

**ERKEK SIÇANLARDA METİL PARABEN VE PROPİL
PARABENİN BİRLİKTE ETKİSİNİN HIPOFİZ-ADRENAL
EKSENİ ÜZERİNDE İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF COMBINE EFFECTS OF
PROPYLPARABEN AND METHYLPARABEN ON
PITUITARY-ADRENAL AXIS IN MALE RATS**

Eda Nur İNKAYA

PROF. DR. Nurhayat BARLAS

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

Tanıdığım en çalışkan ve sabırlı kişiye...

dedem Hüseyin DOĞDUBAY'a

ÖZET

ERKEK SIÇANLARDA METİL PARABEN VE PROPİL PARABENİN BİRLİKTE ETKİSİNİN HİPOFİZ-ADRENAL EKSENİ ÜZERİNDE İNCELENMESİ

Eda Nur İNKAYA

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

Ocak 2020, 112 sayfa

Endokrin bozucu aktiviteye sahip olduğu bilinen propil paraben ve metil paraben, birçok farmasötik, gıda ve kozmetik üründe koruyucu olarak kullanılan kimyasallardır. Bu ürünlerde genellikle metil paraben ve propil parabenin birlikte karışım halinde kullanımı tercih edilmektedir. Bu nedenle, günlük hayatımızda endokrin bozucu etkileri olduğu bilinen parabenlere sık sık maruz kalmaktayız. Bu çalışmanın amacı, metil paraben ve propil paraben karışımının endokrin bozucu etkisini hipofiz-adrenal eksen üzerinde araştırmaktır.

Çalışmada 2 kontrol (yağ kontrol ve pozitif kontrol 50 mg/kg/gün BPA (Bisfenol A)) ve 3 doz uygulama (10, 100 ve 500 mg/kg/gün) olmak üzere 5 deney grubu tasarlanmıştır. Metil paraben ve propil paraben 1:1 oranında karıştırılarak 42 günlük erkek sıçanlara 30 gün boyunca oral gavaj yöntemi ile uygulanmıştır.

Deney sonunda kalpten elde edilen kan örneklerinden tam kan analizi, serum örneklerinden ise hormon (ACTH (adrenokortikotropik hormon), kortizol, aldosteron, androstenedion, DHT (dihidrotestosteron)) ve biyokimya analizleri (ALT (alanine aminotransferaz), AST (aspartat aminotransferaz), albumin, trigliserit, kreatinin, üre, glikoz) yapılmıştır. Histopatolojik etkiler hipofiz bezi, adrenal bezler ve toksik maddelerin metabolizmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek dokularında,

CYP11B1 (11 β Hidroksilaz) ve CYP11B2 (aldosteron sentaz) enzimlerinin immünohistokimyasal boyamaları ise adrenal dokusunda yapılmıştır. Artan kortizol ve aldosteron hormon seviyelerine paralel olarak iki enziminde BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubunda yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir.

Histopatolojik bulgularda, dokularda dejenerasyon, konjesyon ve ödem tespit edilmiş olup serum kortizol, aldosteron, adrenokortikotropik hormon ve androstenedion düzeyleri 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben, 50 mg/kg/gün BPA; serum dihidrotestosteron hormon seviyeleri 10 mg/kg/gün metil+propil paraben, 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben, 50 mg/kg/gün BPA ve serum trigliserit düzeyleri 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben; serum glikoz seviyeleri 50 mg/kg/gün BPA, 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben; serum AST değerleri 50 mg/kg/gün BPA, 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir. Serum üre seviyelerinin 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben, serum albümin değerlerinin ise tüm deney gruplarında anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. CYP11B1 ve CYP11B2 enzimlerinin incelendiği immünohistokimyasal boyamalarda sırasıyla artan kortizol ve aldosteron seviyesine bağlı olarak CYP11B1 ve CYP11B2 enzimlerin de arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar propil paraben ve metil parabenin birlikte etkisinin HPA (Hipotalamik-Hipofiz-Adrenal Eksen) ekseni hormonal aktivitesi ve incelenen karaciğer, böbrek, adrenal ve hipofiz dokuları üzerinde negatif etkiye neden olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Propil paraben, metil paraben, endokrin bozucular, erkek sıçan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF COMBINE EFFECTS OF PROPYLPARABEN AND METHYLPARABEN ON PITUITARY-ADRENAL AXIS IN MALE RATS

Eda Nur İNKAYA

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

January 2020, 112 pages

Propylparaben and methylparaben, which are generally preferred in combination, are chemicals that are used as preservatives in many pharmaceutical, food and cosmetic products. Therefore, we are frequently exposed to parabens known to have endocrine disrupting effects in our daily lives. The purpose of the study is to investigate the endocrine disrupting effect of methylparaben and propylparaben on the pituitary-adrenal axis.

In this study, 5 experimental groups were designed as 2 control groups (oil and positive control 50 mg/kg bw/day Bisphenol A) and 3 treatment groups (10, 100 and 500 mg/kg bw/day) by mixing 1:1 ratio of methylparaben and propylparaben. Doses were administered to the 42-day-old male rats by oral gavage for 30 days.

At the end of the experiment, hematologic values were analyzed in blood samples which dreved from heart and adrenocorticotrophic hormone, cortisol, aldosterone, androstenedione, dihydrotestosterone hormone levels and biochemical values (ALT, AST, albumin, triglyceride, creatinine, urea, glucose) were measured in serum samples.

Histopathological effects of pituitary, adrenal glands and liver, kidney tissues which are important in metabolism of toxic substances were investigated.

In histopathological findings, degeneration, congestion and edema were detected in the tissues. Also, serum cortisol, aldosterone, adrenocorticotrophic hormone and androstenedione levels increased in 100 mg/kg bw/day methylparaben + propylparaben and 50 mg/kg bw/day BPA, serum dihydrotestosterone hormone increased in 10 mg/kg bw/day methylparaben + propylparaben, 500 mg/kg bw/day methylparaben + propylparaben and 50 mg/kg bw/day BPA and serum triglyceride levels increased in 100 mg/kg bw/day methylparaben + propylparaben dose group, serum glucose levels increased in 50 mg/bw kg/day BPA, 100 mg/bw kg/ day methyl paraben + propyl paraben; serum AST levels increased in 50 mg/bw kg/day BPA, 10-500 mg/bw kg/day methyl paraben + propyl paraben dose groups, according to the oil control group . Also, serum urea levels decreased in 10 mg/bw kg/day methyl paraben + propyl paraben and serum albumin values decreased in all experimental groups.

In parallel with the increased cortisol and aldosteron hormone levels, it was determined that two enzyme expressions (CYP11B1 and CYP11B2) increased significantly in BPA (50 mg/bw kg/day) positive control group and 100 mg/bw kg/day methylparaben + propylparaben dose group compared to oil control group.

The results showed that the combined effect of propylparaben and methylparaben had a negative effect on HPA axis hormonal activity and also on the liver, kidney, adrenal and pituitary tissues.

Keywords: Propyl paraben, methyl paraben, endocrine disruptors, male rats

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, çalışmamda karşılaştığım her sorunda beni teşvik ederek desteğini eksik etmeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurhayat BARLAS'a bana ayırdığı zaman ve bu süreçte gösterdiği ilgi ve sabır için sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmam boyunca teorik ve pratik bilgilerini paylaşan, her sorumu sabırla cevaplayarak yardımını hiçbir zaman eksik etmeyen Araş. Gör. Dr. Elif KARACAOĞLU'na verdiği destek için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: FHD-2018-17085) teşekkürlerimi sunarım.

Tüm mesaimi birlikte harcamaktan mutluluk duyduğum Nilüfer COŞKUN'a çalışmam boyunca verdiği emek ve destek, harcadığı zaman ve arkadaşlığı için sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamda yardımını esirgemeyen Dr. Emre GÖKTEKİN ve çalışmam boyunca zaman gözetmeksizin yardımına koşarak beni yalnız bırakmayan, desteklerini eksik etmeyen arkadaşlarım, meslektaşlarım Nazlı MAYDA, Esra ÇAVUŞ, Ceren KAYI ve Ekin TOKGÖZ'e yardımları ve destekleri için teşekkürü borç bilirim.

Annem Vildan İNKAYA ve Babam Muharrem İNKAYA'ya eğitimim boyunca gösterdikleri sonsuz çaba, sevgi, saygı, güven ve destek için; motivasyon kaynağım, yol arkadaşım, kardeşim Nida Nur İNKAYA'ya dostluğu ve çalışmama verdiği destek için sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen anneannem Mükerrer DOĞDUBAY ve dedem Hüseyin DOĞDUBAY'a gösterdikleri sevgi ve fedakârlık için minnet ve şükranlarımı sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

Eda Nur İNKAYA

Ocak 2020, Ankara

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	3
TEŞEKKÜR	5
İÇİNDEKİLER.....	6
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	8
ÇİZELGELER DİZİNİ	12
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	13
1. GİRİŞ	15
2. GENEL BİLGİLER.....	16
2.1. Endokrin Sistem	16
2.2.Hipotalamik-hipofiz (pitüiter)-adrenal eksen (HPA)	16
2.3.Hipotalamus	17
2.3.1.Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)	18
2.4.Hipofiz Bezi	18
2.4.1. ACTH hormonu ve salgılanması.....	19
2.5. Adrenal Bez.....	20
2.5.1. 11 β hidroksilaz (CYP11B1) ve aldosteron sentaz (CYP11B2)	21
2.5.2. Adrenal steroidogenez.....	22
2.6. Endokrin bozucular	25
2.6.1. BPA	27
2.6.2. Parabenler.....	28
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	37
3.1. Materyal	37
3.1.1. Kimyasal malzemeler	37
3.1.2. Deney hayvanları.....	37
3.1.3. Laboratuvar koşulları	38
3.2. Yöntem	38
3.2.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması	38
3.2.2. Vücut ağırlığı, organ ve rölatif organ ağırlıkları	39
3.2.3. Besin ve su tüketimi	39
3.2.4. Hemogram analizi	39
3.2.5. Hormon ve biyokimya analizleri	39
3.2.6. Histopatolojik incelemeler	40
3.2.7. İmmünohistokimyasal boyamalar	40
3.3. İstatistiksel değerlendirmeler	41
4. SONUÇLAR	43
4.1. Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları.....	43
4.2. Besin ve Su Tüketimi	47
4.3. Hemogram Analiz Sonuçları	48
4.4. Biyokimya Analiz Sonuçları	51
4.5. Hormon Analiz Sonuçları.....	56
4.6. Histopatolojik Bulgular	60

4.6.1. Hipofiz bezine ait bulgular	60
4.6.2. Adrenal beze ait bulgular	65
4.6.3. Karaciğere ait bulgular.....	69
4.6.4. Böbreğe ait bulgular.....	73
4.7. İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları.....	77
4.7.1. 11 β Hidroksilaz (CYP11B1).....	77
4.7.2. Aldosteron sentaz (CYP11B2).....	80
5.TARTIŞMA	83
6. SONUÇ	96
7. KAYNAKLAR	98
EKLER.....	108
EK 1 – Etik Kurul İzin Belgesi	108
EK 2 - Tezden Türetilmiş Bildiriler.....	110
EK 3 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	111
ÖZGEÇMİŞ	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1. Hipotalamik-Hipofiz (Pitüiter)-Adrenal Eksen (HPA) [3].(Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.)17
- Şekil 2.2. Adrenal steridogenezin şematik gösterimi [3]. (Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.)24
- Şekil 2.3. Renin-Anjiyotensin Sisteminin şematik gösterimi [3]. (Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.).....24
- Şekil 3.1. Çalışmamızda uygulama ve analiz aşamalarının şematik gösterimi.42
- Şekil 4.1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük vücut ağırlığı ölçümleri. Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....43
- Şekil 4.2. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait başlangıç ve bitiş vücut ağırlığı ölçümleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....44
- Şekil 4.3. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait % ağırlık artışı. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. Deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).44
- Şekil 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük su tüketimi (ml). Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).47
- Şekil 4.5. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük besin tüketimi (g). Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).48
- Şekil 4.6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ALT ve AST (IU/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).53
- Şekil 4.7. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait AST/ALT oranı. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).53
- Şekil 4.8. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum albümin (g/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).54
- Şekil 4.9. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum glikoz (mg/dL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol

- grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 54
- Şekil 4.10. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kreatinin ($\mu\text{mol/L}$) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 55
- Şekil 4.11. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum trigliserit (mmol/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 55
- Şekil 4.12. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum üre (mmol/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 56
- Şekil 4.13. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ACTH (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 58
- Şekil 4.14. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kortizol (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 58
- Şekil 4.15. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum aldosteron (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 59
- Şekil 4.16. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum androstenedion (ng/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$). 59
- Şekil 4.17. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum dihidrotestosteron (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz

	grubundan, ^d 100mg/kg/gün doz grubundan, ^e 500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	60
Şekil 4.18.	Yağ kontrol grubuna ait adenohipofiz dokusunun normal görünümü, (H&E boyama, 400X).....	61
Şekil 4.19.	BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunda pituicytoma (➡), (H&E boyama, 1000X).	61
Şekil 4.20.	10 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda konjesyon (➡) ve ödem (⇨), (H&E boyama, 40X büyütme).....	62
Şekil 4.21.	100 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda adenohipofiz dokusunda kromofob hücrelerinde Crooke hiyalin halkası (➡), (H&E boyama, 400X).....	62
Şekil 4.22.	500 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda vakuolizasyon (➡), (H&E boyama, 400X).....	63
Şekil 4.23.	Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks görüntüsü, (H&E boyama, 400X).	65
Şekil 4.24.	BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait adrenal kortekste kortikal nodül (➡), (H&E boyama, 200X).	66
Şekil 4.25.	10 mg/kg/gün doz grubuna ait adrenal dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡), (H&E boyama, 400X)	66
Şekil 4.26.	100 mg/kg/gün grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon ile birlikte ödem (➡) ve hiperplazi (⇨), (H&E boyama, 400X).	67
Şekil 4.27.	500 mg/kg/gün doz grubuna ait adrenal dokuda subkapsüler bölgede ödem (➡), hiperplazi (⇨), (H&E boyama, 400X).....	67
Şekil 4.28.	Yağ kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 200X).	69
Şekil 4.29.	BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda hepatik parankimada dejenerasyon (➡), (H&E boyama, 400X).....	70
Şekil 4.30.	10mg/kg/gün grubuna ait karaciğer dokusunda kistik görünüm (➡), (H&E boyama, 200X).	70
Şekil 4.31.	100 mg/kg/gün doz grubuna ait karaciğer dokusunda sinuzodial genişleme (➡), nekrotik alan (⇨), (H&E boyama, 400X).	71
Şekil 4.32.	500 mg/kg/gün doz grubuna ait karaciğer dokusunda hücrelerde sinuzodial genişleme (➡), (H&E boyama, 200X).	71
Şekil 4.33.	Yağ kontrol grubuna ait böbrek görüntüsü, (H&E boyama, 400X).....	73

Şekil 4.34.	BPA (50 mg/kg/gün) doz grubuna ait böbrek dokusunda hiperplazi (➡), tübüler dejenerasyon (⇨), (H&E boyama, 200X).....	74
Şekil 4.35.	10 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (➡), (H&E boyama, 400X).....	74
Şekil 4.36.	100 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda bowman kapsülünde genişleme ve glomerular atrofi (➡), lümene hücre atılması (⇨), (H&E boyama, 200X).....	75
Şekil 4.37.	500 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda bowman kapsülünde genişleme (➡) ve tübüler dejenerasyon, lümene hücre atılması (⇨), (H&E boyama, 400X).....	75
Şekil 4.38.	Yağ kontrol grubuna ait CYP11B1 immünohistokimyasal boyama (400X).....	77
Şekil 4.39.	BPA (50 mg/kg/gün) uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).....	78
Şekil 4.40.	10 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).....	78
Şekil 4.41.	100 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).....	79
Şekil 4.42.	500 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).....	79
Şekil 4.43.	Yağ kontrol grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).....	80
Şekil 4.44.	BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).....	80
Şekil 4.45.	10 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).....	81
Şekil 4.46.	100 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).....	81
Şekil 4.47.	500 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Metil parabenin fizikokimyasal özellikleri.....	32
Çizelge 2.2. Propil parabenin fizikokimyasal özellikleri	33
Çizelge 4.1. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların adrenal, hipofiz, karaciğer ve böbrek dokularına ait gerçek organ ağırlıkları	45
Çizelge 4.2. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların adrenal, hipofiz, karaciğer ve böbrek dokularına ait rölatif organ ağırlıkları (g/kg).....	46
Çizelge 4.3. Kontrol ve uygulama gruplarına ait tam kan analiz sonuçları.	50
Çizelge 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait biyokimya analiz sonuçları.	52
Çizelge 4.5. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hormon analiz sonuçları.....	57
Çizelge 4.6. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hipofiz dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.....	64
Çizelge 4.7. Kontrol ve uygulama gruplarına ait adrenal bez dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.....	68
Çizelge 4.8. Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.....	72
Çizelge 4.9. Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.....	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µm	Mikrometre
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
IU	International Unit

Kısaltmalar

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ADI	Acceptable Daily Intake (Günlük Kabuledilebilir Alım Miktarı)
ALT	Alanine aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BPA	Bisfenol A
CIR	Cosmetic Ingredient Review
CYP11B1	11βHidroksilaz
CYP11B2	Aldosteron Sentaz
DHT	Dihidrotestosteron
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid (Etilendiamin tetra asetik asit)
EPA	United States Environmental Protection Agency (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı)
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
Gran#	Granülosit Miktarı

Gran%	Granülosit Yüzdesi
Hb	Kandaki Hemoglobin Miktarı
Hct	Hematokrit Değeri
HPA	Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Ekseni
Lenf#	Lenfosit miktarı
Lenf%	Lenfosit Yüzdesi
LOAEL	Lowest observed adverse effect level (Yan etki gözlenen en düşük doz)
MCH	Eritrositlerdeki Hemoglobin Miktarı
MCHC	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
MeP	Metil Paraben
Mon#	Monosit Miktarı
Mon%	Monosit Yüzdesi
MPV	Ortalama Trombosit Hacmi
NOAEL	No observed adverse effect level (Yan etki göstermeyen en düşük doz)
PDW	Trombosit Dağılım Genişliği
PrP	Propil Paraben
RBC	Eritrosit Miktarı
RDW	Eritrosit Dağılım Genişliği
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
StAR	Steroid Acute Regulatory Protein (Steroidojenik Akut Düzenleyici Protein)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
WBC	Lökosit Miktarı

1. GİRİŞ

Parabenler; ilaç, kozmetik ve gıda ürünlerinde tek tek ya da karışımlar halinde antimikrobiyal madde olarak kullanılmaktadır. Uzun bir süre parabenlerin zararsız olduğu düşünülmüştür ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla parabenlerin endokrin bozucu aktiviteye sahip olduklarına dair kuvvetli kanıtlar bulunmaktadır. Parabenlerin günlük hayatta kullanılan birçok üründe olması, insanların hemen hemen her gün bu endokrin bozuculara maruz kalmasına ve canlılarda birçok sistemde (üreme, gelişme, endokrin) meydana gelen hormonal bozukluklarla sonuçlanmıştır.

Paraben maruziyetinin etkilerinin ortaya çıkartılmasıyla birlikte bazı ülkeler paraben kullanımını sınırlandırmış veya kullanım limitleri getirmiştir. Ayrıca kamuoyunda oluşan bilinç sayesinde son yıllarda özellikle kozmetik sektöründe “parabensiz” ürünler üretilmeye başlanmıştır. Ancak paraben güvenliği üzerine yapılan bazı çalışmalar çelişkili olduğundan bu maddeler hala birçok kozmetik, gıda ve ilaç ürününde kullanılmaya devam etmektedir. Bu kapsamda parabenlerin organizma üzerindeki etkilerinin araştırılarak açığa çıkarılması büyük önem taşımaktadır.

Kimyasal ile indüklenen endokrin organ toksisitesi üzerine yapılan araştırmalarda en fazla negatif etkilenen dokuların sırasıyla adrenal bez (kortekste görülen toksisite medullaya göre daha fazladır), testis, tiroid, yumurtalık, pankreas, hipofiz ve paratiroid olarak bildirilmiştir. Ancak adrenal bez, endokrin sistemde en yaygın toksikolojik hedef organ olmasına rağmen ihmal edilmiş ve endokrin bozucular üzerine yapılan çalışmalar genellikle üreme, gelişme ve son zamanlarda tiroit üzerinde yoğunlaşmıştır [1].

Bu çalışmadaki amacımız birçok üründe karışım halinde kullanılan metil paraben ve propil parabenin endokrin bozucu aktivitesinin, vücudumuzdaki birçok organ ve doku üzerinde düzenleyici etkiye sahip olan HPA (Hipotalamik-Hipofiz (Pitüiter)-Adrenal Eksen) üzerindeki olabilecek olumsuz etkilerinin ortaya çıkarılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endokrin Sistem

Endokrin sistem, vücutta iletişimi ve düzenlemeyi sağlayan temel sistemlerden biridir. Endokrin sistem “hormon” adı verilen protein/polipeptid, steroid ya da tirozin türevi yapısındaki ürünleri sentezleyip salgılayan hücre, doku ve organlardan meydana gelmektedir. Endokrin aktiviteye sahip olan hücreler, endokrin bez olarak bilinen organların (örneğin; hipofiz, adrenal, tiroid) veya diğer dokuların içinde gruplanmış şekilde bulunmaktadır. Endokrin bez olmayan diğer organlar (örneğin; böbrek, karaciğer) endokrin aktivitesine sahip hücreler içerebilmektedir. Endokrin sistem tarafından çeşitli organlarda üretilen ve salgılanan hormonlar dolaşım sistemi aracılığıyla hedef organlara taşınarak çeşitli hücrel reaksiyonları başlatmaktadır. Dolayısıyla endokrin sistem, tüm vücuttaki hücrel fonksiyon ve metabolizma üzerinde doğrudan etkilere sahiptir [2-4]

Çalışmamızda karbonhidrat-yağ-protein metabolizması, stres, inflamasyonlara karşı direnç, sıvı-elektrolit dengesini sağlama gibi hayati açıdan önemli olan Hipotalamik-Hipofiz (Pitüiter)-Adrenal Eksen (HPA) üzerinde durulmuş ve HPA eksenini oluşturan hipotalamus, hipofiz bezi ve adrenal bez ilerleyen bölümlerde incelenmiştir [5].

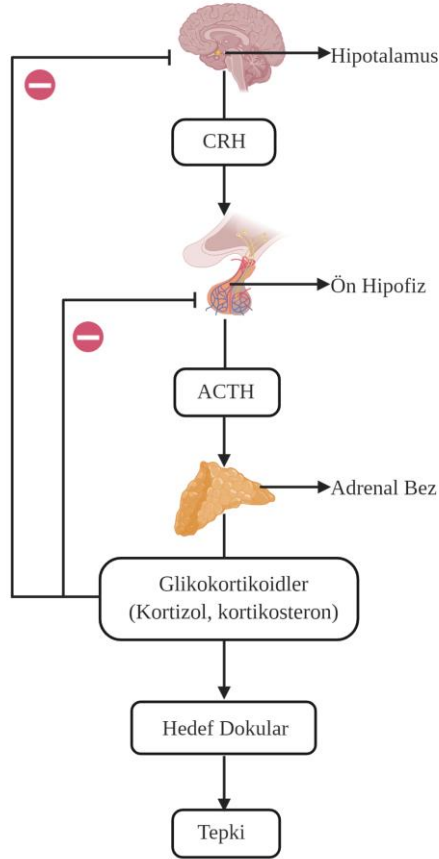
2.2.Hipotalamik-hipofiz (pitüiter)-adrenal eksen (HPA)

Hipotalamik-Hipofiz (Pitüiter)-Adrenal Eksen dolaşımdaki glukokortikoid (insanlarda kortizol ve kemirgenlerde kortikosteron) hormon seviyelerini düzenlemektedir. Glukokortikoidler, glikoz, yağ ve protein metabolizması dahil olmak üzere birçok fizyolojik fonksiyonu düzenleyen hayati hormonlardır [6].

Bu hormonlar HPA eksenini stimülasyonunun ana efektörüdür ve vücudun hemen hemen her sistemi üzerinde önemli etkilere sahiptir. HPA eksenini kontrolü, efektör organların geri bildirim mekanizmasıyla gerçekleştirilmektedir. Hipofizden salgılanan ACTH (anrenokortikotropik hormon) ve adrenalden salgılanan glukokortikoidler bu geri bildirim mekanizmasının birer parçasıdır [7].

HPA eksenini aktivitesi hipotalamusta başlamaktadır. CRH'nin hipotalamusun lateral paraventriküler çekirdeğinden (PVN) salınması, HPA eksenini aktivitesini başlatmaktadır. CRH, hipofiz bezinin kapiller ağına salgılandığında adenohipofiz bezi uyarılır ve ACTH salgılanır. ACTH adrenal bezi uyararak burada kortizol üretimini ve salgılanmasını

sağlar. Kortizol üretimi negatif geri bildirim mekanizmasıyla düzenlenmektedir. Artan kortizol seviyeleri hipotalamus ve ön hipofizi uyarak kortizol konsantrasyonunu azaltmaktadır [7, 8].



Şekil 2.1. Hipotalamik-Hipofiz (Pitüiter)-Adrenal Eksen (HPA) [3].(Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.)

2.3.Hipotalamus

Hipotalamus, vücuttaki sinirlerden ve beyinden bilgi alarak uygun endokrin uyarıları başlatır. Dolayısıyla endokrin sistem ve sinir sisteminin birlikte çalışmasında merkezi bir rol üstlenmektedir. Beynin tabanında hipofizin üzerinde bulunmaktadır. Hipofizi kontrol eden hormonlar buradan salınmaktadır [4, 9].

2.3.1.Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)

CRH, hipotalamik-hipofiz-adrenal ekseninin baskın uyarıcısıdır. CRH insan, fare ve sıçan türleri arasında yüksek oranda korunmuştur [10] ve hipotalamusta paraventricüler çekirdekte lokalize olmuştur. Hormon öncülü hipotalamik paraventricüler nükleusta üretilmektedir [9, 10].

CRH, adenohipofizden ACTH ve dolayısıyla adrenal kortizol/kortikosteron salgılanmasını 24 saatlik bir sirkadiyen ritim içerisinde yönetmektedir [10]. CRH'nin adrenal bezden glukokortikoid salgılanmasını doğrudan uyarabildiği de bilinmektedir [11].

2.4.Hipofiz Bezi

Hipofiz bezi "Pitüiter Bez" olarak da adlandırılmaktadır. Hipofiz bezi iki farklı yapıdan oluşmaktadır. Bu yapılar beyinden gelişen diensefalonun uzantısı olan infundibulum ve primitif ağız boşluğunun orofaringeal membranının ektodermal bir çıkıntısı olan Rathke kesesidir [12].

Hipofiz bezi beyin tabanındaki kemik yapısında "sella turcica" olarak bilinen oyuk içerisinde bulunmaktadır ve kendisini kontrol eden hipotalamusa hipofiz sapı ile bağlanmıştır [3].

Adenohipofiz olarak bilinen hipofizin ön lobu (anteriyör lob), gelişimin ileri evrelerinde Rathke kesesinin ön duvarındaki hücrelerin hızla çoğalmasıyla oluşmaktadır [12].

Adenohipofiz kendi içinde 3 bölüm içermektedir. Bu bölümler hipofizin en geniş kısmı olan pars distalis, infundibulumu kuşatan pars tuberalis ve Rathke kesesinin kalıntısı olan nörohipofiz ve pars distalisi ayıran pars intermediyadır [2].

Pars intermediya kemirgenlerde (fare ve sıçan) ve diğer birçok türde bulunmaktadır. Ancak insanlarda gestasyon döneminin 15. haftasından itibaren gerilemeye başladığı için yetişkin insan hipofizinde kalıntı halindedir. Bu nedenle bu bölge hipofiz gelişimi ve fonksiyonunu incelemek için sıçanlar ve farelerde çalışılmaktadır [13].

Adenohipofizdeki hücre tipleri şu şekildedir; somatotroplar ve mamatotroplar (asidofil hücreleri), gonodotrop, tirotrop, kortikotropolar (bazofiller hücreleri). Kortikotropik hücreler ACTH sentezlemektedir [2, 8].

Nörohipofiz olarak bilinen hipofizin arka lobu (posteriyör lob) ise infundibulumdan meydana gelmektedir. Nörohipofiz de kendi içinde 3 bölüm içermektedir. Bu bölümler nörohipofizin geniş kısmı olan pars nevroza, infundibulum ve hipotalamusun tabanından infundibulumu uzanan median eminenstir. Nörohipofiz salgı hücresi içermemekte, hipotalamusta sentezlenen hormonlar bu bölgeden salgılanmaktadır. Nörohipofizde pituisit (destek görevi) hücreler ve hipotalamusa ait aksonlar bulunmaktadır. Hipotalamustan salgılanan hormonlar burada depolanarak ihtiyaç duyulduğunda serbest bırakılmaktadır [2, 4, 12].

Hem adenohipofizden hem de nörohipofizden salgılanan tüm hormonlar peptit yapısındadır. Adenohipofiz hormonları; hücrelerin ve dokuların büyümesini uyarıcı büyüme hormonu (GH), tiroksin ile triiyodotironin hormon üretimi ve salgılanması için tiroit uyarıcı TSH (tiroit uyarıcı hormon), meme bezi gelişimini ve süt salgılanmasını uyarıcı prolaktin (PRL), ovaryum ve testisleri uyararak çeşitli fonksiyonların gerçekleşmesini sağlayan FSH (folikül stimüle edici hormon) ile LH (luteinleştirici hormon) ve adrenal bezi uyarıcı adrenokortikal hormonlar olarak bilinen kortizol, aldosteron ve androjenlerin üretimini ve salgılanmasını uyarıcı ACTH (adrenokortikotropik hormon)'dır [3].

Nörohipofiz hormonları ise kan basıncını ve böbreklerde su geri emilimini arttıran vazopressin (AVP) olarak da bilinen antidiüretik hormon (ADH) ve süt salgılanmasını ve uterus kasılmasını uyarıcı oksitosindir [4, 13].

Hipofiz bezinden salgılanan hormonlar hipotalamus ve hipofiz bezinden salgılanan hormonlar tarafından negatif geri bildirim mekanizması ile düzenlenmektedir [5].

1920'lerde hormonlar, kimyasal haberciler olarak kabul edildikten sonra hipofiz bezi "endokrin orkestrasının şefi" olarak adlandırılmıştır [10].

Çalışmamızda HPA eksenini incelendiğinden sadece ACTH hormonu üzerinde durulmuştur.

2.4.1. ACTH hormonu ve salgılanması

ACTH biyosentezinin mekanizması son 30 yılda tamamen aydınlatılmıştır [14]. Hipotalamustan salgılanan CRH, ACTH salgılanmasını uyarıcı birincil hormondur. Adrenal bez hormonları olan glukokortikoidler ise ACTH sekresyonunun negatif

düzenleyicileridir. İnsanlarda CRH uyarımı sonucunda önce hazırda bulunan ACTH'nın ardından yeni sentezlenen proteinlerin salgılandığı ve iki fazlı bir cevap oluştuğu düşünülmektedir [11].

Hipofiz bezinin fazla miktarda ACTH salgılaması, adrenal bezler tarafından salgılanan bir glukokortikoid olan serum kortizol/kortikosteron seviyelerinin yükselmesine neden olmaktadır. Glukokortikoidler karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması ile ilgilidir; bu nedenle aşırı kortizol/kortikosteron seviyeleri bu hücrel süreçleri etkilemektedir [5].

2.5. Adrenal Bez

Adrenal bez suprarenal bez olarak da adlandırılmaktadır. Kapsül olarak bilinen kalın bir bağ dokusu ile sarılmış olan adrenal bez iki farklı yapıdan oluşmaktadır. Bunlar; dışta korteks ve içte medulladır. Korteks ve medulla embriyonik köken ve işlev açısından farklılık göstermektedir. Adrenal korteks mezodermden, medulla ise nöral krest hücrelerinden köken almıştır. İşlevsel fark ise farklı tipte hormonları sentezleme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Steroid hormonlar adrenal korteks içinde sentezlenirken, medulla da amin yapısındaki epinefrin ve norepinefrin salgılanmaktadır [2, 3, 15].

Çoğu memelide, adrenal korteks morfolojik ve fonksiyonel olarak ayırt edilebilir üç katmana ayrılmaktadır. Kapsülün hemen altına yerleşmiş zona glomerulosa (başta aldosteron olmak üzere mineralokortikoidleri üreten bölge); ortada yer alan zona fasciculata (korteksin %70'ini dolduran ve glukokortikoidleri salgılayan bölge); ve medullanın yanındaki en iç kısım olan zona reticularis (zayıf androjenlerin salgılandığı bölge). Zona glomerulosa sadece mineralokortikoidler üretirken, glukokortikoidler ve androjen öncülleri zona fasciculata ve zona reticularis'te sentezlenmektedir [2, 15, 16].

Adrenal bezlerde, kimyasal indüklemeye kaynaklanan lezyonlar en sık zona fasciculata, ve zona reticularisde, daha az oranda ise zona glomerulosa veya medullada meydana geldiği belirtilmektedir [17].

Medullada bulunan hücreler "kromafin hücreler" olarak adlandırılmaktadır. Bu hücrelerden ketakolaminler (epinefrin ve norepinefrin) salgılanmaktadır. Bu hormonların kontrolü ise otonom sinir sistemi tarafından yapılmaktadır [2].

Kromaffin hücreleri olarak bilinen adrenal medullanın salgı hücreleri prototipik nöroendokrin hücrelerdir. Bu hücreler spesifik toksinlerin çok fazla hedefi olmaktadır. Memelilerde, kromaffin hücrelerini içeren merkezi bir adrenal medulla, adrenal korteksin steroidojenik hücreleri ile çevrilidir. Sıçan ve farelerde, kromaffin hücreleri tarafından iki ana katekolamin olan epinefrin ve norepinefrin üretilmektedir [18].

Adrenal bez, immün fonksiyon, su ve elektrolit dengesi, karbonhidrat ve protein metabolizması gibi önemli fizyolojik olayları ve bu süreçler boyunca özellikle karaciğer, böbrek, kalp, kemik ve sinirlerin doğru işlevini de etkilemektedir [16].

Yapılan çalışmalar kimyasal maddelerin, başta adrenal bezler olmak üzere sırasıyla tiroid, pankreas, hipofiz ve paratiroid bezleri etkilediğini göstermektedir. Adrenal bez düşük doz seviyelerinde ve kısa süreli olarak bazı kimyasallara maruz bırakıldığında adrenal korteks fonksiyonlarının ölümcül sonuçlara neden olabilecek şekilde değiştiği tespit edilmiştir. Adrenal kortekste gerçekleşen glikokortikoid üretiminin, bir organizmanın enfeksiyon veya yaralanma sonrası hayatta kalması için önemli fizyolojik cevapları oluşturduğu bilinmektedir. Dolayısıyla kimyasallara maruziyet sonucunda hormon üretiminde meydana gelebilecek değişiklikler hayati öneme sahiptir [1, 17]

2.5.1. 11 β hidroksilaz (CYP11B1) ve aldosteron sentaz (CYP11B2)

CYP11B1 ve CYP11B2, sitokrom P450 (CytP450) süper ailesinin üyeleridir. P450'ler, yaşamın her alanında ortaya çıkan bir enzim sınıfına aittir. Steroid hormonları gibi endojen bileşiklerin detoksifikasyon, savunma ve biyosentezi gibi birçok tür için vazgeçilmez olan çeşitli reaksiyonları katalize etmektedirler [19].

Bu proteinler hücre içinde, 2 elektron transfer proteini, adrenodoksin redüktaz (AdR) ve adrenodoksin (Adx) yoluyla NADPH'den elektronlar ile beslendikleri iç mitokondri zarında lokalize olmuşlardır [19].

Son yıllarda yapılan çalışmalar Cyp450'nin immünohistokimyasal analizinin adrenal korteks fonksiyonlarını incelemek açısından önemli olduğunu göstermiştir [20].

CYP11B1 adrenal korteksin zona fasikülata/retiküleristeki adrenokortikal hücrelerde, CYP11B2 ise kapsülün altında 4-10 hücre katmanında zona glomerulosa hücrelerinde bulunmaktadır [21, 22].

Adrenal kortekste, CYP11B1 ve CYP11B2 enzimleri sırasıyla kortizol/kortikosteron ve aldosteron hormon üretiminin son basamağını katalizleyerek 11-deoksikortizolden kortizol, kortikosterondan ise aldosteron üretimini gerçekleştirmektedirler [22, 23].

Steroid hormonların üretiminde kolesterol ile başlayan ilk basamaklar tüm steroid yapıdaki hormonlar için aynıdır. Bu basamaklar adrenal bezin her üç bölgesinde de mitokondride gerçekleştirilmektedir [21].

2.5.2. Adrenal steroidogenez

Adrenal steroidogenez, anjiyotensin II, adrenokortikotropik hormon ve diğer regülatörlerin uyarılması altında kolesterolün biyolojik olarak aktif steroid hormonlarına dönüşümünü sağlayan bir dizi enzimatik reaksiyon içeren güçlü bir prosestir [24]. Adrenal steroidogenez Şekil 2.2.'de şematik olarak gösterilmiştir.

Adrenal korteksteki steroidogenez, asetattan türetilen kolesterolün temel substrat olduğu bir dizi enzim tarafından katalize edilir ve çeşitli sitokromlar (CytP450) ve dehidrojenaz enzimlerinin sırasıyla pregnenolon, progesteron daha sonra androjenler veya glukokortikoid ve mineralokortikoid üretimini katalize etmektedir. Kolesterolde meydana gelen pregnenolon üç ana adrenal steroid grubunun da (kortizol, aldosteron, androstenedion) öncüsüdür. Toksikolojik açıdan, bu enzimlerin her biri potansiyel birer hedef olarak bilinmektedir [16, 17, 22].

Adrenal korteksten glukokortikoidlerin (insanlarda kortizol, sıçanlarda ve farelerde kortikosteron) salgılanması hipofiz hormonları tarafından kontrol edilmektedir. Adenohipofizde üretilen ve salgılanan ACTH glukokortikoidlerin üretilmesini ve salgılanmasını uyarmaktadır [16, 17, 22].

Üretilen ana glukokortikoid hormon, insanlarda kortizoldür. Glukokortikoid üretiminde sıçanın da dahil olduğu bazı kemirgenler CYP17 enzimine sahip olmadıkları için kortizol yerine kortikosteron sentezlemektedirler. Kortikosteron da kortizole benzer şekilde üretilmektedir [23, 25]. Kortizol sentezinin kontrol mekanizması Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

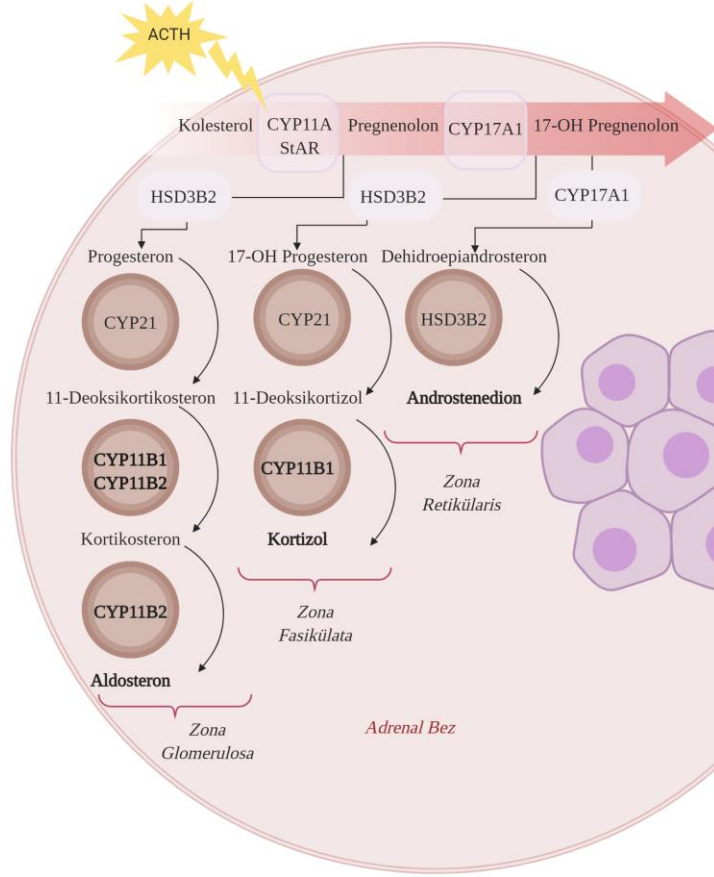
Kortizol yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasında önemli işlevlere sahiptir. Artan kortizol hormon seviyesinin glikojenezi arttırdığı, hücrelerde glikoz kullanımını azalttığı,

aminoasit mobilizasyonuna ve gıda alınımını uyararak kilo artışına neden olduğu bilinmektedir [3].

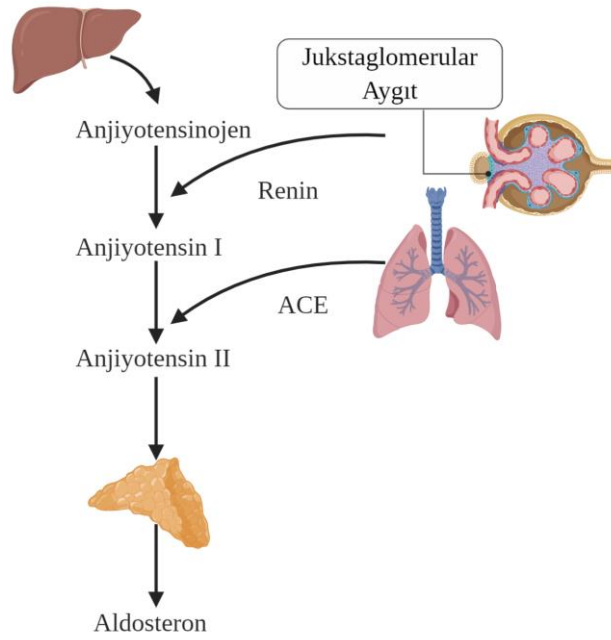
Aldosteron, tüm memelilerde sıvı ve elektrolit dengesinin korunmasında rol oynayan başlıca mineralokortikoiddir. Aldosteron sentezinin hormonal kontrolü böbrekte bulunan juxtaglomerular aparat tarafından renin salgılanması ve renin ile kontrol edilen Anjiyotensin-II tarafından sağlanmaktadır. ACTH az da olsa anjiyotensin II veya potasyum gibi diğer güçlü uyaranlar gibi zona glomerulosadan aldosteron salgılanmasını uyarmaktadır [17, 25, 26].

Memelilerde aldosteron biyosentezi sadece adrenal bezin zona glomerulosa tabakasında gerçekleşmektedir. Pregnenolon, kortizol oluşumundakilere benzer bir dizi enzimatik reaksiyonla aldosterona dönüştürülür. Aldosteron üretiminde üç sitokrom P450 enzimi ve bir hidroksisteroid dehidrojenaz enzimi rol almaktadır. Sitokrom P450 enzimleri CYP21, CYP11B1 ve CYP11B2'dir. CYP11B1 ve CYP11B2, iç mitokondriyal membrana lokalize olurken, CYP21 endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. Hidroksisteroid dehidrojenaz enzimi endoplazmik retikulumda lokalize olan tip-2 3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz (HSD3B2)'dir [27].

Aldosteron sentezinin kontrol mekanizması şematik olarak Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Adrenal steridogenezin şematik gösterimi [3]. (Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.)



Şekil 2.3. Renin-Anjiyotensin Sisteminin şematik gösterimi [3]. (Guyton ve Hall (2013)'den değiştirilmiştir.)

2.6. Endokrin bozucular

Endokrin bozucu bileşikler, EPA (ABD Çevre Koruma Ajansı) tarafından “Vücudumuzda bulunan ve homeostaz, üreme ve gelişim sürecinden sorumlu olan endokrin hormonların sentezine, salgılanmasına, taşınmasına, metabolizmasına, bağlanma yeteneğine veya ortadan kaldırılmasına müdahale eden eksojen ajanlar” olarak tanımlanmaktadır [25].

Bitkilerde bulunan fitoöstrojenler gibi bazı doğal kaynaklı maddeler ve pestisitler, fungusitler, plastikleştiriciler, endüstriyel kimyasallar gibi bazı sentetik maddeler endokrin bozucu kapsamına girmektedir [28, 29].

Endokrin bozucu kimyasalların büyük çoğunluğunu sentetik olarak üretilen kimyasallar oluşturmaktadır. Daha önceden etkileri hakkında yeterli bilgi sahibi olmadığımız bu maddeler endüstriyel faaliyetler sonucunda yoğun bir şekilde çevreye karışmaktadır [29].

Dolayısıyla insanlar endokrin bozuculara su ve gıda tüketimi, havadaki gazların, tozun ve parçacıkların solunması ve dermal yolla maruz kalabilmektedir. Ayrıca endokrin bozuculara maruz kalan anneden plesanta yoluyla fetüs, anne sütü ile de bebekler etkilenebilmektedir [30].

Su şişeleri, yiyecek ve içeceklerin paketlerinde sıklıkla kullanılan polikarbonat plastiklerin içeriğinde bulunan endüstriyel bir kimyasal olarak bilinen BPA (Bisfenol A), genellikle plastikleri daha esnek ve kırılması zor hale getirmek için kullanılan fitalatlar, plastik, kablo yalıtımı ve otomobil gibi birçok alanda alev geciktirici olarak kullanılan polibromlu difenil eterler ve parabenler endokrin bozuculara örneklerdir [30].

Endokrin bozucular; normal hormon seviyelerini değiştirerek, hormonların üretimini ve metabolizmasını inhibe veya stimüle ederek, hormonların organizmadaki hareket etme şeklini değiştirerek ya da hormonların kontrol ettiği fonksiyonlara müdahale ederek etkilerini göstermektedir. Ayrıca endokrin bozucu olarak bilinen bazı maddelerin reaktif oksijen türlerini üreterek oksidatif stresi indükledikleri de bilinmektedir. Günlük hayatta kullanılan yaklaşık 800 kimyasalın endokrin bozucu özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir [31-34].

Endokrin bozucu olarak bilinen bu kimyasallara maruziyet sonucunda kardiyovasküler problemler, diyabet, obezite, üreme anomalileri (yumurtalık ve testis problemleri), hormonal problemler, Alzheimer hastalığı, şizofreni, sinir hasarı, homeostatik

dengelesizlik gibi birçok kronik hastalığın meydana geldiği bilinmektedir. Ayrıca BPA ve pestisitler gibi endokrin bozuculara maruziyetin obezite, metabolik sendrom ve diyabet gibi hastalıkları tetiklediğine dair çalışmalar da bulunmaktadır. Nöral bozukluklar hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenini ile ilişkilendirilerek endokrin bozuculara maruziyet sonucu artan glukokortikoid hormonlarının sinir hasarı üzerinde etkili olabileceği belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada artan kortikosteron hormonunun HPA ekseninde değişikliğe neden olduğu ve sonuçta hayvanlarda şizofreniyi tetiklediği gösterilmiştir [32, 34].

İnsanlar endokrin bozuculara genellikle karışım halinde maruz kalmaktadır. Çünkü çevresel kirlenmenin tek bir maddeden kaynaklanması çok nadirdir. Farklı endokrin bozucular birbirlerine kümülatif etki gösterebilir ya da sinerjik bir etki oluşturabilmektedir. Paraben ve BPA gibi endokrin bozucu bileşiklerin karışım halinde kullanıldıklarında artan kombinasyon etkilerine neden oldukları bilinmektedir [35, 36].

Endokrin bozucu bileşiklere düşük seviyede maruz kalmak (özellikle gelişim döneminde) endokrin veya üreme anormalliklerine neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalar endokrin bozuculara düşük dozlarda maruz kalmanın, daha yüksek dozlara maruz kalmaktan daha etkili olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle endokrin bozucuların doz-cevap eğrileri genellikle sigmoid eğriden ziyade ters U veya U şeklinde olmaktadır[35].

Endokrin bozuculara maruziyetin etkileri hem bireysel hem de popülasyon düzeyinde incelenmelidir. İnsanlarda endokrin bozuculara maruz kalmanın erkek üreme sistemi üzerindeki bozukluklarla ilişkili olduğu laboratuvar ve epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak popülasyondaki bireylere bakıldığında kimi bireyler etkileri açıkça gösterirken kimileri zor farkedilen etkiler göstermekte ya da bu etkiler fenotipte ortaya çıkmaktadır. Bu farklılıkların temel sebebinin bireyin yaşamı ve genomdaki farklılıklar olduğu düşünülmektedir[28].

Endokrin bozucuların, potansiyel mekanizmalarının altında yatan etkiler çok çeşitlidir. Bu maddelere erken dönemde maruz kalma sonucu yetişkinlikte görülen işlevsel bozuklukların ortaya çıkması yaklaşık 60 seneyi bulabilmektedir [28].

Endokrin bozucuların nesiller arası etki oluşturabilmesi için germ hattında kromozomal veya epigenetik değişiklik meydana gelmesi gerekmektedir. Endokrin bozucuların erkeklerdeki infertilite gibi bazı hastalık durumlarında epigenetik olarak nesiller arası fenotipe aktarıldığı gösterilmiştir. Epigenetik etkinin en iyi bilinen örneği, DNA

dizilimini değiştirmeden hedef genlerin ekspresyonunu kalıcı olarak değiştirebilen DNA metilasyonunu içermektedir. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada gonadal cinsiyet tayin dönemindeki gebe bir sıçanın, şarap endüstrisinde fungusit olarak kullanılan ve antiandrojenik endokrin bozucu etkisi bilinen vinclozolin ile geçici maruziyeti durumunda F1 jenerasyonunun yetişkin erkek fenotipinde spermatojenik kapasitenin azalmasına (hücre sayısı ve canlılığı) ve erkeklerde infertilitenin artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu etkilerin F1'den F4 jenerasyonuna kadar incelenen erkek sıçanların neredeyse hepsine aktarıldığı belirtilmiştir [33, 37, 38].

Hayatımızın birçok alanında endokrin bozucu olarak bilinen bu kimyasallara oral, solunum veya dermal yolla kısa ya da uzun süreli maruz kalmaktayız. Bu maruziyetin sonucunda ortaya çıkabilecek etkiler çalışmamızda pozitif kontrol olarak etkisi ortaya koyulmuş olan BPA ve parabenlerden propil ve metil parabenin birlikte verildiğinde etkileri üzerinden yola çıkarak incelenmiştir.

2.6.1. BPA

BPA (Bisfenol A, 4,4'-izopropilidenedifenol) fenol reçineleri, poliakrilatlar, polyesterler, epoksi reçineleri ve polikarbonat plastiklerin içeriğinde bulunan bir monomerdır. Diş macunları, yapıştırıcılar, otomobil parçaları, gıda ambalajları ve plastik kaplarda kullanılmaktadır [31, 39].

BPA, dünya çapında üretilen en yüksek hacimli kimyasaldır. BPA'nın atmosfere her yıl yaklaşık 100 ton salınabileceği düşünölmektedir [33, 40].

İnsanların BPA'ya maruz kalmasının temel kaynakları paketlenmiş yiyecekler ve sulardır. Bununla birlikte, bebeklerin maruz kalma yolları ise anne sütü ve plastik biberon kullanımınıdır. Çünkü BPA, yiyecek ve içecek ile temas eden ürünlerden sızmaktadır. Bu nedenle BPA'ya rutin olarak maruz kalındığı düşünölmektedir [41, 42].

Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, BPA ve parabenlerin içinde bulunduğu birçok endokrin bozucu kimyasalın tekstil ürünlerindeki varlığını da göstermiştir. Çorapların BPA ve metil paraben ile propil paraben içerdıği tespit edilmiştir. Bebekler için üretilen çorapların %82'sinin farklı konsantrasyonlarda BPA içerdıği saptanmıştır. Ayrıca bazı ürünlerin içindeki BPA konsantrasyonlarının östrojenik ve anti-androjenik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bebekler için üretilen tekstil ürünlerinde bu maddelerin

kullanılmasının erken yaşta dermal yolla endokrin bozuculara maruziyetin en önemli nedenlerinden biri olarak görülmektedir [39].

Yapılan çok sayıda çalışma, fetal, neonatal yaşam boyunca ya da yetişkinlik döneminde BPA maruziyetinin toksik etkilerini ortaya koymuştur [28].

EPA tarafında BPA'nın LOEL değeri 50mg/kg/gün olarak kabul edilmekte, FDA (Food and Drug Administration) tarafından ise ADI (günlük alınabilir miktar) değeri 50 µg/kg/gün olarak kabul edilmektedir [43].

Dişi sıçanlarla yapılan bir çalışmada prepubertal dönemde BPA'nın hipofiz ovaryum eksenini etkileyerek FSH değerlerinde değişiklik gözlenmezken, LH ve östrodiol seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir [44]. Gestasyon 12-21 günleri arasında 250 µg/kg BPA'ya maruz bırakılan dişi sıçanın F1 erkek yavruları incelenmiştir. Vücut ağırlığı, sperm hareketliliği ve sayısında azalmaya, FSH (folikül stimüle edici hormon) ve östrodiol hormonlarında artışa, testosteron ve LH (luteinize edici hormon) seviyelerinde azalmaya neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca BPA'nın testiste oksidatif stresi indüklediği de belirtilmiştir In-vivo çalışmalarda BPA'nın erkek sıçan testislerinde oksidatif hasara neden olan ROS oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir [45-47].

BPA ile yapılan in-vitro ve in-vivo çalışmalara bakıldığında BPA'nın hormon seviyelerini etkilediği görülmektedir.

2.6.2. Parabenler

P-hidroksibenzoik asidin, C-4 pozisyonundaki esterleri "Paraben" olarak adlandırılmaktadır [48, 49].

Parabenler, çoğunlukla kozmetik ve eczacılıkta, aynı zamanda gıda ürünleri ve endüstriyel ürünlerde yaygın olarak kullanılan koruyucu maddelerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda paraben kombinasyonlarının bireysel paraben kullanımına göre daha aktif olduğu saptanmıştır [48, 50].

Parabenlerin popüler bir koruyucu olarak kullanılmasına katkı sağlayan birçok özelliği bulunmaktadır. Bu özellikler mayalara, küflere ve bakterilere karşı sahip oldukları geniş aktivite yelpazesi, kimyasal stabilite (geniş bir sıcaklık ve pH (4,5-7,5) aralığı), eylemsizlik, etkili konsantrasyon elde etmek için yeterli su çözünürlüğü, algılanamayan

kokulu ve tat, ürünlerin kıvamında veya renginde değişikliklere neden olmama, nispeten güvenli kullanım ve düşük üretim maliyetleridir [50].

Bazı parabenlerin bakteriler, bitkiler ve bazı gıdalarda bulunduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir. Cloudberry, sarı çarkıfelek meyve suyu, beyaz şarap, Botrytised şarap ve Bourbon vanilyasında doğal olarak metil paraben varlığı bildirilmiştir [51]. Sapindaceae ailesine ait *Stocksia brahuica* bitkisinin hava boşluklarında metil paraben ve propil paraben saptanmıştır [52]. *Andrographis paniculata* bitki numunelerinde ve *Oxalis tuberosa* bitkisinin köklerinde metil paraben varlığı saptanmıştır [53, 54]. *Microbulbifer* cinsine ait olduğu tespit edilen bir deniz bakteriyel A4B-17 suşunun 4HBA ile bütül, heptil ve nonil alkil esterlerini ürettiği tespit edilmiştir ve bunların maya, küf ve gram-pozitif bakterilerin büyümesini önlemede etkili olduğunu gösterilmiştir [55].

2.6.2.1. Parabenlerin kullanım alanları

Parabenler ilk olarak 1920'lerin ortalarında eczacılık ürünlerinde koruyucu madde olarak kullanılmıştır [56]. Fitiller, anestezikler, haplar, şuruplar, kilo alma solüsyonları, enjekte edilebilir solüsyonlar ve kontraseptifleri içeren çeşitli ilaç formülasyonlarının koruyucu olarak parabenler içerdiği bilinmektedir [48].

Kişisel bakım ürünlerinin yaklaşık %80'inde bulunan parabenler, suyun yanı sıra, kozmetiklerin en yaygın bileşeni olarak kabul edilmektedirler. Her türlü kozmetik üründe bir veya daha fazla parabenler bulunmaktadır. Parabenlerin kozmetik ürünlerinde 13.200'den fazla formülasyonda kullanıldığı bilinmektedir Parabenler şampuanlar, losyonlar, deodorantlar ve göz makyajı dahil olmak üzere çok çeşitli kozmetik ürünlerinde kullanılmaktadır. 1995 yılında yapılan bir çalışmada parabenler durulama gerektiren ürünlerin %77'sinde ve durulama gerektirmeyen kozmetiklerin %99'unda saptanmıştır [50, 56, 57]. Ayrıca p-hidroksibenzoik asidin metil, propil, etil, bütül ve isobütül esterlerinin birbiri ile belirli oranlarda karıştırılarak elde edilen çeşitli konsantrasyonları, bebekler için üretilen losyon, yağ, pudra, kolonya, temizlik bezleri ve kremlerde kullanıldığı bilinmektedir [49].

Günlük hayatımızda kullandığımız deodorant, saç spreyi gibi aerosol yapıdaki kişisel bakım ürünlerinde bulunan parabenlerin kullanım sırasında havaya karıştığı bilinmektedir. Dolayısıyla havaya karışan parabenlere solunum yolu ile de maruz kalınmaktadır. Yapılan çalışmalarda ev tozunda parabenler tespit edilmiş olup en yüksek

konsantrasyonlar metil paraben ve propil paraben için kaydedilmiştir. Ev tozunda tespit edilen paraben konsantrasyonlarının kozmetik ürünlerinin tüketimine göre değiştiği de belirtilmiştir [50].

Dolayısıyla kozmetiklerde ve ilaçlarda kullanılan parabenler bu ürünlerin kullanılmasıyla cilt, saç ve saç derisi, dudaklar, oral-oküler-vajinal mukozaya ve tırnaklara temas etmektedirler [48].

Parabenlerin gıda alanındaki kullanımı 1930'lerden sonra başlamıştır [58]. Parabenler organik asit olup, organik asitlerin etkinliği ortamın pH'sına, asidin dissosiyasyonuna ve antimikrobiyal maddenin etkisine bağlıdır. Dissosiyasyon olmamış ve lipofilik olan organik asitler hücre membranlarından kolaylıkla geçtikleri için daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları ifade edilmektedir. Ortamın pH değeri arttığında özellikle gıda zehirlenmesi yapan ve bozunmaya neden olan bakterilerin yaşadığı pH 5,5-5,8'da pek çok organik asit mikrobiyal inhibitör olarak etkin olamazken, parabenler nötral pH da dissosiyasyon olmadan kalmakta ve pH 7'ye kadar etkin bir inhibitör özellik göstermektedirler. Bu özelliklere ek olarak sahip oldukları yüksek pH değeri nedeniyle de bakteri, küf ve mayalara karşı etkilidirler. Bu nedenle parabenlerin pH 7 ve üzerindeki gıdalarda antimikrobiyal olarak kullanabilmeleri mümkün olmaktadır [58, 59]. Parabenler reçel ve marmelatlarda meyvelerin metil ve propil paraben karışım çözeltisine daldırılmasıyla ve meyve sularının korunmasında da karışım halinde kullanılmaktadırlar. Yine sucuklar, yüzeydeki küflenmenin önlenmesi amacıyla paraben çözeltisine daldırılıp çıkarılmaktadırlar [58]. Ayrıca parabenler süt ürünlerinde, fırınlanmış gıdalarda, alkollü ve alkolsüz içeceklerde, turşu, şekerleme, meyveli dolgularda, salata soslarında, margarin ve hardalda da kullanılabilirler [58, 59].

Normalde iki veya daha fazla paraben ve/veya diğer koruyucu maddelerle kombinasyon halinde kullanılırlar. p-hidroksibenzoik asidin metil, propil, etil esterleri ve bunların sodyum tuzlarına (E214-219) sınırlı miktarda gıdada sorbat veya benzoatlarla kombinasyon halinde kullanım için şartlı olarak izin verilmektedir [60].

Yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca erkek sıçanlara propil parabenin diyet uygulamasının, testis içindeki günlük sperm üretimini, 10 mg/kg/gün gibi düşük dozlarda dahi azalttığı rapor edilmiştir. Daha yüksek doz seviyelerinde, azalmış sperm hücresi, bozulmuş spermatogenez ve azalmış testosteron seviyelerinin gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bu nedenle EFSA, 10 mg/kg/gün propil paraben için LOAEL (Yan etki gözlenen en

düşük doz) olarak kabul edilmiştir. Buna karşılık, metil ve etil paraben eşey hormonları ve sıçanlarda üreme organları üzerinde 1000 mg/kg/gün dozun olumsuz bir etki göstermediği belirtilmiştir. Bu nedenle 1000 mg/kg/gün hem metil paraben hem de etil paraben için NOAEL olarak kabul edilmiştir [60].

Metil ve etil p-hidroksibenzoik asit esterlerinin toplamı için 0-10 mg/kg ADI değeri belirlenmiştir. Ancak eşey hormonları ve genç sıçanlardaki erkek üreme organları üzerine yapılan toksisite çalışmaları sonucunda propil parabenin eşey hormonları ve genç sıçanlarda erkek üreme organları üzerinde etkilere sahip olduğu raporlanmıştır. Bu çalışmalar dikkate alındığında FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından propil parabenin bu grup ADI'ye dahil edilmemesi gerektiği düşünülmüştür. Bu nedenle Propil paraben için bir ADI değeri önerilmemektedir [60, 61].

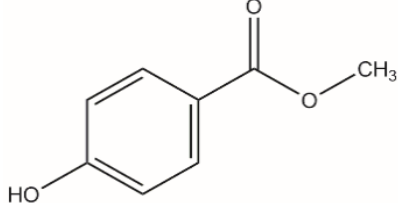
Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde metil p-hidroksibenzoat, sodyum metil p-hidroksibenzoat, etil p-hidroksibenzoat ve sodyum etil p-hidroksibenzoatın bazı şekerlemeler, süslemeler, dolgular, kaplamalar, ısıtılmış işlem görmüş olan et ürünlerinden pate, kurutulmuş et ürünlerinin yüzey uygulamaları, pişmiş, kürlenmiş veya kurutulmuş et ürünlerinin jelatin kaplamaları, su içeriği %75'in üzerinde olan sofralık tatlandırıcılar, patates, tahıl, un veya nişasta bazlı atıştırmalıklar ve kaplanmış sert kabuklu meyvelerde koruyucu katkı maddesi olarak belirli dozlarda kullanılmasına izin verilmiştir [62].

2.6.2.2.Parabenlerin fizikokimyasal özellikleri

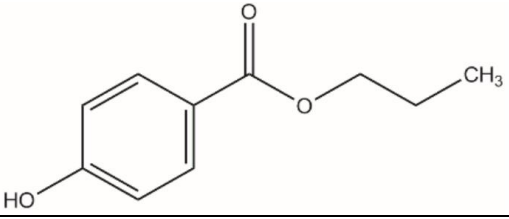
Parabenler alkol, eter, gliserin ve propilen içerisinde çözünürler. Sudaki çözünürlükleri ise ya yoktur ya da çok az miktardadır (propil paraben çözünmez, metil paraben az miktarda çözünebilir). Sahip oldukları alkil zincir uzadıkça sudaki çözünürlük azalırken antimikrobiyal aktiviteleri artmaktadır [48, 49]

Metil paraben ve propil parabenin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Metil parabenin fizikokimyasal özellikleri [48, 49, 63].

METİL PARABEN	
CAS No:	99-76-3
Kimyasal İsmi:	Metil-4 hidroksibenzoat
Kimyasal Formülü:	$C_8H_8O_3$
Moleküler Ağırlığı:	152,16
Yapısal Formülü:	
FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİK	DEĞER
Fiziksel Durumu:	Katı, beyaz
Yoğunluk:	
Erime Noktası:	131
Kaynama Noktası:	270-280
Sudaki Çözünürlük:	Az çözünür
pKa:	8,17
Log Octanol-Su Dağılım Katsayısı (log kow) (log P):	1,66
Kırılma İndisi:	1,525

Çizelge 2.2. Propil parabenin fizikokimyasal özellikleri [48, 49, 63].

PROPİL PARABEN	
CAS No:	94-13-3
Kimyasal İsmi:	Propil-4 hidroksibenzoat
Kimyasal Formülü:	C ₁₀ H ₁₂ O ₃
Moleküler Ağırlığı:	180,21
Yapısal Formülü:	
FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİK	DEĞER
Fiziksel Durumu:	Katı, beyaz
Yoğunluk:	1,063
Erime Noktası:	96-98
Kaynama Noktası:	
Suda Çözünürlüğü:	Çözünemez
pKa:	8,35
Log Octanol-Su Dağılım Katsayısı (log kow) (log P):	2,71
Kırılma İndisi:	1,505

2.6.2.3. Parabenlerin metabolizması

Oral maruziyetten sonra, parabenler bağırsak ve karaciğerdeki esterazlar tarafından metabolize edilerek idrar, safra ve dışkı ile bir miktar atılmaktadırlar. Parabenin ana metaboliti parahidroksibenzoik asit (PHBA) olup, büyük bir kısmı p-hidroksihippürik asit (PHHA- PHBA'nın glisin konjüгатı-) olarak atılmaktadır [64].

Dermal olarak uygulanan parabenler cilt tarafından alındıktan sonra esterazlar tarafından metabolize edilmektedir. Paraben hidrolizinin etkinliği, alkil zincir uzunluğuna bağlı olarak değişmektedir[64, 65].

Propil parabenin metabolizması çalışılan bir araştırmada, propil parabenin insanlarda oral alımdan sonra hızla emildiği ve sistematik olarak dağıldığı bildirilmektedir. Ayrıca propil parabenin atılmadan önce büyük çoğunluğunun metabolize olduğu ve insan vücudunda serbest formunda nadiren bulunduğu tespit edilmiştir [65].

2.6.2.4. Paraben Toksikolojisi

Evlerden ve diğer iç mekanlardan alınan toz örnekleri paraben içeriği açısından incelendiğinde önemli konsantrasyonlarda metil paraben ve propil paraben varlığı tespit edilmiştir. İç mekân tozlarının parabene kronik maruziyette önemli bir kaynak olduğu belirtilmiştir [66].

Yaygın kullanımlarından dolayı, parabenler çevrede her yerde bulunmaktadır. İnsanlardan alınan doku ve sıvı örnekleri incelendiğinde seminal plazma, yağ dokusu, anne sütü, plasenta ve kord kanında parabenler tespit edilmiştir [65]. Gebe kadınlardan alınan serum örnekleri incelendiğinde örneklerin yarısından fazlasında teşhis sınırının çok üstünde metil paraben, propil paraben bulunduğu tespit edilmiştir [67].

Parabenler orta derecede nüfuz edici olarak sınıflandırılmıştır. Parabenlerin lipofilik özellikleri ile penetasyon becerileri arasında ters orantı olduğu belirtilmiştir. Bazı parabenler için penetasyon yeteneği şu şekildedir: Metil paraben > Etil paraben > Propil paraben > Bütil Paraben. Dolayısıyla deride kullanılan ürünlerin içinde bulunan parabenlerin oluşturduğu maruziyet derecesi alkil uzunluğu ve lipofilik özelliklerine göre farklılık göstermektedir [63]. Keratinosit hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada 1 ay süresince metil paraben uygulamasının sonucunda keratinosit hücrelerinin proliferasyon yeteneğini azalttığı ve hücre morfolojisini değiştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca stratum

corneumda metil parabenin metabolize edilmeden kaldığı ve hücrelerin yaşlanmasına sebep olabileceği da bildirilmiştir [68].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda endokrin bozucuların gestasyonel diyabet ve gestasyonel diyabetin risk faktörleriyle ilişkilendirilmiştir [69].

Paraben üzerine yapılan toksikolojik çalışmalarda gebelik dönemi ve diyabet ilişkisi üzerinde durulmaktadır. Gestasyonel süreçte diyabetes mellitus tanısı koyulan gebe kadınların idrar örneklerinde paraben analizi yapılmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda etil parabenin GDM riskini attırabileceği belirtilmiştir. Gebelik döneminin ilk trimesterında serum propil paraben seviyeleri ile gebelik glikoz seviyeleri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Parabenlerin gestasyonel diyabet ve ilgili risk faktörleri üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri ile glikoz regülasyonunu etkileme kabiliyetine sahip olabileceği belirtilmektedir [69] [70].

Parabenlerin insan periferal lenfosit hücrelerindeki etkisinin incelendiği bir in-vitro çalışmada; propil paraben, isopropil paraben, bütil paraben ve isobütil parabenin yüksek genotoksik ve sitotoksik etkisi olduğu belirtilmiştir [71]. Ayrıca meme kanseri hücrelerinde (MCF7) östrojenik aktivite sergilediği ve kanserli dokuda tespit edildiği bilinmektedir. Bu hücrelerde paraben metabolizması üzerinde yapılan bir çalışmada parabenlerin, metabolizmaya uğramadığı tespit edilmiştir. MCF7 hücrelerinde paraben metabolizmasının olmaması, parabenlerin dokuda yüksek stabilitesine neden olarak ve dokuda birikimine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca çalışmada MCF7 hücrelerindeki paraben toksisitesinin parabenlerin lipofilik özellikleri ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir [72].

Yapılan bir çalışmada Zebra balıkları erken gelişim evrelerinde metil paraben ve propil parabene maruz bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde hücre döngüsü, stres cevabı, DNA hasarı, inflamasyon, yağ asidi metabolizması ve endokrin fonksiyonlar gibi birçok fizyolojik işleve sahip genlerin metil paraben ve propil parabenden olumsuz etkilendiği bildirilmiştir. Parabenlerin neden olduğu bu etkilerin oksidatif stres, DNA çift iplik kopmaları, apoptozis ve aynı zamanda yağ asidi metabolizmasını değiştirerek toksisiteye neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca androjen reseptörü ve östrojen reseptörü 2 alfa'nın ifadesinin değiştiği dolayısıyla parabenlerin zebra balıklarında da antiandrojenik ve östrojenik aktivite gösterdiği de bildirilmiştir [73].

Parabenlerin sucul mikroorganizmalar üzerinde de etkileri bulunmaktadır. Deniz kopepodu *Tigriopus japonicus*'ta metil paraben ve propil parabenin akut toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada metil paraben ve propil parabenin ortalama ölümcül konsantrasyon değerlerinin sırasıyla 29,754 ve 113 mg/L olduğu ve propil parabenin metil parabene göre daha güçlü toksisite gösterdiği belirtilmiştir [74].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal malzemeler

Çalışmamızda kullanılan Bisfenol A (CAS No:80-05-7) %99 saflıkta, metil paraben (CAS No: 99-76-3) ve propil paraben (CAS No: 94-13-3) %99 saflıkta SIGMA ALDRICH (ABD) firmasından temin edilmiştir. Hemogram testleri MELET SCHLOESING MS9-5 (Fransa) tam otomatik kan sayım cihazı kullanılarak yapılmıştır. Tam kan sayımı için kullanılacak kan örnekleri K3 EDTA'lı tüplerde toplanmıştır. Biyokimya analizleri için glikoz kiti BT LAB (Çin) firmasından; ALT (alanine aminotransferaz), AST (aspartat aminotransferaz), üre, albümin, trigliserid ve kreatinin kitleri (ELISA) Elabscience (Çin) firmasından; hormon analizleri için ACTH, kortizol, aldosteron, androstenedion ve dihidrotestosteron kitleri (ELISA) Elabscience (Çin) firmasından temin edilmiştir. Hormon ve biyokimya analizleri BIOTEK µQuant (ABD) spektrofotometre cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hormon ve biyokimya analizleri için kan örnekleri jelli vakumlu tüplerde toplanarak Eppendorf Centrifuge 5810R santirifüj cihazı kullanılarak serumlarına ayrılmıştır. Rabbit-CYP11B1 anti rat (Cat. No. BT-AP93586) ve rabbit-CYP11B2 anti rat (Cat. No. BT-AP93593) primer antikorları BT Lab (Çin) firmasından temin edilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan peroxidase detection kit (Cat. No. 36000) ve goat-anti rabbit HRP konjuge sekonder antikor (Cat. No. 65-6120) SIGMA ALDRICH (ABD) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Deney hayvanları

Bu çalışmada, propil paraben ve metil parabenin birlikte maruziyeti sonucu meydana gelebilecek etkiler, 42 günlük, ortalama 150 g ağırlığında Wistar albino (*Rattus norvegicus*) erkek sıçanlarda histopatolojik, immünohistokimyasal, hormonal ve biyokimyasal parametreler kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla sıçanlar, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan 2018 06-01 sayılı onayı ile temin edilmiştir. Tez kapsamında 30 adet Wistar albino (*Rattus norvegicus*) erkek sıçan ile çalışılmıştır. Çalışmamızda sıçanlar ağırlıkları göz önüne alınarak rastgele seçilip gruplandırılarak deneye başlanmıştır.

3.1.3. Laboratuvar koşulları

Çalışmada, boyutları 20x40x22 cm olan ızgara kapaklı, temiz, polikarbonat, otoklavlanabilir kafesler kullanılmıştır. Sıçanların laboratuvar koşullarından eşit şekilde faydalanabilmesi için kafeslerin yeri düzenli olarak değiştirilmiştir. Deney süresince foto periyod 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Nem oranı %50±5, sıcaklık 21±2 °C'de sabit tutulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması

Sıçanlar üzerinde yapılan uygulamalar prepubertal dönemi kapsamaktadır. Propil paraben ve metil paraben 10, 100 ve 500 mg/kg/gün dozlarında 1 ml mısır yağında üzülerek oral gavaj yöntemi ile sıçanlara uygulanmıştır. Uygulama her gün aynı saatte yapılarak 30 gün boyunca devam edilmiştir. 30 adet erkek sıçan ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde 5 deney grubu oluşturulmuştur. Deney hayvanları her bir gruba rastgele dağıtılmıştır.

Propil paraben ve metil paraben 1:1 oranında eşit miktarda karıştırılarak toplam doz miktarları 10 mg/kg/gün (5 mg/kg/gün metil paraben+5 mg/kg/gün propil paraben), 100 mg/kg/gün (50 mg/kg/gün metil paraben+50 mg/kg/gün propil paraben) ve 500 mg/kg/gün (250 mg/kg/gün metil paraben+250 mg/kg/gün propil paraben) olacak şekilde belirlenmiştir.

Deney grupları:

1.Grup: Yağ kontrol grubu 1ml mısır yağı

2.Grup: Pozitif kontrol grubu 50 mg/kg/gün Bisfenol A

3.Grup: Deney grubu 10 mg/kg/gün Propil paraben + Metil paraben + mısır yağı

4.Grup: Deney grubu 100 mg/kg/gün Propil paraben + Metil paraben + mısır yağı

5.Grup: Deney grubu 500 mg/kg/gün Propil paraben + Metil paraben + mısır yağı

3.2.2. Vücut ağırlığı, organ ve rölatif organ ağırlıkları

Uygulama süresince her gün deney hayvanlarının ağırlıkları kaydedilmiştir. Uygulama süresi sona erdiğinde deney hayvanları ketamin/ksilazin ile bayıltılmış ve terminal kan toplanarak öldürülen sıçanlardan hipofiz, karaciğer, adrenal bezler ve böbrekler dokulara zarar vermeden çıkartılarak tartılmıştır. Hipofiz bezinin çok küçük olması sebebiyle, dokuya zarar vermemek için ağırlık ölçümü yapılmamıştır.

3.2.3. Besin ve su tüketimi

Çalışma süresince hayvanlara içme suyu olarak günlük 100 ml çeşme suyu ve 50 g standart sıçan yemi verilmiştir. Günlük olarak yem ve su tüketimleri ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.4. Hemogram analizi

Deney hayvanları ketamin/ksilazin ile bayıldıktan sonra terminal kan alınmıştır. Toplanan kandan 1,5-2 ml hemogram analizi için K3 EDTA'lı tüplere alınmış ve bekletilmeden MELET SCHLOESING MS9-5 (Fransa) veteriner kan sayım cihazıyla hemogram analizi yapılmıştır.

Lökosit miktarı (WBC-white blood cell), eritrosit miktarı (RBC-red blood cell), monosit-granülosit-lenfosit miktarı (Mon#, Gran#, Lenf#), monosit-granülosit-lenfosit yüzdeleri (%Mon, %Gran, %Lenf), kandaki hemoglobin miktarı (Hb), eritrositlerin kan hacmine oranı olan hematokrit değeri (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV-Mean Corpuscular Volume), eritrositlerdeki hemoglobin miktarı (MCH-Mean Corpuscular Hemoglobin), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC-Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), eritrosit dağılım genişliği (RDW-Red cell Distribution Width), ortalama trombosit hacmi (MPV-Mean Platelet Volume), trombosit dağılım genişliği (PDW-Platelet Distribution Width) olarak kısaltılmıştır.

3.2.5. Hormon ve biyokimya analizleri

Deney hayvanlarından toplanan kanın 5-7 ml'si ise serumu ayırmak için jelli tüplere alınmıştır. Serumu ayırmak için tüpler +4 °C'de 3600 rpm'de 30 dakika santrifüj

edilmiştir. Elde edilen serumlar belirli miktarlarda ependorf tüplere ayrılarak -80 °C’de saklanmıştır. Daha sonra serumlar ACTH, kortisol, aldosteron, dihidrotestosteron, androstenedion, ALT, AST, üre, trigliserit, glikoz, kreatinin ELISA kitleri kullanılarak hormon ve biyokimya analizleri yapılmıştır.

3.2.6. Histopatolojik incelemeler

Deney hayvanlarından çıkartılan dokular tartıldıktan sonra bekletilmeden tespit solüsyonlarına alınmıştır. Tespit solüsyonları olarak bouin ve %10’luk nötral formol tercih edilmiştir. Bouin solüsyonu için tespit süresi 10, %10’luk nötral formol solüsyonu için tespit süresi 12 saat olarak belirlenmiştir. Tespit işleminden sonra dokular rutin preparasyon işlemlerinden (yıkama, dehidrasyon, şeffaflaştırma, infiltrasyon) geçirilmiştir. Tüm dokular parafin ile bloklanmıştır. Parafin bloklardan 4µm kalınlığında kesitler alınarak hazırlanan preparatlar genel doku boyası olan Hematoksilen & Eozin ile boyanarak Olympus BX51 (Almanya) ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Pixera Pro 150 ES programı kullanılarak fotoğraflama işlemi yapılmıştır.

3.2.7. İmmünohistokimyasal boyamalar

Deney hayvanlarından alınan tüm sol adrenal bezler immünohistokimya boyaması için %10’luk nötral formol solüsyonunda tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra dokular rutin preparasyon işlemlerinden (yıkama, dehidrasyon, şeffaflaştırma, infiltrasyon) geçirildikten sonra parafin ile bloklanmıştır. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alınmıştır. İmmünohistokimyasal boyama için Poly-lysine kaplı lamalar kullanılmıştır. Dokuların sınırları PAP-Pen ile belirtilmiştir. Antijen retrieval işlemi için PH:6 sitrat antijen retrival solüsyonu kullanılmıştır. Antijen retrival işlemi 40 dakika boyunca etüvde yapılmıştır. Endojen peroksidaz aktivitesi kit içerisindeki peroksidaz solüsyonu kullanılarak bloklanmıştır. Non spesifik boyanmaların engellenmesi için kit içerisinde bulunan universal serum kullanılmıştır. Rabbit anti rat primer antikorlar 1/10 oranında dilüe edilerek +4 C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Goat anti rabbit HRP konjuge sekonder antikor 1/50 oranında dilüe edilerek 90 dakika inkübe edilmiştir. Kromojen olarak DAB kullanılmış ve 30 dakika inkübe edilmiştir. Çekirdek boyaması hematoksilen ile yapılmış ve preperatların üzeri entellan kullanılarak kapatılmıştır.

3.3. İstatistiksel değerlendirmeler

Deney sonunda elde edilen veriler istatistiksel yazılım SPSS IBM-23 programında değerlendirilmiştir. Bağımsız ikiden çok grup karşılaştırmalarının yapılabilmesi için Levene istatistiğine göre varyansların homojen olduğu durumda ANOVA, varyansların homojen olmadığı durumda ise Welch testi kullanılmıştır. Gruplar arası farkı belirlemek için post-hoc test olarak ANOVA için Tukey, Welch için Games-Howell testleri kullanılmıştır. Ayrıca histopatolojik verilerin istatistiksel açıdan anlamlılığının değerlendirilmesi için elde edilen veriler üzerinde Fisher Exact Testi uygulanarak deney grupları yağ kontrol grubuna göre değerlendirilmiştir. Tüm istatistiksel analizlerde önem düzeyi $p \leq 0,05$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklar çizelgeler ve şekillerde aşağıdaki harflerle belirtilmiştir. (nemlilik düzeyi $p \leq 0,05$)

* yağ kontrol grubundan farklı

^a yağ kontrol grubundan farklı

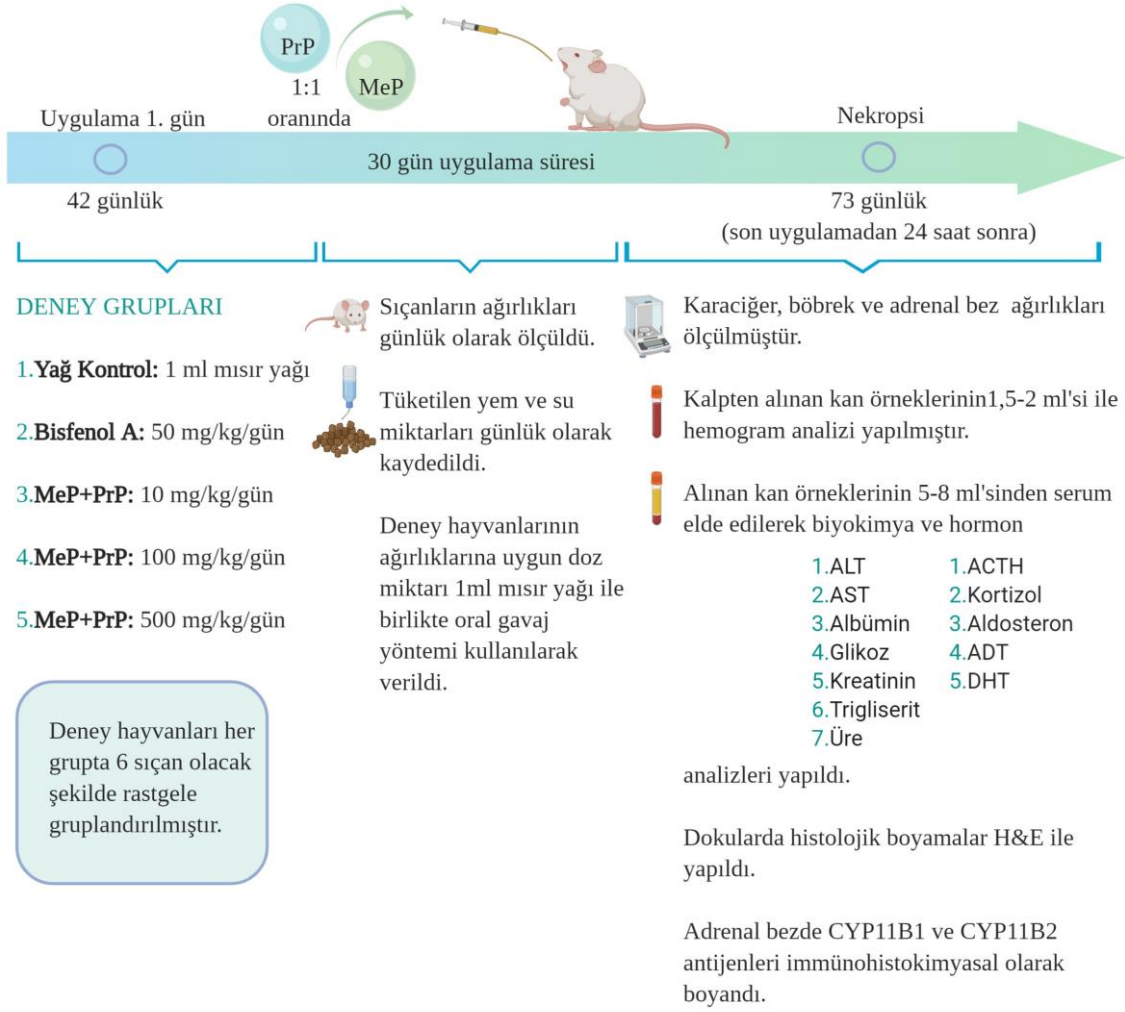
^b BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubundan farklı

^c 10mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubundan farklı

^d 100mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubundan farklı

^e 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubundan farklı

Propil paraben ve metil parabenin Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Ekseni zerindeki olumsuz etkilerinin hematolojik, biyokimyasal, hormonal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak ortaya çıkarılması amaçlanarak tasarlanan uygulama ve analiz aşamalarının şematik gösterimi şekil 3.1'de gösterilmiştir.



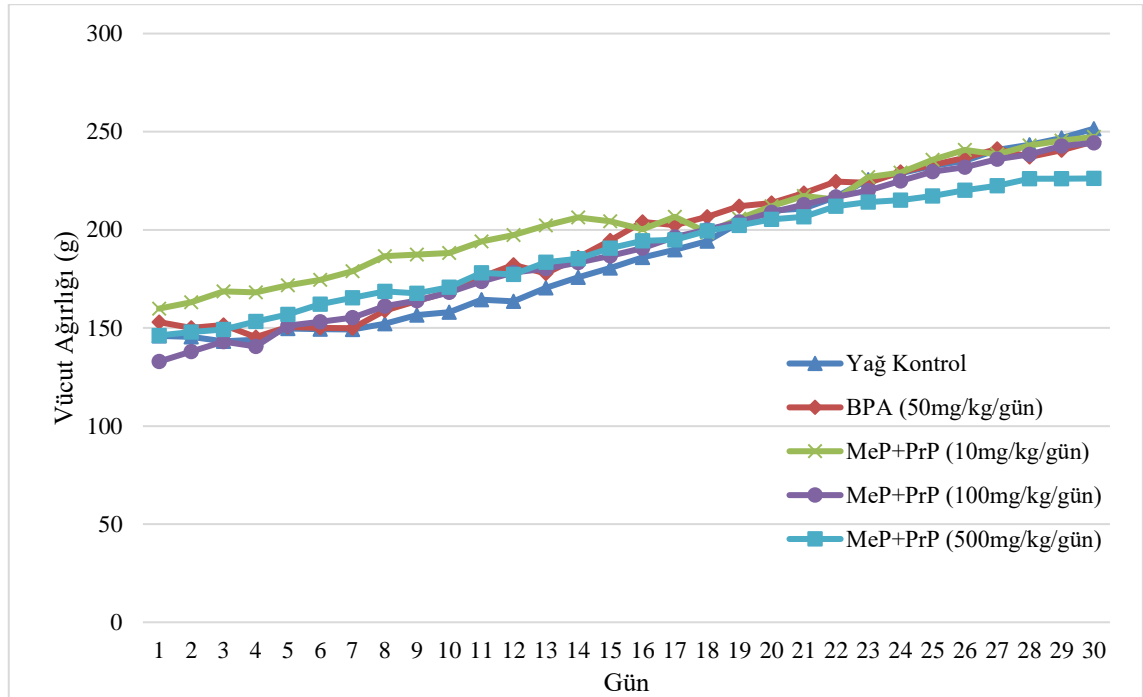
Şekil 3.1. Çalışmamızda uygulama ve analiz aşamalarının şematik gösterimi.

4. SONUÇLAR

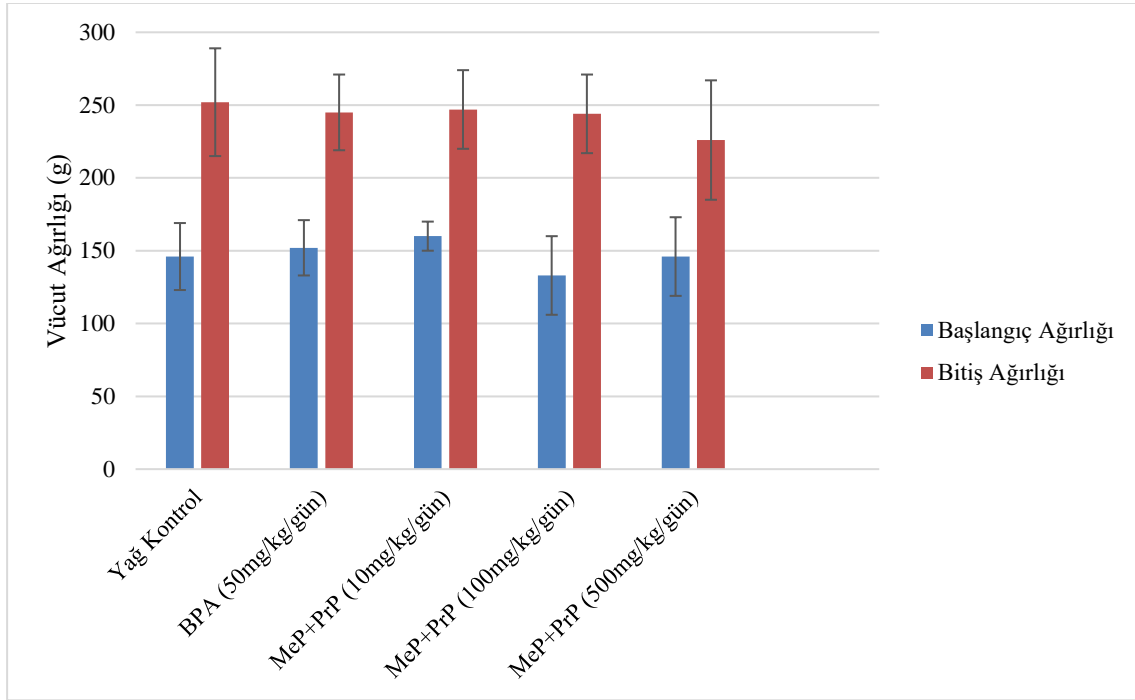
Sunulan tez çalışmasında yapılan analizler ayrı ayrı özetlenmiştir, bu kapsamda çalışmanın sonuçları 7 başlık altında şu şekilde toplanmıştır: vücut, organ ve rölatif organ ağırlıkları, besin ve su tüketimi, hemogram analizi, biyokimya analizi, hormon analizi, histopatolojik bulgular ve immünohistokimyasal bulgular.

4.1. Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları

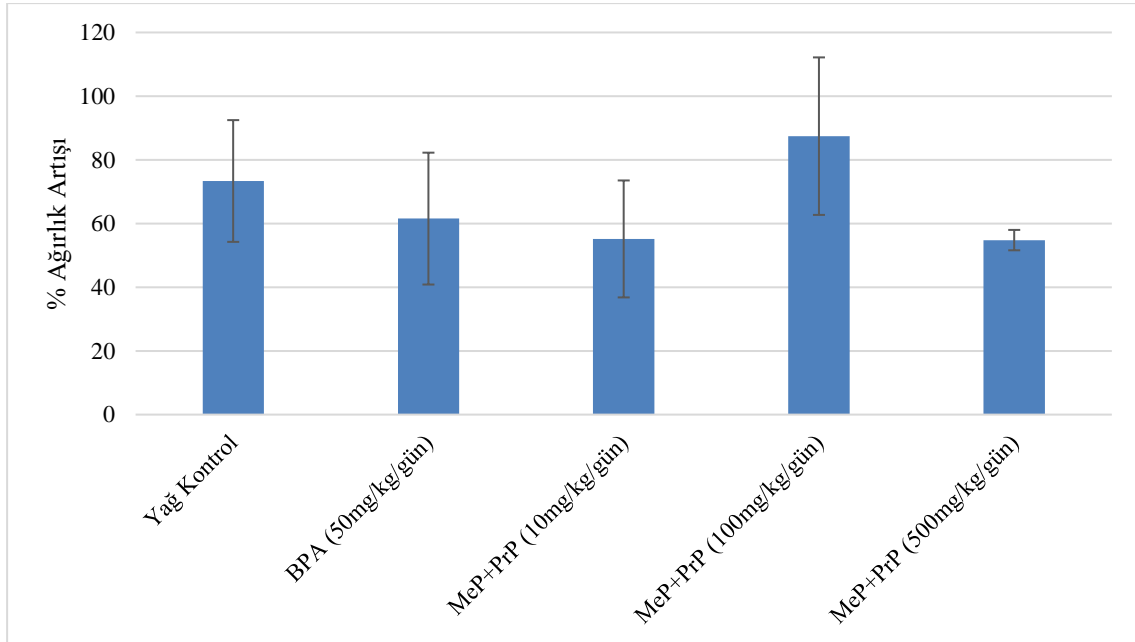
Kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük vücut ağırlıkları değişimi Şekil 4.1.'de, başlangıç ve bitiş ağırlıkları Şekil 4.2.'de, % ağırlık artışı Şekil 4.3.'de, adrenal bez, karaciğer ve böbreklere ait organ ve rölatif organ ağırlıkları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir. Vücut ağırlığı ve organ-rölatif organ ağırlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.



Şekil 4.1. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük vücut ağırlığı ölçümleri. Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.2. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait başlangıç ve bitiş vücut ağırlığı ölçümleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.3. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait % ağırlık artışı. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

Çizelge 4.1. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların adrenal, hipofiz, karaciğer ve böbrek dokularına ait gerçek organ ağırlıkları (g).

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Sağ Adrenal	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Sol Adrenal	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Sağ Böbrek	0,98 ± 0,21	0,92 ± 0,09	0,96 ± 0,17	1,02 ± 0,11	0,94 ± 0,24
Sol Böbrek	0,98 ± 0,23	0,87 ± 0,06	0,95 ± 0,16	1,02 ± 0,10	0,87 ± 0,16
Karaciğer	10,23 ± 2,21	9,8 ± 1,47	9,88 ± 2,10	10,42 ± 1,60	9,23 ± 1,87

Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

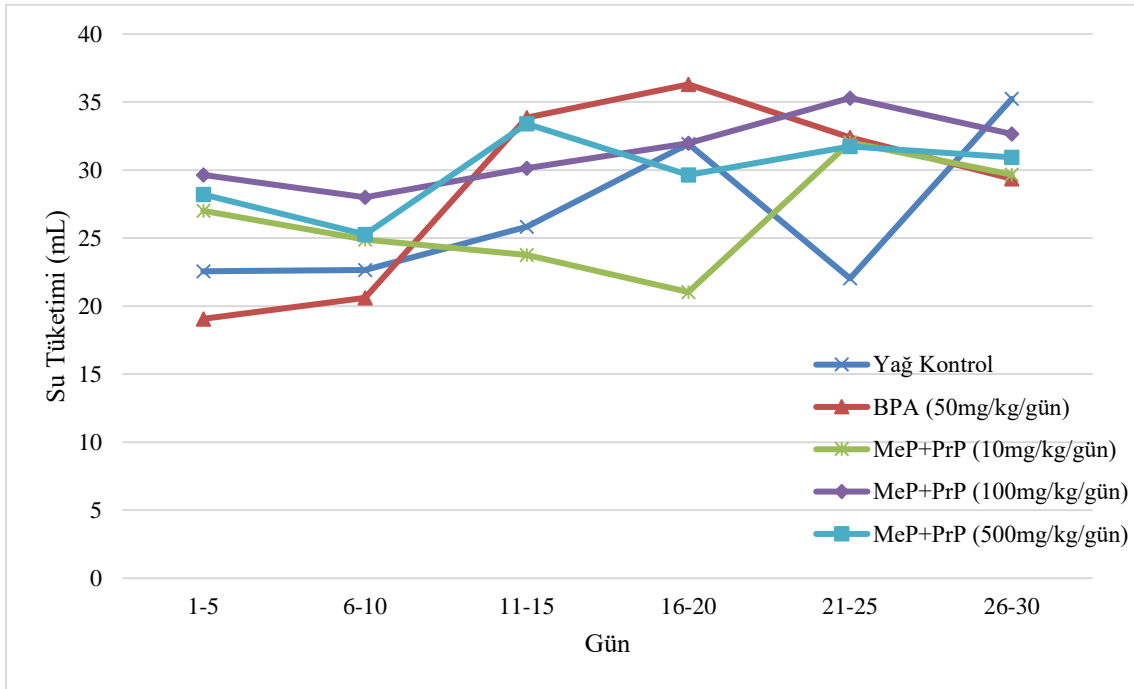
Çizelge 4.2. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların adrenal, hipofiz, karaciğer ve böbrek dokularına ait rölatif organ ağırlıkları (g/kg).

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Sağ Adrenal	0,15 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,17 ± 0,03
Sol Adrenal	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,12 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,15 ± 0,04
Sağ Böbrek	3,88 ± 0,27	3,75 ± 0,18	3,88 ± 0,38	4,18 ± 0,27	4,13 ± 0,38
Sol Böbrek	3,86 ± 0,38	3,58 ± 0,23	3,82 ± 0,39	4,20 ± 0,22	3,84 ± 0,14
Karaciğer	40,37 ± 4,36	39,89 ± 2,60	39,6 ± 4,39	42,64 ± 3,94	40,71 ± 1,96

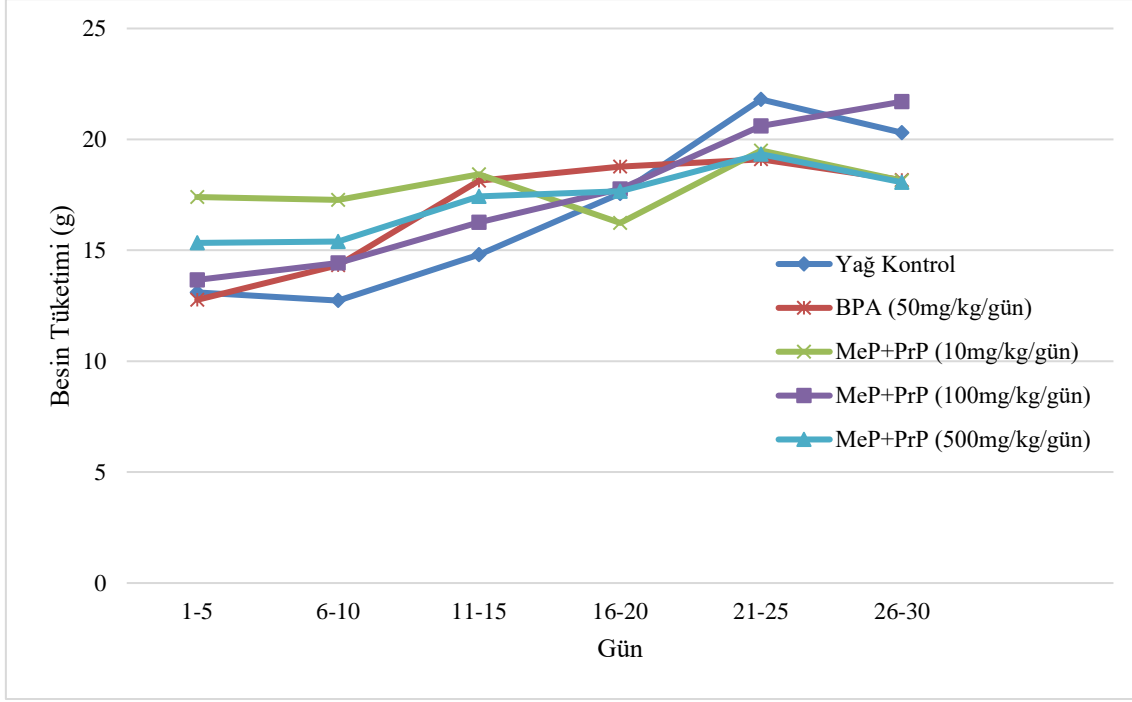
Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.2. Besin ve Su Tüketimi

Kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük su tüketimi Şekil 4.4.'de, besin tüketimi Şekil 4.5.'de gösterilmiştir. Günlük besin ve su tüketimi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük su tüketimi (ml). Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.5. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait günlük besin tüketimi (g). Değerler ortalama şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.3. Hemogram Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama gruplarına ait hemogram değerleri Çizelge 4.3.'de gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

%Lenfosit değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm uygulama gruplarında (10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben) yağ kontrol grubuna göre azaldığı ancak bu değerlerdeki azalmanın BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10 mg/kg/gün ile 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

MPV (ortalama trombosit hacmi) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm uygulama gruplarında (10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben) yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı,

%Granülosit ve MCH (eritrositlerdeki hemoglobin miktarı) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm uygulama gruplarında (10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben) yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı,

MCV (oksijen taşıyan hücrelerin ortalama büyüklüğü) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm doz gruplarında yağ kontrol grubuna göre arttığı ancak bu artışın BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10 mg/kg/gün ile 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben gruplarında yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm doz gruplarında yağ kontrol grubuna göre arttığı ancak bu artışın sadece 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

% RDW (eritrosit dağılım genişliği) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm doz gruplarında yağ kontrol grubuna göre azaldığı ancak BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 10 mg/kg/gün ile 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

%PDW (trombosit dağılım genişliği) değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve tüm doz gruplarında yağ kontrol grubuna göre arttığı ancak bu artışın BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Kontrol ve uygulama gruplarına ait tam kan analiz sonuçları.

	Kontrol		Metil Paraben + Propil Paraben		
	Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
WBC (mm ³)	3,10±0,57	3,53±0,67	4,07±1,89	3,67±2,78	7,90±2,07
RBC (mm ³)	11,02±1,54	5,96±0,74	7,14±2,04	8,09±2,49	7,25±2,62
Mon#	0,20±0,14	0,17±0,08	0,19±0,09	0,19±0,08	0,21±0,08
Lenf#	3,40±2,11	3,87±1,50	3,58±0,91	4,14±1,54	4,22±1,36
Gran#	0,15±0,07	1,56±0,97	1,35±0,77	1,23±0,73	1,39±0,66
Mon%	4,25±0,92	2,67±0,52	4,00±2,10	2,50±0,58	3,18±0,40
Lenf%	93,55±1,34	70,00±5,40*	66,67±15,49*	67,50±8,60*	71,12±4,24
Gran%	2,20±0,42	24,50±5,82*	26,33±13,26*	22,50±3,94*	23,70±3,47*
Hct%	38,55±6,29	41,50±4,93	50,00±13,99	42,67±14,49	43,97±13,51
RDW%	24,10±0,85	9,50±1,05*	16,00±3,49*	16,00±7,07	13,00±2,10*
PDW%	8,75±0,07	16,83±1,33*	24,83±9,37	13,33±4,18	15,93±1,14*
Hb (g/dl)	12,35±1,06	11,83±1,53	14,87±3,82	14,25±4,72	14,03±4,81
MPV (fl)	19,30±0,14	5,72±0,34*	6,57±1,77*	8,67±4,74*	6,00±0,65*
MCV (fl)	34,70±0,57	59,68±1,36*	61,47±1,78*	48,28±12,74	54,22±1,53*
MCH (pg)	9,70±0,14	17,38±0,49*	18,57±1,38*	15,92±2,94*	17,37±0,83*
MCHC (g/dl)	27,45±0,64	29,30±0,32	30,40±2,58	34,22±4,16	32,17±0,98*

Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. (Önemlilik düzeyi p≤0,05).

4.4. Biyokimya Analiz Sonuçları

Kontrol ve uygulama gruplarına ait biyokimya değerleri Çizelge 4.4.'de ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir. Serum ALT ve AST değerleri Şekil 4.6., AST/ALT oranları Şekil 4.7, serum albümin değerleri Şekil 4.8., serum glikoz değerleri Şekil 4.9., serum kreatinin değerleri Şekil 4.10., serum trigliserit değerleri Şekil 4.11. ve serum üre değerleri Şekil 4.12.'de gösterilmiştir.

Serum albümin seviyelerinin tüm doz gruplarında ve pozitif kontrol grubunda yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

Serum ALT seviyelerinde tüm doz gruplarının yağ kontrol grubuna göre arttığı ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Serum AST değerlerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda ve 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı, 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunamayan bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Serum AST ve ALT değerlerinin karaciğer ve böbrek fonksiyon durumlarını belirlemek için oranlarına bakılmıştır. AST/ALT oranı incelendiğinde BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda ve 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında yağ kontrol gruplarında bu oranın artışı istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir.

Serum glikoz seviyelerine bakıldığında 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubu ve 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol grubunun yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir.

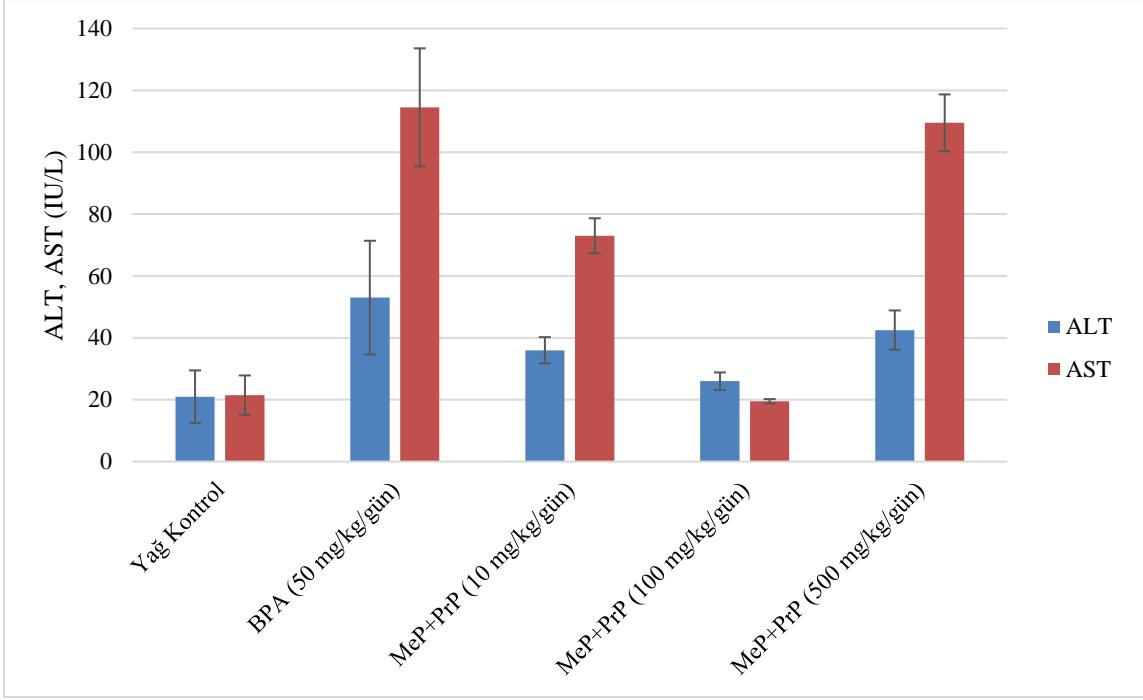
Serum kreatinin seviyelerinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmadan 100 ve 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz gruplarında azaldığı, 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubunda ise arttığı görülmüştür.

Serum trigliserit seviyelerinde tüm doz gruplarında yağ kontrol grubuna göre bir artış söz konusudur. Ancak yalnızca ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Serum üre seviyelerinde 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubunda anlamlı bir azalma belirlenmiştir. 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol grubunda yağ kontrol grubuna göre düşük serum üre seviyesi tespit edilmiştir ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

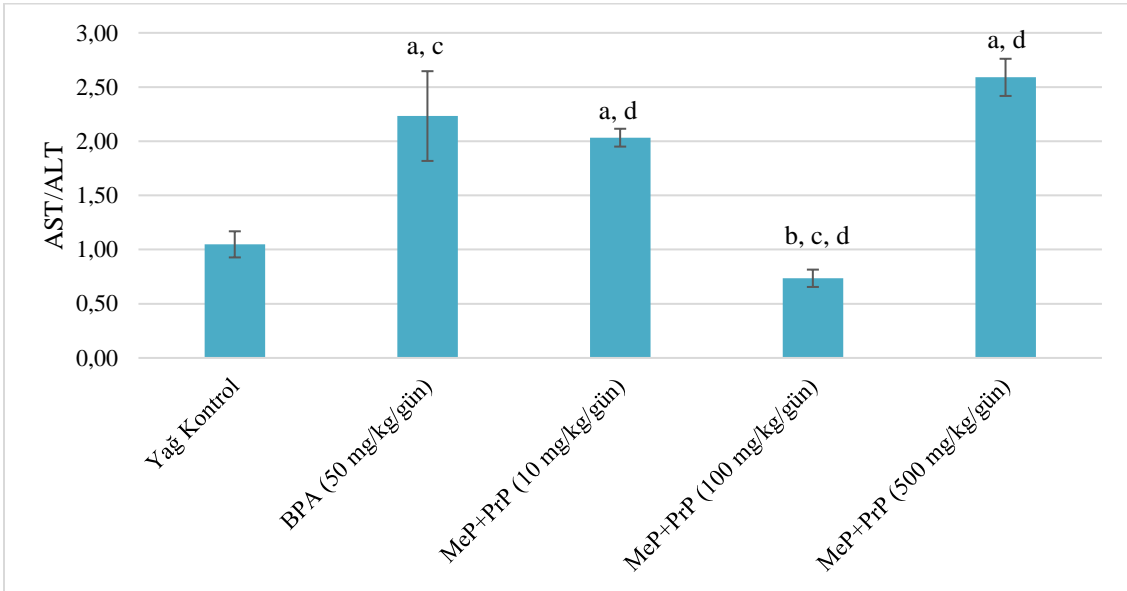
Çizelge 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait biyokimya analiz sonuçları.

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
ALT (IU/L)	21,00 ± 8,49	53,00 ± 18,38	36,00 ± 4,24	26,00 ± 2,83	42,50 ± 6,36
AST (IU/L)	21,50 ± 6,36	114,50 ± 19,09 ^{a, c, d}	73,00 ± 5,66 ^{a, b, c}	19,5 ± 0,71 ^{b, c, e}	109,50 ± 9,19 ^{a, c}
AST / ALT	1,05 ± 0,12	2,23 ± 0,41 ^{a, c}	2,03 ± 0,08 ^{a, d}	0,74 ± 0,08 ^{b, c, d}	2,59 ± 0,17 ^{a, d}
ALBUMİN (g/L)	31,75 ± 1,34	29,13 ± 0,25 ^a	28,78 ± 1,44 ^a	29,27 ± 1,40 ^a	29,21 ± 0,74 ^a
GLİKOZ (mg/dL)	84,15 ± 7,43	120,42 ± 9,51 ^{a, c, d, e}	84,82±4,67 ^{b, d}	183,79±15,41 ^{a, b, c, e}	85,52 ± 23,79 ^{b, d}
KREATİNİN (μmol/L)	44,00 ± 4,69	42,50 ± 8,35 ^d	52,00 ± 8,04 ^d	23,00 ± 4,24 ^{a, b, c}	37,50 ± 9,40
TRİGLİSERİD (mmol/L)	0,18 ± 0,07	0,25 ± 0,07	0,24 ± 0,06	0,35 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,06
ÜRE (mmol/L)	2,49 ± 0,15	1,98 ± 0,43	2,06 ± 0,07 ^{a, d}	2,46 ± 0,15 ^c	2,11 ± 0,20

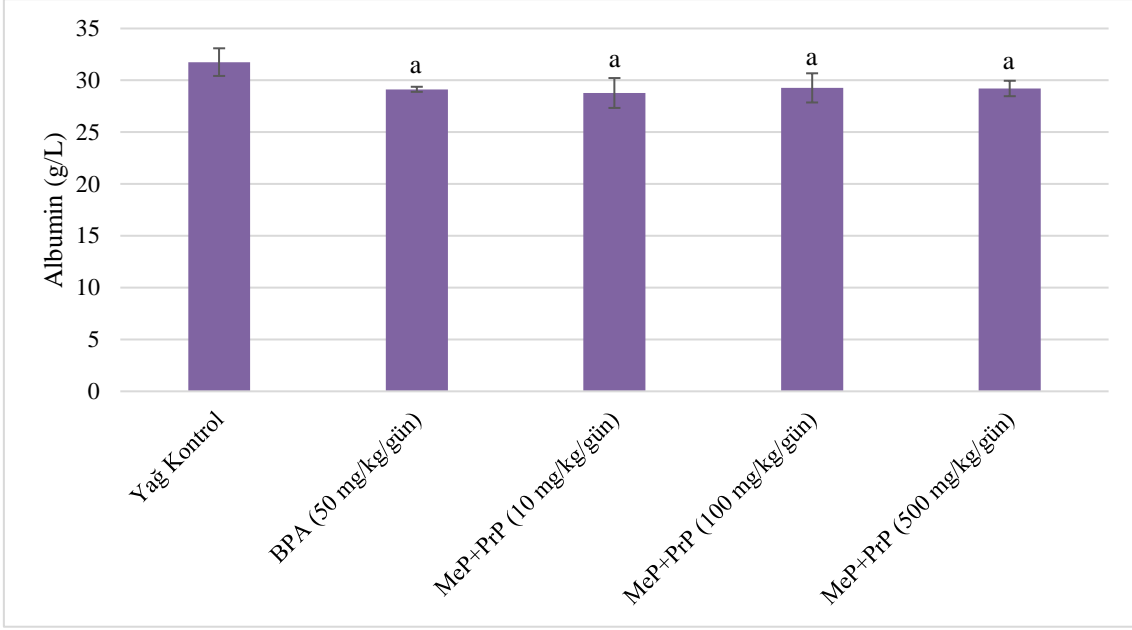
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi p≤0,05).



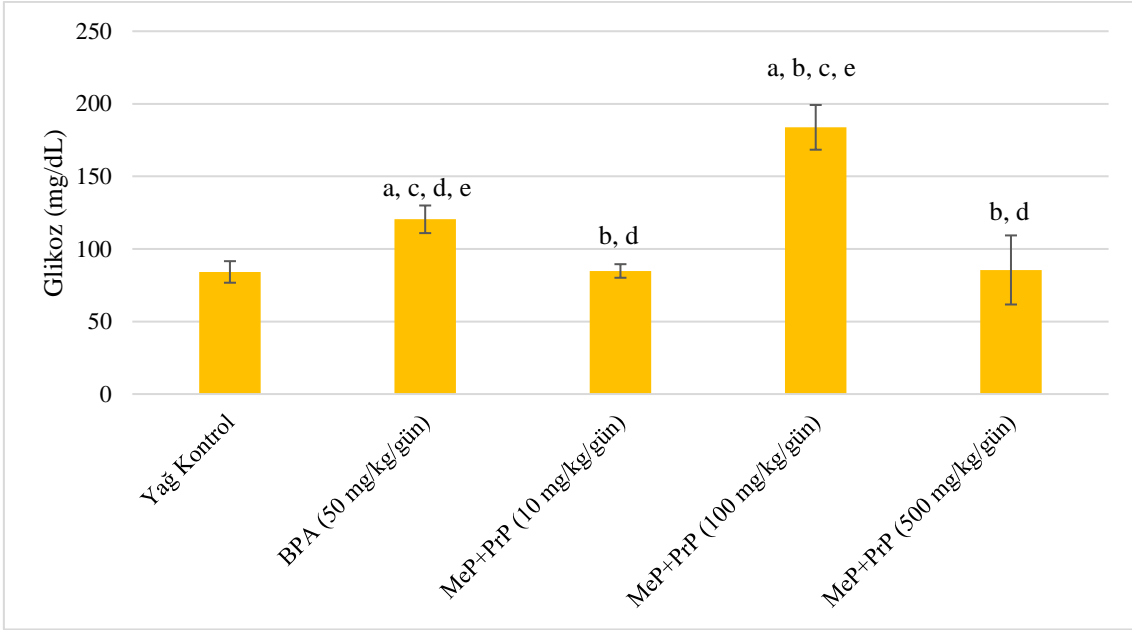
Şekil 4.6. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ALT ve AST (IU/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



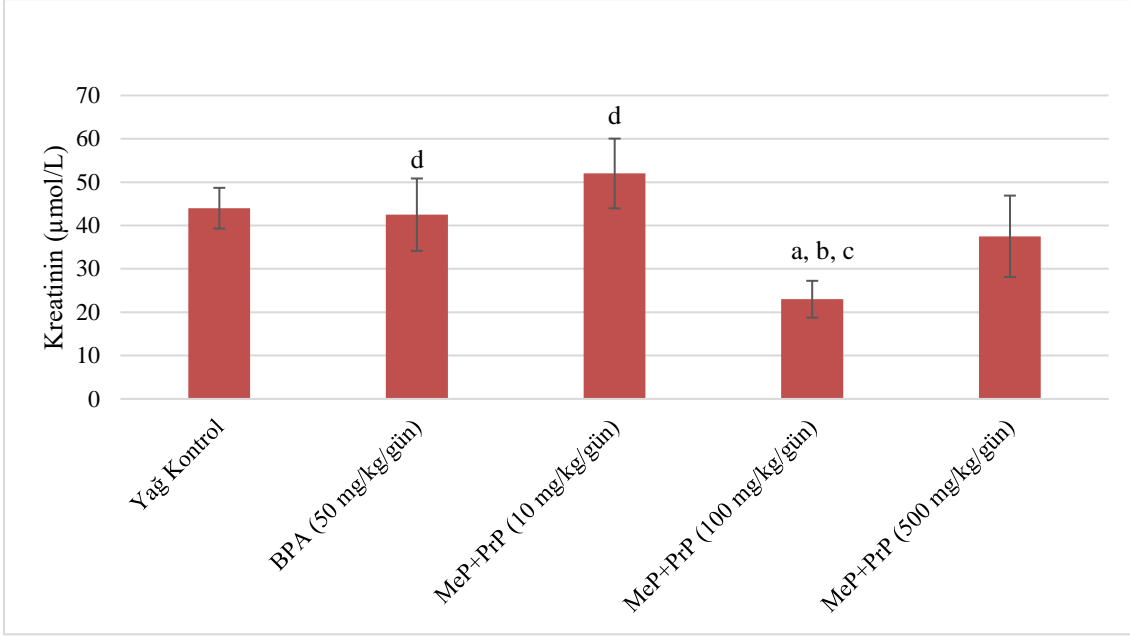
Şekil 4.7. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait AST/ALT oranı. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



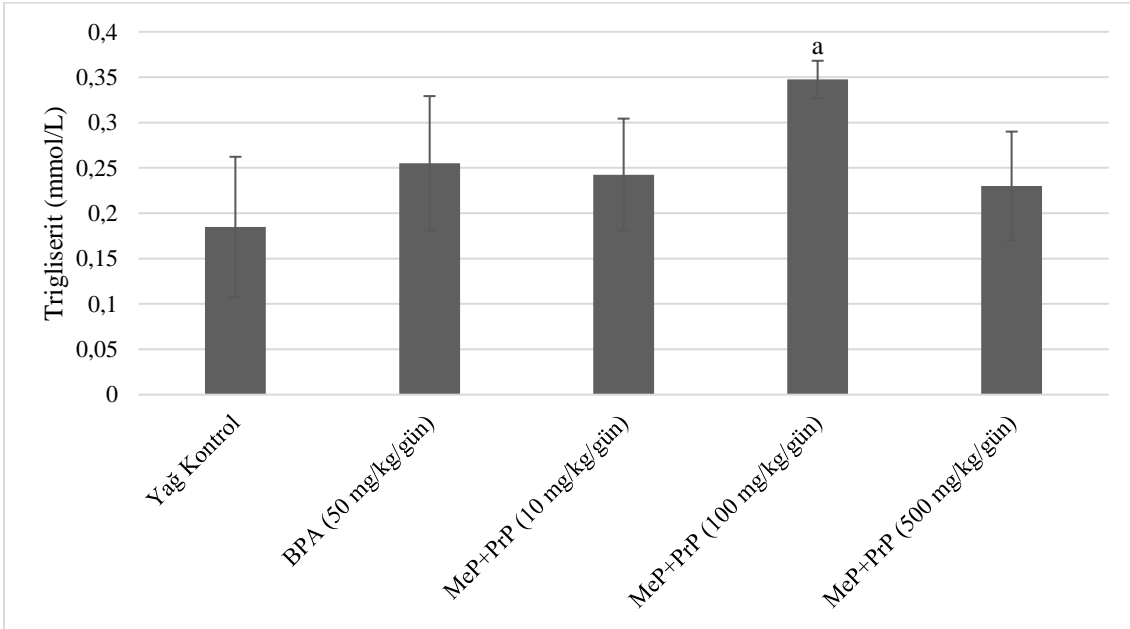
Şekil 4.8. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum albümin (g/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



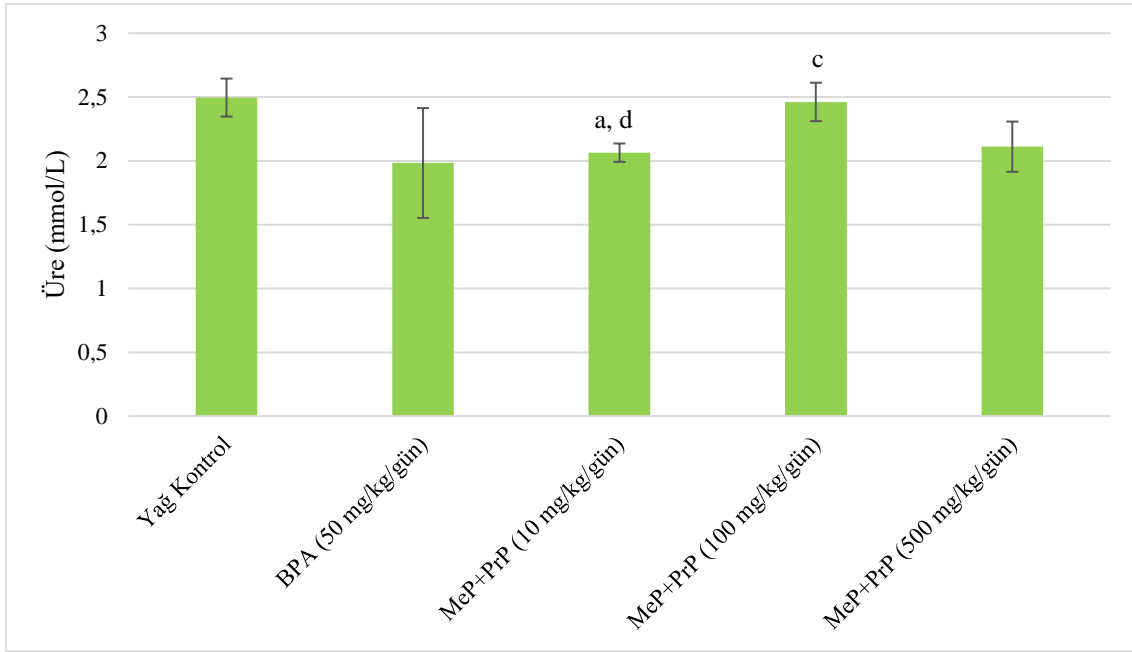
Şekil 4.9. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum glikoz (mg/dL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.10. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kreatinin ($\mu\text{mol/L}$) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.11. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum trigliserit (mmol/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.12. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum üre (mmol/L) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.5. Hormon Analiz Sonuçları

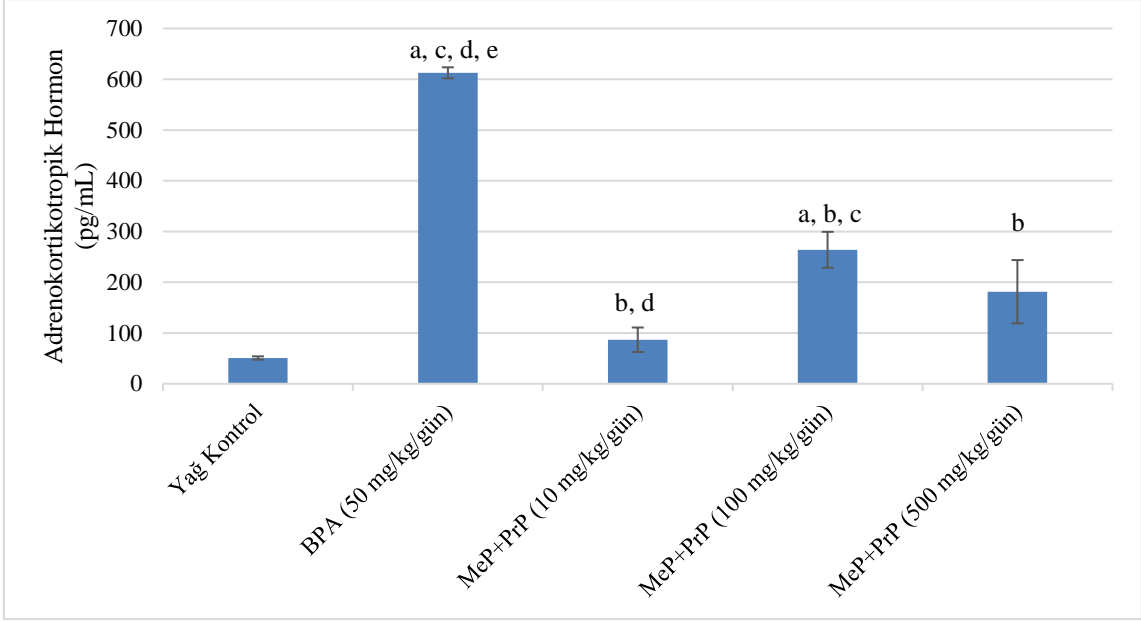
Metil paraben ve propil paraben maruziyetinin hormonlar düzeyindeki etkilerini incelemek amacıyla serum örneklerinde ACTH, kortizol, aldosteron, androstenedion ve dihidrotestosteron hormonları çalışılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hormon seviyeleri Şekil 4.13.-4.17.'da gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Serum ACTH, kortizol ve androstenedion seviyeleri 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz grubunda yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Serum aldosteron seviyesinin 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol ile 10 ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz uygulama gruplarında, dihidrotestosteron seviyesinin ise 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol ve 10 ve 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir.

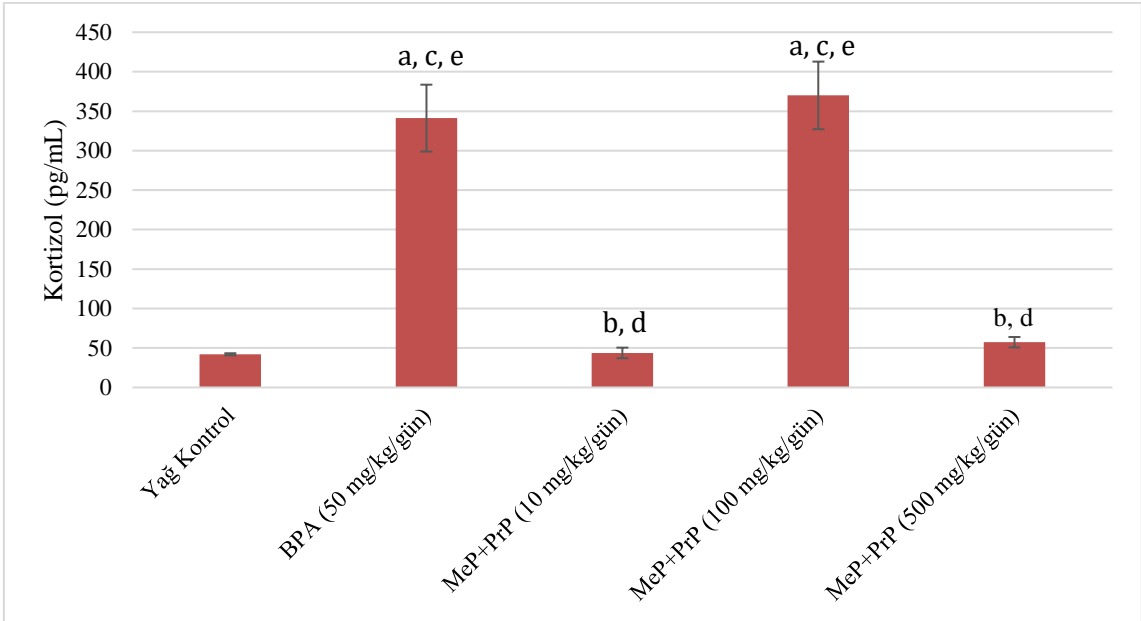
Çizelge 4.5. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hormon analiz sonuçları.

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
ACTH (pg/mL)	50,70±3,00	612,7±11,00 ^{a,c,d,e}	86,60±24,00 ^{b,d}	263,90±35,00 ^{a,b,c}	181,30±62,00 ^b
Kortizol (ng/mL)	41,99±1,00	341,23±42,00 ^{a,c,e}	43,77±7,00 ^{b,d}	369,93±43,00 ^{a,c,e}	57,33±7,00 ^{b,d}
Aldosteron (pg/mL)	121,23±12,91	856,50±96,67 ^{a,c,d,e}	369,93±14 ^{a,b,e}	335,10±49,00 ^{a,b,e}	173,07±2,00 ^{b,c,d}
Dihidrotestosteron (pg/mL)	163,80±22,82	2060,33±88,30 ^{a,c,d,e}	473,70±30,40 ^{a,b,d,e}	186,37±22,75 ^{b,c,e}	287,77±19,62 ^{a,b,c,d}
Androstenedion (ng/mL)	4,55±0,62	30,79±3,37 ^{a,c,d,e}	7,63±0,80 ^{b,d}	13,27±2,11 ^{a,b,c}	8,44±0,21 ^b

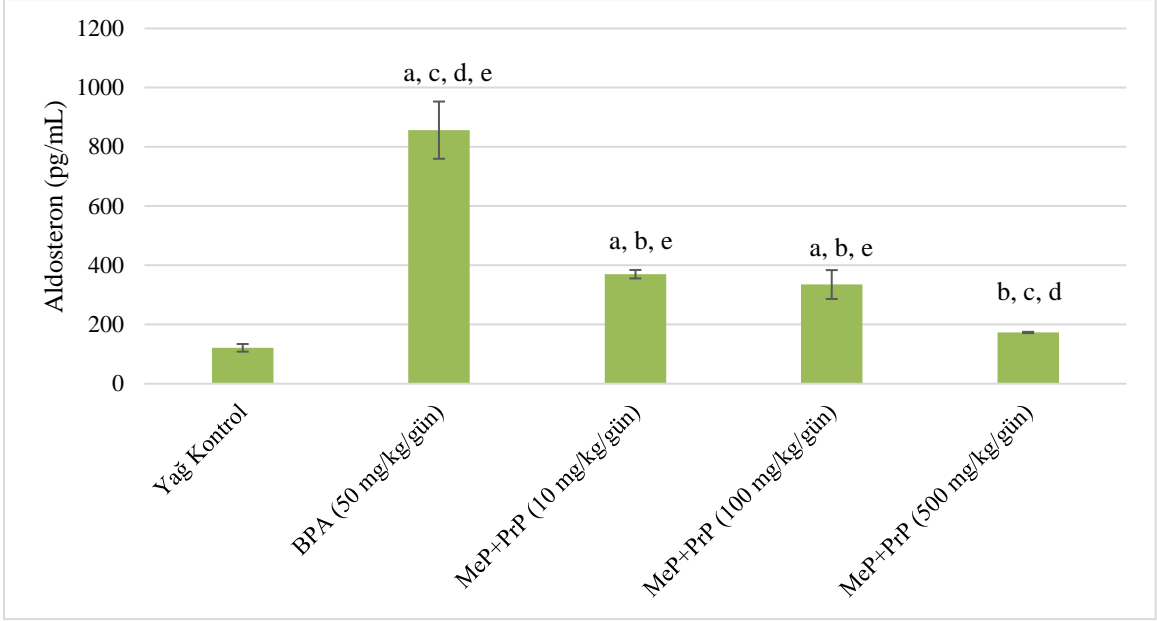
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi p≤0,05).



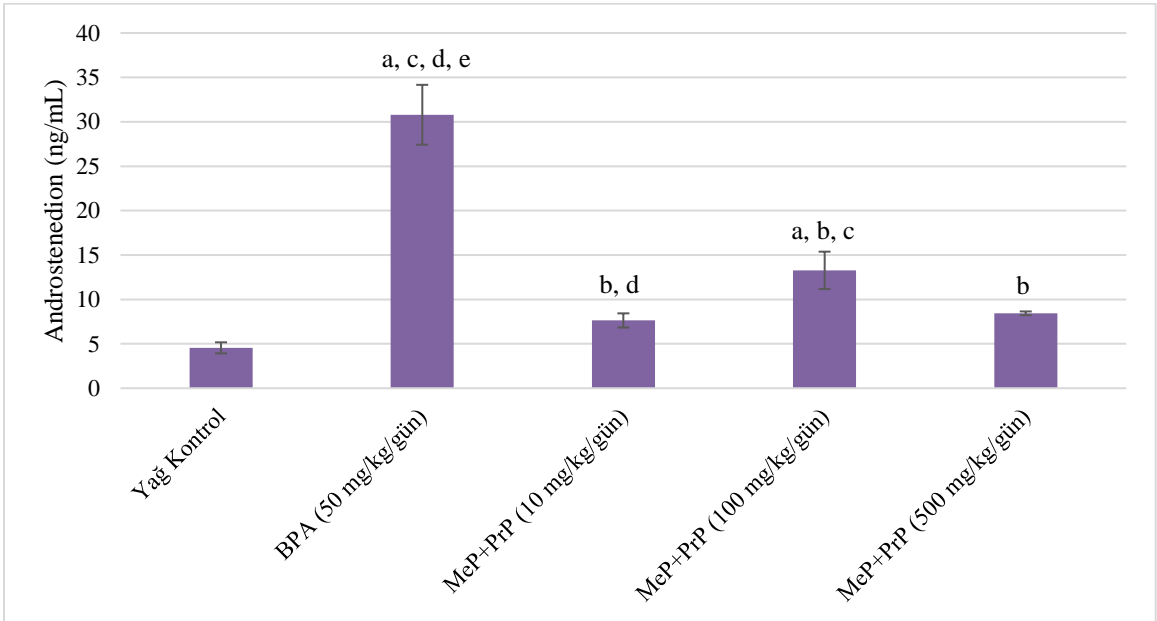
Şekil 4.13. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ACTH (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



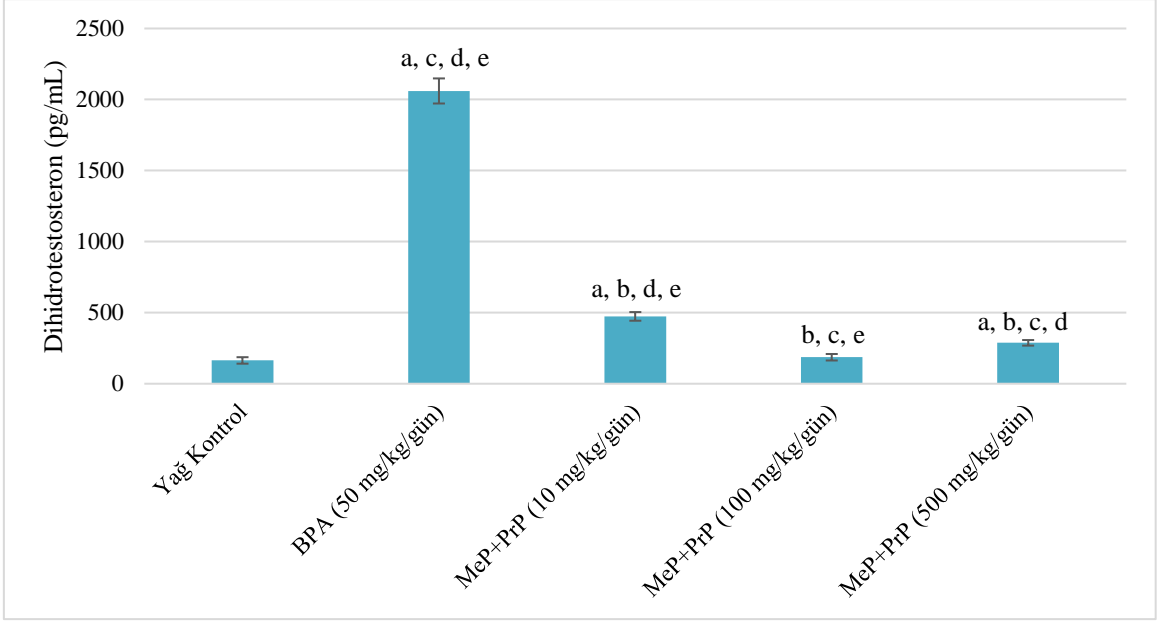
Şekil 4.14. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kortizol (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.15. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum aldosteron (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.16. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum androstenedion (ng/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

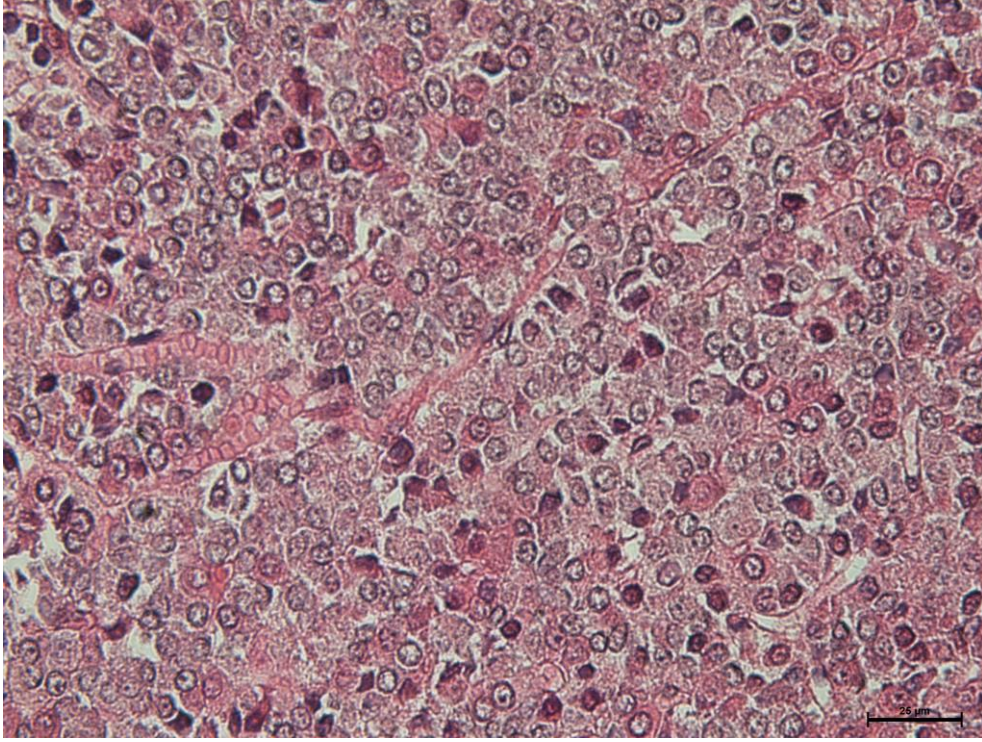


Şekil 4.17. Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait serum dihidrotestosteron (pg/mL) değerleri. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. ^ayağ kontrol grubundan, ^bpozitif kontrol grubundan, ^c10mg/kg/gün doz grubundan, ^d100mg/kg/gün doz grubundan, ^e500 mg/kg/gün doz grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

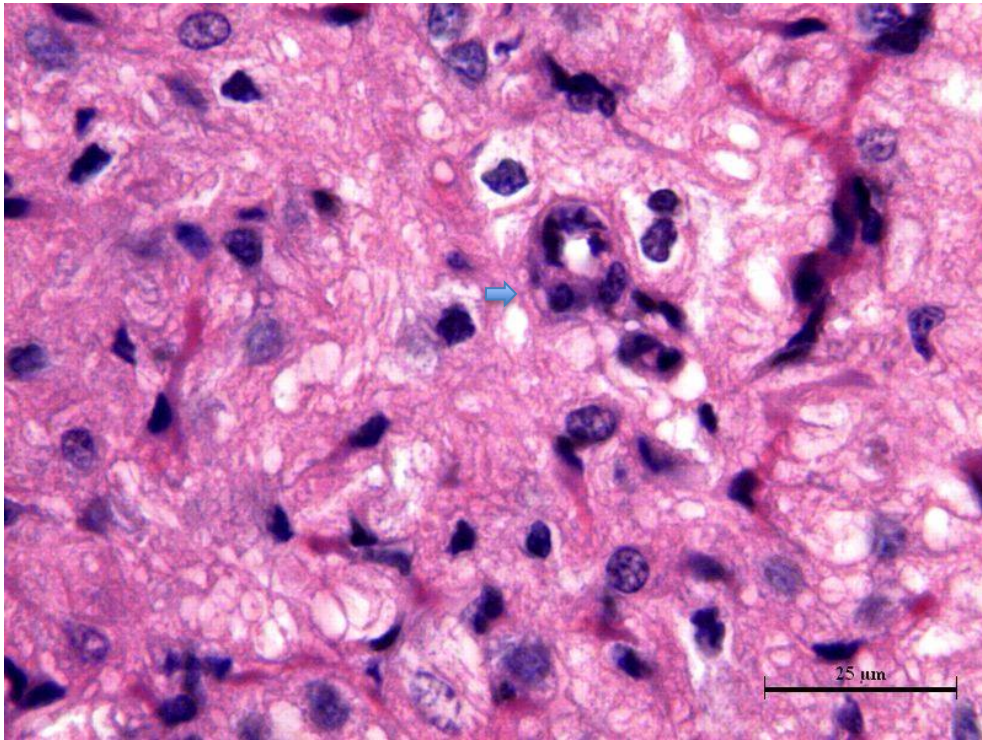
4.6. Histopatolojik Bulgular

4.6.1. Hipofiz bezine ait bulgular

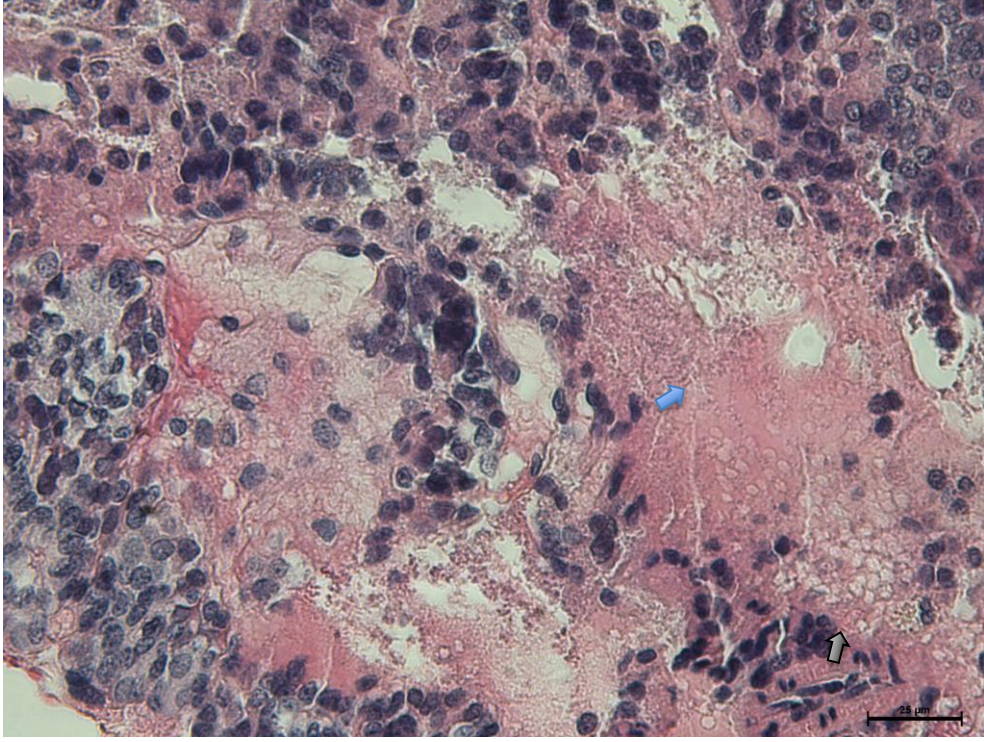
Kontrol grubu hipofiz dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.18.'de verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda nörohipofiz dokusunda pituicytoma (Şekil 4.19.), 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda adenohipofiz dokusunda konjesyon ve ödem (Şekil 4.20.), 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda adenohipofiz dokusunda kromofob hücrelerinde Crooke hiyalin halkası (Şekil 4.21.), 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda adenohipofiz dokusunda vakuolizasyon (Şekil 4.22.) tespit edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hipofiz dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans değerleri Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.



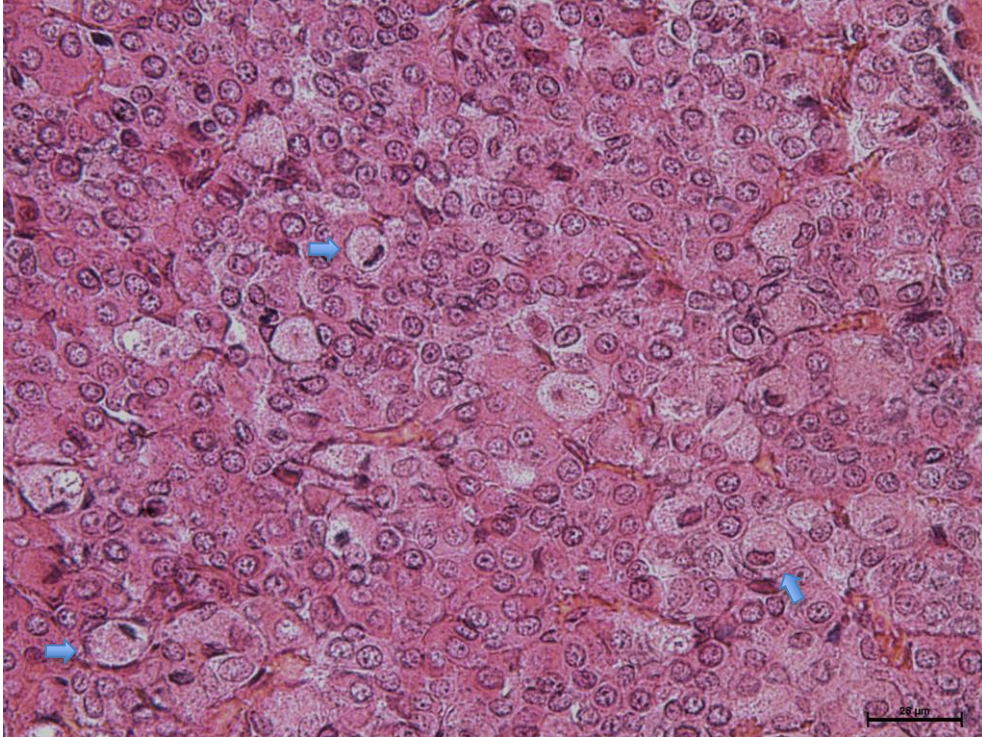
Şekil 4.18. Yağ kontrol grubuna ait adenohipofiz dokusunun normal görünümü, (H&E boyama, 400X).



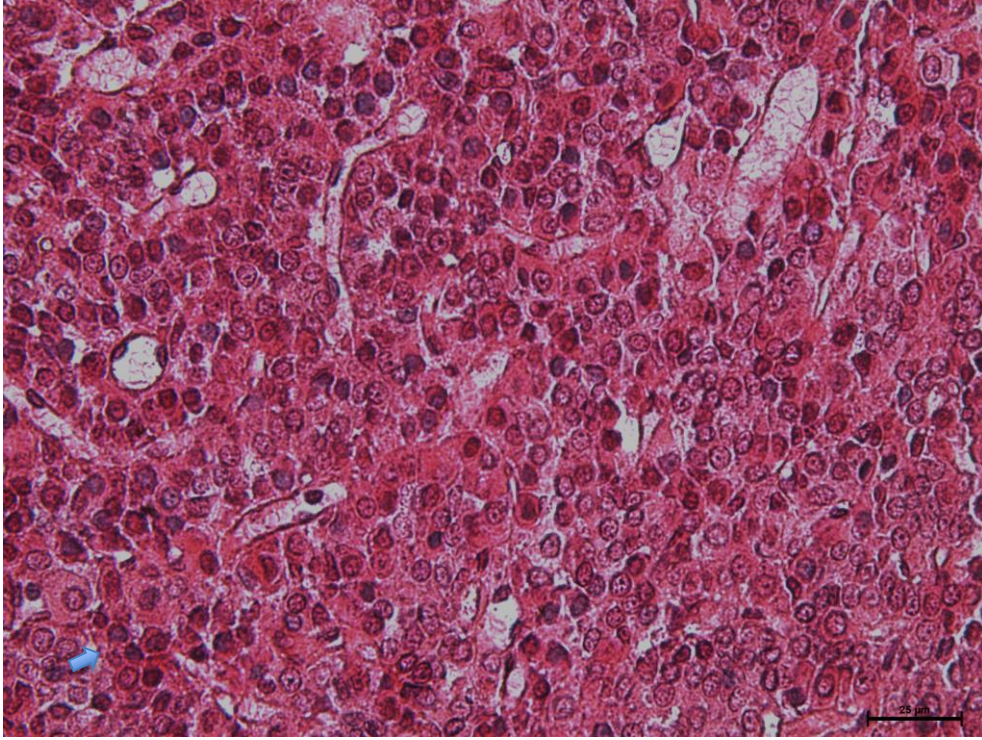
Şekil 4.19. BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunda pituicytoma (→), (H&E boyama, 1000X).



Şekil 4.20. 10 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda konjesyon (→) ve ödem (⇨), (H&E boyama, 400X büyütme).



Şekil 4.21. 100 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda adenohipofiz dokusunda kromofob hücrelerinde Crooke hiyalin halkası (→), (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.22. 500 mg/kg/gün doz grubuna ait adenohipofiz dokusunda vakuolizasyon (→), (H&E boyama, 400X)

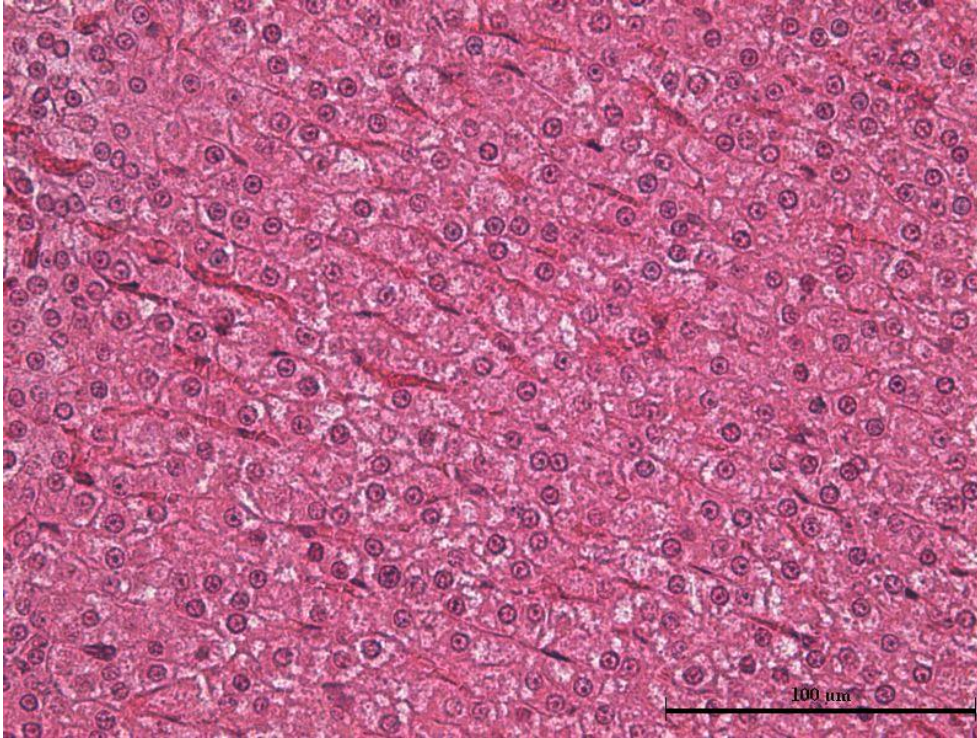
Çizelge 4.6. Kontrol ve uygulama gruplarına ait hipofiz dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Konjesyon	0/6	5/6*	3/6	6/6*	2/6
Ödem	0/6	5/6*	3/6	4/6*	2/6
Hücrelerde Vakuolizasyon	1/6	4/6	2/6	4/6	3/6
Crooke Hiyakin Halkası	0/6	6/6*	2/6	6/6*	3/6
Pituicytoma	0/6	2/6	0/6	1/6	0/6
Hidropik Dejenerasyon	0/6	3/6	1/6	2/6	0/6
Hücrel Dejenerasyon	0/6	4/6*	1/6	4/6*	2/6
Lenfositik İnfiltrasyon	0/6	0/6	1/6	0/6	0/6

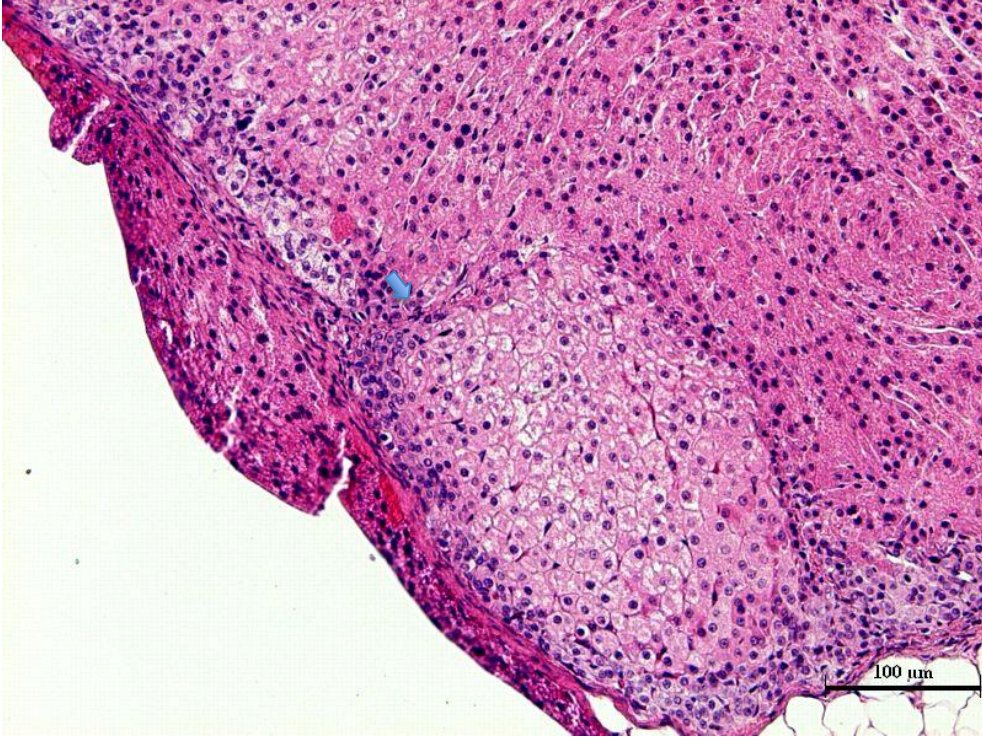
Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait histopatolojik bulguların insidans çizelgesi. Değerler histopatolojik bulgu gözlenen sıçan sayısı/grupta incelenen sıçan sayısı şeklinde verilmiştir. *yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.6.2. Adrenal beze ait bulgular

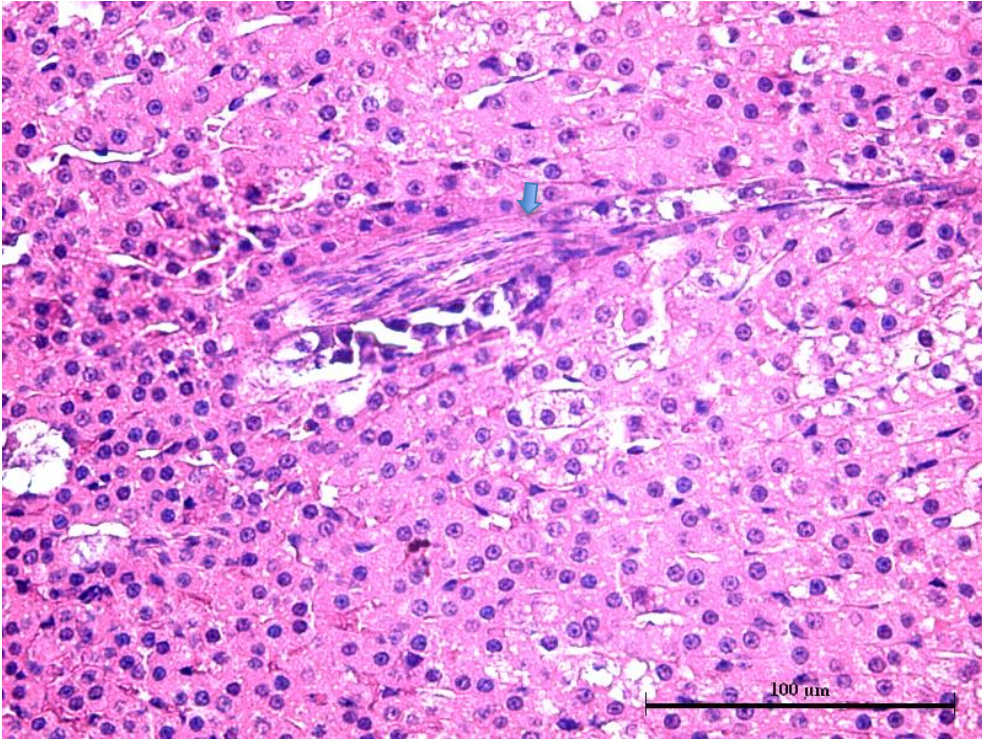
Kontrol grubu hipofiz dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.23.'de verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda kortikal nodül (Şekil 4.24.), 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda mononükleer hücre infiltrasyonu (Şekil 4.25.), 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda konjesyon, ödem ve hiperplazi (Şekil 4.26.), 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda subkapsüler bölgede ödem ve hiperplazi (Şekil 4.27.) tespit edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait adrenal bez dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans değerleri Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.



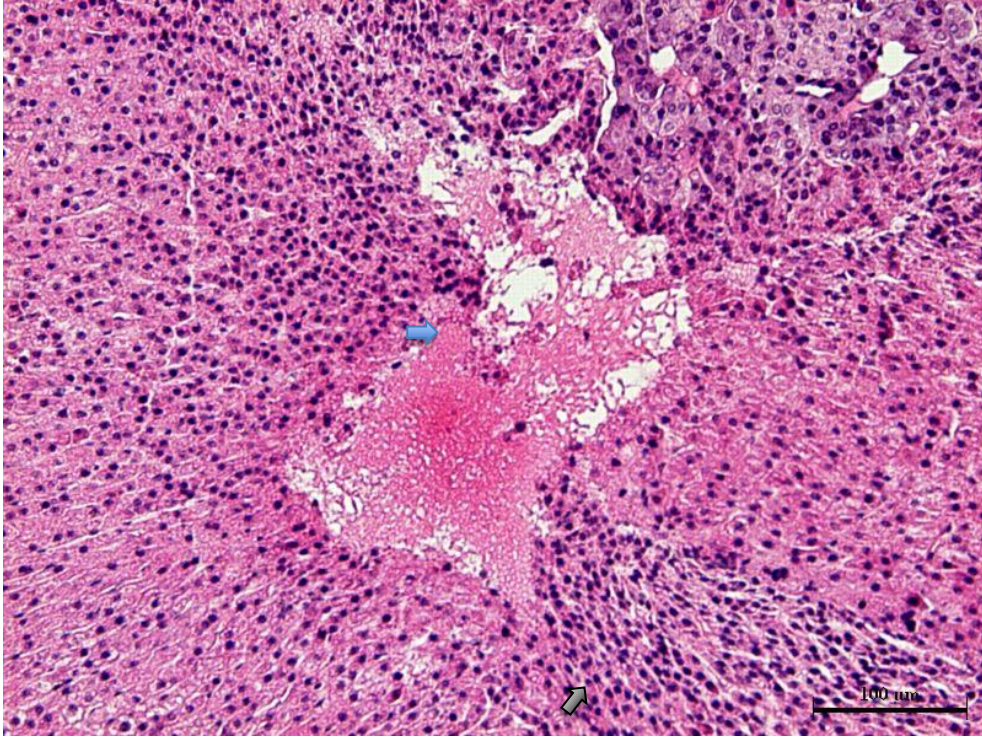
Şekil 4.23. Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks görüntüsü, (H&E boyama, 400X).



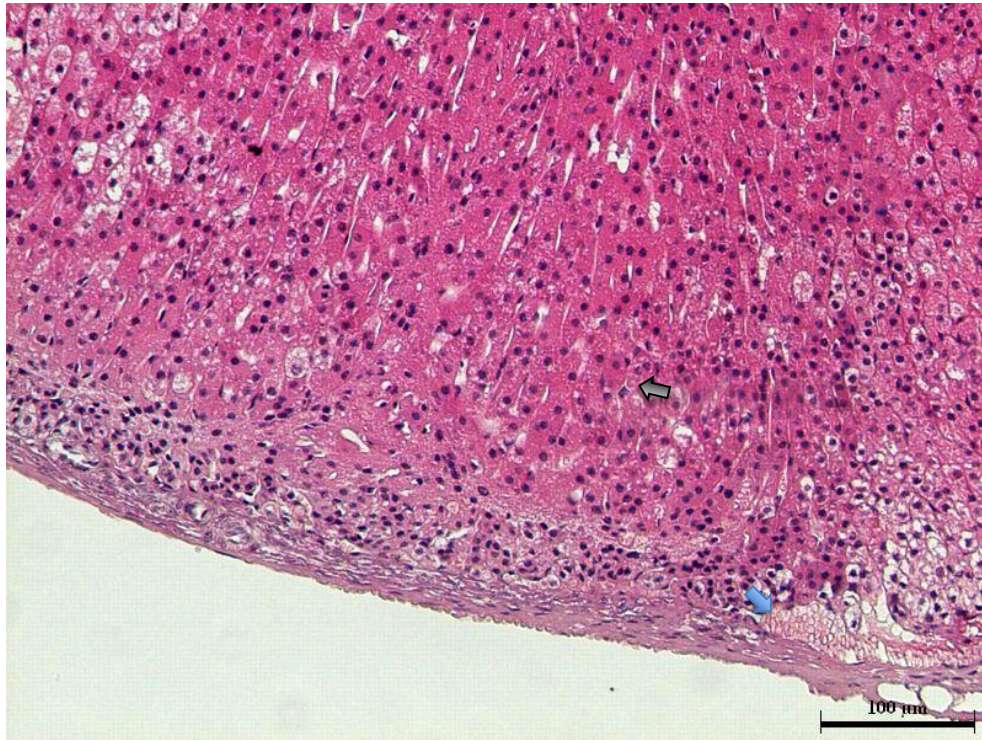
Şekil 4.24. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait adrenal kortekste kortikal nodül (→), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.25. 10 mg/kg/gün doz grubuna ait adrenal dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu (→), (H&E boyama, 400X)



Şekil 4.26. 100 mg/kg/gün grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon ile birlikte ödem (→) ve hiperplazi (⇨), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.27. 500 mg/kg/gün doz grubuna ait adrenal dokuda subkapsüler bölgede ödem (⇨), hiperplazi (→), (H&E boyama, 200X)

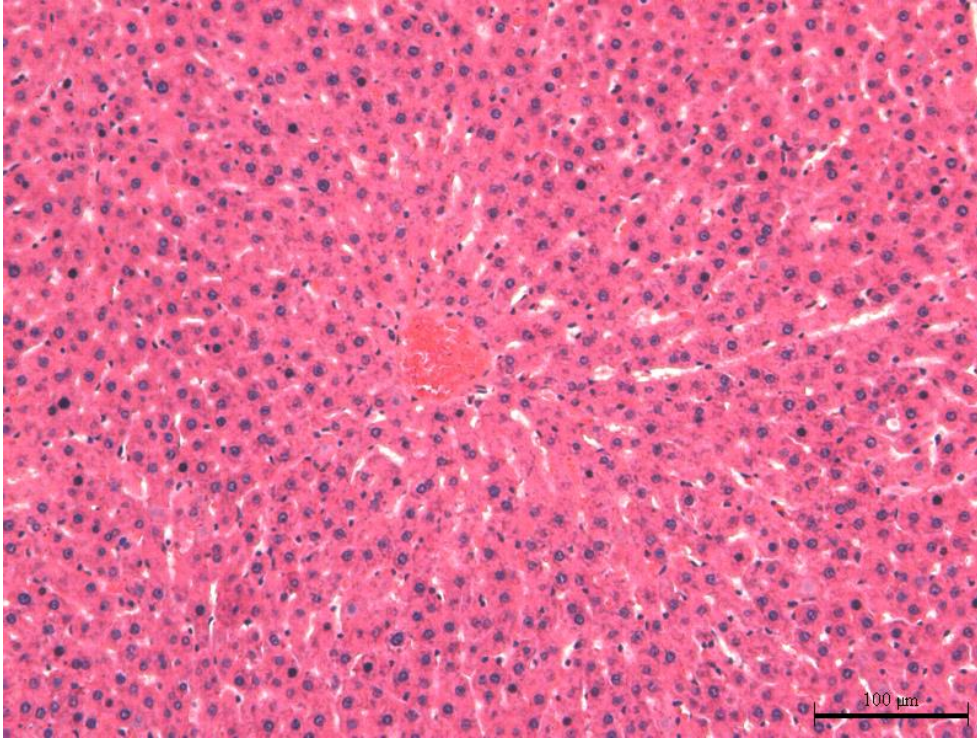
Çizelge 4.7. Kontrol ve uygulama gruplarına ait adrenal bez dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Konjesyon	0/6	2/6	1/6	3/6	3/6
Ödem	0/6	3/6	0/6	2/6	1/6
Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu	0/6	1/6	0/6	1/6	1/6
Kortikal Nodül	0/6	3/6	1/6	2/6	3/6
Kortikal Nekroz	0/6	2/6	1/6	2/6	1/6
Hücrel Dejenerasyon	0/6	5/6*	3/6	5/6*	4/6*
Hipertrofi	0/6	1/6	0/6	0/6	0/6
Vakuolizasyon	0/6	2/6	1/6	2/6	1/6
Fibröz Doku Oluşumu	0/6	1/6	0/6	2/6	1/6
Kistik Doku Oluşumu	0/6	1/6	0/6	0/6	2/6

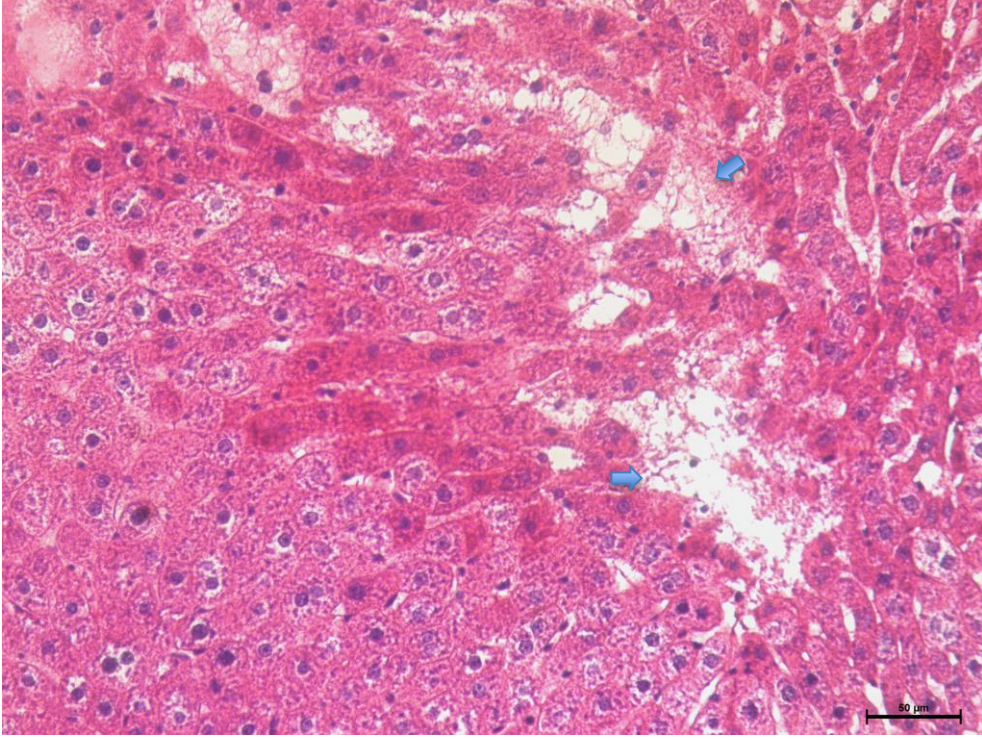
Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait histopatolojik bulguların insidans çizelgesi. Değerler histopatolojik bulgu gözlenen sıçan sayısı/grupta incelenen sıçan sayısı şeklinde verilmiştir. *yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.6.3. Karaciğere ait bulgular

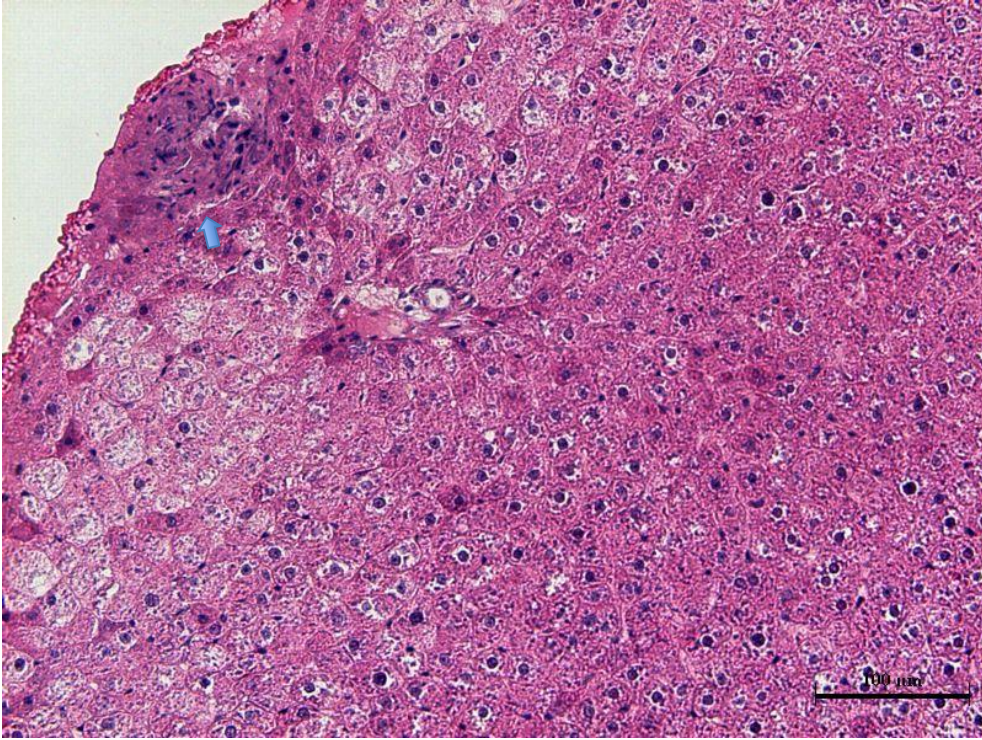
Kontrol grubu hipofiz dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.28.'de verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda hepatik parankimada dejenerasyon (Şekil 4.29.), 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda piknotik hücreler ve kistik görünüm (Şekil 4.30.), 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda sinozodial genişleme ve nekrotik alan (Şekil 4.31.), 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda sinuzodial genişleme (Şekil 4.32.) tespit edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans değerleri Çizelge 4.8.'de gösterilmiştir.



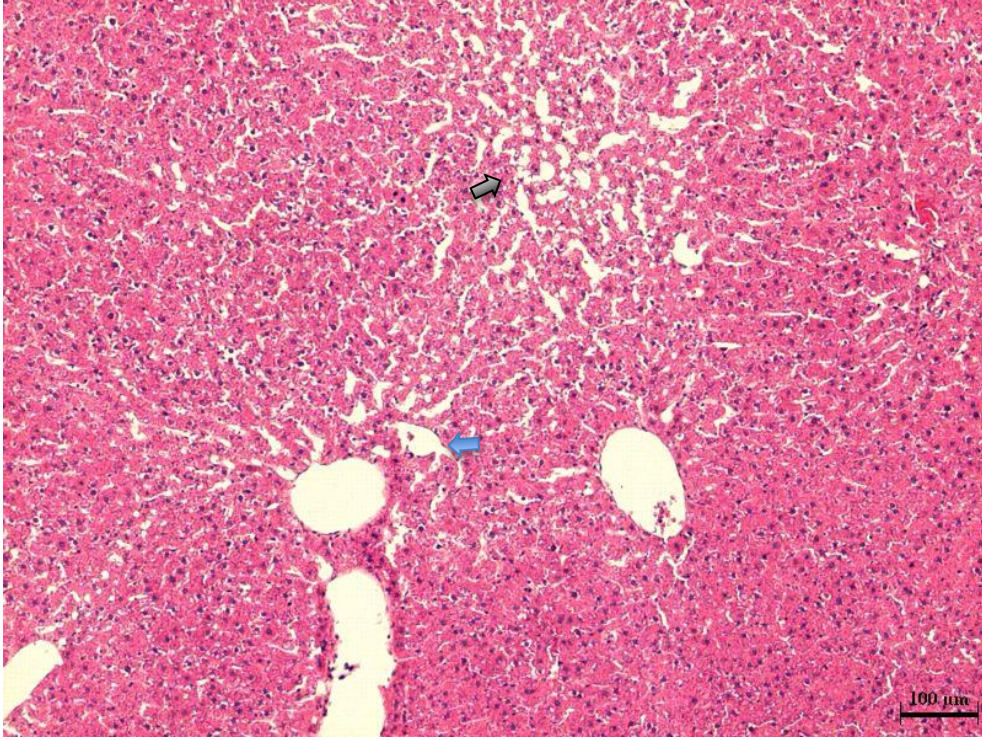
Şekil 4.28. Yağ kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 200X).



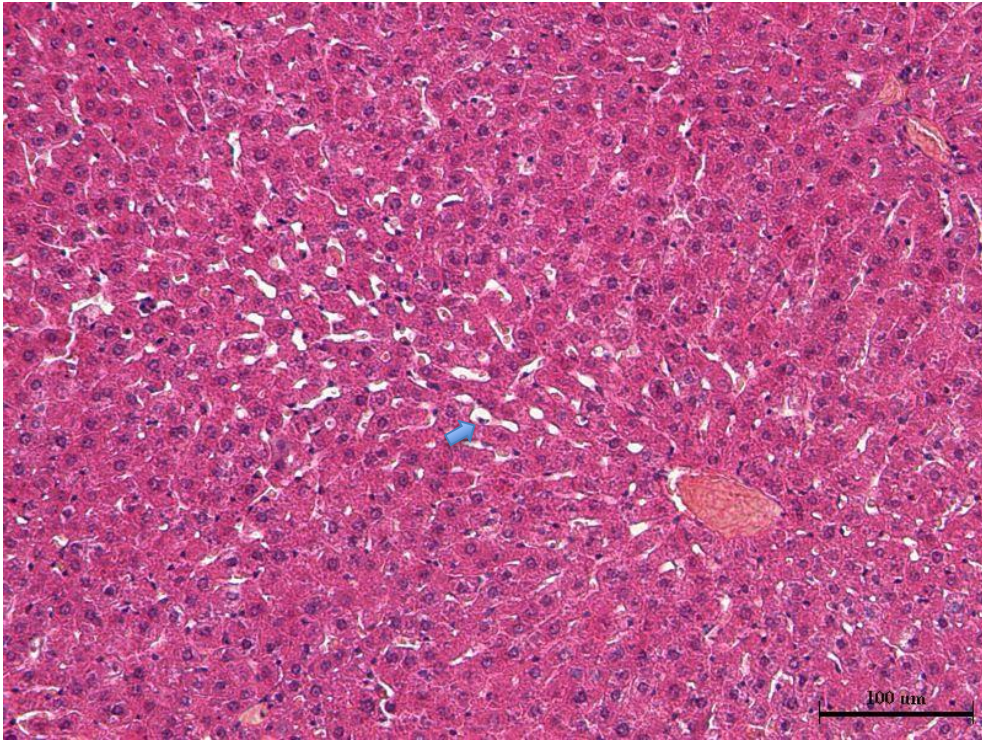
Şekil 4.29. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda hepatik parankimada dejenerasyon (⇨), (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.30. 10mg/kg/gün grubuna ait karaciğer dokusunda kistik görünüm (⇨), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.31. 100 mg/kg/gün doz grubuna ait karaciğer dokusunda sinuzodial genişleme (→), nekrotik alan (⇨), (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.32. 500 mg/kg/gün doz grubuna ait karaciğer dokusunda hücrelerde sinuzodial genişleme (→), (H&E boyama, 200X).

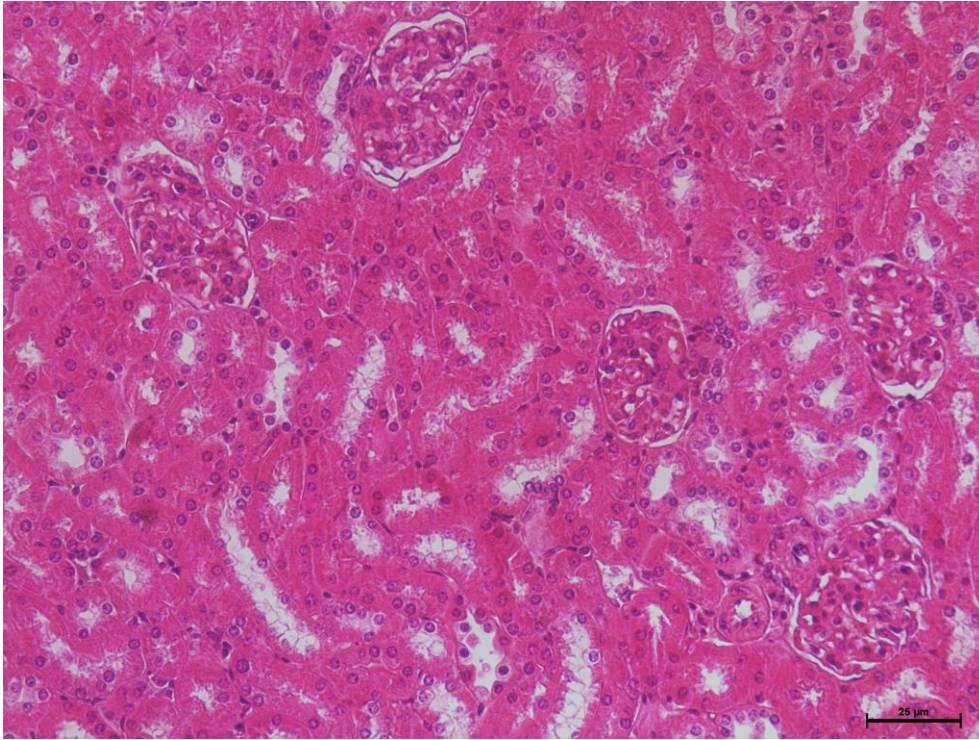
Çizelge 4.8. Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.

	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Konjesyon	0/6	0/6	2/6	0/6	2/6
Ödem	0/6	0/6	1/6	0/6	0/6
Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu	0/6	1/6	1/6	2/6	1/6
Sinüzodial Genişleme	0/6	4/6*	4/6*	5/6*	3/6
Hepatik Parankimada Dejenerasyon	0/6	3/6	2/6	3/6	2/6
Piknotik Hücreler	0/6	1/6	1/6	0/6	0/6
Kistik Dejenerasyon	0/6	1/6	1/6	1/6	0/6
Sitoplazmik Erime	1/6	0/6	1/6	3/6	2/6

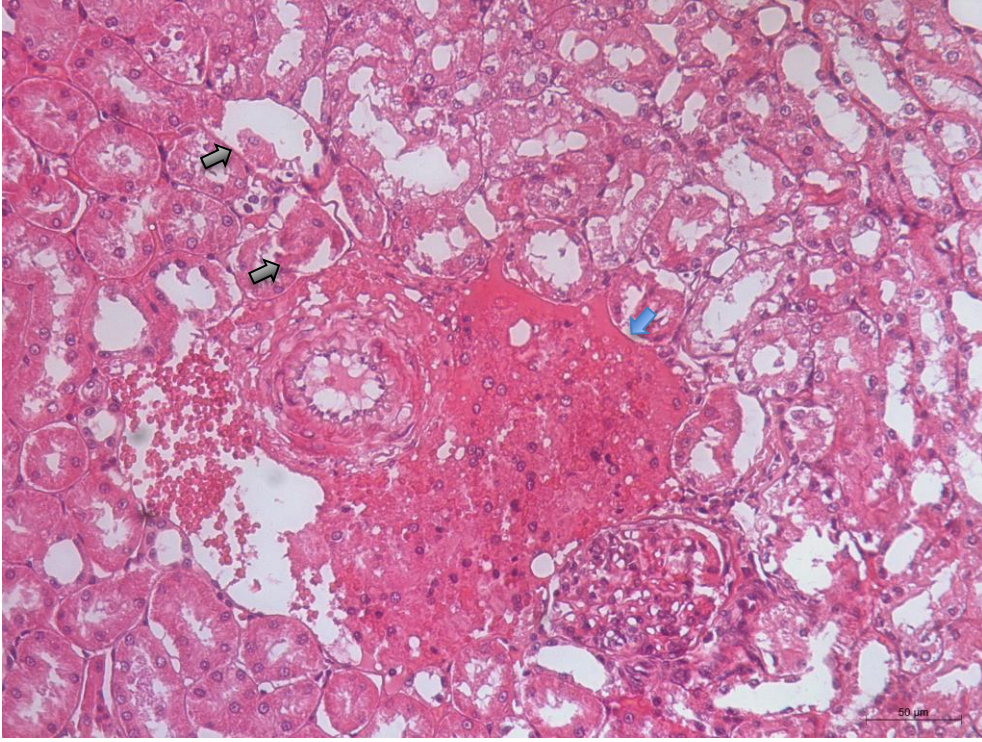
Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait histopatolojik bulguların insidans çizelgesi. Değerler histopatolojik bulgu gözlenen sıçan sayısı/grupta incelenen sıçan sayısı şeklinde verilmiştir. *yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.6.4. Böbreğe ait bulgular

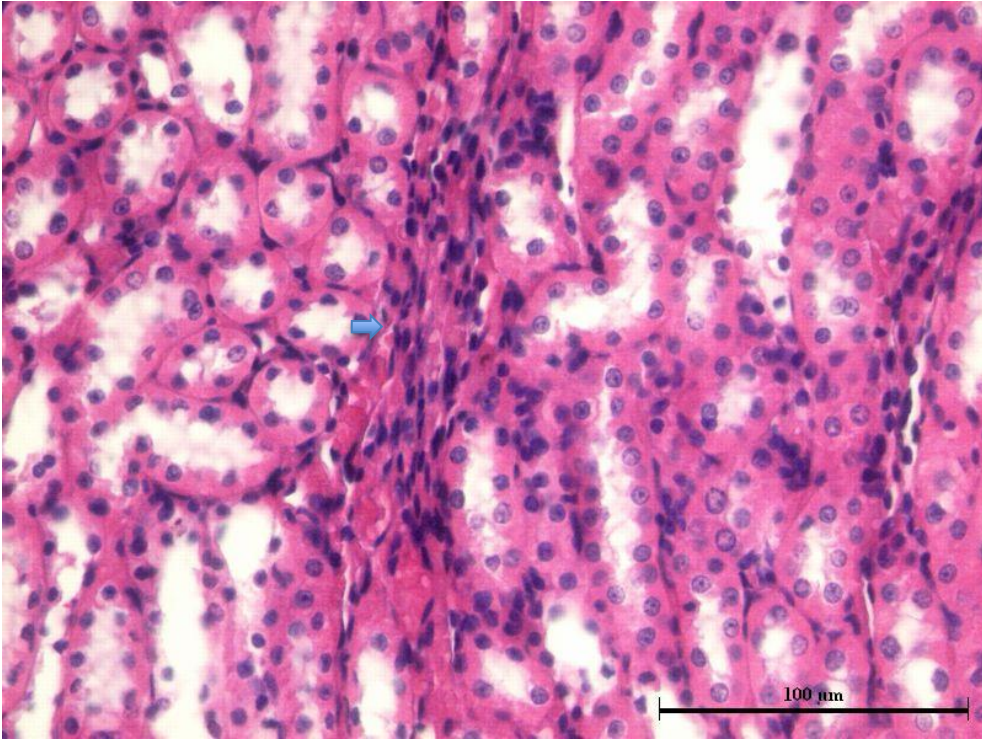
Kontrol grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.33.'de verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda tübüler dejenerasyon ve hiperplazi (Şekil 4.34), 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda mononükleer hücre infiltrasyonu (Şekil 4.35.), 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda bowman kapsülünde genişleme ve glomerular atrofi, lümene hücre atılması (Şekil 4.36.), 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda tübüler dejenerasyon ve fibröz doku oluşumu (Şekil 4.37.) tespit edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans değerleri Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir.



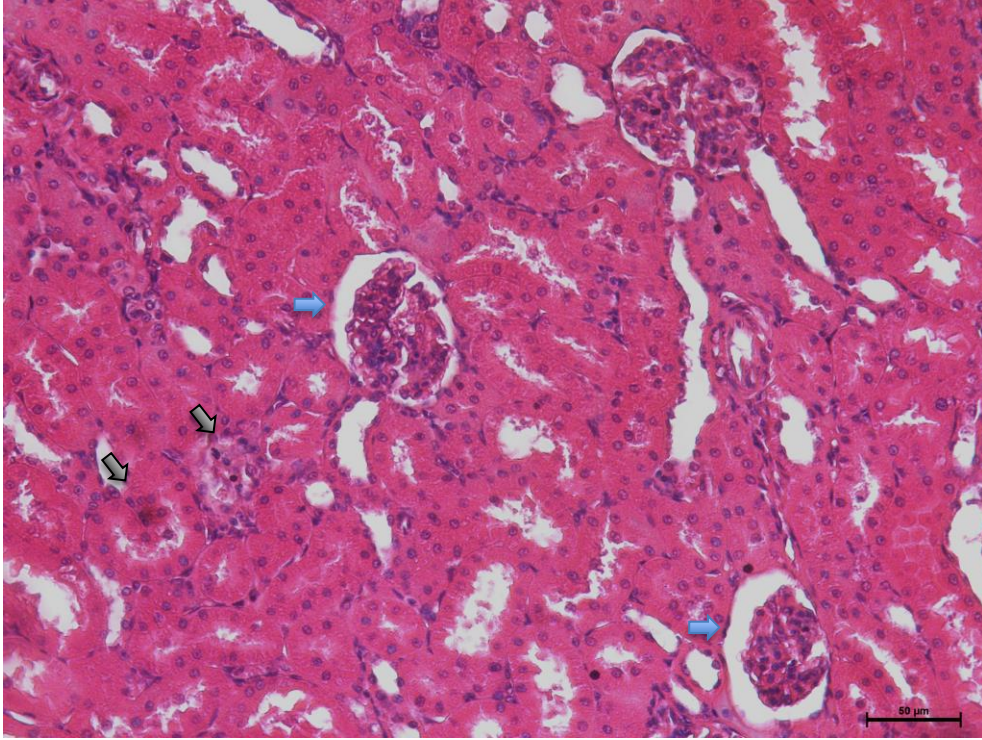
Şekil 4.33. Yağ kontrol grubuna ait böbrek görüntüsü, (H&E boyama, 400X)



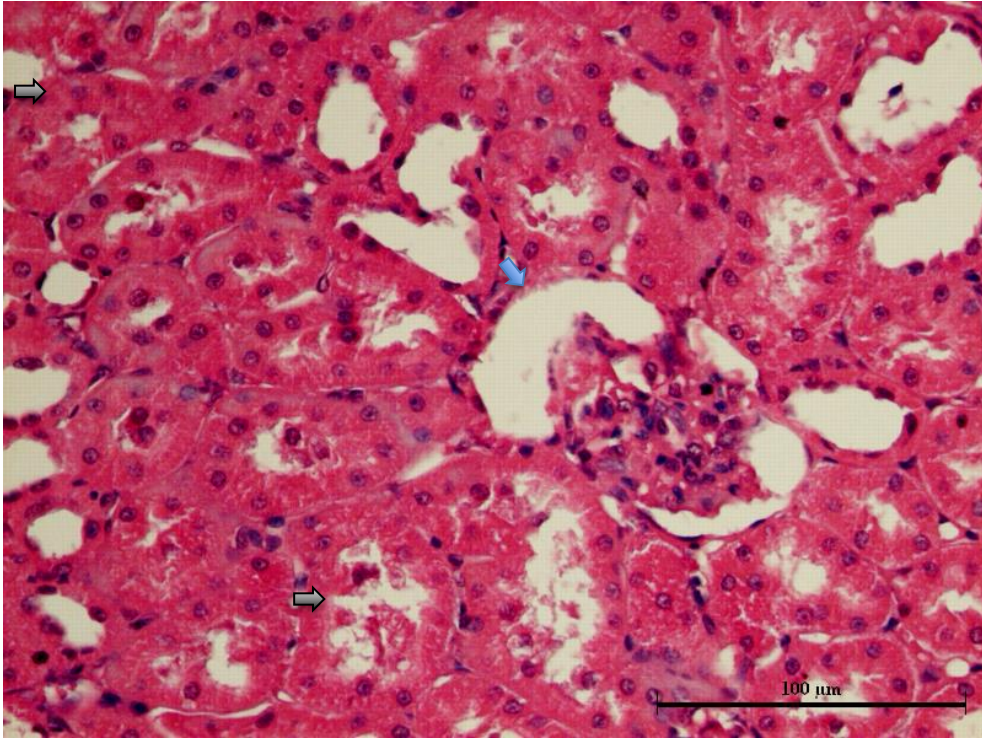
Şekil 4.34. BPA (50 mg/kg/gün) doz grubuna ait böbrek dokusunda hiperplazi (⇨), tübüler dejenerasyon (⇨), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.35. 10 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (⇨), (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.36. 100 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda bowman kapsülünde genişleme ve glomerular atrofi (→), lümene hücre atılması (⇨), (H&E boyama, 200X)



Şekil 4.37. 500 mg/kg/gün doz grubuna ait böbrek dokusunda bowman kapsülünde genişleme (→) ve tübüler dejenerasyon, lümene hücre atılması (⇨), (H&E boyama, 400X).

Çizelge 4.9. Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek dokularında tespit edilen histopatolojik bulguların insidans çizelgesi.

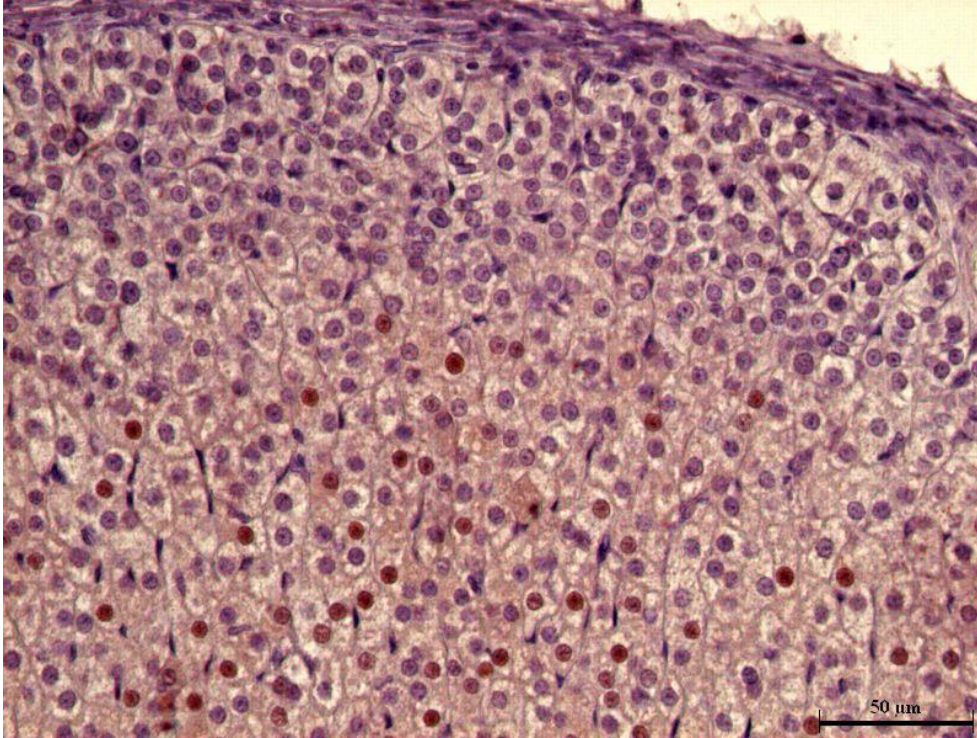
	Kontrol		Metil paraben+Propil paraben		
	Yağ Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	10 mg/kg/gün	100 mg/kg/gün	500 mg/kg/gün
Konjesyon	1/6	3/6	4/6	5/6*	4/6
Ödem	0/6	3/6	1/6	0/6	0/6
Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu	0/6	2/6	1/6	2/6	1/6
Glomerular Atrofi	1/6	6/6*	3/6	6/6*	3/6
Tübüler Dejenerasyon	0/6	4/6*	3/6	5/6*	3/6
Lümen Hücre Atılması	0/6	6/6*	3/6	5/6*	3/6
Kistik Dejenerasyon	0/6	5/6*	0/6	0/6	2/6
Fibröz Doku Oluşumu	0/6	4/6*	0/6	3/6	2/6
Hiperplazi	0/6	3/6	2/6	1/6	1/6

Yağ kontrol ve uygulama gruplarına ait histopatolojik bulguların insidans çizelgesi. Değerler histopatolojik bulgu gözlenen sıçan sayısı/grupta incelenen sıçan sayısı şeklinde verilmiştir. *yağ kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

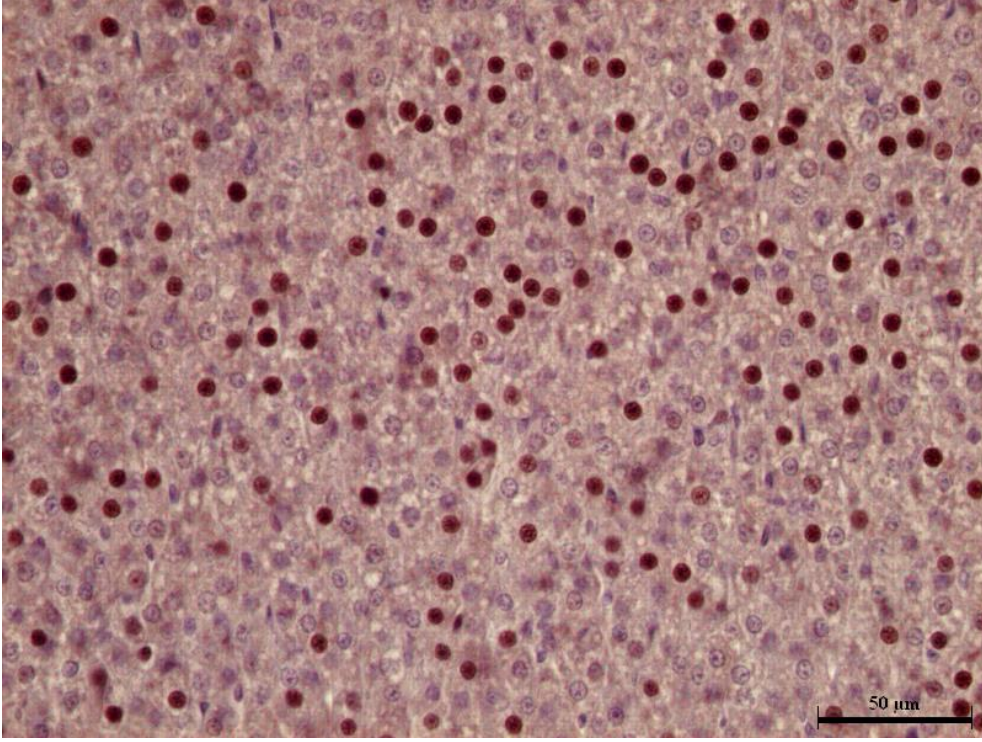
4.7. İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları

Adrenal dokuda yapılan immünohistokimyasal boyamalarda yağ kontrol grubuna ait 11 β Hidroksilaz (CYP11B1) Şekil 4.38., Aldosteron sentaz (CYP11B2) ise Şekil 4.43.'de gösterilmiştir. Bulgular incelendiğinde kortizol biyosentezinin son basamağında görev alan CYP11B1'in BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre daha yoğun boyandığı Şekil 4.39. ve Şekil 4.41'de görülmektedir. CYP11B2'nin immünohistokimyasal boyanması incelendiğinde ise yine BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 10 mg/kg/gün ile 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre daha yoğun ve geniş bir alanda boyanma Şekil 4.39., Şekil 4.40. ve Şekil 4.41.'de tespit edilmiştir.

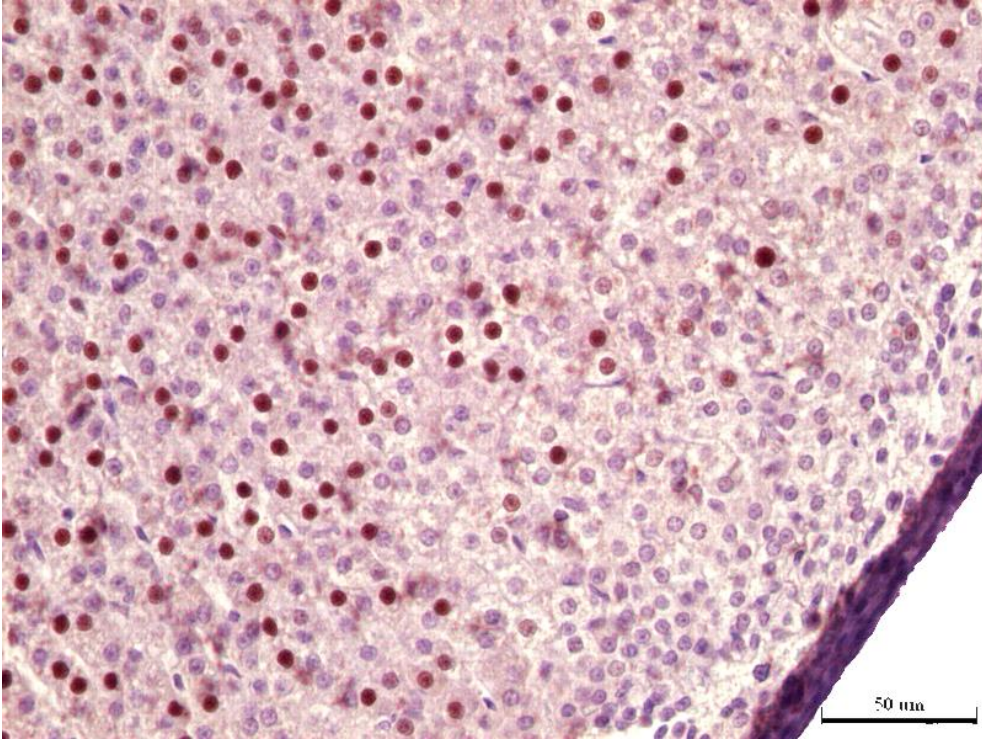
4.7.1. 11 β Hidroksilaz (CYP11B1)



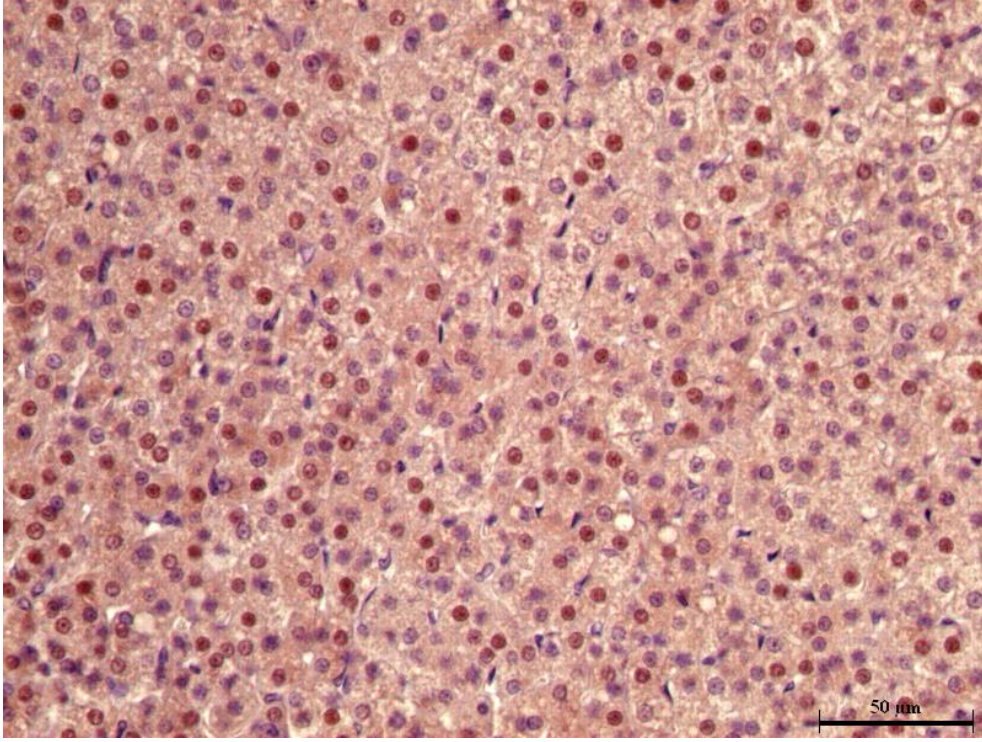
Şekil 4.38. Yağ kontrol grubuna ait CYP11B1 immünohistokimyasal boyama (400X).



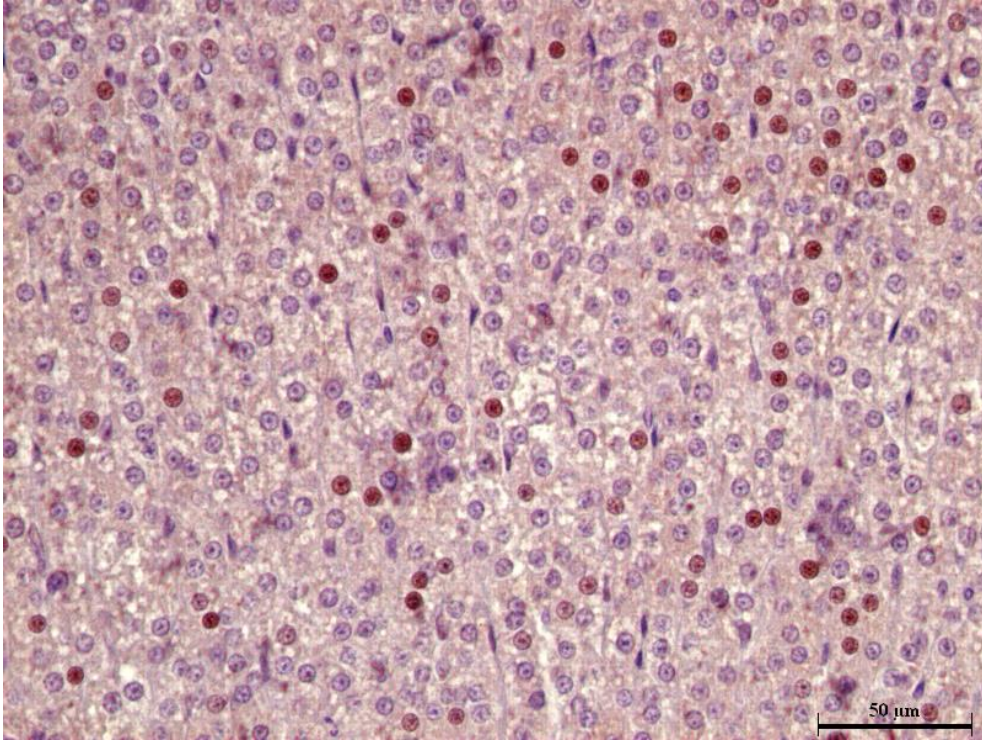
Şekil 4.39. BPA (50 mg/kg/gün) uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).



Şekil 4.40. 10 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).

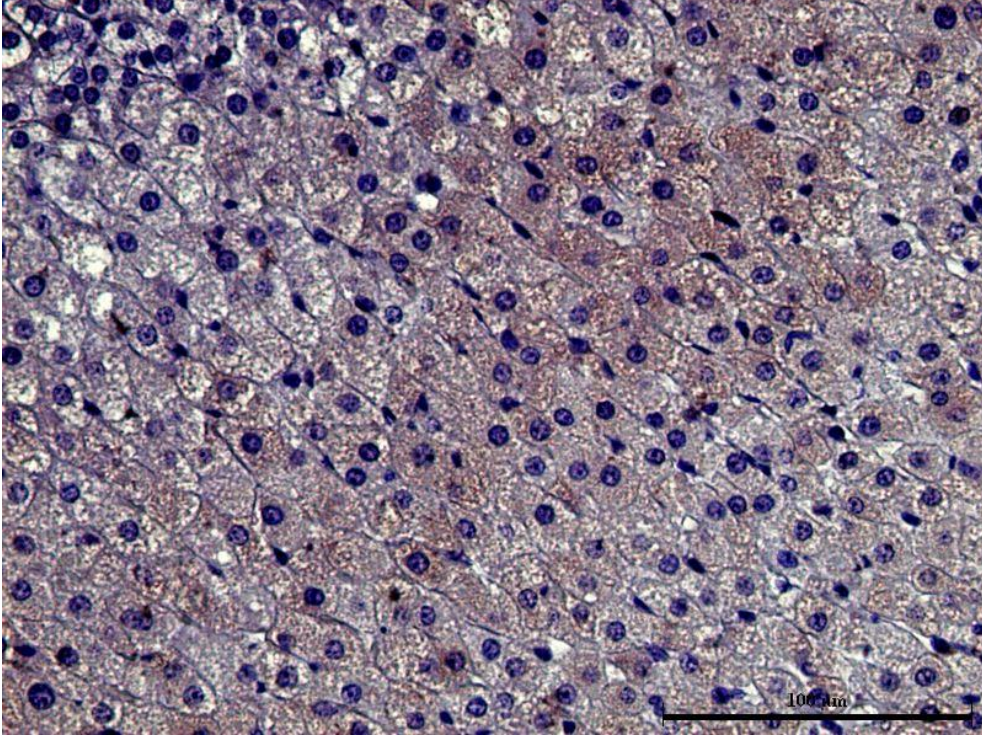


Şekil 4.41. 100 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).

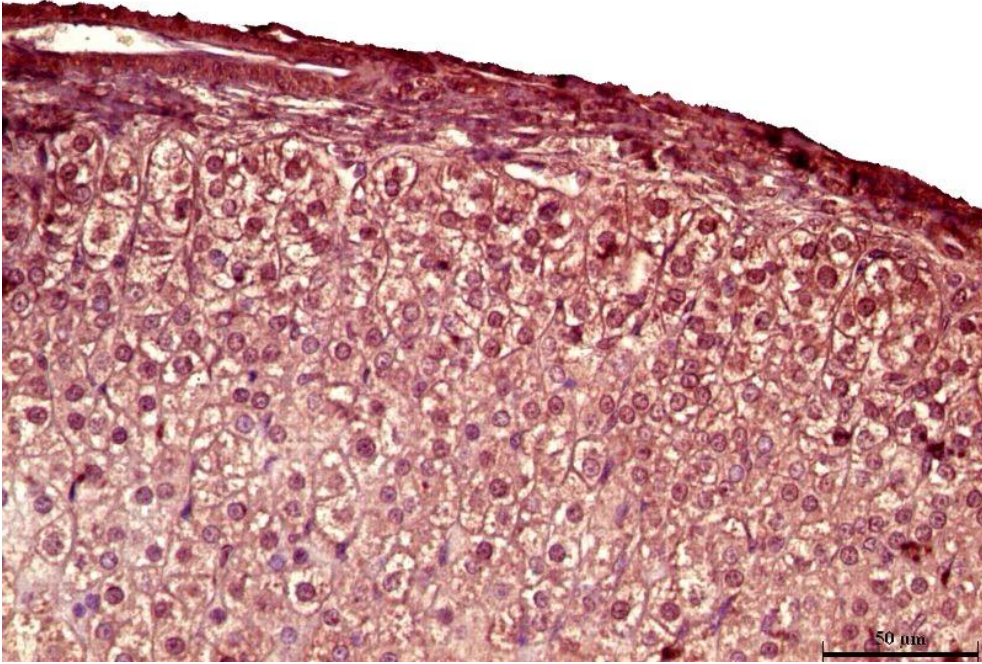


Şekil 4.42. 500 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B1 boyanması (400X).

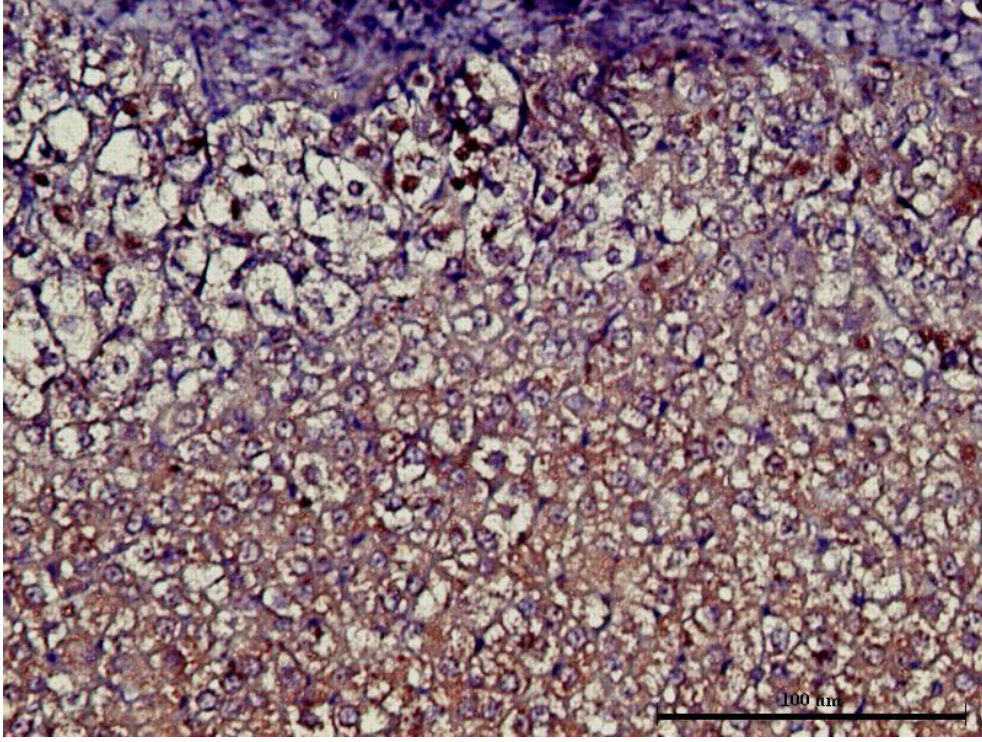
4.7.2. Aldosteron sentaz (CYP11B2)



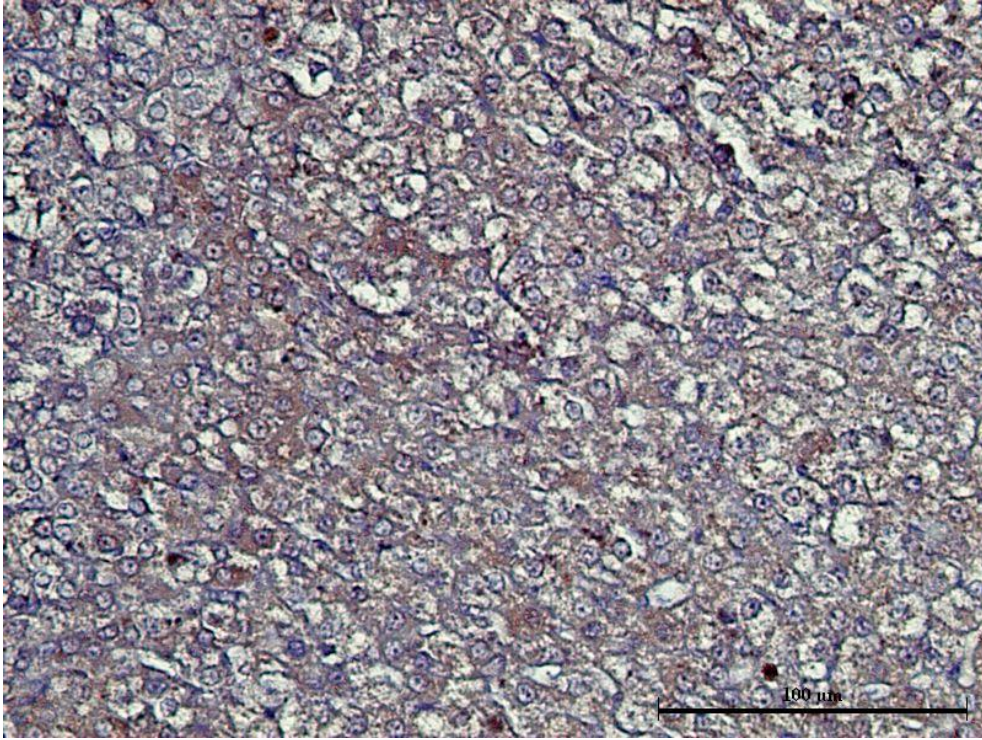
Şekil 4.43. Yağ kontrol grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).



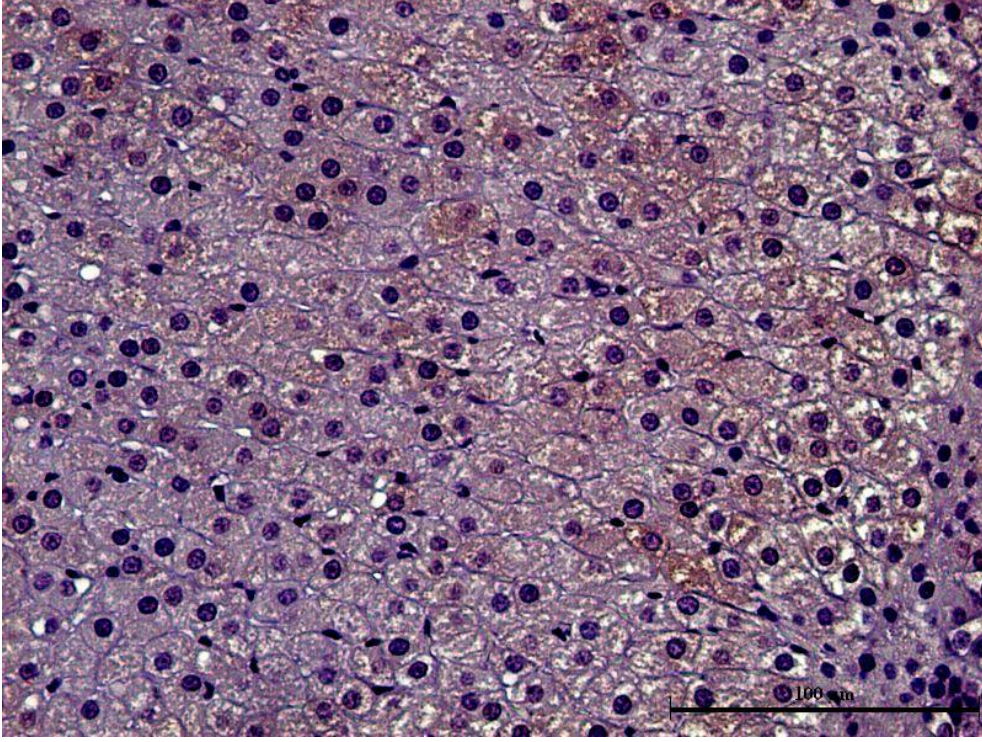
Şekil 4.44. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).



Şekil 4.45. 10 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).



Şekil 4.46. 100 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).



Şekil 4.47. 500 mg/kg/gün uygulama grubuna ait CYP11B2 boyanması (400X).

5.TARTIŞMA

Kimyasallar günlük hayatımızın önemli bir bileşeni olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Endokrin sistem üzerinde zararlı etkileri olan bu kimyasalların bir kısmı endokrin bozucu bileşikler olarak bilinmektedir. Endokrin bozucuların sağlık üzerindeki etkileri gebelik döneminden başlayarak, yaşam boyu devam ederek gelecek nesillerde birçok sorunlara neden olabilmektedir [30].

Parabenler antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları için kozmetik, farmasötik, gıda ve endüstriyel ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlar arasında metil paraben ve propil paraben en sık tercih edilen ve çoğunlukla koruyucu madde olarak birlikte kullanılan bileşiklerdir [75].

Son yıllarda paraben maruziyetinin etkileri üzerine yapılan çalışmalar arttıkça bu maddelerin endokrin bozucu kimyasallar olarak sınıflandırılmasına gidilmiştir [76].

Parabenlerin toksik etkilerinin araştırılması konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Önceleri parabenlerin tüm ürünlerde güvenle kullanılabilceği ve herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bilinmekteydi. Ancak, bu bileşiklerin endokrin bozucu etkisi ile ilgili daha hassas çalışmaların yapılması, bilim dünyasının dikkatini Parabenler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bunlarla ilgili çalışmalardan birkaçı özetlenerek paraben maruziyetinin olumsuz etkisi üzerinde durulmuş ve çalışmanın önemi vurgulanmaya çalışılmıştır.

37 haftalık sağlıklı gebe kadınlardan alınan maternal ve kordon kanından elde edilen plazma örneklerinin incelendiği bir çalışmada, maternal plazma örneklerinin %59,3'ünde metil paraben, %81,5'inde propil paraben ve %85,2'sinde BPA, kordon kanından elde edilen plazma örneklerinin ise %63'ünde metil paraben, %55,6'sında propil paraben, %75,1'inde BPA saptanmıştır. Ayrıca metil paraben ve propil parabenin kordon kanında tespit edilen baskın paraben çeşitleri olduğu da vurgulanmıştır [77].

Danimarka'da 60 sağlıklı erkek üzerinde yapılan bir çalışmada idrar, serum ve seminal plazmadaki paraben konsantrasyonlarına bakılmıştır. Parabenlerin idrar konsantrasyonları metil-, etil-, n-propil- ve n-bütül paraben için sırasıyla %98, %80, %98 ve %83 olarak ölçülmüştür. Ayrıca metil ve n-propil paraben serum ve seminal plazma örneklerinin çoğunda tespit edilmiştir [78].

İdrar örneklerinin incelendiği bir başka çalışmada ise idrarda en yüksek düzeyde tespit edilen parabenlerin metil paraben ve propil paraben olduğu belirtilmiştir [79].

Bledzka ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada parabenlerin sucül yaşam üzerindeki etkisi incelenmiş ve 20 tür balık dokusunda parabenlere rastlandığı belirtilmiştir. Metil paraben, propil paraben ve bütil paraben, analiz edilen balık örneklerinin %90'ında tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyon ise metil paraben için ölçülmüştür [50].

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde parabenlerin hem vücut sıvılarında hem de dokularda tespit edildiği görülmektedir. Bu maruziyetin sadece insan düzeyinde değil sucül ve karasal canlıları da etkilediği görülmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise fetal dönemden ergin döneme kadar her süreçte bu maddelere maruz kalındığını söylemek mümkündür. Metil paraben ve propil parabenin birçok alanda en sık kullanılan paraben çeşitleri olması nedeniyle paraben maruziyetinin temelini oluşturdukları yapılan çalışmalarda görülmektedir.

Bu nedenle bu çalışmada metil paraben ve propil parabenin birlikte maruziyetinin hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması hedeflenerek deneyler bu doğrultuda planlanarak yapılmıştır. Bu kapsamda metil paraben ve propil paraben 1:1 oranında karıştırılarak mısır yağı ile birlikte 30 gün boyunca oral gavaj yöntemiyle erkek sıçanlara verilmiştir. Uygulamalara, sıçanlar 42 günlükken başlanmış ve 72 günlükken son bulmuştur. Dolayısıyla çalışma hassas bir dönem olan prepubertal dönemi kapsamaktadır.

Sıçanlar uygulama başlamadan önce ağırlıklarına göre rastgele dağıtılmıştır. Dolayısıyla başlangıç ağırlıkları arasında herhangi bir farklılık bulunmamaktadır. Çalışma sonunda elde edilen veriler incelendiğinde ise vücut, organ ve rölatif organ ağırlıklarında bir değişim gözlenmemiştir.

Endokrin bozucularla yapılan çalışmalar incelendiğinde bazı çalışmalarda organ ağırlıklarında artışlar tespit edilmiştir [80]. Literatüre bakıldığında organ ağırlığındaki artışların genellikle üreme sistemine ait organlarda olduğu görülmektedir. Endokrin bozucu etkisi bilenen BPA ve oktilfenol ile yapılan bir çalışmada epididimis, prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında artış olduğu tespit edilmiştir [46]. Parabenler ile yapılan bazı çalışmalarda ise vücut ağırlığında artış, organ ağırlıklarında düşüş gözlemlendiği ileri sürülmüştür [81].

Ancak parabenler ile yapılan çalışmalara genel olarak bakıldığında akut ve subkronik uygulamalarda vücut ve organ ağırlıklarının genellikle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilenmediği, bu değişim için daha uzun süreli ya da daha yüksek doz içeren çalışmaların yapılması gerektiği söyleyebiliriz.

Hematolojik analiz; kan, kemik iliği, immünolojik, hemostatik ve vasküler sistem hastalıklarının teşhisi, tedavisi ve önlenmesi dahil olmak üzere kan örneklerinin incelenmesidir. Ayrıca bu analizler hayvan hastalıklarının tanı ve tedavisinde de kullanılmaktadır [82].

Kısaca hematolojik parametreler hem hayvanlar hem de insanlar için fizyolojik ve patolojik durumun önemli göstergesidir [83].

Çeşitli bilimsel topluluklar tarafından oluşturulan ortak bir komitenin laboratuvar hayvanlarında güvenlik ve toksisite çalışmaları için önerdiği bir hematoloji testi lökosit#, eritrosit#, trombosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu, hematokrit, MCV, MCH ve MCHC değerlerini içermektedir [82]. Çalışmamızda yapılan kan analiz parametreleri önerilen bu değerleri içermektedir.

Çalışmamızda hematolojik incelemeler sıçanlar bayıldıktan sonra alınan terminal kan örneklerinde çalışılmıştır. Toplanan kanın 1,5-2 ml'si pıhtılaşmadan K3 EDTA'lı tüplere alınmış ve bekletilmeden MS9-5 cihazında okutularak birçok değere bakılmıştır. Elde edilen sonuçlarda istatistiksel analiz yapıldığında %Lenfosit-Granülosit-PDW-RDW değerleri ile MPV, MCV, MCH ve MCHC değerlerinde yağ grubuna göre anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

MCV, MCH, MCHC, %RDW ve %PDW değerleri birbirleriyle ilişkidir. Bu değerlerinin yüksek ya da düşük olması genellikle B12 vitamini ve folik asit ile ilişkilendirilmektedir. MPV değerlerinin enfeksiyon, kanser gibi durumlarda değiştiği bilinmektedir. Ayrıca bu değerler anemi için de birer belirteçtir. Bazı karaciğer hastalıklarında bu değerlerin yükseldiği bilinmektedir. Granülositler ise bağışıklık sistemimizin bir parçasıdır ve genellikle enfeksiyon durumlarında kandaki değerleri yükselmektedir [84, 85].

Çalışmamızda BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda ve tüm uygulama gruplarında (10-100-500 metil paraben+propil paraben) MCV, MCH, MCHC, %PDW ve %Granülosit değerlerinin arttığı saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen değerler yağ kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. MCV değerlerindeki artışlar BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben

uygulama grubunda, %PDW değerleri BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında, MCHC değerlerindeki artışlar sadece 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben grubunda, MCH ve %Granülosit değerlerindeki artış ise tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edilmiştir. MPV değerlerinin yağ kontrol grubuna göre tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azaldığı, %RDW değerlerinin de yağ kontrol grubuna göre tüm deney gruplarında azaldığı ve bu azalmanın BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Bu değerlerdeki artış ve azalmanın metil paraben ve propil parabenin karaciğere verdiği hasardan kaynaklandığını söyleyebiliriz. Kimyasal maddelerin vücutta inflamasyona neden olduğu bilinmektedir. İnflamasyon durumunda %Granülosit değerleri artmaktadır. Bu durumda % Granülosit miktarındaki artışın metil paraben ve propil parabenin vücutta oluşturduğu muhtemel inflamasyona yanıt olarak meydana geldiğini söyleyebiliriz.

Artan serum kortizol seviyelerinin immün sistemi her aşamada baskıladığı bilinmektedir. Dolayısıyla %Lenfosit değerlerindeki BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10 ile 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarındaki istatistiksel olarak anlamlı düşüşün baskılanan immün sistemden kaynaklandığını söyleyebiliriz. İmmün sistemin baskılanmasının sonucu olarak organizma enfeksiyonlara açık hale gelmektedir. Bu nedenle çeşitli hastalıklara yakalanma riski de artmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal analiz sonuçları karaciğer ve böbrek histopatolojisi ile birlikte tartışılmıştır. Böbrek fonksiyonlarının belirleyicisi olarak serum üre değerleri incelenmiştir. Karaciğer fonksiyonlarının belirleyicisi olarak ise serum albümin değerleri incelenmiştir. Serum trigliserit seviyeleri lipit metabolizmasında merkezi rolde görev alan karaciğer açısından incelenmiştir. Hem böbrek fonksiyonları hem de karaciğer fonksiyonu için önemli bir belirteç olarak bilinen serum kreatinin ve ALT, AST değerleri ise her iki organ açısından da incelenmiştir.

Karaciğer ve böbrekler, vücudumuzda birçok fonksiyona sahip organlardır. Bu organların önemli rollerinden biri atık ürünlerin ve toksik maddelerin detoksifiye edilmesi ve vücuttan atılmasıdır. Bu organların fonksiyonlarındaki bozulma bazı enzimlerin kan dolaşımına sızmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, kanda bazı enzimlerin artışı, normalin dışında karaciğer ve böbrek fonksiyonunun bir işareti olarak görülmektedir. Aminotransferazlar olarak bilinen AST ve ALT karaciğer hücrelerinin sitoplazmalarında

bulunan enzimlerdir. Hepatositler zarar gördüğünde AST ve ALT kana salınmakta ve serum AST veya ALT seviyeleri artmaktadır ve bu durum genellikle karaciğer hasarına işaret etmektedir [82, 83].

Çalışmamızda elde edilen serum ALT değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm deney gruplarında (50 mg/kg/gün BPA ve metil paraben ve propil paraben 10-100-500 mg/kg/gün) artış olduğu görülmektedir ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Serum AST seviyeleri incelendiğinde ise BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10 ile 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Bu artışın karaciğer dokusunda histopatolojik olarak tespit edilen hücresel dejenerasyondan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ancak karaciğer hasarında asıl belirleyici olan AST/ALT oranıdır. Bu oranın sağlıklı karaciğere sahip insanlarda yaklaşık 1 olması beklenmektedir. Çalışmamızdaki verilere bakıldığında kontrol grubunun AST/ALT oranı genel kaniye uygun olarak 1,05 olarak bulunmuştur. Serum AST/ALT oranı 50 mg/kg/gün BPA pozitif kontrol grubu ve 10-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz uygulama gruplarında yağ kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. 100 mg/kg/gün doz uygulama grubunda ise yağ kontrol grubuna göre bir azalma gözlenmiştir ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu artışın sebebi olarak AST'nin karaciğer hücrelerindeki hasar kaynaklı olarak hücre sitoplazmasından sızmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir [86].

Üre vücutta protein metabolizmasının son ürünüdür. Böbrek fonksiyonlarındaki bozukluklar kan üre seviyesinin yükselmesine ya da düşmesine neden olabilmektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında 10 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında serum üre seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı olarak düştüğü görülmektedir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda da bir düşüş gözlenmiş ancak standart sapma göz önüne alındığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Böbrek yapısında meydana gelen bozulmalar üre seviyesinde değişikliklere, çoğunlukla da artışa neden olmaktadır. Çalışmamızda incelenen böbrek dokularında glomerulusta atrofi, tübüler dejenerasyon ve böbrek yapısının bozulması birçok bulgu elde edilmiştir. Ancak böbrek yapısındaki bozulmaların üre seviyesinde artışa neden olması beklenmiştir. Bu nedenle azalan serum üre değerlerinin ürenin metabolizmasının gerçekleştiği yer olan karaciğerdeki bozulmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kreatinin, kreatininin kastaki parçalanmasıyla üretilen protein olmayan azotlu bir bileşiktir. Kreatinin, serum, plazma ve idrarda bulunmakta ve değişikliğe uğramadan glomerüler filtrasyon yoluyla atılmaktadır. Dolayısıyla kreatinin, böbrek fonksiyonunun önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Serum kreatinin seviyesinin, yetersiz glomerüler filtrasyonla arttığı bilinmektedir ancak çoğu hayvanda, böbrek fonksiyonunun %50-75'i kaybolana kadar serum kreatinin seviyelerinin referans aralığında kaldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle böbrek hasarlarında serum kreatinin seviyeleri bir biomarker olarak kullanılmaktadır [82, 87].

Kreatinin karaciğer tarafından da sentezlenmektedir. Dolayısıyla karaciğer sağlığı için de önemli bir göstergedir. Çalışmamızda elde edilen serum kreatinin sonuçlarına bakıldığında, BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama dozlarında yağ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. 500 mg/kg/gün doz grubunda da serum kreatinin seviyelerinde azalma görülmüştür ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. 10 mg/kg/gün doz grubunda da serum kreatinin seviyesinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Böbrek histopatolojisine bakıldığında metil paraben ve propil paraben uygulamasının böbrek yapısında bozulmalar meydana getirdiği açıktır. Dolayısıyla bu durumun serum kreatinin seviyelerinde azalma ya da artma meydana getirmiş olduğu söylenebilir.

Son zamanlarda Triasilgliseroller olarak bilinen trigliseritler gliserol ve üç yağ asidinden türetilen esterlerdir. Trigliseritlerin metabolizmada enerji kaynağı ve diyet yağının taşıyıcısı olarak önemli görevleri vardır. Ayrıca trigliseritler düşük yoğunluklu lipoprotein ana bileşenidir. Bu nedenle klinik öneme sahiptirler dolayısıyla insan ve hayvanlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda sıklıkla test edilmektedirler [82, 88-90].

Karaciğer tüm vücut lipid homeostazında merkezi bir rol oynamaktadır. Bu nedenle karaciğere ilişkin hastalıklarda yüksek trigliserid değerleri bir risk faktörü olarak görülmektedir [91].

Çalışmamızda serum trigliserid seviyesinin 100 mg/kg/gün metil paraben ve propil paraben doz grubunda yağ kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca diğer doz grupları ve pozitif kontrol grubunda da yağ kontrol grubuna göre artışlar tespit edilmiş ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Histopatolojik

sonuçlara bakıldığında karaciğer dokusundaki hücresel bozulmaların serum trigliserid seviyelerini etkilediği söylenebilir.

Albümin, karaciğerde üretilen ve ozmotik basıncın korunmasına yardımcı olan önemli bir serum proteindir [82]. Serum albümin seviyelerindeki azalma, vücuttaki protein eksikliğinin bir göstergesi ve yetersiz beslenme belirtisi olarak ifade edilmektedir [92].

Albümin seviyelerindeki artış veya azalış, vücuda protein alımı, yeterli veya yetersiz protein sindirimi veya protein absorpsiyonunda bir bozukluk ya da hastalığın sonucu olabilmektedir. Buna ilave olarak genellikle artmış kortizol seviyelerinin plazma albümin seviyelerini de arttırması beklenir ancak bazı çalışmalarda artmış serum kortizol seviyeleri ile düşük serum albümin değerleri ilişkilendirilmektedir. Dolayısıyla serum albümin seviyesindeki değişiklikler karaciğer hastalıkları için bir belirteç olarak kullanılmaktadır [92, 93].

Çalışmamızdaki verilere bakıldığında BPA pozitif kontrol ve diğer tüm doz uygulama gruplarında (metil paraben ve propil paraben 10-100-500 mg/kg/gün) yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu durumun metil paraben ve propil paraben'in karaciğere verdiği hasardan kaynaklandığı ya da böbrekte meydana gelen bozulmalardan dolayı albüminin idrarla atılmış olabileceğini söyleyebiliriz.

Glikoz karbonhidrat metabolizmasının bir ölçüsüdür. Glikoz konsantrasyonu beslenme, hormonlar, açlık ve anestezi gibi birçok faktörden etkilenmektedir [82].

Çalışmamızda incelenen serum glikoz seviyelerine bakıldığında BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Glikoz seviyelerindeki bu artış serum kortizol seviyelerinin artmasıyla ilişkilendirilmektedir. Kortizol yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasında oldukça önemlidir. Sonuç olarak artan kortizol hormonun glikojenezde de artışa sebep olduğu dolayısıyla dokular tarafından glikoz kullanımının azalmasından kaynaklı serum glikoz seviyelerinin arttığı düşünülmektedir. Ayrıca serum kortizol seviyelerindeki artışın pankreatik β hücre disfonksiyonuna neden olduğu ve insülin salgılanmasını azalttığı bilinmektedir. Bir insektisit olan karbofuranın akut toksik etkisinin incelendiği bir çalışmada serum kortizol seviyesinin %202 kat arttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada incelenen glikoz seviyelerinin ise 2 ya da daha fazla arttığı belirtilmiştir. Dolayısıyla metil

paraben ve propil parabenin pankreas β hücrelerinde dejenerasyona neden olarak serum glikoz seviyelerinin yükselmesine neden olmuş olabileceği de düşünülmektedir [94, 95].

Karaciğer hasarlarında damar ve sinuzoidlerde kan birikmesi, dokuda konjesyon, dejenerasyon ve nekroz dahil olmak üzere birçok histopatolojik bulgu tespit edilmektedir [96]. Çalışmamızda histopatolojik açıdan incelenen karaciğer dokularında hepatik parankimada dejenerasyon, hücresel dejenerasyon, kistik dejenerasyon, konjesyon, ödem ve nekrotik alan gibi birçok bulgu tespit edilmiştir. Dolayısıyla hem BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunun hem de 10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarının karaciğer hasarına neden olduğunu söyleyebiliriz. Tüm deney gruplarında gözlenen karaciğer hasarı serum ALT ve AST artışını desteklemektedir.

Çalışmamızda incelenen böbrek dokularında glomerular atrofi, böbrek yapısının ve tübüler yapının bozulması, hiperplazi gibi birçok histopatolojik bulgu elde edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda böbrek fonksiyonlarının bozulduğu söylenebilir. Çalışmada incelenen tüm organlarda patolojik bulgular elde edilmiştir. Ancak hem BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu hem de 10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarındaki böbrek dokuları incelendiğinde en büyük hasarın böbrek dokusunda olduğu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda elde edilen serum ACTH, kortizol, aldosteron, androstenedion değerleri hipofiz bezi ve adrenal bezin histopatolojisi ile birlikte tartışılmıştır. Buna ilave olarak serum aldosteron ve kortizol seviyeleri adrenal bezde immünohistokimyasal olarak çalışılan ve sırasıyla kortizol ve aldosteron sentezinde görev alan CYP11B1 ve CYP11B2 boyanması ile birlikte tartışılmıştır. Serum DHT (dihidrotestosteron) seviyeleri ayrı olarak ele alınmıştır.

Hipofiz bezi çok çeşitli sistemik bozukluklardan etkilenebilmektedir. Hipotalamus-hipofiz eksenin işlev bozukluğu, genellikle tropik hormonların aşırı salgılanması veya az salgılanması sonucu meydana gelmektedir [5, 97].

Akut stres ve hastalıklar ile ACTH ve kortizol salgılanmasının arttığı bilinmektedir. Bu durumun hipotalamustan CRH salınımının artmasına bağlı olabileceği gibi vazopressin gibi diğer faktörlerin ACTH salgılanmasını doğrudan uyarmasıyla da gerçekleşebilmektedir [97].

Birçok ilacın hipofiz bezinin fonksiyonunu değiştirdiği bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda alkol uygulamasının ACTH ve kortizol salgılanmasını uyardığı

bildirilmektedir. Kronik olarak alkol tüketiminin serum kortizol seviyesini sürekli olarak yüksek tuttuğu belirtilmiştir. Sigara kullanımı da nikotin kaynaklı olarak plazma kortizol ve ACTH seviyelerini yükseltmektedir. 500 mg akut kafein uygulamasının (günde 5 bardak) ACTH ve kortizol seviyelerini hafif de olsa etkilediği ileri sürülmüştür [98].

Buna ilaveten yapılan bir çalışmada, erkek sıçanlarda endokrin bozucu olduğu bilinen bir fitalat uygulaması sonucunda ACTH ve kortizol salgılanmasını arttırdığı belirtilmiştir [99].

Glukokortikoid sinyalleşmesi, birçok çevresel ajandan etkilenmektedir. Kozmetik ürünlerde kullanılan ajanlar ve ditiyokarbamatların steroidogenezisde rol alan 11 β -hidroksisteroid dehidrojenaz enzim aktivitesini inhibe ederek glukokortikoid sinyal yolunu etkilediği bildirilmiştir. Bu enzimin inhibisyonunun, kortizol üretiminin artmasına neden olduğu belirtilmiştir [33].

Çalışmamızda ACTH ve serum kortizol seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır. Bu artışlar hem ACTH hem de kortizol için BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Hipofiz bezinde ACTH üretimindeki bu artışın, adrenal bezler tarafından salgılanan bir glukokortikoid olan serum kortizol seviyelerinin yükselmesine neden olduğu ayrıca bu ACTH seviyelerindeki artışın dolaşımdaki glukokortikoidlerin negatif geri bildirim mekanizmasındaki bir değişikliği yansıtabileceği düşünülmektedir [5, 9].

Ayrıca yapılan histopatolojik boyamalarda BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve tüm uygulama gruplarında (10-100-500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben) hipofizin adenohipofiz dokusundaki kromofob hücrelerinde sitoplazmada sitokeratin birikmesi sonucu olduğu bilinen Crooke hiyalin halkası saptanmıştır. Crooke hiyalin halkası insanlarda glukokortikoid ve ACTH ve kortizol hormonlarının aşırı sentezlendiği Cushing Sendromu (hiperadrenalizm) gibi hastalıklarda hipofiz bezinde kortizolün aşırı salgılanmasına yanıt olarak olduğu düşünülen patolojik bir belirtidir. Diğer histopatolojik bulgular gibi Crooke hiyalin halkası için de Fisher istatistiksel analizi uygulanmış ve BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz uygulama gruplarında anlamlı sonuç alınmıştır.

10 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben doz uygulama gruplarında gözlenen Crooke hiyalin halkasının da anlamlı olarak düşünülmektedir. Bu histopatolojik

bulgu ACTH ve kortizol hormonlarının serum değerlerindeki artışı histopatolojik açıdan desteklemektedir [100, 101].

Yüksek hücre dışı potasyum seviyelerinin aldosteron sentezini indüklediği bilinmektedir. Endokrin bozucu olan PCB16 ile yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar PCB126'nın yüksek konsantrasyonlarda potasyum ve Anjiyotensin II ile sinerji içinde çalıştığı belirtilmektedir [102, 103]. Çalışmamızda BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10-100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama gruplarında serum aldosteron değerlerinin yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir. Bu artışın metil paraben ve propil parabenin hücre dışı potasyum seviyelerini etkilediği ya da Anjiyotensin II ile sinerjik etki göstererek olmuş olabileceği söylenebilir.

Ancak tek başına hormonal çalışmalar, adrenal steroid metabolizması hakkında önemli veri sağlamak için yeterli olmamaktadır. Bu nedenle, adrenal steroid üretimi ve metabolizması incelenirken spesifik bir steroidogenik enzimin lokalizasyonunu bilmek önemlidir [104].

Bu amaçla çalışmamızda kortizol ve aldosteron hormonlarının serum seviyelerindeki değişimlerin enzimatik boyutta incelenebilmesi için CYP11B1 (kortizol biyosentezinde görevli) ve CYP11B2 (aldosteron sentezinde görevli) boyanması immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

2004 ve 2005 yıllarında endokrin bozucu olarak bilinen poliklorlu bifenillerin in vitro adrenal korteks hücreleri (H295R) üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda Poliklorlu bifenil 126'nın artan konsantrasyonlarda uygulanmasıyla aldosteron ve kortizol seviyesinin yükseldiği, bununla birlikte adrenal bezde CYP11B2 ve CYP11B1 ifadelerinin de arttığı tespit edilmiştir. PCB126'nın, post-transkripsiyonel mRNA stabilitesini arttırarak CYP11B1 ve CYP11B2 mRNA ifadesini artırdığı şeklinde yorumlanmıştır [102, 103, 105].

Aldosteron sentaz ifadesinin incelendiği bir çalışmada sıçanlarda düşük tuz içeren diyet uygulamasının aldosteron sentazı (CYP11B2) ifade eden hücre katmanlarının sayısında ve zona glomerulosanın genişliğinde artışa neden olurken, yüksek tuzlu diyet uygulamasının aldosteron sentaz ifade eden hücrelerin sayısında bir düşüşe neden olduğu bildirilmektedir [106].

Primer aldosteronizme neden olan bazı tümörlerde yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda CYP11B2 ifadesinin plazma aldosteron seviyesiyle pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir [107].

Kortizolün aşırı üretimine neden olan adrenal adenomlarda da CYP11B1'in boyanmasının arttığı bilinmektedir. CYP11B1 boyanmasındaki artışın bazı transkripsiyonel faktörlerler (SF-1) de pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir [108].

Aldosteron üretiminin son basamağında görev alan CYP11B2'nin boyanması incelendiğinde BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 10mg/kg/gün ile 100mg/kg/gün uygulama grubunda yağ kontrol grubuna göre nispeten daha yoğun ve geniş bir alanda boyanma saptanmıştır.

Kortizol üretiminin son basamağında yer alan CYP11B1'in boyanması incelendiğinde ise yine serum kortizol seviyesine paralel olarak enzim miktarının arttığı görülmektedir.

CYP11B2 boyanması artışın hücre dışı sodyum-potasyum konsantrasyonundan kaynaklanabileceği ya da metil paraben ve propil paraben'in Anjiyotensin II ile sinerjik etki göstermiş olabileceğini düşündürmektedir. CYP11B1 boyanması artışın ise artan ACTH hormonuna bağlı olarak yükselen kortizol hormon üretiminin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ayrıca artan serum kortizol ve aldosteron hormon seviyeleri DNA metilasyonu ile de ilişkilendirilmektedir.

DNA metilasyonu gen ekspresyonunu düzenleyen temel bir mekanizmadır. Genel olarak metillenmemiş DNA bölgelerinde gen transkripsiyonun aktif olduğu, metillenmiş DNA bölgelerinde ise gen ifadesinin azaldığı bilinmektedir. Son çalışmalarda aldosteron üreten adenomlarda aldosteron sentazın aşırı artışının DNA hipometilasyonu ile regüle edildiği gösterilmiştir. Aşırı kortizol üretimine neden olan adenomlarda yapılan çalışmalarda da CYP11B1 promotörünün önemli derecede az metillendiği bildirilmiştir [109-112]

Ancak parabenlerin CYP11B1 ve CYP11B2 immünohistokimyasal boyanması üzerindeki etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla çalışma kapsamında incelenen bu iki enzimin boyanmasındaki değişikliğin doğrudan metil paraben ve propil paraben etkisiyle mi olduğu ya da metil paraben ve propil paraben'in organizmada neden olduğu olumsuz etkiler sonucunda mı meydana geldiği kesin olarak bilinmemektedir. Bu nedenle parabenlerin bu iki enzim üzerindeki etkisinin belirlenebilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Endokrin bozucu aktivitesi bilinen kimyasallarla yapılan çalışmalar incelendiğinde bu kimyasalların adrenal bezde hücrel dejenerasyon, kortikal nodül, konjesyon ve nekroz gibi önemli bulguların elde edildiği belirtilmiştir [113]. Çalışmamızda adrenal bezde hücrel dejenerasyon, nodül, kortikal nekroz, artmış vakuolizasyon ve hiperplazi gibi birçok önemli bulgu gözlenmiştir. Ayrıca BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda serum ACTH ve serum kortizol hormonlarının artışı histopatolojik olarak destekleyen önemli bir patolojik bulgu olarak Crooke hiyalin halkaları tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular endokrin bozucuların adrenal üzerindeki etkisini gösteren diğer çalışmalarla uyumludur.

Adrenal androjen salgılanmasının hastalık başlangıcında akut olarak uyarıldığı, ancak uzun sürede normalin altına düştüğü belirtilmektedir [97].

Çalışmamız subkronik dönemi kapsadığından androstenedion ve dihidrotestosteron hormonlarındaki artış tespit edilebilmiştir.

30-140 günlük erkek sıçanlarda normal serum DHT seviyelerinin 80–190 pg/mL aralığında olması beklenmektedir [114]. Çalışmamızda yağ kontrol grubunda ortalama serum DHT hormon seviyesi de bu aralığa uygun olarak 164 pg/mL olarak tespit edilmiştir. Dihidrotestosteron seviyesindeki artış BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 10 mg/kg/gün ile 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben dozlarında anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Dihidrotestosteron testosteronun metabolitidir. Çalışmamızda testostereona dönüşen androstenedion hormonunun arttığı tespit edilmiştir. Androstenedion seviyesindeki bu artışın testosteron hormonunu ve dolayısıyla da dihidrotestosteron hormonunun serum seviyesini arttırmış olabileceği söylenebilir.

Li ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada H295R (adrenal korteks hücreleri) hücre hattına endokrin bozucu aktivitesi olan PCB126 uygulanmıştır. Çalışma sonunda androstenedion seviyelerinde doza bağlı olarak azalma görüldüğü belirtilmiş ve bu azalmanın sitokrom p450 ailesinden CYP17 enzim ifadesinin azalması ile ilişkilendirilmiştir [103].

Ancak çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında serum androstenedion seviyelerinin BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubu ve 100 mg/kg/gün metil paraben+propil paraben uygulama grubunda yağ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmektedir. Dolayısıyla serum kortizol ve serum ACTH hormonları ile paralel bir sonuç elde edilmiştir. Hiperadrenalizmde serum androstenedion seviyelerinin

arttığı bilinmektedir. Dolayısıyla çalışmamızda artan serum androstenedion değerlerinin yükselmiş serum kortizol ve ACTH seviyeleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonucunda, endokrin bozucular ile yapılmış diğer çalışmalarla uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma hedeflerine uygun olarak metil paraben ve propil parabenin hipofiz bezi, adrenal bez, karaciğer ve böbrek üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu, ayrıca hormonal dengeyi ve biyokimyasal parametreleri olumsuz olarak etkilediğini söyleyebiliriz.

6. SONUÇ

1. CIR (cosmetic ingredient review) Uzman Panelinin kozmetik ürünlerinde koruyucu olarak kullanılan parabenlerin güvenliğini değerlendirdiği 2008 yılındaki panelde metil paraben ve propil parabenin de içinde bulunduğu parabenlerin mevcut kullanım ve konsantrasyon uygulamalarının güvenli olduğu belirtilmiştir. 2008 yılından bu yana yapılan in-vivo çalışmalarla parabenlerin sperm sayısını azaltma, bazı enzim ifadelerini azaltma, anogenital mesafede kısalma gibi birçok etkisinin belirtilmesi üzerine, 2017 yılında yapılan panelde bu parabenlerin güvenirliliği konusunda tekrar inceleme kararı alınmıştır. Ancak panelde, yapılan bazı çalışmaların yüksek paraben konsantrasyonu içerdiği, veri yetersizliği ya da çalışmaların farklı laboratuvarlarda farklı araştırmacılar tarafından yapılmasından kaynaklı olarak birbirleri ile çeliştiği kanısına vararak yine parabenlerin mevcut konsantrasyonlarda kozmetik ürünlerinde kullanımının güvenli olduğu kararına varılmıştır [63]. Bu kapsamda çalışmamız paraben toksikolojisi üzerine yapılan çalışmalara destek verici nitelikte olup çalışma ile kozmetik ürünlerinde sık ve genellikle birlikte kullanılan metil paraben ve propil parabene maruziyet sonucunda hemogram, serum biyokimya parametreleri ile ACTH, kortizol, aldosteron, androstenedion, DHT, hormonları üzerindeki etkileriyle ilgili veriler elde edilerek literatürdeki veri eksikliğine katkı sağlanmıştır.
2. Endokrin bozucu kimyasalların toksisitesi üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında genel olarak bu kimyasalların östrojenik ve anti östrojenik etkileri üzerinde durulduğu görülmektedir. Ancak adrenal korteks aldosteron, kortizol gibi hayati öneme sahip steroidlerin üretim ve salgılanma yeri olduğu için endokrin etkisi bulunan kimyasallar için en savunmasız hedefidir. Dolayısıyla adrenal steroidogenezdaki düzensizlik sağlık açısından hayati tehlikeye sahiptir [105]. Çalışmamızda endokrin bozucu kimyasalların toksik etkileri açısından diğer organlara göre ihmal edilmiş olan adrenal bez incelenerek aldosteron ve kortizol hormonları ile ilgili ve bu hormonların biyosentezinde görevli iki stereojenik enzim CYP11B1 ve CYP11B2'nin immünohistokimyasal olarak boyanması hakkında veri sağlanarak literatüre katkıda bulunulmuştur.
3. Endokrin bozucu kimyasalların etkilerinin doğrusal bir doz-cevap eğrisinde göstermediği bilinmektedir. Çalışmamızdaki veriler incelendiğinde istatistiksel

olarak anlamlı sonuçların 10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün doz uygulama gruplarında olduğu gör÷lmektedir. Biyokimya ve hormon analizlerindeki istatistiksel olarak anlamlı artış ve azalışın ters U şeklinde olduğu tespit edilmiş olup endokrin bozucular ile ilgili kabul gören görüşe destek sağlanmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- [1] P.W. Harvey, D.J. Everett, C.J. Springall, Adrenal toxicology: a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis, *Journal of Applied Toxicology*, 27 (2007) 103-115.
- [2] V.P. Eroschenko, diFIORE'nin Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, (R. Demir), Palme Yayıncılık, Ankara, 2013.
- [3] J.E. Hall, Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji, (çev: B. Çağlayan Yeğen), Nobel Yayıncılık, Ankara, 2013.
- [4] J.B. Reece, L.A. Urry, M.L. Cain, S.A. Wasserman, P.V. Minorsky, R.B. Jackson, *Campbell Biyoloji*, (çev: E. Gündüz, İ. Türkan), Palme Yayıncılık, Ankara, 2013.
- [5] J.C. Paz, J. Vizmeg, *Acute Care Handbook for Physical Therapists*, Chapter 10, 243-263, 2014.
- [6] F. Spiga, J.J. Walker, J.R. Terry, S.L. Lightman, HPA axis-rhythms, *Comprehensive Physiology*, 4 (2014) 1273-1298.
- [7] L. Panagiotakopoulos, G.N. Neigh, Development of the HPA axis: where and when do sex differences manifest?, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35 (2014) 285-302.
- [8] H. Vedder, *The Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis*, A. del Rey, G. P. Chrousos and H. O. Besedovsky (Eds), 17-31, 2007.
- [9] D.G. Braunstein, *The Pituitary*, Elsevier, Chapter 9, 2011.
- [10] A. Ben-Shlomo, S. Melmed, *The Pituitary*, Elsevier, Chapter 2, 2011.
- [11] O. Wang, J.A. Majzoub, *The Pituitary*, Elsevier, Chapter 3, 2011.
- [12] T.W. Sadler, *Langman Medikal Embriyoloji*, (çev: C. Başaklar), Palme Yayıncılık, Ankara, 2011.
- [13] J. Drouin, *The Pituitary*, Elsevier, Chapter 1, 2011.
- [14] X. Bertagna, L. Guignat, M.C. Raux-Demay , B. Guilhaume, F. Girard, *The Pituitary*, Elsevier, Chapter 16, 2011.
- [15] A. Adamsson, *The Effects of Endocrine Disrupters on Fetal Male Rat Testicular and Adrenal Development*, University of Turku, Departments of Physiology and Paediatrics and the Laboratory of Electron Microscopy, Finland, 2009.

- [16] P.W. Harvey, *Reproductive Toxicology: Endocrine Toxicology*, Elsevier, Chapter 11, 265-289, 2010.
- [17] T.J. Rosol, R.A. DeLellis, P.W. Harvey, C. Sutcliffe, Haschek and Rousseaux's *Handbook of Toxicologic Pathology*, Elsevier, Chapter 58, 2391-2492, 2013.
- [18] A.S. Tischler, A. Nyska, S.A. Elmore, *Reproductive Toxicology: Endocrine Toxicology*, Elsevier, Chapter 11, 291-311, 2010.
- [19] L. Schiffer, S. Anderko, F. Hannemann, A. Eiden-Plach, R. Bernhardt, The CYP11B subfamily, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 151 (2015) 38-51.
- [20] R.V. Lloyd, B.R. Douglas, W.F. Young, *Atlas of Nontumor Pathology: Endocrine Diseases*, D. West King (Eds), 2002.
- [21] C.E. Gomez-Sanchez, X. Qi, C. Velarde-Miranda, M.W. Plonczynski, C.R. Parker, W. Rainey, et al., Development of monoclonal antibodies against human CYP11B1 and CYP11B2, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 383 (2014) 111-117.
- [22] K. Ishimura, H. Fujita, *Light and Electron Microscopic Immunohistochemistry, Microscopy Research and Technique*, 36 (1997) 445-53.
- [23] A.E. Rudolph, E.R. Blasi, J.A. Delyani, Tissue-specific corticosteroidogenesis in the rat, (2000).
- [24] J. Rege, A.F. Turcu, T. Else, R.J. Auchus, W.E. Rainey, Steroid biomarkers in human adrenal disease, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 190 (2019) 273-80.
- [25] N.G. Hattangady, L.O. Olala, W.B. Bollag, W.E. Rainey, Acute and chronic regulation of aldosterone production, *Molecular Cell Endocrinology*, 350 (2012) 151-62.
- [26] T. Suwa, T. Mune, H. Morita, H. Daido, M. Saio, K. Yasuda, Role of rat adrenal antioxidant defense systems in the aldosterone turn-off phenomenon, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 73 (2000) 71-8.
- [27] K.M. Curnow, M.T. Tusie-Lunaf, L. Pascoe, R. Natarajan, J.L. Gu, J.L. Nadler, et al., The Product of the CYP11B2 Gene Is Required for Aldosterone Biosynthesis in the Human Adrenal Cortex, *Molecular Endocrinology*, 5 (10) (1991) 1513-22.
- [28] A.C. Gore, *Endocrine Disrupting Chemicals*, M.P. Conn (Eds), Humana Press, New Jersey, 2007.

- [29] P.D. Darbre, The history of endocrine-disrupting chemicals, *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, 7 (2019) 26-33.
- [30] C. Monneret, What is an endocrine disruptor?, *Comptes Rendus Biologies*, 340 (2017) 403-405.
- [31] A. Korkmaz, M. Aydogan, D. Kolankaya, N. Barlas, Vitamin C coadministration augments bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol induced oxidative damage on kidney of rats, *Environmental Toxicology*, 26 (2011) 325-337.
- [32] T.T. Schug, A. Janesick, B. Blumberg, J.J. Heindel, Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility, *Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology*, 127 (2011) 204-215.
- [33] P.S. Cooke, L. Simon, N.D. Denslow, Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology, Chapter 37, 1123-1154, 2013.
- [34] F. Maqbool, S. Mostafalou, H. Bahadar, M. Abdollahi, Review of endocrine disorders associated with environmental toxicants and possible involved mechanisms, *Life Sciences*, 145 (2016) 265-73.
- [35] Diamanti-Kandarakis, Endocrine-Disrupting Chemicals An Endocrine Society Scientific Statement, *Endocrine Reviews*, 30 (2009) 293-342.
- [36] M.B. Kjaerstad, C. Taxvig, H.R. Andersen, C. Nellemann, Mixture effects of endocrine disrupting compounds in vitro, *International Journal of Andrology*, 33 (2010) 425-33.
- [37] M.D. Anway, A.S. Cupp, M. Uzumcu, M.K. Skinner, Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility, *Science*, 308 (2005) 1466-1469.
- [38] M.D. Anway, M.K. Skinner, Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors, *Endocrinology*, 147 (2006) 43-49.
- [39] C. Freire, J.M. Molina-Molina, L.M. Iribarne-Duran, I. Jimenez-Diaz, F. Vela-Soria, V. Mustieles, et al., Concentrations of bisphenol A and parabens in socks for infants and young children in Spain and their hormone-like activities, *Environmental International*, 127 (2019) 592-600.
- [40] B.S. Rubin, Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects, *Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology*, 127 (2011) 27-34.
- [41] B.S. Rubin, A.M. Soto, Bisphenol A: Perinatal exposure and body weight, *Molecular Cell Endocrinology*, 304 (2009) 55-62.

- [42] P. Dualde, O. Pardo, F.F. S, A. Pastor, V. Yusa, Determination of four parabens and bisphenols A, F and S in human breast milk using QuEChERS and liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 1114-1115 (2019) 154-66.
- [43] C.A. Richter, L.S. Birnbaum , F. Farabollini, R.R. Newbold , B.S. Rubin , C.E. Talsness, et al., In Vivo Effects of Bisphenol A in Laboratory Rodent Studies, *Reproductive Toxicology*, 24 (2007) 199–224.
- [44] J.M. Gámez, R. Penalba, Cardoso, P. Scacchi Bernasconi, S. Carbone, O. Ponzio, et al., Exposure to a low dose of bisphenol A impairs pituitary-ovarian axis in prepubertal rats Effects on early folliculogenesis, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39 (2015) 9-15.
- [45] M. Aydogan, A. Korkmaz, N. Barlas, D. Kolankaya, Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats, *Drug Chemical Toxicology*, 33 (2010) 193-203.
- [46] M.A. Ahabab, N. Barlas, G. Karabulut, The toxicological effects of bisphenol A and octylphenol on the reproductive system of prepubertal male rats, *Toxicology and Industrial Health*, 33 (2017) 133-46.
- [47] S.G. Olukole, D.O. Lanipekun, E.O. Ola-Davies, B.O. Oke, Maternal exposure to environmentally relevant doses of bisphenol A causes reproductive dysfunction in F1 adult male rats: protective role of melatonin, *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (2019) 28940-50.
- [48] M.G. Soni, I.G. Carabin, G.A. Burdock, Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens), *Food Chemical Toxicology*, 43 (2005) 985-1015.
- [49] C.I.R.E. Panel, Final Amended Report on the Safety Assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben and Benzylparaben used in Cosmetic Products, *International Journal of Toxicology*, 27 (4) (2008) 1-82.
- [50] D. Bledzka, J. Gromadzinska, W. Wasowicz, Parabens. From environmental studies to human health, *Environmental International*, 67 (2014) 27-42.
- [51] M.G. Soni, S.L. Taylor, N.A. Greenberg, G.A. Burdock, Evaluation of the health aspects of methyl paraben a review of the published literature, *Food and Chemical Toxicology* 40 (2002) 1335–73.
- [52] Z. All, V.U. Ahmad, M. Zahid, R.B. Tareen, Benzoic Acid Derivatives From Stocksia Brahuica, *Phytochemistry*, 48 (1998) 1271-1273.

- [53] H.P. Bais, R. Vepachedu, J.M. Vivanco, Root specific elicitation and exudation of fluorescent β -carbolines in transformed root cultures of *Oxalis tuberosa*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 41 (2003) 345-53.
- [54] W. Li, Y. Sun, J. Joseph, J.F. Fitzloff, H.H.S. Fong, R.B. Van Breemen, p-Hydroxybenzoic Acid Alkyl Esters in *Andrographis paniculata* Herbs, Commercial Extracts, and Formulated Products *Journal of Agriculture and Food Chemicals*, 51 (2003) 524–529.
- [55] X. Peng, K. Adachi, C. Chen, H. Kasai, K. Kanoh, Y. Shizuri, et al., Discovery of a marine bacterium producing 4-hydroxybenzoate and its alkyl esters, parabens, *Applied Environmental Microbiology*, 72 (2006) 5556-5561.
- [56] M.G. Soni, G.A. Burdock, S.L. Taylor, N.A. Greenberg, safety assessment of propyl paraben a review of the published literature, *Food and Chemical Toxicology* 39 (2001) 513-32.
- [57] N. Garner, A. Siol, I. Eilks, Parabens as preservatives in personal care products, (2014).
- [58] T. Altuğ, Y. Elmacı, M. Zorba, B. Bahar, E. Gür, V. Uysal, *Gıda Katkı Maddeleri, Sıdaş Yayıncılık*, Ankara, 2009.
- [59] A.B. Bibek Ray, *Temel Gıda Mikrobiyolojisi, Nobel Yayıncılık*, Ankara, 2014.
- [60] EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a Request from the Commission related to para hydroxybenzoates (E 214-219), *The EFSA Journal* 83 (2004) 1-26.
- [61] FAO, WHO, Codex Committee on Food Additives, (2007).
- [62] Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Türkiye, Resmî Gazete Tarihi: 30.06.2013.
- [63] J. Zhu, Amended Safety Assessment of Parabens as Used in Cosmetics, *Cosmetic Ingredient Review*, Washington, 2019.
- [64] J. Boberg, C. Taxvig, S. Christiansen, U. Hass, Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites, *Reproductive Toxicology*, 30 (2010) 301-312.
- [65] M.Y. Shin, C. Shin, J.W. Choi, J. Lee, S. Lee, S. Kim, Pharmacokinetic profile of propyl paraben in humans after oral administration, *Environmental International*, 130 (2019) 104917.

- [66] P. Canosa, I. Rodriguez, E. Rubi, R. Cela, Determination of Parabens and Triclosan in Indoor Dust Using Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 79 (4) (2007).
- [67] M. Assens, H. Frederiksen, J.H. Petersen, T. Larsen, N.E. Skakkebæk, A. Juul, et al., Variations in repeated serum concentrations of UV filters, phthalates, phenols and parabens during pregnancy, *Environment International*, 123 (2019) 318-24.
- [68] S. Ishiwatari, T. Suzuki, T. Hitomi, T. Yoshino, S. Matsukuma, T. Tsuji, Effects of methyl paraben on skin keratinocytes, *Journal Applied Toxicology*, 27 (2007) 1-9.
- [69] A. Bellavia, Y.H. Chiu, F.M. Brown, L. Minguez-Alarcon, J.B. Ford, M. Keller, et al., Urinary concentrations of parabens mixture and pregnancy glucose levels among women from a fertility clinic, *Environmental Research*, 168 (2019) 389-396.
- [70] W. Liu, Y. Zhou, J. Li, X. Sun, H. Liu, Y. Jiang, et al., Parabens exposure in early pregnancy and gestational diabetes mellitus, *Environmental International*, 126 (2019) 468-475.
- [71] O.E. Yakubu, O. Olawale, K.A. Arowora, C. Imo, Biochemical Changes in Haematological and Liver Function Parameters in Intoxicated Male Albino Rats Treated with *Hymenocardia acida* Leaves Ethanolic Extract, *Insights in Biomedicine*, 2 (2017).
- [72] Z. Dagher, M. Borgie, J. Magdalou, R. Chahine, H. Greige-Gerges, p-Hydroxybenzoate esters metabolism in MCF7 breast cancer cells, *Food Chemical Toxicology*, 50 (2012) 4109-14.
- [73] C. Bereketoglu, A. Pradhan, Comparative transcriptional analysis of methylparaben and propylparaben in zebrafish, *Science Total Environmental*, 671 (2019) 129-139.
- [74] H.-M. Kang, M.-S. Kim, U.-K. Hwang, C.-B. Jeong, J.-S. Lee, Effects of methylparaben, ethylparaben, and propylparaben on life parameters and sex ratio in the marine copepod *Tigriopus japonicus*, *Chemosphere*, 226 (2019) 388-94.
- [75] A. Jamal, N. Rastkari, R. Dehghaniathar, M. Aghaei, R.N. Nodehi, S. Nasseri, et al., Prenatal exposure to parabens and anthropometric birth outcomes: A systematic review, *Environmental Research*, 173 (2019) 419-31.
- [76] K. Nowak, W. Ratajczak-Wrona, M. Gorska, E. Jablonska, Parabens and their effects on the endocrine system, *Molecular Cell Endocrinology*, 474 (2018) 238-51.

- [77] L. Kolatorova, J. Vitku, R. Hampl, K. Adamcova, T. Skodova, M. Simkova, et al., Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes, *Environmental Research* 163 (2018) 115-22.
- [78] H. Frederiksen, N. Jorgensen, A.M. Andersson, Parabens in urine, serum and seminal plasma from healthy Danish men determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 21 (2011) 262-71.
- [79] T.T. Vo, Y.M. Yoo, K.C. Choi, E.B. Jeung, Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model, *Reproductive Toxicology*, 29 (2010) 306-16.
- [80] J. Jiang, L. Ma, L. Yuan, X. Wang, W. Zhang, Study on developmental abnormalities in hypospadiac male rats induced by maternal exposure to di-n-butyl phthalate (DBP), *Toxicology*, 232 (2007) 286-93.
- [81] E. Ozdemir, N. Barlas, M.A. Cetinkaya, Assessing the antiandrogenic properties of propyl paraben using the Hershberger bioassay, *Toxicology Research*, 7 (2018) 235-243.
- [82] I.M. Washington, G.V. Hoosier, *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, Chapter 3, 57-115, 2012.
- [83] B. Wararut, Evaluation of biochemical, hematological and histopathological parameters of albino rats treated with *Stemona aphylla* Craib. extract, *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (2012).
- [84] B.G.T. Laboratuvarı, Hemogram (Tam Kan Sayımı), *Klinik Laboratuvar Testleri*.
- [85] B. Öztaşçı, Bütılparabenin (Bütıl 4-Hidroksibenzoat) Pubertal Dönemdeki Erkek Sıçanlarda Genotoksik, Histopatolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; Ankara, 2018.
- [86] Botros M., Sikaris K. A., The De Ritis Ratio: The Test of Time, *Clin Biochem Rev* 34 (2013).
- [87] C.L. Edelstein, S. Faubel, *Biomarkers of Kidney Disease*, Chapter 5, 77-232, 2011.
- [88] J.I. Ihedioha, O.A. Noel-Uneke, T.E. Ihedioha, Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes, *Comparative Clinical Pathology*, 22 (2013) 93-99.

- [89] W. Mesomya, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, P. Jittanoonta, V.N. Thalang, Effect of Age on Serum Cholesterol and Triglyceride Levels in the Experimental Rats, 35 (2001) 144 - 148
- [90] W.W. Christie, X. Han, Lipid Analysis, Chapter 1, 3-19, 2012.
- [91] R.J. Qasem, J. Li, H.M. Tang, V. Browne, C. Mendez-Garcia, E. Yablonski, et al., Decreased liver triglyceride content in adult rats exposed to protein restriction during gestation and lactation: role of hepatic triglyceride utilization, Clin Exp Pharmacol Physiol, 42 (2015) 380-388.
- [92] Y. Khasanah, Ratnayani, D. Ariani, M. Angwar, T. Nuraeni, In Vivo Study on Albumin and Total Protein in White Rat (*Rattus Norvegicus*) after Feeding of Enteral Formula from Tempe and Local Food, Procedia Food Science, 3 (2015) 274-279.
- [93] Dziedzic T., Pera J., Szczudlik A., S. A., Serum albumin as a determinant of cortisol release in patients with acute ischemic stroke, Atherosclerosis, 221 (2012) 212-214.
- [94] A. Kamba, M. Daimon, H. Murakami, H. Otaka, K. Matsuki, E. Sato, et al., Association between Higher Serum Cortisol Levels and Decreased Insulin Secretion in a General Population, PLoS One, 11 (2016).
- [95] R.T. Goad, J.T. Goad, B.H. Atieh, R.C. Gupta, Carbofuran-induced endocrine disruption in adult male rats, Toxicology Mechanisms and Methods, 14 (2004) 233-239.
- [96] I.M. Merdana, N.L. Watiniasih, I.W. Sudira, Samsuri, The Effect of Ethanol Extract *Mymercodia pendans* on Paracetamol Induced Hepatotoxicity in White Rats, Earth and Environmental Science 248 (2019).
- [97] H.E. Carlson, The Pituitary, Chapter 11, 383-396, 2011.
- [98] H.E. Carlson, The Pituitary, Chapter 13, 413-430, 2011.
- [99] V. Supornsilchai, O. Soder, K. Svechnikov, Stimulation of the pituitary-adrenal axis and of adrenocortical steroidogenesis ex vivo by administration of di-2-ethylhexyl phthalate to prepubertal male rats, Journal of Endocrinology, 192 (2007) 33-9.
- [100] M.D. Sylvia Asa, Pituitary Histopathology in Man: Normal and Abnormal in AB., 2007.
- [101] S. Larkin, O. Ansorge, Pathology and Pathogenesis of Pituitary Adenomas and Other Sellar Lesions in AB, 2017.


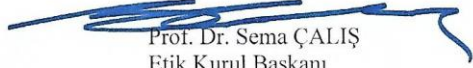
- [102] L.A. Li, P.W. Wang, L.W. Chang, Polychlorinated biphenyl 126 stimulates basal and inducible aldosterone biosynthesis of human adrenocortical H295R cells, *Toxicology Applied Pharmacology*, 195 (2004) 92-102.
- [103] L.A. Li, P.W. Wang, PCB126 induces differential changes in androgen, cortisol, and aldosterone biosynthesis in human adrenocortical H295R cells, *Toxicological Science*, 85 (2005) 530-440.
- [104] H. Sasano, Localization of Steriogenic Enzymes in adrenal Cortex and Its Disorders, *Endocrine Journal* 41 (1994) 471-482.
- [105] T.C. Lin, S.C. Chien, P.C. Hsu, L.A. Li, Mechanistic study of polychlorinated biphenyl 126-induced CYP11B1 and CYP11B2 up-regulation, *Endocrinology*, 147 (2006) 1536-1544.
- [106] D.G. Romero, L.L. Yanes, A.F. de Rodriguez, M.W. Plonczynski, B.L. Welsh, J.F. Reckelhoff, et al., Disabled-2 is expressed in adrenal zona glomerulosa and is involved in aldosterone secretion, *Endocrinology*, 148 (2007) 2644-52.
- [107] K. Nanba, M. Tsuiki, K. Sawai, K. Mukai, K. Nishimoto, T. Usui, et al., Histopathological diagnosis of primary aldosteronism using CYP11B2 immunohistochemistry, *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 98 (2013) 1567-1574.
- [108] F. Kubota-Nakayama, Y. Nakamura, S. Konosu-Fukaya, A. Azmahani, K. Ise, Y. Yamazaki, et al., Expression of steroidogenic enzymes and their transcription factors in cortisol-producing adrenocortical adenomas: immunohistochemical analysis and quantitative real-time polymerase chain reaction studies, *Human Pathology*, 54 (2016) 165-173.
- [109] M. Kometani, T. Yoneda, M. Demura, H. Koide, K. Nishimoto, K. Mukai, et al., Cortisol overproduction results from DNA methylation of CYP11B1 in hypercortisolemia, *Scientific Reports*, 7 (2017) 11205.
- [110] Y. Yoshii, K. Oki, C.E. Gomez-Sanchez, H. Ohno, K. Itcho, K. Kobuke, et al., Hypomethylation of CYP11B2 in Aldosterone-Producing Adenoma, *Hypertension*, 68 (2016) 1432-1437.
- [111] M. Murakami, T. Yoshimoto, K. Nakabayashi, K. Tsuchiya, I. Minami, R. Bouchi, et al., Integration of transcriptome and methylome analysis of aldosterone-producing adenomas, *European Journal of Endocrinology*, 173 (2015) 185-195.
- [112] B. Howard, Y. Wang, P. Xekouki, F.R. Faucz, M. Jain, L. Zhang, et al., Integrated analysis of genome-wide methylation and gene expression shows epigenetic

regulation of CYP11B2 in aldosteronomas, *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 99 (2014) E536-E43.

- [113] E. Göktekin, Prenatal Dönemde Dihekzil Fitalat ve Disiklohekzil Fitalata Maruziyetin Erkek ve Dişi Sıçanların Bazı Endokrin Dokuları Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; Ankara, 2016.
- [114] R. Ghanadian, J.G. Lewis, G.D. Chisholm, Serum Testosterone And Dihydrotestosterone Changes With Age In Rat, 25 (1975).

EKLER

EK 1 – Etik Kurul İzin Belgesi

	T.C. HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Sayı : 52338575-21	
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI	
TOPLANTI TARİHİ	: 27.02.2018 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2018/02
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2018/06
KARAR NUMARASI	: 2018/06 – 01
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS
HAYVAN DENEYLERİNDE	
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: Öğrenci Eda Nur İNKAYA
DİĞER YARDIMCI	:
ARAŞTIRMACILAR	-
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve	
SAYISI	: 30 Adet Rodent-Wistar Albino Rattus Norvegicus (6 Haftalık)
<p>Üniversitemiz Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nurhayat BARLAS' ın araştırma yürütücüsü olduğu 2018/06 kayıt numaralı <i>“Erkek Sıçanlarda Metil Paraben ve Propil Parabenin Birlikte Etkisinin Hipofiz-Adrenal Eksenini Üzerinde İncelenmesi”</i> isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.</p> <p>Araştırma yürütücüsü Kurulumuza araştırma projesinin bitiş tarihini bildirmek ve proje sonuç raporunu sunmak ile yükümlüdür.</p>	
 Prof. Dr. Sema ÇALIŞ Etik Kurul Başkanı	

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU GÜNDEMİ - İMZA SİRKÜLERİ
TOPLANTI TARİHİ : 27.02.2018 (SALI)
TOPLANTI SAYISI : 2018/02
TOPLANTI SAATİ : 13.30

 Prof. Dr. Sema ÇALIŞ (Başkan)	 Prof. Dr. Nüket Örnek BÜKEN (Üye)	 Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye)
 Doç. Dr. Meltem TUNCER (Üye)	 Doç. Dr. A. Cevdet AKMAN (Üye)	 Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR (Üye)
 Doç. Dr. Güneş ESENDAĞLI (Üye)	 Doç. Dr. Aytekin AKYOL (Üye)	 Doç. Dr. Ersoy KONAŞ (Üye)
 Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR (Üye)	 Doç. Dr. Mehmet Alper ÇETİNKAYA (Üye)	 Yrd. Doç. Dr. Banu Cahide TEL (Üye)
(İZİNLİ) Mevlüt ÖKSÜZOĞLU (Üye)	 Serdar ÇAKIROĞLU (Üye)	 Avukat Yasemin ÖZSELÇUK (Üye)

EK 2 - Tezden Türetilmiş Bildiriler

- 1. Nurhayat Barlas**, Eda Nur Inkaya, Nilüfer Coşkun, Investigation of combine effects of propylparaben and methylparaben on pituitary-adrenal axis in male rats, XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Meeting BCLF 2019 XXX. National Congress of the Turkish Biochemical Society TBS 2019, **Turkish Journal of Biochemistry, 27-31 October Antalya, 2019, 44 (S3).**