATSU, Y., WATANABE, H., IGUCHI, T. (2002). Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reproductive toxicology*, **16(2)**: 117–122.
- HUANG, Y.Q., WONG, C.K., ZHENG, J.S., BOUWMAN, H., BARRA, R., WAHLSTRÖM, B., NERETIN, L., WONG, M.H. (2012). Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, **42**: 91–99.

- HUC, L., LEMARIÉ, A., GUÉRAUD, F., HÉLIÈS-TOUSSAINT, C. (2012). Low concentrations of bisphenol A induce lipid accumulation mediated by the production of reactive oxygen species in the mitochondria of HepG2 cells. *Toxicology in Vitro*, **26(5)**: 709–717.
- ICIS CHEMICAL BUSINESS. (13.10.2008). Chemical profile: bisphenol A. Erişim: [<https://www.icis.com/resources/news/2008/10/13/9162868/chemical-profile-bisphenol-a/>]. Erişim Tarihi: 24.05.2018.
- INFOSAN (International Food Safety Authorities Network). (2009). BISPHENOL A (BPA) - Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO. INFOSAN Information Note No. 5/2009 - Bisphenol A.
- INOUE, H., YOKOTA, H., MAKINO, T., YUASA, A., KATO, S. (2001). Bisphenol A glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *Drug Metabolism and Disposition*, **29(8)**: 1084–1087.
- INUI, A. (2000). Transgenic study of energy homeostasis equation: implications and confounding influences. *FASEB Journal*, **14(14)**: 2158–2170.
- ISHIDO, M., MASUO, Y., KUNIMOTO, M., OKA, S., MORITA, M. (2004). Bisphenol A causes hyperactivity in the rat concomitantly with impairment of tyrosine hydroxylase immunoreactivity. *Journal of Neuroscience Research*, **76(3)**: 423–433.
- JAHAN, S., AIN, Q.U., ULLAH, H. (2016). Therapeutic effects of quercetin against bisphenol A induced testicular damage in male sprague dawley rats. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, **62(2)**: 114–124.
- JIN, P., WANG, X., CHANG, F., BAI, Y., LI, Y., ZHOU, R., CHEN, L. (2013). Low dose bisphenol A impairs spermatogenesis by suppressing reproductive hormone production and promoting germ cell apoptosis in adult rats. *Journal of Biomedical Research*, **27(2)**: 135–144.
- 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.
- 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.
- KANDARAKI, E., CHATZIGEORGIOU, A., LIVADAS, S., PALIOURA, E., ECONOMOU, F., KOUTSILIERIS, M., PALIMERI, S., PANIDIS, D.,

- DIAMANTI-KANDARAKIS, E. (2011). Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): Elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **96(3)**: E480–E484.
- KANG, J.-H., KITO, K., KONDO, F. (2003). Factors influencing the migration of bisphenol A from cans. *Journal of Food Protection*, **66(8)**: 1444–1447.
- KANG, J.-H., KONDO, F., KATAYAMA, Y. (2006). Human exposure to bisphenol A. *Toxicology*, **226(2–3)**: 79–89.
- KAZEMI, S., FEIZI, F., AGHAPOUR, F., JOORSARAEI, G.A., MOGHADAMNIA, A.A. (2016). Histopathology and histomorphometric investigation of bisphenol a and nonylphenol on the male rat reproductive system. *North American Journal of Medical Sciences*, **8(5)**: 215–221.
- KE, Z.-H., PAN, J.-X., JIN, L.-Y., XU, H.-Y., YU, T.-T., ULLAH, K., RAHMAN, T.U., REN, J., CHENG, Y., DONG, X.-Y., SHENG, J.-Z., HUANG, H.-F. (2016). Bisphenol A exposure may induce hepatic lipid accumulation via reprogramming the DNA methylation patterns of genes involved in lipid metabolism. *Scientific Reports*, **6**: 31331.
- KHALIL, N., EBERT, J. R., WANG, L., BELCHER, S., LEE, M., CZERWINSKI, S. A., KANNAN, K. (2014). Bisphenol A and cardiometabolic risk factors in obese children. *The Science of The Total Environment*, **470–471**: 726–732.
- KIM, K., PARK, H. (2013). Association between urinary concentrations of bisphenol A and type 2 diabetes in Korean adults: A population-based cross-sectional study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **216(4)**: 467–471.
- KOBROOB, A., PEERAPANYASUT, W., CHATTIPAKORN, N., WONGMEKIAT, O. (2018). Damaging effects of bisphenol A on the kidney and the protection by melatonin: Emerging evidences from in vivo and in vitro studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2018**: 1–15.
- 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.
- KOSAKA, Y., SINCLAIR, K.B. (1982). Bisphenol-A from phenol and acetone with an ion exchange resin catalyst-union carbide technology. *Process Economics Reviews*, 82–1.

- KUIPER, G.G., CARLSSON, B., GRANDIEN, K., ENMARK, E., HAGGBLAD, J., NILSSON, S., GUSTAFSSON, J.A. (1997). Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*, **138(3)**: 863–870.
- KUIPER, G.G., LEMMEN, J.G., CARLSSON, B., CORTON, J.C., SAFE, S.H., VAN DER SAAG, P.T., VAN DER BURG, B., GUSTAFSSON, J.A. (1998). Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, **139(10)**: 4252–4263.
- LANG, I.A., GALLOWAY, T.S., SCARLETT, A., HENLEY, W.E., DEPLEDGE, M., WALLACE, R.B., MELZER, D. (2008). Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA*, **300(11)**: 1303–1310.
- LAURENZANA, E.M., BALASUBRAMANIAN, G., WEIS, C., BLAYDES, B., NEWBOLD, R.R., DELCLOS, K.B. (2002). Effect of nonylphenol on serum testosterone levels and testicular steroidogenic enzyme activity in neonatal, pubertal, and adult rats. *Chemico-Biological Interactions*, **139(1)**: 23–41.
- LEBAS, F., COUDERT, P., DE ROCHAMBEAU, H., THÉBAULT, R.G. (1997). The Rabbit: Husbandry, Health and Production. Food And Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italy. Chapter 3.
- LI, D.K., ZHOU, Z., MIAO, M., HE, Y., QING, D., WU, T., WANG, J., WENG, X., FERBER, J., HERRINTON, L.J., ZHU, Q., GAO, E., YUAN, W. (2010). Relationship between urine bisphenol-A level and declining male sexual function. *Journal of Andrology*, **31(5)**: 500–506.
- LIAO, C., KANNAN, K. (2011). High levels of bisphenol A in paper currencies from several countries, and Implications for dermal exposure. *Environmental Science & Technology*, **45(16)**: 6761–6768.
- LIAO, C., LIU, F., GUO, Y., MOON, H.-B., NAKATA, H., WU, Q., KANNAN, K. (2012). Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environmental Science & Technology*, **46(16)**: 9138–9145.
- LIN, K., LIU, W., GAN, J. (2009). Oxidative removal of bisphenol A by manganese dioxide: Efficacy, products, and pathways. *Environmental Science & Technology*, **43(10)**: 3860–3864.
- LIU, J., YU, P., QIAN, W., LI, Y., ZHAO, J., HUAN, F., WANG, J., XIAO, H. (2013a). Perinatal bisphenol A exposure and adult glucose homeostasis: identifying critical windows of exposure. *PLoS One*, **8(5)**: e64143.

- LIU, C., DUAN, W., LI, R., XU, S., ZHANG, L., CHEN, C., HE, M., LU, Y., WU, H., PI, H., LUO, X., ZHANG, Y., ZHONG, M., YU, Z., ZHOU, Z. (2013b). Exposure to bisphenol A disrupts meiotic progression during spermatogenesis in adult rats through estrogen-like activity. *Cell Death & Disease*, **4(6)**: e676.
- MAĆCZAK, A., BUKOWSKA, B., MICHAŁOWICZ, J. (2015). Comparative study of the effect of BPA and its selected analogues on hemoglobin oxidation, morphological alterations and hemolytic changes in human erythrocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **176–177**: 62–70.
- MAHMOUDI, A., GHORBEL, H., BOUALLEGUI, Z., 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.
- MAHMOUDI, A., HADRICH, F., FEKI, I., GHORBEL, H., BOUALLAGUI, Z., MARREKCHI, R., FOURATI, H., SAYADI, S. (2018). Oleuropein and hydroxytyrosol rich extracts from olive leaves attenuate liver injury and lipid metabolism disturbance in bisphenol A-treated rats. *Food & Function*, **9(6)**: 3220–3234.
- MARKEY, C.M., MICHAELSON, C.L., VESON, E.C., SONNENSCHNEIN, C., SOTO, A.M. (2001). The mouse uterotrophic assay: A reevaluation of its validity in assessing the estrogenicity of bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*, **109(1)**: 55–60.
- MARMUGI, A., DUCHEIX, S., LASSERRE, F., POLIZZI, A., PARIS, A., PRIYMENKO, N., BERTRAND-MICHEL, J., PINEAU, T., GUILLOU, H., MARTIN, P.G., MSELLI-LAKHAL, L. (2012). Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver. *Hepatology*, **55(2)**: 395–407.
- MARMUGI, A., LASSERRE, F., BEUZELIN, D., DUCHEIX, S., HUC, L., POLIZZI, A., CHETIVAUX, M., PINEAU, T., MARTIN, P.G., GUILLOU, H., MSELLI-LAKHAL, L. (2014). Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycaemia and hypercholesterolemia in mice. *Toxicology*, **325**: 133–143.
- MASEREJIAN, N.N., SHRADER P., BROWN O.A., TRACHTENBERG F.L., SONCINI J., HAUSER R., SHENKER B.J. (2014). Dental sealants and composite restorations and longitudinal changes in immune function markers in children. *International Journal of Paediatric Dentistry*, **24(3)**: 215–225.
- MASUNO, H., KIDANI, T., SEKIYA, K., SAKAYAMA, K., SHIOSAKA, T., YAMAMOTO, H., HONDA, K. (2002). Bisphenol A in combination with

insulin can accelerate the conversion of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes. *Journal of Lipid Research*, **43(5)**: 676–684.

- MATSUMOTO, H., ADACHI, S., SUZUKI, Y. (2005). Bisphenol A in ambient air particulates responsible for the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells and its concentration changes over 6 months. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **48(4)**: 459–466.
- MATTHEWS, J.B., TWOMEY, K., ZACHAREWSKI, T.R. (2001). In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors alpha and beta. *Chemical Research in Toxicology*, **14(2)**: 149–157.
- MELZER, D., RICE, N.E., LEWIS, C., HENLEY, W.E., GALLOWAY, T.S. (2010). Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: Evidence from NHANES 2003/06. *PLoS One*, **5(1)**: e8673.
- MENDIOLA, J., JØRGENSEN, N., ANDERSSON, A.M., CALAFAT, A.M., YE, X., REDMON, J.B., DROBNIS, E.Z., WANG, C., SPARKS, A., THURSTON, S.W., LIU, F., SWAN, S.H. (2010). Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environmental Health Perspectives*, **118(9)**: 1286–1291.
- MICHAŁOWICZ, J. (2014). Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **37(2)**: 738–758.
- MIELKE, H., PARTOSCH, F., GUNDERT-REMY, U. (2011). The contribution of dermal exposure to the internal exposure of bisphenol A in man. *Toxicology Letters*, **204(2-3)**: 190–198.
- MIYAWAKI, J., SAKAYAMA, K., KATO, H., YAMAMOTO, H., MASUNO, H. (2007). Perinatal and postnatal exposure to bisphenol a increases adipose tissue mass and serum cholesterol level in mice. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, **14(5)**: 245–252.
- MOGHADDAM, H.S., SAMARGHANDIAN, S., FARKHONDEH, T. (2015). Effect of bisphenol A on blood glucose, lipid profile and oxidative stress indices in adult male mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **25(7)**: 507–513.
- MORIYAMA, K., TAGAMI, T., AKAMIZU, T., USUI, T., SAIJO, M., KANAMOTO, N., HATAYA, Y., SHIMATSU, A., KUZUYA, H., NAKAO, K. (2002). Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **87(11)**: 5185–5190.

- MURATA, M., KANG, J.-H. (2018). Bisphenol A (BPA) and cell signaling pathways. *Biotechnology Advances*, **36(1)**: 311–327.
- MURPHY, M.P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, **417(1)**: 1–13.
- NAHAR, M.S. (2014). Human Bisphenol a Biomonitoring and Biotransformation Programming in the Developing Fetus. Doctoral thesis. Toxicology, The University of Michigan, USA.
- NAHAR, M.S., LIAO, C., KANNAN, K., DOLINOY, D.C. (2013). Fetal liver bisphenol A concentrations and biotransformation gene expression reveal variable exposure and altered capacity for metabolism in humans. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **27(2)**: 116–123.
- NAHAR, M.S., LIAO, C., KANNAN, K., HARRIS, C., DOLINOY, D.C. (2015). In utero bisphenol A concentration, metabolism, and global DNA methylation across matched placenta, kidney, and liver in the human fetus. *Chemosphere*, **124**: 54–60.
- NEWBOLD, R.R., JEFFERSON, W.N., PADILLA-BANKS, E. (2007). Long-term adverse effects of neonatal exposure to bisphenol A on the murine female reproductive tract. *Reproductive toxicology*, **24(2)**: 253–258.
- NIKAIDO, Y., YOSHIZAWA, K., DANBARA, N., TSUJITA-KYUTOKU, M., YURI, T., UEHARA, N., TSUBURA, A. (2004). Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring. *Reproductive toxicology*, **18(6)**: 803–811.
- NING, G., BI, Y., WANG, T., XU, M., XU, Y., HUANG, Y., LI, M., LI, X., WANG, W., CHEN, Y., WU, Y., HOU, J., SONG, A., LIU, Y., LAI, S. (2011). Relationship of urinary bisphenol A concentration to risk for prevalent type 2 diabetes in chinese adults: a cross-sectional analysis. *Annals of Internal Medicine*, **155(6)**: 368–374.
- NISHIKAWA, M., IWANO, H., YANAGISAWA, R., KOIKE, N., INOUE, H., YOKOTA, H. (2010). Placental transfer of conjugated bisphenol A and subsequent reactivation in the rat fetus. *Environmental Health Perspectives*, **118(9)**: 1196–1203.
- O'SHAUGHNESSY, P.J. (2014). Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **29**: 55–65.

- O'SHAUGHNESSY, P.J., MONTEIRO, A., VERHOEVEN, G., DE GENDT, K., ABEL, M.H. (2010). Effect of FSH on testicular morphology and spermatogenesis in gonadotrophin-deficient hypogonadal mice lacking androgen receptors. *Reproduction*, **139(1)**: 177–184.
- OEHLMANN, J., SCHULTE-OEHLMANN, U., KLOAS, W., JAGNYTSCH, O., LUTZ, I., KUSK, K.O., WOLLENBERGER, L., SANTOS, E.M., PAULL, G.C., VAN LOOK, K.J., TYLER, C.R. (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **364(1526)**: 2047–2062.
- OLA-DAVIES, O.E., OLUKOLE, S.G. (2018). Gallic acid protects against bisphenol A-induced alterations in the cardio-renal system of wistar rats through the antioxidant defense mechanism. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **107**: 1786–1794.
- OLSÉN, L., LIND, L., LIND, P.M. (2012). Associations between circulating levels of bisphenol A and phthalate metabolites and coronary risk in the elderly. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **80**: 179–183.
- PANT, J., DESPHANDE, S.B. (2012). Acute toxicity of bisphenol A to rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **50(6)**: 425–429.
- PANTEGHINI, M., BAIS, R. (2015). Serum Enzymes. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Ed.: Burtis, C.A., Bruns, D.E. 7th Ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders. Chapter 19.
- PEERAPANYASUT, W., KOBROOB, A., PALEE, S., CHATTIPAKORN, N., WONGMEKIAT, O. (2019). Activation of sirtuin 3 and maintenance of mitochondrial integrity by N-acetylcysteine protects against bisphenol A-induced kidney and liver toxicity in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, **20(2)**: 267.
- PERETZ, J., VROOMAN, L., RICKE, W.A., HUNT, P.A., EHRLICH, S., HAUSER, R., PADMANABHAN, V., TAYLOR, H.S., SWAN, S.H., VANDEVOORT, C.A., FLAWS, J.A. (2014). Bisphenol A and reproductive health: Update of experimental and human evidence, 2007–2013. *Environmental Health Perspectives*, **122 (8)**: 775–786.
- PIVNENKO, K., LANERB, D., ASTRUPA, T.F. (2018). Dynamics of bisphenol A (BPA) and bisphenol S (BPS) in the european paper cycle: Need for concern? *Resources, Conservation & Recycling*, **133**: 278–287.
- POORMOOSAVI, S.M., NAJAFZADEHVARZI, H., BEHMANESH, M.A., AMIRGHOLAMI, R. (2018). Protective effects of asparagus officinalis extract

- against bisphenol A- induced toxicity in wistar rats. *Toxicology Reports*, **5**: 427–433.
- PREETHI, S., SANDHYA, K., LEBONAH, D.E., PRASAD, C.V., SREEDEVI, B., CHANDRASEKHAR, K., KUMARI, J.P. (2014). Toxicity of bisphenol A on humans: a review. *International Letters of Natural Sciences*, **27**: 32–46.
- QUESNOT, N., BUCHER, S., FROMENTY, B., ROBIN, M.-A. (2014). Modulation of metabolizing enzymes by bisphenol A in human and animal models. *Chemical Research in Toxicology*, **27(9)**: 1463–1473.
- RAHIMI, O., FAROKHI, F., KHOJASTEH, S.M.B., OZI, S.A. (2015). The effect of Bisphenol A on serum parameters and morphology of kidney's tissue. *Biological Forum—An International Journal*, **7(2)**: 79–90.
- RATHEE, M., MALIK, P., SINGH, J. (2012). Bisphenol A in dental sealants and its estrogen like effect. *Indian Journal of Endocrinology Metabolism*, **16(3)**: 339–342.
- RESEARCH AND MARKETS. (2018). Global Bisphenol A Market Report 2018: Analysis 2013-2017 & Forecasts 2018-2023. Erişim: [<https://www.prnewswire.com/news-releases/global-bisphenol-a-market-report-2018-analysis-2013-2017--forecasts-2018-2023-300757673.html>]. Erişim Tarihi: 28.03.2019.
- RIBEIRO, E., LADEIRA, C., VIEGAS, S. (2017). Occupational exposure to bisphenol A (BPA): A reality that still needs to be unveiled. *Toxics*, **5(3)**: 22.
- RICHTER, C.A., BIRNBAUM, L.S., FARABOLLINI, F., NEWBOLD, R.R., RUBIN, B.S., TALSNESS, C.E., VANDENBERGH, J.G., WALSER-KUNTZ, D.R., VOM SAAL, F.S. (2007). In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive toxicology*, **24(2)**: 199–224.
- ROCHESTER, J.R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive toxicology*, **42**: 132–155.
- ROUTLEDGE, E.J., WHITE, R., PARKER, M.G., SUMPTER, J.P. (2000). Differential effects of xenoestrogens on coactivator recruitment by estrogen receptor (ER) α and ER β . *Journal of Biological Chemistry*, **275(46)**: 35986–35993.
- RUBIN, B.S. (2011). Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **127(1–2)**: 27–34.

- RUDEL, R.A., CAMANN, D.E., SPENGLER, J.D., KORN, L.R., BRODY, J.G. (2003). Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental Science & Technology*, **37(20)**: 4543–4553.
- RUDEL, R.A., PEROVICH, L.J. (2009). Endocrine disrupting chemicals in indoor and outdoor air. *Atmospheric Environment*, **43(1)**: 170–181.
- RUIJTEN, D. (2018). Selective synthesis, oestrogenic activity, copolymerisation and catalytic isomerisation of bisguaiacol F (BGF) regioisomers. Master thesis. The Department of Microbial and Molecular Systems, KU Leuven, Belgium.
- RYAN, B.C., VANDENBERGH, J.G. (2006). Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. *Hormones and Behavior*, **50(1)**: 85–93.
- SAKAMOTO, H., YOKOTA, H., KIBE, R., SAYAMA, Y., YUASA, A. (2002). Excretion of bisphenol A-glucuronide into the small intestine and deconjugation in the cecum of the rat. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1573(2)**: 171–176.
- SALIAN, S., DOSHI, T., VANAGE, G. (2011). Perinatal exposure of rats to bisphenol A affects fertility of male offspring—an overview. *Reproductive Toxicology*, **31(3)**: 359–362.
- SAMOVA, S., DOCTOR, H., VERMA, R.J. (2018a). Mitigatory effects of quercetin on bisphenol A-induced oxidative stress in testis of swiss albino mice. *American Journals of Toxicology*, **3**: 1–12.
- SAMOVA, S., DOCTOR, H., VERMA, R.J. (2018b). In vitro toxicity evaluation of bisphenol a on human erythrocyte and its amelioration by quercetin. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **8(2)**: 310–315.
- SASAKI, N., OKUDA, K., KATO, T., KAKISHIMA, H., OKUMA, H., ABE, K., TACHINO, H., TUCHIDA, K., KUBONO, K. (2005). Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **16(4)**: 297–300.
- SCHAER, D.J., BUEHLER, P.W., ALAYASH, A.I., BELCHER, J.D., VERCELLOTTI, G.M. (2013). Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*, **121(8)**: 1276–1284.
- SEIDLOVÁ-WUTTKE, D., JARRY, H., CHRISTOFFEL, J., RIMOLDI, G., WUTTKE, W. (2005). Effects of bisphenol-A (BPA), dibutylphthalate (DBP),

- benzophenone-2 (BP2), procymidone (Proc), and linurone (Lin) on fat tissue, a variety of hormones and metabolic parameters: A 3 months comparison with effects of estradiol (E2) in ovariectomized (ovx) rats. *Toxicology*, **213(1–2)**: 13–24.
- SEN, S., YADAVA, N., GERSHENGORN, M. (2010). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) and catalase (CAT) enhance survival and influence differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs). *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **30(11)**: E278.
- SHARPE, R.M. (2010). Environmental/lifestyle effects on spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365(1546)**: 1697–1712.
- SIGMA-ALDRICH. (2004). Material Safety Data Sheet. Erişim: [<https://terpconnect.umd.edu/~choi/MSDS/Sigma-Aldrich/BISPHENOL%20A.pdf>]. Erişim Tarihi: 05.04.2019.
- SILVER, M.K., O'NEILL, M.S., SOWERS, M.R., PARK, S.K. (2011). Urinary bisphenol A and type-2 diabetes in U.S. adults: data from NHANES 2003-2008. *PloS One*, **6(10)**: e26868.
- SOMM, E., SCHWITZGEBEL, V.M., TOULOTTE, A., CEDERROTH, C.R., COMBESURE, C., NEF, S., AUBERT, M.L., HUPPI, P.S. (2009). Perinatal exposure to bisphenol a alters early adipogenesis in the rat. *Environmental Health Perspectives*, **117(10)**: 1549–1555.
- SONG, H., PARK, J., BUI, P.T.C., CHOI, K., GYE, M.C., HONG, Y.C., KIM, J.H., LEE, Y.J. (2017). Bisphenol A induces COX-2 through the mitogen-activated protein kinase pathway and is associated with levels of inflammation-related markers in elderly populations. *Environmental Research*, **158**: 490–498.
- STAPLES, C.A., DORN, P.B., KLECKA, G.M., O'BLOCK, S.T., HARRIS, L.R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, **36(10)**: 2149–2173.
- STASIUK, M., KIJANKA, G., KOZUBEK, A. (2009). Transformations of erythrocytes shape and its regulation. *Postepy Biochemistry*, **55(4)**: 425–433.
- SUTHAR, H., VERMA, R.J. (2014). Bisphenol A induces hepatotoxicity through oxidative stress in mice. *International Journal of Advanced Life Sciences*, **7(1)**: 11–18.

- SUTHAR, H., VERMA, R.J., PATEL, S., JASRAI, Y.T. (2014). Green tea potentially ameliorates bisphenol A-induced oxidative stress: an in vitro and in silico study. *Biochemistry Research International*, **2014**: 1–9.
- TALSNESS, C., FIALKOWSKI, O., GERICKE, C., MERKER, H.-J., CHAHOUD, I. (2000). The effects of low and high doses of bisphenol A on the reproductive system of female and male rat offspring. *Congenital Anomalies*, **40**: S94–S107.
- TAKAO, Y., LEE, H.C., KOHRA, S., ARIZONO, K. (2002). Release of Bisphenol A from Food Can Lining upon Heating. *Journal of Health Science*, **48(4)**: 331–334.
- TAKAYANAGI, S., TOKUNAGA, T., LIU, X., OKADA, H., MATSUSHIMA, A., SHIMOHIGASHI, Y. (2006). Endocrine disruptor bisphenol A strongly binds to human estrogen-related receptor γ (ERR γ) with high constitutive activity. *Toxicology Letters*, **167(2)**: 95–105.
- TARANTINO, G., VALENTINO, R., DI SOMMA, C., D'ESPOSITO, V., PASSARETTI, F., PIZZA, G., BRANCATO, V., ORIO, F., FORMISANO, P., COLAO, A., SAVASTANO, S. (2013). Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. *Clinical Endocrinology*, **78(3)**: 447–453.
- TAYLOR, J.A., VOM SAAL, F.S., WELSHONS, W.V., DRURY, B., ROTTINGHAUS, G., HUNT, P.A., TOUTAIN, P.L., LAFFONT, C.M., VANDEVOORT, C.A. (2011). Similarity of bisphenol a pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure. *Environmental Health Perspectives*, **119(4)**: 422–430.
- THAYER, K.A., DOERGE, D.R., HUNT, D., SCHURMAN, S.H., TWADDLE, N.C., CHURCHWELL, M.I., GARANTZIOTIS, S., KISSLING, G.E., EASTERLING, M.R., BUCHER, J.R., BIRNBAUM, L.S. (2015). Pharmacokinetics of bisphenol A in humans following a single oral administration. *Environment International*, **83**: 107–115.
- THOMAS, P., DONG, J. (2006). Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: A potential novel mechanism of endocrine disruption. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **102(1–5)**: 175–179.
- TINWELL, H., HASEMAN, J., LEFEVRE, P.A., WALLIS, N., ASHBY, J. (2002). Normal sexual development of two strains of rat exposed in utero to low doses of bisphenol A. *Toxicological Sciences*, **68(2)**: 339–348.

- TIWARI, D., VANAGE, G. (2017). Bisphenol an induces oxidative stress in bone marrow cells, lymphocytes, and reproductive organs of holtzman rats. *International Journal of Toxicology*, **36** (2): 142–152.
- TOHEI, A., SUDA, S., TAYA, K., HASHIMOTO, T., KOGO, H. (2001). Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Experimental biology and medicine (Maywood)*, **226**(3): 216–221.
- TOYAMA, Y., SUZUKI-TOYOTA, F., MAEKAWA, M., ITO, C., TOSHIMORI, K. (2004). Adverse effects of bisphenol A to spermiogenesis in mice and rats. *Archives of Histology and Cytology*, **67**(4): 373–381.
- TOXNET (Toxicology Data Network). (08.03.2013). Bisphenol A - National Library of Medicine HSDB Database. Erişim: [<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+80-05-7>]. Erişim Tarihi: 28.05.2018.
- TSUKIOKA, T., TERASAWA, J., SATO, S., HATAYAMA, Y., MAKINO, T., NAKAZAWA, H. (2004). Development of analytical method for determining trace amounts of BPA in urine samples and estimation of exposure to BPA. *Journal of Environmental Chemistry*, **14**(1): 57–63.
- TYL, R.W., MYERS, C.B., MARR, M.C., THOMAS, B.F., KEIMOWITZ, A.R., BRINE, D.R., VESELICA, M.M., FAIL, P.A., CHANG, T.Y., SEELY, J.C., JOINER, R.L., BUTALA, J.H., DIMOND, S.S., CAGEN, S.Z., SHIOTSUKA, R.N., STROPP, G.D., WAECHTER, J.M. (2002). Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD sprague-dawley rats. *Toxicological Sciences*, **68**(1): 121–146.
- TYL, R.W., MYERS, C.B., MARR, M.C., SLOAN, C.S., CASTILLO, N.P., VESELICA, M.M., SEELY, J.C., DIMOND, S.S., VAN MILLER, J.P., SHIOTSUKA, R.N., BEYER, D., HENTGES, S.G., WAECHTER, J.M. (2008). Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicological Sciences*, **104**(2): 362–384.
- UKKOLA, O., KESÄNIEMI, Y.A. (2007). Leu7Pro polymorphism of PreproNPY associated with an increased risk for type II diabetes in middle-aged subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, **61**(9): 1102–1105.
- ULUTAŞ, O.K., YILDIZ, N., DURMAZ, E., AHBAB, M.A., BARLAS, N., ÇOK, İ. (2011). An in vivo assessment of the genotoxic potential of bisphenol A and 4-tert-octylphenol in rats. *Archives of Toxicology*, **85**(8): 995–1001.

- VANDENBERG, L.N., HAUSER, R., MARCUS, M., OLEA, N, WELSHONS, W.V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, **24(2)**: 139–177.
- VIDELA, L.A. (2009). Oxidative stress signaling underlying liver disease and hepatoprotective mechanisms. *World Journal of Hepatology*, **1(1)**: 72–78.
- VOGEL, S.A. (2009). The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol A “Safety”. *American Journal of Public Health*, **99(Suppl 3)**: S559–S566.
- VOM SAAL, F.S., COOKE, P.S., BUCHANAN, D.L., PALANZA, P., THAYER, K.A., NAGEL, S.C, PARMIGIANI, S., WELSHONS, W.V. (1998). A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicology and Industrial Health*, **14(1-2)**: 239–260.
- VOM SAAL, F.S., HUGHES, C. (2005). An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, **113(8)**: 926–933.
- VÖLKEL, W., COLNOT, T., CSANÁDY, G. A., FILSER, J. G., DEKANT, W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology*, **15(10)**: 1281–1287.
- VÖLKEL, W., BITTNER, N., DEKANT, W. (2005). Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, **33(11)**: 1748–1757.
- WAHBY, M.M., ABDALLAH, Z.M., ABDOU, H.M., YOUSEF, M.I., NEWAIRY, A.-S.A. (2017). Mitigating potential of ginkgo biloba extract and melatonin against hepatic and nephrotoxicity induced by bisphenol A in male rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, **4(4)**: 350–357.
- WANG, T., LI, M., CHEN, B., XU, M., XU, Y., HUANG, Y., LU, J., CHEN, Y., WANG, W., LI, X., LIU, Y., BI, Y., LAI, S., NING, G. (2012). Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates with obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **97(2)**: E223–E227.
- WELSHONS, W.V., THAYER, K.A., JUDY, B.M., TAYLOR, J.A., CURRAN, E.M., VOM SAAL, F. S. (2003). Large effects from small exposures. I.

mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environmental Health Perspectives*, **111(8)**: 994–1006.

WHO (World Health Organization). (1995). Environmental Health Criteria 172. Tetrabromobisphenol A and derivatives. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.

WHO (World Health Organization). (2010). WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th Ed. World Health Organization, Geneva. Chapter 2.

WISNIEWSKI, P., ROMANO, R.M., KIZYS, M.M.L., OLIVEIRA, K.C., KASAMATSU, T., GIANNOCCO, G., CHIAMOLERA, M.I., DIAS-DA-SILVA, M.R., ROMANO, M. A. (2015). Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic–pituitary–testicular axis. *Toxicology*, **329**: 1–9.

YALCIN, E.B., KULKARNI, S.R., SLITT, A.L., KING, R. (2016). Bisphenol A sulfonation is impaired in metabolic and liver disease. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **292**: 75–84.

YANG, Y.J., HONG, Y.C., OH, S.Y., PARK, M.S., KIM, H., LEEM, J.H., HA, E.H. (2009). Bisphenol A exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women. *Environmental Research*, **109(6)**: 797–801.

YIN, L., DAI, Y., CUI, Z., JIANG X., LIU, W., HAN, F., LIN, A., CAO, J., LIU, J. (2017). The regulation of cellular apoptosis by the ROS-triggered PERK/EIF2 α /chop pathway plays a vital role in bisphenol A-induced male reproductive toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, **314**: 98–108.

YONAR, M.E., YONAR, S.M., ÇOBAN, M.Z., EROĞLU, M. (2014). Antioxidant effect of propolis against exposure to chromium in *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology*, **29(2)**: 155–164.

YOSHIHARA, S., MIZUTARE, T., MAKISHIMA, M., SUZUKI, N., FUJIMOTO, N., IGARASHI, K., OHTA, S. (2004). Potent estrogenic metabolites of bisphenol A and bisphenol B formed by rat liver S9 fraction: their structures and estrogenic potency. *Toxicological sciences: An Official Journal of The Society of Toxicology*, **78(1)**: 50–59.

ZALCO, D., JACQUES, C., DUPLAN, H., BRUEL, S., PERDU, E. (2011). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere*, **82(3)**: 424–430.

ZHANG, Y.H., CAMPBELL, S.A., KARTHIKEYAN, S. (2018). Finite element analysis of hollow out-of-plane HfO₂ microneedles for transdermal drug delivery applications. *Biomedical Microdevices*, **20(1)**: 19.

ZIELIŃSKA, M., WOJNOWSKA-BARYŁA, I., CYDZIK-KWIATKOWSKA, A. (2019). Bisphenol A Removal from Water and Wastewater. *Springer International Publishing AG, part of Springer Nature*. Chapter 1.

ZINCKE, T. (1905). Ueber die einwirkung von brom und von chlor auf phenole: substitutionsproducte, pseudobromide und pseudochloride. *Justus Liebig's Annalen Der Chemie*, **343(1)**: 75–99.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Hayrullah

Soyadı: KARABULUT

Doğum Yeri ve Tarihi: Kepsut – 1990

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Evli

E-posta: hayrullahkarabulut@hotmail.com

II- Eğitim

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Tarih</u>
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2007-2012
Doktora	Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2014-2019

Yabancı Dili: İngilizce

III- Mesleki Deneyim

<u>Yıl</u>	<u>Birim</u>	<u>Görev</u>
2013-2017	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Araştırma Görevlisi

IV- Yayınlar

KARABULUT, H., GÜLAY, M.S. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, **1(1)**: 65-76.

KARABULUT, H., GÜLAY, M.S. (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **4(1)**: 50-59.